



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO SÓCIO AMBIENTAL E DOS RECURSOS HÍDRICOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS
AQUÁTICOS TROPICAIS**

CLAUDIA ANTONIA CAMPOS RODRIGUES DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE AMBIENTAL UTILIZANDO *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) COMO BIOINDICADOR EM DOIS TRECHOS DE RIOS DA AMAZÔNIA, BRASIL

BELÉM

2021

CLAUDIA ANTONIA CAMPOS RODRIGUES DE OLIVEIRA

TITULO DA DISSERTAÇÃO

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE AMBIENTAL UTILIZANDO *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) COMO BIOINDICADOR EM DOIS TRECHOS DE RIOS DA AMAZÔNIA, BRASIL

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais, para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Dinâmica de Populações e Avaliação de Estoques Pesqueiros.

Orientadora: Profa. Dra. Bianca Bentes da Silva

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio dos Santos Souto

BELÉM

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Oliveira, Claudia Antonia Campos Rodrigues de
Avaliação da genotoxicidade ambiental utilizando *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) como bioindicador em dois trechos de rios da Amazônia, Brasil / Claudia Antonia Campos Rodrigues de Oliveira. - 2021.
134 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais (PPGARAT), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2021.

Orientador: Profa. Dra. Bianca Bentes da Silva
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio dos Santos Souto.

1. Biomarcadores. 2. Monitoramento ambiental. 3. Ensaio cometa. 4. Micronúcleo. I. Silva, Bianca Bentes da , orient. II. Título

CDD 000

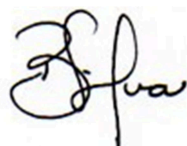
CLAUDIA ANTONIA CAMPOS RODRIGUES DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE AMBIENTAL UTILIZANDO *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) COMO BIOINDICADOR EM DOIS TRECHOS DE RIOS DA AMAZÔNIA, BRASIL

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais, para obtenção do título de Mestre.

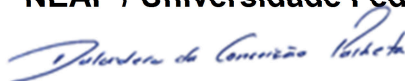
Aprovado em 23 de Abril de 2021

Banca Examinadora:



_____Orientadora

**Prof.ª. Dra. Bianca Bentes da Silva
NEAP / Universidade Federal do Pará**



_____Membro Interno Titular 1

**Prof.ª. Dra. Dulcideia da Conceição Palheta
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA**



_____Membro Externo Titular 2

**Prof. Dr. Carlos Alberto Machado da Rocha
Instituto Federal do Pará- IFPA**



_____Membro Externo Titular 3

**Prof. Dra. Tatiane do Nascimento Medeiros Rodrigues
Universidade Federal do Pará – UFPA**

_____Membro Externo – 1ª suplente

**Prof. Dra. Jussara Moretto Martinelli-Lemos
Universidade Federal do Pará – UFPA/PPGEAP**

_____Membro Externo – 2ª suplente

**Prof. Dra. Rossineide Martins da Rocha
Universidade Federal do Pará – UFPA/PPGEAP**

Aos Meus pais Francisco Carvalho Rodrigues & Lucenir Rodrigues Campos.

Ao meu marido João Paulo Silva de Oliveira.

Aos meus irmãos, irmãs e Sobrinho (a)s.

Ao professor Paulo Souto e sua esposa Sueli.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores que fazem parte do programa da Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais por todo o conhecimento repassado durante as aulas em especial a coordenação do programa que torna tudo isso possível.

Aos meus professores orientadores: Professora Dra. Bianca Bentes (orientadora) e o professor Dr. Paulo Souto (co-orientador) por todo o apoio, físico, logístico e orientação durante essa pesquisa.

A equipe do Núcleo de Ecologia Aquática e Pesca da Amazônia (NEAP), em especial a professora Dra. Bianca Bentes e aos alunos Rhanna Lobato e Rafael Miranda por nos ajudar durante as coletas e análises dos dados.

A equipe do laboratório de Citogenética Humana da Universidade Federal do Pará, por todo o acolhimento e ajuda no processamento das nossas análises.

A equipe do Grupo de Estudos em Toxicologia (GETOX) do Laboratório de Toxicologia Animal (TOXAN) da Universidade Federal Rural da Amazônia em especial a professora Dra. Dulcidéia Palheta por todo o apoio e divulgação dessa pesquisa em seus seminários internos e externos, bem como no auxílio com as análises.

Aos pescadores Durval Carrapeta e Seu Manoel os quais se empenharam bastante na captura dos peixes utilizados neste estudo.

A minha amiga do IFPA e da vida Maria Sintia, por todos os conselhos e incentivos.

Ao meu amigo Weverton Jhon por toda a ajuda nas coletas e análises dos dados.

A todos os colegas da turma de mestrado 2019-2021, por todos os momentos e experiências compartilhadas.

RESUMO

Os estudos de genotoxicidade em ecossistemas costeiros têm sido prioridade na Avaliação de Risco Ambiental (ERA). O presente trabalho teve como objetivo estudar a mutagenicidade e genotoxicidade do rio Murucupi (contaminado) no município de Barcarena, exposto à contaminação por indústria de mineração e no estuário Furo da Laura (controle) em Vigia, ambos no estado do Pará, Brasil, utilizando *Plagioscion squamosissimus* como bioindicador. Para avaliar a mutagenicidade utilizou-se o teste de micronúcleo e alterações nucleares e para a genotoxicidade o ensaio cometa. Foram captadas amostras de sangue de 54 espécimes. Os indivíduos oriundos de Vigia foram estatisticamente maiores em tamanho que os de Barcarena e estes foram graficamente mais pesados que os capturados em Vigia. Não foram detectados efeitos mutagênicos significativos nas células analisadas, embora a maior ocorrência tenha sido observada em Barcarena. O percentual de danos genômicos diferiu entre os locais estudados, sendo sempre maiores também em Barcarena. Dos nucleóides analisados em Barcarena, em média $28 \pm 14,42\%$ das células foram classificadas na classe de maior dano (4). Os peixes analisados no presente estudo estão tendo influência direta de agentes xenobiontes capazes de produzir danos ao material genético dos organismos aquáticos nos dois locais e, conseqüentemente, podem trazer conseqüências ainda pouco relatadas em estudos de alterações morfofisiológicas em humanos.

Palavras-chaves: Biomarcadores. Monitoramento ambiental. Ensaio cometa.

ABSTRACT

Genotoxicity studies in coastal ecosystems have been a priority in Environmental Risk Assessment (ERA). This research aimed to study the mutagenicity and genotoxicity of the Murucupi River (contaminated) in Barcarena city, exposed to contamination by mining industry and in the Furo da Laura estuary (control) in Vigia, both Pará state, Brazil, using *Plagioscion squamosissimus* as a bioindicator. To evaluate mutagenicity and nuclear alterations were used the micronucleus test and for genotoxicity the comet assay. Blood samples were collected from 54 specimens. The individuals from Vigia were statistically larger in size than those from Barcarena and these were graphically heavier than those captured in Vigia. No significant mutagenic effects were detected in the cells analyzed, although the highest occurrence was observed in Barcarena. The percentage of genomic damage differed between the sites studied, being always higher in Barcarena as well. Of the nucleoids analyzed in Barcarena, on average $28\pm 14.42\%$ of the cells were classified in the highest damage class (4). The fish analyzed in the present study are having direct influence of xenobiotic agents capable of producing damage to the genetic material of aquatic organisms in both sites and, consequently, may bring consequences still little reported in studies of morphophysiological alterations in humans.

Key words: Biomarkers. Environmental monitoring. Comet assay.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Classe de danos observados em <i>P. squamosissimus</i>	233
Figura 2 - Ilustração da formação de Micronúcleos.....	255
Figura 3 - Eritrócitos encontrados em esfregaço sanguíneo de <i>P. brachypomus</i>	28
Figura 4 - Trombócitos de <i>P. brachypomus</i>	28
Figura 5 - Leucócitos de <i>P. brachypomus</i>	29
Figura 6 - Vista lateral da pescada branca (Heckel, 1840).....	322
Figura 7 - Esquema da pescada branca (Heckel, 1840).	333
Figura 8 - Mapa de distribuição da pescada branca.....	344
Figura 9 - Principais itens da dieta da Pescada branca na porção interna do estuário amazônico.	37
Figura 10 - Gônadas de fêmeas de Pescada branca classificadas macroscopicamente.	38
Figura 11 - Gônadas de machos de Pescada branca classificadas macroscopicamente.	38
Figura 12 - Gráfico da rotina ELEFAN I, mostrando as sequencias mensais das frequências de comprimento total (cm) de <i>P. squamosissimus</i> , capturados no Rio PA entre 2012 e 2013 e o ajuste do modelo de crescimento soma tico de Von Bertalanffy.	39
Figura 13 - Produção total de pescada branca (t) desembarcada nos portos do rio Xingu, por mês e ano, no período de julho de 2010 a dezembro de 2013 e vazão média do rio (em vermelho). Nos meses sem dados, não houve coleta.	411
Figura 14 - Produção em toneladas das espécies-alvo desembarcada nos anos 2017 e 2018 no lago de Tucuruí.....	411
Figura 15 - Tipos de embarcações utilizadas na pesca da pescada branca.	422
Figura 16 - Valores de CPUE por mês da pescada branca e número de viagens na área adjacente ao terminal de Vila do Conde no ano de 2006.....	433
Figura 17 - Produção total de pescada branca (t) desembarcada no rio Xingu por tipo de embarcação, no período de julho de 2010 a dezembro de 2013.....	455
Figura 18 - Produção total de pescada branca (t) desembarcada nos portos do rio Xingu por arte de pesca, no período de julho de 2010 a dezembro de 2013.	46

Figura 19 - Captura por unidade de esforço (CPUE) média para a pescada branca nos anos 2017 e 2018.....	46
Figura 20 - Localização do ponto de coleta de <i>P. squamosissimus</i> no rio Murucupi-Barcarena-PA no mês de Agosto de 2019 e Março 2020.	48
Figura 21 - Localização do ponto de coleta de <i>P. squamosissimus</i> no estuário Furo da Laura em Vigia-PA no mês de Março de 2019.....	500
Figura 22 - Captura de Pescada branca no rio Murucupi Barcarena - PA.....	522
Figura 23 - Colheita de sangue periférico da nadadeira caudal da pescada branca in situ.....	533
Figura 24 - Equipamentos utilizados para análises para biometria.	54
Figura 25 - Etapas do ensaio cometa.....	555
Figura 26 - Etapas para análise do teste de micronúcleo.....	56

CAPÍTULO 2

Figura 1. Localização do ponto de captura de <i>P. squamosissimus</i> no rio Murucupi-Barcarena-PA, Brazil no mês de agosto /2020 e Março/ 2021.....	76
Figura 2. Localização do ponto do ponto de captura de <i>P. squamosissimus</i> no estuário Furo da Laura em Vigia-PA, Brazil, Março/2021.....	77
Figura 3. Diagrama de ordenação para os dois primeiros eixos resultante da análise de redundância do nível de dano do ensaio do cometa.....	84

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Estudos de genotoxicidade ambiental utilizando peixes como bioindicador.....	29
Tabela 2 - Valores de CPUE por mês da pescada branca e número de viagens na área adjacente ao terminal de Vila do Conde no ano de 2006.....	433
Tabela 3 - Produção estimada em quilogramas para o município de Barcarena em relação aos tipos embarcação por espécie.....	443
Tabela 4 - Estimativa de renda por categoria de embarcação e principais espécies desembarcadas no município de Barcarena.....	444
Tabela 5 - Padronização da CPUE da Pescada branca.....	47
Tabela 6 - Dados coletados nos períodos sazonais.....	2

CAPÍTULO 2

Table 1 - Máximo, média, mínimo e desvio padrão do comprimento total (em cm) e peso (em gramas) de <i>Plagioscion squamosissimus</i> nos períodos menos chuvoso (dry) e mais chuvoso (rainy) em Barcarena e Vigia (estuário amazônico brasileiro).	80
Table 2 - Variáveis abióticas (Temperatura – Temp., Salinidade - Sal, pH, Oxigênio Dissolvido - DO, Nitrato - Nitra e Fosfato - FOF) nos períodos menos chuvoso (dry) e mais chuvoso (rainy) em Barcarena e Vigia (estuário amazônico brasileiro).....	81
Table 3 - Médias e desvios das classes de danos para o ensaio cometa de <i>Plagioscion squamosissimus</i> capturados em Barcarena e Vigia nos períodos seco e chuvoso.....	81
Table 4 - Frequência de anormalidades nucleares e micronúcleos em 2000 eritrócitos de <i>Plagioscion squamosissimus</i> capturados em Barcarena e Vigia nos períodos seco (dry) e chuvoso (rainy).....	82
Table 5 - Análises de variância (one and two way) e interpretação gráfica e/ou estatística do tamanho, peso, danos genômicos do ensaio cometa e análise de	

micronúcleo de eritrócitos de *Plagioscion squamosissimus* capturados em dois estuários amazônicos.....83

Table 6 - Results of the redundancy analysis (RDA) for the effects of the different variables (see Fig. 3) on *Plagioscion squamosissimus* obtained during the present study in two Brazilian Amazon estuaries.....84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABR - Abril

ANA - Agência Nacional das Águas

ALBRAS - Alumínio Brasileiro S/A

ALUNORTE - Alumina do Norte do Brasil S/A

Al - Alumínio

AMN - Alterações Morfonucleares

BPP - Barcos de Pequeno Porte

CA - Cluster Analysis

CAM - Canoa Motorizada

cm - Centímetros

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

Cd – Cádmiio

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

CPUE - Captura por Unidade de Esforço

CT - Comprimento Total

Cr - Cromo

DEZ - Dezembro

DO - Oxigênio Dissolvido

DA – Análise discriminante

DIP - Doenças infecciosas e Parasitárias

DR - Doenças respiratórias

DHN - Diretoria de Hidrografia e Navegação

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetracético

ERA - Avaliação de Risco Ambiental

E - Taxa de Exploração

F - Mortalidade por pesca

FOF - Fosfato

FA - Análise de Fatores

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBRAM - Instituto Brasileiro de Mineração

IEC - Instituto Evandro Chagas

IMERYS Rio Capim Caulim e Pará Pigmentos

IRCC - Imerys Rio Capim Caulim

Kg - Kilograma

LQA - Química Ambiental

MNP- Teste de Micronúcleo Písceos

mm - Milímetro

MAX - Máximo

MED - Média

MIN - Mínimo

mL – MILILITRO

mg/L – Miligrama por Litro

μL - Microlitro

M - Mortalidade natural

NTP - National Toxicology Program

NITRA - Nitrato

OCDE - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

pH - Potencial Hidrogeniônico

PCA - Análise de Componentes Principais

PPSA - Pará Pigmentos S/A

PMP - Barco de Médio Porte,

RDA - Alise de Redundância

SAL - Salinidade

SCGE - Single Cell Gel Electrophoresis

SD - Desvio Padrão

t - Toneladas

TEMP-Temperatura

Z - Mortalidade total

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	18
1. CONTEXTUALIZAÇÃO	18
1.1 Justificativa	20
1.2 Perguntas Norteadoras	21
1.3 Objetivos	21
1.3.1 Geral.....	21
1.3.2 Específicos	21
1.4 Revisão Bibliográfica	22
1.4.1 Análises de Genotoxicidade	22
1.5 Uso de peixes como bioindicador ambiental	26
1.6 Descrição da pescada branca - <i>Plagioscion squamosissimus</i> Heckel, 184030	
1.7 Metodologia	48
1.7.1 Descrição das áreas de estudo.....	48
1.7.2 Desenho amostral.....	51
1.7.2.1 Tratamento dos animais no campo.....	52
1.7.2.1.1 Captura dos animais.....	52
1.8 Análises em laboratório	54
1.8.1.1 Ensaio cometa	54
REFERÊNCIAS	58
CAPÍTULO 2	72
2.1 Introdução	73
2.2 Material e Métodos	75
2.3 Resultados	80
2.4 Discussão	85
Referências	91
APÊNDICES	103
Apêndice 1- Planilha utilizada para anotar dados biométricos de <i>P. squamosissimus</i> em Barcarena no período seco.	103
ANEXOS	116
Anexo 1-Certificado da Comissão de Ética para Uso de Animais.....	116
Anexo 2-Licença permanente de coleta biológica.....	117
Anexo 3-Regras de submissão da Revista Marine Pollution.....	124

ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Este trabalho está dividido em três capítulos: Capítulo 1- **Introdução Geral**: trás uma revisão bibliográfica a respeito das particularidades ecológicas de *P. squamosissimus* por meio de um levantamento detalhado dos trabalhos publicados sobre a espécie em diferentes locais e ambientes. Além disso, este capítulo agregará uma sinopse a respeito dos estudos em genotoxicidade como ferramenta de subsídio a ações que visem o manejo a partir da mitigação de impactos. Este capítulo, não sendo direcionado à publicação, incluía também os objetivos dos capítulos subsequentes e um detalhamento das metodologias que foram utilizadas.

Capítulo 2-**Artigo científico**, intitulado “**Evaluation of genotoxicity of water in the Amazon River using the micronucleus test and comet assay and assay in fish erythrocytes**”, aborda os achados das metodologias de Micronúcleo Píscios e Ensaio cometa em amostras de sangue periférico da espécie. A partir de uma abordagem holística, serão discutidos os possíveis efeitos sinérgicos das alterações hematológicas no processo de bioacumulação e possíveis modificações nos níveis tróficos superiores. O artigo científico está elaborado para publicação em revista científica especializada do extrato A da nova classificação de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Capítulo 3-**Considerações finais**: caracteriza-se como um capítulo discursivo de opinião baseada em critérios e argumentações científicas para novas perguntas norteadoras do tema. Trata-se de um espaço de discussão das impressões e das limitações metodológicas e de possíveis ferramentas de otimização do processo de levantamento de dados e análises. Adicionalmente, são discutidos possíveis formas de monitoramento da contaminação de peixes e demais organismos aquáticos utilizados como alimento pela população local de Barcarena.

CAPÍTULO 1 - Padronizado de acordo com as normas da Universidade Federal Rural da Amazônia e da Associação Brasileira de Normas Técnicas 2021.

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O estuário amazônico faz parte da maior bacia hidrográfica do mundo a qual comporta um dos rios mais volumosos, o rio Amazonas, tendo sua descarga caracterizada por quatro períodos: período chuvoso que ocorre nos meses de Março a Maio com descarga máxima de água; período intermediário chuvoso/seco caracterizado por ser um período de transição ocorrendo entre os meses de junho a agosto; período seco, caracterizado por um clima de estiagem com pouca precipitação chuvosa que precede um volume mínimo de águas concentrado nos meses de setembro a novembro e o período intermediário seco/chuvoso caracterizado por ser de transição climática que ocorre nos meses de dezembro a fevereiro (NITTROUER *et al.*, 1995; VIANA, 2011).

Dessa forma, os efeitos do ciclo hidrológico sobre a atividade pesqueira são evidentes. Quando o ambiente se contrai no período da seca é o melhor momento para a pescaria de muitas das espécies com elevado valor comercial, como os grandes bagres. Durante a fase de enchente ocorre uma maior capturabilidade de espécies menores, algumas migradoras, como a curimatã (*Prochilodus nigricans*) e o matrinxã (*Brycon cephalus*). Durante a cheia devido a grande vazão dos rios a captura da maior parte das espécies se torna difícil. Nesse momento a pesca é direcionada para a captura de espécies alternativas como a pescada branca uma vez que essa espécie é abundante e fácil de ser capturada em qualquer época do ano (LOWE-MCCONNELL, 1999; MESQUITA, 2014).

A pesca da pescada branca destaca-se como um importante recurso pesqueiro no município de Vigia e Barcarena ambos no Estado do Pará. Distante apenas 101 km de Belém capital do Pará, Vigia é uma cidade essencialmente pesqueira, tendo sistemas pesqueiros diversificados desde os muito artesanais com pescadores que utilizam montarias movidas a remo, rabetas, até sistemas artesanais de maior autonomia que utilizam barcos de pequeno e médio portes. Nas décadas de 1980 até o ano 2000, existia no município o desembarque de embarcações pesqueiras industriais (com casco de ferro), que forneciam pescado para uma empresa de processamento que atua até os dias atuais, mas recebe o pescado de embarcações menores, consideradas como artesanais de larga escala nos dias

atuais (BENTES, 2021, comunicação pessoal). O município foi fundado em 06 de janeiro de 1616 e atualmente é um dos principais municípios no que diz respeito à quantidade de pescado desembarcado, capturado no Estuário Amazônico, ocupando o segundo lugar em produção pesqueira no Estado do Pará (MOURÃO *et al.*, 2007).

Segundo a Diretoria de Hidrografia e Navegação-DHN (2012), Vigia é uma região estuarina predominada por um regime de meso a macromarés, cuja variação das marés alcança valores máximos de 3,6m a 4,7m, o que para Correa, (2005) é o resultado dos processos controlados pelas correntes fluviais e as correntes de marés, que causam ondas de variação da densidade entre água doce e salgada. Além da pesca, o município tem a sua economia voltada para os setores da, agricultura e comércio, além de estar situada às margens do rio Guajará Mirim também conhecido como Estuário Furo da Laura (BRITO *et al.*, 2002; MOURÃO *et al.*, 2007; CARDOSO, 2009; JÚNIOR *et al.*, 2019).

O município de Barcarena localizado no delta do rio Amazonas distante apenas 30 km de Belém em linha reta (SILVA, 2013; CARMO & COSTA, 2016). Rico em ilhas e com dezenas de igarapés que desaguam em rios como Icaraú, Tauaporanga e rio Barcarena, o município é cortado por igarapés e dividido em pequenas ilhas dentre elas a Ilha das Onças e Arapiranga, tendo como limite os municípios de Acará, Moju, Abaetetuba e Belém, e com a Baía do Marajó e Baía do Guajará (SILVA, 2013; HAZEU, 2015; CARMO & COSTA, 2016). Com relação a sua hidrografia, Barcarena tem como principais corpos d'água a Baía do Marajó, Furo do Arrozal, e os rios Barcarena, Itaporanga, Moju, Arienga, Arapiranga e Murucupí, sendo muitos deles de suma importância para a pesca e navegabilidade na região (MAIA, 2017; SILVEIRA *et al.*, 2019).

O seu nome se originou da presença de uma grande embarcação batizada como Arena à qual os habitantes do lugar chamavam de barca, dessa forma a junção das duas palavras fez com que a localidade ficasse conhecida com Barcarena (CUNHA, 2018). Segundo Brígida, (2010) o processo de urbanização no município está diretamente ligado à chegada do projeto Albras/Alunorte na década de 1980 (considerada atualmente a maior usina de beneficiamento de bauxita do mundo). Após a implantação do projeto Albras/Alunorte, o município passou a sediar um novo empreendimento denominado Projeto Caulim. Além do beneficiamento da bauxita, realizada pela Albras/Alunorte, e do caulim pelas empresas IMERYS Rio

Capim Caulim e Pará Pigmentos, Barcarena também sedia a VOTORANTIM que fabrica cimento, a USIPAR para a produção do ferro gusa, a ALUBAR para fabricação de cabos de alumínio, a BUNGE na fabricação de adubos, a BURUTIRAMA, na fabricação de lingotes de manganês e a TECOP para a produção de coque de petróleo (FERREIRA *et al.*, 2009; BRÍGIDA, 2010; NASCIMENTO & HAZEU, 2015; MARINHO *et al.*, 2016).

Neste contexto, é frequente a ocorrência de acidentes ambientais no entorno do polo industrial Albrás/Alunorte e conseqüentemente, a poluição dos corpos hídricos superficiais, subterrâneos e outros compartimentos ambientais, causando prejuízos consideráveis à flora, fauna e à saúde da população (IEC, 2009; MARINHO *et al.*, 2016). Os empreendimentos destes segmentos acabam sendo do ponto de vista ambiental, efetivas poluidoras, uma vez que geram efluentes gasosos, líquidos, esgoto sanitários resíduos sólidos e industriais, além de intensas modificações de ordem econômica, social, política e ambiental (BAHIA *et al.*, 2012; BORDALO *et al.*, 2012).

1.1 Justificativa

Atualmente, é possível observar várias ocorrências de acidentes ambientais no município de Barcarena, os quais são relatados desde 2003. Estes acidentes acarretam impactos ambientais nos rios que cercam o município como: carreamento de lama vermelha para o rio Murucupi (2003), morte de peixes na praia de Itupanema (2003), floração de algas no igarapé Mucuruçá e na praia do Caripi (2006), contaminação de poços do bairro industrial com efluentes do processo de beneficiamento do caulim pela empresa Imerys (2006), carreamento de efluentes ácidos para os igarapés Curuperê e Dendê atingindo o Rio Pará (2007), carreamento de lama vermelha (oriunda da empresa ALUNORTE) para o Rio Murucupi (2009) e mais recentemente (2018) o derramamento de resíduos sólidos da barragem da Hydro/ALUNORTE que contaminou rios e igarapés de Barcarena (SILVA & MORAES, 2012; IEC, 2018).

Na literatura foi possível observar vários estudos sobre a qualidade da água do solo e da ictiofauna nos municípios de Barcarena e Vigia. Dentre os quais podemos citar: Viana (2011); Silva (2012); Piratoba (2013); Hazeu (2015); Marinho *et al.*, (2016); Medeiros (2017); Bordalo *et al.*, (2017); Maia (2017); Piratoba (2017);

Cunha (2018); Lima *et al.*, (2018); Junior *et al.*, (2019); Machado *et al.*, (2019); Silveira *et al.*, (2019); Furtado *et al.*, (2020); Lemos e Pimentel (2021) em Barcarena e Barros *et al.*, (2011); Silva *et al.*, (2011); Lima *et al.*, (2015); Araújo (2019); Mesquita (2020) no município de Vigia.

Embora esses autores busquem uma investigação da qualidade ambiental nos municípios, não foram encontrados estudos sobre genotoxicidade ambiental com organismos aquáticos. Assim, parece evidente a necessidade de estudos que possam indicar alterações na fisiologia desses organismos uma vez que estes servem de alimentação para a população. Este estudo além de inédito, ainda pode fornecer informações importantes a respeito da fisiologia da espécie estudada frente às alterações ambientais analisadas.

1.2 Perguntas norteadoras

A pescada branca, importante recurso pesqueiro para os ribeirinhos de Barcarena, tanto pelo seu consumo quanto pela venda, está sofrendo algum tipo de alteração em seus parâmetros sanguíneos provenientes dos poluentes ambientais oriundos das indústrias que estão instaladas nesse Município? As pescadas capturadas no entorno de Vigia estão livres de contaminação? Quais os efeitos que as características de tamanho e peso (denotando a idade dos espécimes) tem em função do grau de comprometimento nuclear observado? Existe alguma relação da qualidade da água nos danos nucleares observados?

1.3 Objetivos

1.3.1 Geral

Estudar a toxicidade ambiental em trecho dos rios Murucupi (Barcarena-PA) e Furo da Laura (Vigia-PA) utilizando *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) como bioindicador de qualidade ambiental levando em consideração os períodos sazonais amazônicos.

1.3.2 Específicos

- Identificar a frequência de Micronúcleos Písceos (MNP) e de alterações morfológicas nucleares em sangue periférico de *Plagioscion squamosissimus*;

- Avaliar o dano no DNA através do Ensaio Cometa em núcleos de eritrócitos de sangue periférico de *Plagioscion squamosissimus*;
- Estudar a participação relativa das características de tamanho e peso dos espécimes de *P. squamosissimus* no grau de comprometimento nuclear;
- Estudar a participação relativa de algumas características de qualidade da água sobre o comprometimento nuclear em *P. squamosissimus*;
- Comparar se houve diferença estatisticamente significativa nas duas variáveis observadas (MNP e ensaio cometa) entre as áreas e nos períodos estudados (chuvoso e seco).

1.4 Revisão bibliográfica

1.4.1 Análises de Genotoxicidade

Genotoxicidade é um termo geral que se refere a alterações nos cromossomos e se divide em duas outras definições: Clastogenicidade, que são alterações na estrutura ou no conteúdo dos cromossomos e Mutagenicidade, que são modificações ocorridas no sequenciamento dos pares de bases do DNA, ocasionadas ante a exposição a substâncias químicas contaminantes (AL-SABTI; METCALFE 1995 apud SOUTO, 2004).

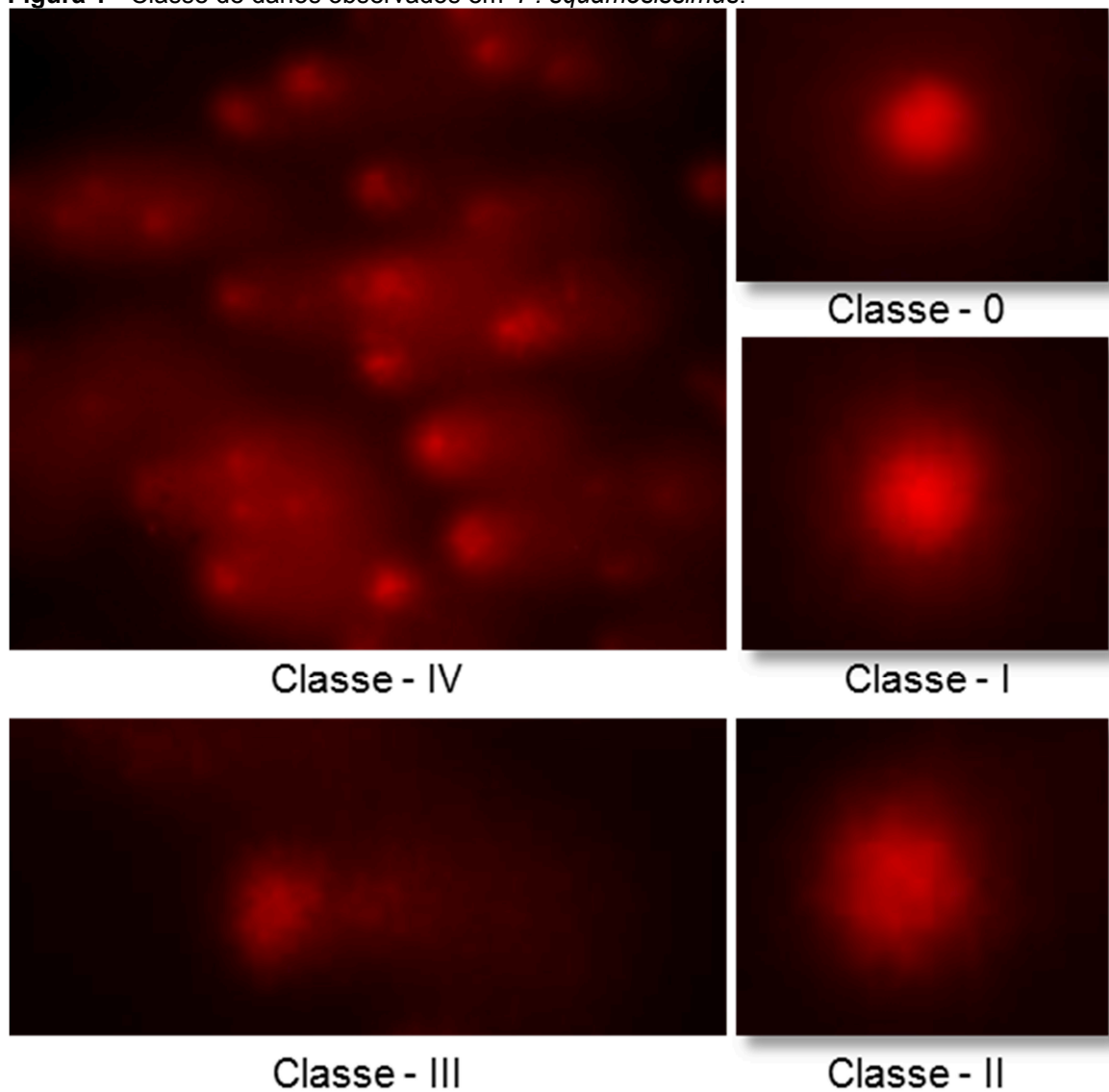
As análises de genotoxicidade levam em consideração a vulnerabilidade do material genético (DNA) a agressões impostas pelo ambiente. Basicamente essas avaliações dividem-se em análises mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas. Assim, o biomonitoramento, principalmente no que diz respeito a organismos expostos a poluentes (denotando a conformação de *bioindicadores*) e utilizando testes em sistemas biológicos (*biomarcadores*), é utilizado como importante ferramenta para identificação de poluentes capazes de causar danos à saúde humana e ao ambiente (SILVA *et al.*, 2003; FERREIRA, 2004; ROCHA, 2009).

1.4.1.1 Ensaio Cometa

O teste cometa proposto por Ostling e Johanson (1984), pode ser aplicado em uma série de estudos como genética toxicológica, ecotoxicologia e em estudos de reparo de DNA e apoptoses (RIVERO, 2007). Esta técnica foi modificada e

aprimorada por Singh *et al.*, (1988) com a introdução de condições alcalinas, desenvolvendo uma eletroforese de células isoladas e que foi adotada pela maioria dos laboratórios para aplicar em testes de genética toxicológica (MOLLER, 2005; RIVERO, 2007). Existem várias metodologias que são utilizadas para avaliar a extensão do dano ocasionado ao DNA, uma delas é a relação entre o raio do núcleo e a extensão das caudas que são formadas pelo DNA em migração, classificados entre as classes de 0 a 4 como nenhum dano ao dano máximo respectivamente, tendo como resultado uma imagem com cabeça e cauda, lembrando um cometa (Fig. 1).

Figura 1 - Classe de danos observados em *P. squamosissimus*.



Fonte: a autora.

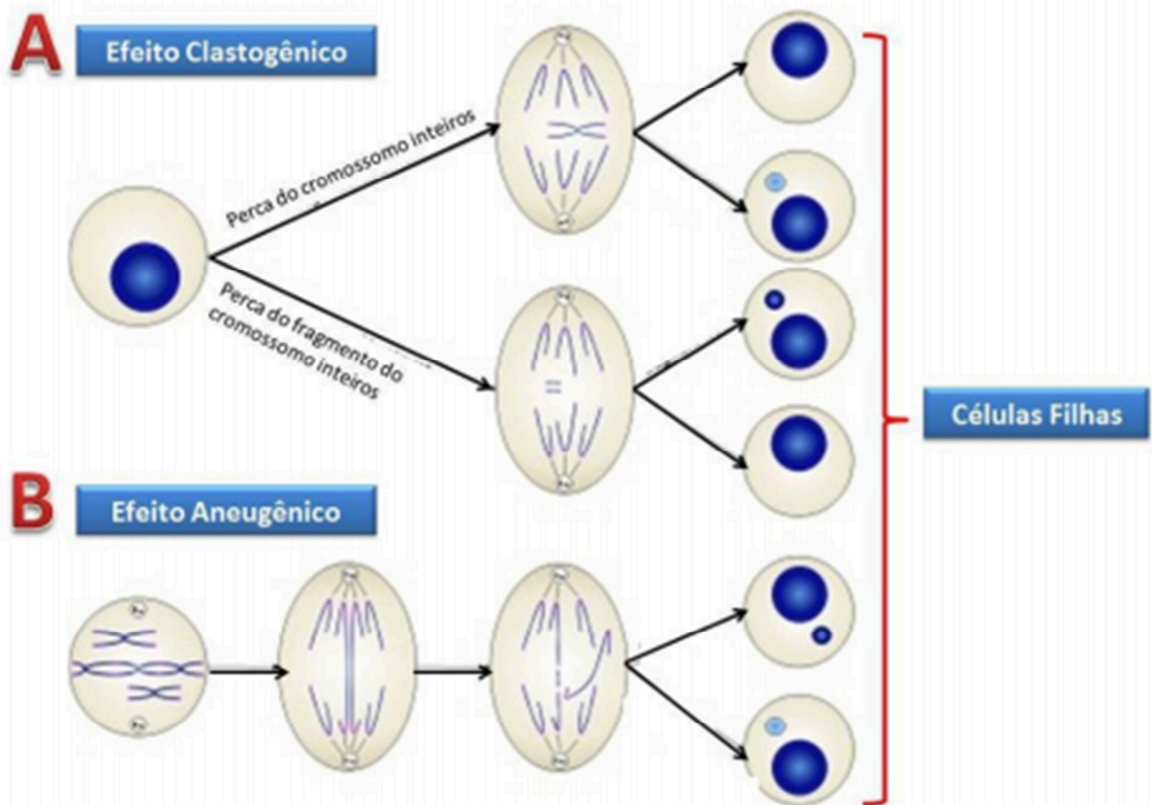
O ensaio cometa é também conhecido como SCGE (*single cell gelelectrophoresis*) e considerado uma técnica rápida e sensível de análise e quantificação de danos ao DNA de células individuais amplamente utilizados para testar agentes genotóxicos de dejetos industriais, domésticos e agrícolas, biomonitoramento de populações expostas, além de ser usada na pesquisa de câncer. Várias pesquisas estão utilizando o ensaio cometa para detectar danos no DNA causados por diversos poluentes (WHITE & RASMUSSEN, 1998; HARTMANN *et al.*, 2003; ROCHA, 2009).

1.4.1.2 Teste de Micronúcleo Píscios (MNP)

O teste do micronúcleo foi desenvolvido por Schmid (1975) usando células da medula óssea de mamíferos e tem sido extensivamente aplicado para testar a genotoxicidade de compostos químicos em invertebrados, peixes e anfíbios e tem-se obtido excelentes resultados no monitoramento de áreas contaminadas (CAMPANA *et al.*, 2003; ROCHA, 2009). É reconhecido internacionalmente por agências e instituições governamentais, sendo um dos métodos preferenciais para avaliar o dano genético em organismos, pois permite detectar danos provenientes tanto de agentes clastogênicos, responsáveis por quebras cromossômicas, como de agentes aneugênicos que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal (RIBEIRO, 2003; ANSARI *et al.*, 2011; ROCHA, 2013).

O teste do MN baseia-se na observação de células que sofrem alterações na distribuição de suas cromátides (efeito sobre o fuso) ou quebra de cromátides. Durante a anáfase, momento em que há a segregação dos cromossomos, os fragmentos provenientes das quebras e de cromossomos inteiros e que não estão ligados pelo fuso, não acompanham a migração para os pólos da célula (SILVA & NEPOMUCENO, 2010). Após a telófase, tais fragmentos cromatídicos não são incluídos nos núcleos das células filhas, formando um único ou múltiplos micronúcleos no citoplasma dessas células (FENECH, 2000; KASPER, 2019) (Fig. 2).

Figura 2 - Ilustração da formação de Micronúcleos.



Sob os efeitos de agentes Clastogênicos (A) e Aneugênicos (B).

Fonte: Cabral (2014).

Os micronúcleos também podem ser formados pela interação de agentes químicos, físicos e biológicos com estruturas não genômicas, provendo distúrbios na maquinaria miótica e falha na segregação dos cromossomos (RIVERO, 2007). A técnica original desenvolvida por Schmid (1975) foi adaptada de roedores para aplicação laboratorial em peixes por Hooftmam e Raat (1982) (RIVEIRO, 2007). Segundo Udroui, (2006) o teste de micronúcleo (MN), tem sido amplamente utilizado para avaliar danos causados por substâncias xenobióticas nos organismos, uma vez que essa técnica permite detectar propriedades genotóxicas de componentes presentes no ambiente aquático. Além disso, Mersch *et al.*, (1996) afirmam que a frequência de MN observada em um determinado momento pode ser considerada uma resposta complexa entre a atividade genotóxica e a eficiência do mecanismo fisiológico de defesa do organismo teste. Nos peixes, os micronúcleos são encontrados no sangue periférico, diferentemente do teste realizado em alguns mamíferos, onde necessita extrair material da medula óssea (KASPER, 2019).

A aplicação deste teste em peixes apresenta algumas vantagens como: é uma técnica simples e rápida, o MN pode ser observado durante o ciclo celular, e o

número de células contáveis é ilimitado; pode ser aplicado em qualquer população de células em proliferação sem depender do cariótipo envolvido; a contagem pode ser feita por qualquer pessoa com pouco treinamento em citogenética e, além disso, devido os peixes terem um grande número de cromossomos, e muitas vezes de pequeno tamanho, as análises das metáfases para avaliação de aberrações cromossômicas são dificultadas, enquanto que o estudo de micronúcleos é fácil e possível de ser realizado em eritrócitos, devido serem nucleados (HEDDLE *et al.*, 1973; HAYASHI *et al.*, 1998).

Oliveira, (2013) afirma que a identificação dos micronúcleos seguem os seguintes critérios: 1) o micronúcleo deve ser um terço menor que o núcleo principal, 2) o micronúcleo não deve tocar o núcleo principal 3) deve ter o mesmo plano de foco do núcleo e 4) padrão de coloração idêntico ao núcleo. Além do teste do micronúcleo, é importante que seja realizada também a contagem de alterações morfológicas nucleares (CARRASCO *et al.*, 1990), uma vez que essas alterações podem estar relacionadas a processos de citotoxicidade relacionada a divisão celular e genotoxicidade ou mutagenicidade (RIVERO, 2007).

Para Souza e Fontanelli, (2006) algumas anomalias nucleares são observadas em peixes após a exposição a substâncias químicas ou poluentes da água. Essas alterações foram descritas e classificadas por Carrasco *et al.*, (1990) como: núcleos com uma pequena evaginação da membrana nuclear que parece ter eucromatina ou heterocromatina (Blebbbed), núcleo apresentando evaginações maiores e mais largas que as descritas para Blebbbed (*lobed*), núcleos que apresentam no seu interior uma região que lembra vacúolos (*vacuolated*) e núcleos que apresenta um corte bem definido em sua forma (*notched*).

Essas deformidades citoplasmáticas e nucleares são consideradas como manifestações quantificáveis de genotoxicidade em organismos aquáticos, uma vez que são produzidas em resposta a xenobióticos (FERREIRA, 2004; ROCHA, 2009).

1.5 Uso de peixes como bioindicador ambiental

Segundo Viana, (2011) uma das formas de avaliar o estado de saúde do ambiente aquático é por meio da utilização de indicadores ambientais, uma vez que para Jaramillo-Villa & Caramachi, (2008) as comunidades biológicas que compõem os ecossistemas aquáticos apresentam adaptações evolutivas a determinadas

condições ambientais e que podem apresentar limites de tolerância a diferentes alterações.

Vários são os parâmetros biológicos que podem ser alterados como consequência da interação entre um agente externo (químico, físico ou biológico) e o organismo (VALENTE *et al.*, 2017). Para o monitoramento biológico tem-se proposto o uso de organismos bioindicadores, os quais são capazes de responder ao estresse, em decorrência da exposição a agentes estressores presentes em águas, solos e ar (PICH, 2012).

Segundo Paula, (2010) a bioindicação como foco nas perícias e no monitoramento ambiental, não se refere apenas à indicação da existência ou da intensidade de um fator estressor ambiental, mas principalmente da reação do sistema biológico e do reconhecimento de seus efeitos. Callisto *et al.*, (2004 apud Vieira *et al.*, 2014), afirmam que podem ser empregados como bioindicador de qualidade ambiental de uma determinada área, grupos de espécies ou comunidades biológicas que em suas funções naturais se relacionam com fatores ambientais diversos. Assim, os bioindicadores utilizados podem ser de forma passiva, por meio de uma avaliação dos seres que habitam a área de estudo, ou de forma ativa, expondo-os nos ambientes previamente preparadas e programadas para análises (VIEIRA *et al.*, 2014).

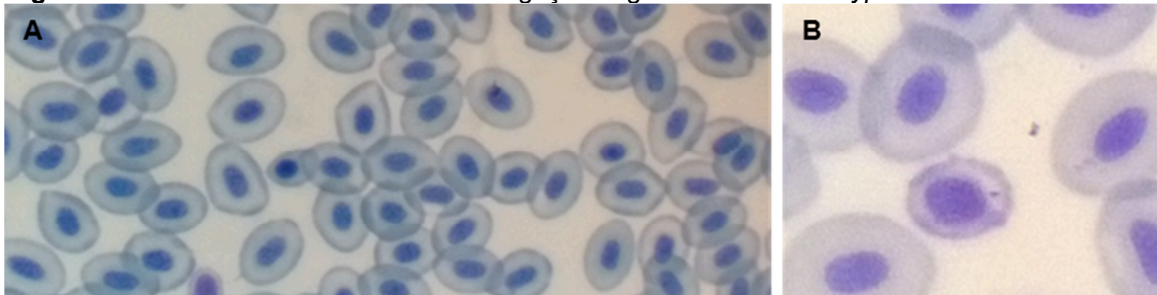
Arias *et al.*, (2007) afirmam que os contaminantes podem variar de acordo com os níveis de organização biológica dos indicadores, apresentando-se entre os níveis mais baixos como respostas bioquímicas, celulares, moleculares, até respostas em níveis de tecido, sistêmico, organismo, população, comunidade e ecossistema, dos quais os níveis mais baixos representam mais rapidamente respostas aos agentes estressores pois são normalmente mais sensíveis aos efeitos antrópicos ou naturais.

Para Valente *et al.*, (2017) os parâmetros quantitativos usados como indicadores biológicos de exposição que também são chamados de biomarcadores, só é possível se existir uma correlação com a intensidade da exposição e/ou o efeito biológico decorrente da substância em questão. Pich, (2012) afirma que a exposição pode ser avaliada por medida da concentração do agente químico em amostras ambientais (monitorização ambiental) ou através da medida de parâmetros biológicos (monitorização biológica), denominados indicadores biológicos ou biomarcadores.

Atualmente, a hematologia em peixes é utilizada como um importante biondicador de qualidade ambiental, por considerar que estes respondem de várias maneiras à contaminação, como por exemplo, mudanças na taxa de crescimento e na maturação sexual, além de refletir o estado de saúde desses indivíduos e auxiliar no diagnóstico e prognóstico de condições de morbidade em populações de peixes pois, quando os animais são expostos à substâncias tóxicas, alguns parâmetros sanguíneos podem ser alterados (KARR, 1981; RAMELOW *et al.*, 1989; MARTINS-JUNIOR, 2001; ADHIKARI *et al.*, 2004; FRANÇA *et al.*, 2007; BARKHORDAR, *et al.*, 2013; SCHULZ & VENTURA, 2015).

Segundo Ranzani-Paiva *et al.*, (2013) as células de peixes são as mesmas de qualquer outro vertebrado, com algumas variações na morfologia e talvez na função, sendo formado pelos Eritrócitos (Glóbulos Vermelhos) (Fig. 3 A e B), Trombócitos (Plaquetas) (Fig. 4 A e B) e os Leucócitos (Glóbulos Brancos) (Fig. 5 A, B, C e D).

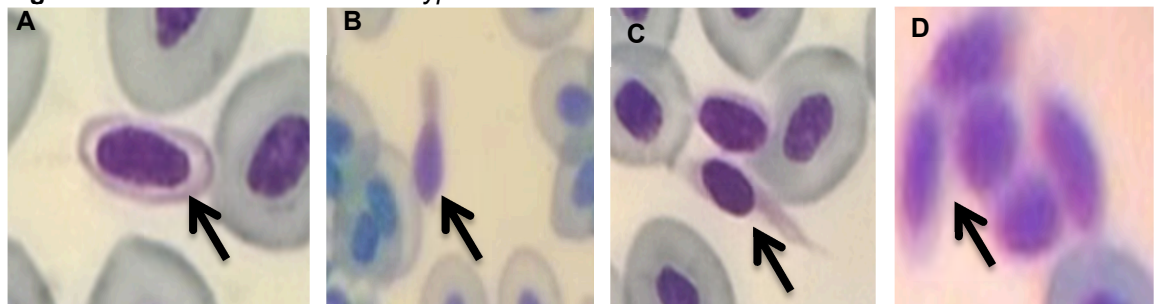
Figura 3 - Eritrócitos encontrados em esfregaço sanguíneo de *P. brachypomus*.



Eritrócitos maduros (A); Eritrócitos imaturos (B). Corante panótico rápido. Aumento de 1000x.

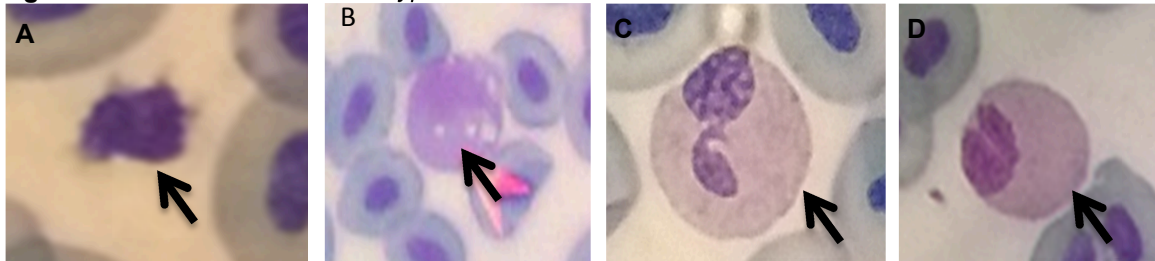
Fonte: Oliveira *et al.* (2018) .

Figura 4 - Trombócitos de *P. brachypomus*.



Forma arredondada (A); Trombócito com citoplasma alongado (B); Trombócito fusiforme (C); Trombócitos agregados (D). Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Fonte: Oliveira *et al.* (2018).

Figura 5 - Leucócitos de *P. brachypomus*.

Linfócito (A); Monócito (B); Neutrófilo (C); Heterófilo (D). Corante panótico rápido. Aumento de 1000x.

Fonte: Oliveira *et al.* (2018).

Os efeitos de substâncias genotóxicas sobre o genoma de peixes tem sido objeto de vários estudos (Tabela 1), sobretudo daqueles que buscam estabelecer a resposta dos genes aos estímulos ambientais uma vez que esses indivíduos frequentemente respondem aos tóxicos de forma semelhante aos vertebrados superiores (AL-SABTI & METCALFE, 1995; BÜCKER *et al.*, 2006; KIRSCHBAUM *et al.*, 2009; RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013).

Tabela 1 - Estudos de genotoxicidade ambiental utilizando peixes como bioindicador.

Espécie	Tipos de célula	Técnicas	Autor
<i>Cichla sp.</i>	Eritrócitos	Micronúcleo	Souto, 2004
<i>Centropomus parallelus</i>	Eritrócitos	Ensaio cometa	Paolo, 2006
<i>Prochilodus lineatus</i>	Eritrócitos e Célula das Brânquiais	Micronúcleo, Ensaio cometa, Alterações Eritrocíticas Nucleares	Torrezani, 2009
<i>Astyanax gr. bimaculatus e Aequidens metae</i>	Eritrócitos	Micronúcleo	Corredor-Santamaría <i>et al.</i> , 2016
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Eritrócitos	Teste de micronúcleo e Citometria de Fluxo	Rocha <i>et al.</i> , 2016
<i>Oreochromis niloticus</i>	Eritrócitos	Micronúcleo	Bueno <i>et al.</i> , 2017
<i>Astyanax bifasciatus</i>	Eritrócitos e Fígado	Teste de micronúcleo, Ensaio cometa, Alterações morfológicas nucleares	Wachtel, 2017

Seriani *et al.*, (2011) ao realizarem estudos de toxicidade em parâmetros hematológicas de *Oreochromis niloticus*, em lagoas poluídas, observaram que os peixes coletados apresentaram aumento de eritrócitos imaturos e diminuição de linfócitos, leucócitos totais, neutrófilos e trombócitos.

Em experimento realizado por Akinrotimi *et al.*, (2013) expondo *Tilápia guineenses* em efluentes industriais (óleos vegetais) na Nigéria, observou que a

exposição da espécie a esses tóxicos, causou uma redução significativa na concentração nos valores de hemoglobina, glóbulos vermelhos e no volume de células compactadas, hemoglobina corpuscular média, linfócitos e trombócitos. No entanto esses autores observaram que houve um aumento gradual nos valores de leucócitos, neutrófilos, monócitos e glicemia, à medida que a concentração do efluente aumentou, sugerindo que os efluentes industriais podem causar algum nível de estresse, manifestado por mudanças nos parâmetros hematológicos.

Para a escolha de um determinado bioindicador, algumas características devem ser levadas em considerações: fácil identificação taxonômica; grande tamanho de corpo; mobilidade limitada; características ecológicas conhecidas; categorias taxonômicas mais elevadas (ordem, família, tribo e gênero); fácil amostragem; sensibilidade a pequenas variações ambientais e taxa basal conhecida (RODRIGUES, 2011).

Viana, (2011) afirma que a utilização de biomarcadores relacionada a determinada concentração dos limites de tolerância e dos efeitos dos poluentes nos organismos, permite uma avaliação do nível de transferência dos poluentes na cadeia trófica, uma vez que algumas substâncias poluidoras lançadas nos ambientes aquáticos se acumulam nas espécies com níveis tróficos mais elevados da cadeia alimentar. Além disso, as substâncias podem ser neutralizadas, modificadas ou biotransformadas por meio da biomagnificação trófica, elevando o seu potencial tóxico (LOPES-POLEZA, 2004; KASPER *et al.*, 2007; TERRA *et al.*, 2008). Desta forma, os organismos predadores são os mais afetados pela contaminação da água por possuir maior probabilidade de afetar a saúde do homem, pelo consumo de pescado contaminado (LAWRENCE & HEMINGWAY, 2003).

Dentre as vantagens do uso de peixes como bioindicador de qualidade ambiental é que estes apresentam vários hábitos alimentares (onívoros, herbívoros, insetívoros, planctívoros, piscívoros) e utilizam alimentos tanto do meio aquático quanto terrestre. Além disso, são relativamente fáceis de coletar e identificar e, por serem consumidos por humanos, os torna valiosos para identificar e quantificar o risco ecológico e a saúde pública (VIANA, 2011).

1.6 Descrição da pescada branca - *Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840

A ictiofauna brasileira compreende aproximadamente 2.300 espécies de peixes de água doce e 1.298 espécies marinhas conhecidas (REIS *et al.*, 2003). No

entanto, o conhecimento sobre a diversidade desta fauna é ainda incompleto e, portanto, é de se prever que a riqueza total efetiva seja ainda muito maior. Estima-se que a bacia Amazônica abrigue a maior diversidade de peixes de água doce do planeta, tendo sua ictiofauna constituída principalmente por espécies de Characiformes, Siluriformes, Perciformes e Gymnotiformes (ROBERTS, 1996; CARVALHO *et al.*, 2007; LÉVÊQUE *et al.*, 2008; ROJAS & RUMIZ, 2008; ROSA & LIMA, 2008).

A ordem Perciformes é considerada a maior entre os vertebrados e a mais diversificada entre os peixes. Apresenta uma enorme diversidade de espécies dominantes em águas tropicais e subtropicais. Essa ordem é composta por 20 subordens, 160 famílias, cerca de 1.496 gêneros e mais de 10.000 espécies, incluindo muitos teleósteos marinhos e dulcícolas de importância econômica (NELSON, 1994; ACCIOLY, 2007; BAUMGARTNER *et al.*, 2012; BONECKER *et al.*, 2014).

Dentro desta ordem, destaca-se a família Sciaenidae (Owen, 1846), a qual possui espécies de grande importância comercial em todo o mundo, sendo composta por 78 gêneros e 287 espécies predominantemente marinhas e estuarinas, e em número menor de espécies dulcícolas. Atualmente, são conhecidos quatro gêneros estritamente de água doce e endêmicos da América do Sul que ocorrem em águas interiores da Amazônia: *Pachyurus* La Cepède, *Pachypops* Gill, *Petilipinnis* Casatti e *Plagioscion* Gill (CASATTI, 2003; PIORSKI *et al.*, 2004; CASATTI, 2005).

As espécies do gênero *Plagioscion* são endêmicas à água doce da América do Sul, onde estão distribuídas nos rios Amazonas, Magdalena (Colômbia), Orinoco e rios das Guianas. Essas espécies apresentam um alto valor comercial na região amazônica tanto na pesca estuarina quanto na pesca de água doce, sendo consumida pela população ribeirinha e muito comercializada nos mercados e feiras da região. Comparado a outros gêneros de cianídeos de água doce, é o mais comum e importante recurso pesqueiro na bacia amazônica (FERREIRA *et al.*, 1998; SANYO MARINE TECHNO, 1998; REIS *et al.*, 2003; SOARES *et al.*, 2008; PINAYA *et al.*, 2016).

Na mais recente revisão realizada por Casatti (2005), baseado em características merísticas e morfométricas, o gênero *Plagioscion* é representado por cinco espécies consideradas válidas: *P. auratus*, *P. magdalенаe*, *P. ternetzi*, *P.*

montei e *P. squamosissimus*. Para Annibal (1983 apud Galletti, 2009 p.6) no rio Amazonas, todas as espécies do gênero *Plagioscion* são denominadas “pescadas” embora possam receber nomes diferentes de acordo com a região do Brasil e a espécie.

Conhecida popularmente no Brasil como pescada branca, pescada do Piauí ou corvina, *P. squamosissimus* foi descrita pela primeira vez por Heckel (1840) com o nome de *Sciaena squamosissima*. No entanto, após uma revisão realizada por Jordan e Eigenmann (1889) a espécie recebeu a nomenclatura atual. Após a descrição feita por Heckel, essa espécie já foi estudada por vários autores e mesmo depois de ter sido enquadrada no gênero *Plagioscion*, recebeu outros nomes específicos em diferentes trabalhos.

1.6.1 Caracteres morfológicos

Morfológicamente, *P. squamosissimus* (Fig. 6) é caracterizada por apresentar corpo alongado, boca terminal com abertura inclinada, maxila superior ligeiramente inclinada e dentes cônicos e pontiagudos distantes, com vários dentes diminutos entre eles em uma única fileira, em ambas as maxilas (RAGAZZO, 2002; SIQUEIRA-SOUZA *et al.*, 2006). Em descrição feita por Wallace (1852 apud GALETTI, 2009), essa espécie apresenta coloração grafite metálico no dorso e branco prateado no ventre além de possuir uma mancha escura na base das nadadeiras peitorais as quais não alcançam o ânus.

Figura 6 - Vista lateral da pescada branca (Heckel, 1840).

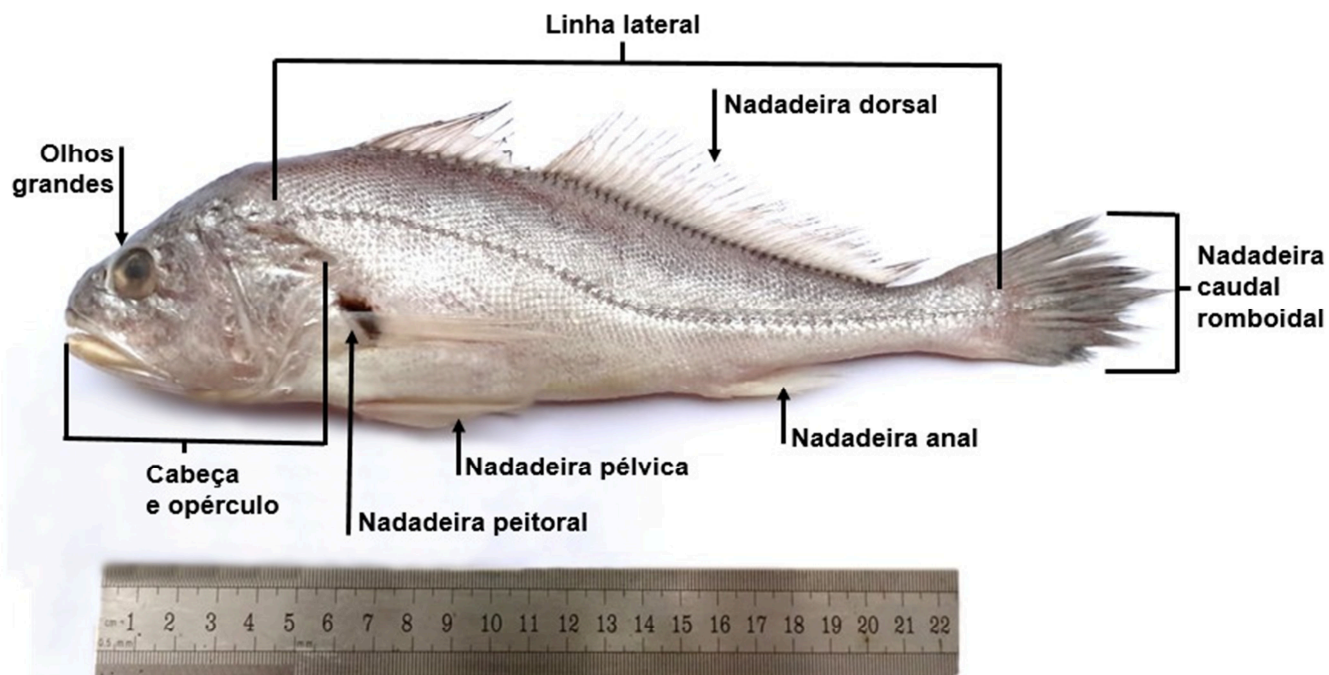


Fonte: a autora.

Possui 30-34 raios dorsais dotados de 11 espinhos, nadadeira dorsal com 10 espinhos e 35 raios ramificados, nadadeira anal com dois espinhos e seis raios ramificados, sendo que o segundo espinho da nadadeira anal é curto, fino e menor que os raios moles seguintes (GOULDING, 1980; CASATTI, 2003; COSTA *et al.*, 2008). A coluna vertebral estende-se até a nadadeira caudal com linha lateral ondulada, elevada, desenhando um contorno até a extremidade da cauda que possui de 49-53 escamas grandes e recobertas por outras menores (RAGAZZO, 2002; SIQUEIRA-SOUZA *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2008). Possui olhos grandes moderadamente arredondados (COSTA *et al.*, 2008), que segundo Hahn *et al.*, (2008) deve facilitar a predação visual, durante os períodos diurnos.

A cabeça e o opérculo são inteiramente cobertos por escamas. A coloração da cabeça é prateada e escura com reflexos metálicos no topo. O opérculo é externo e pontiagudo com uma margem larga de pele. Essa espécie possui dois pares de narinas próximas aos olhos. As nadadeiras são brancas e escuras e a nadadeira caudal é romboidal e levemente lanceolada. As escamas são ligeiramente elípticas do tipo ctenóides, dispostas em fileiras diagonais, horizontalmente, um tanto maiores embaixo do que acima da linha lateral (Fig. 7) (WALLACE, 1852 apud GALETTI, 2009 p. 6).

Figura 7 - Esquema da pescada branca (Heckel, 1840).



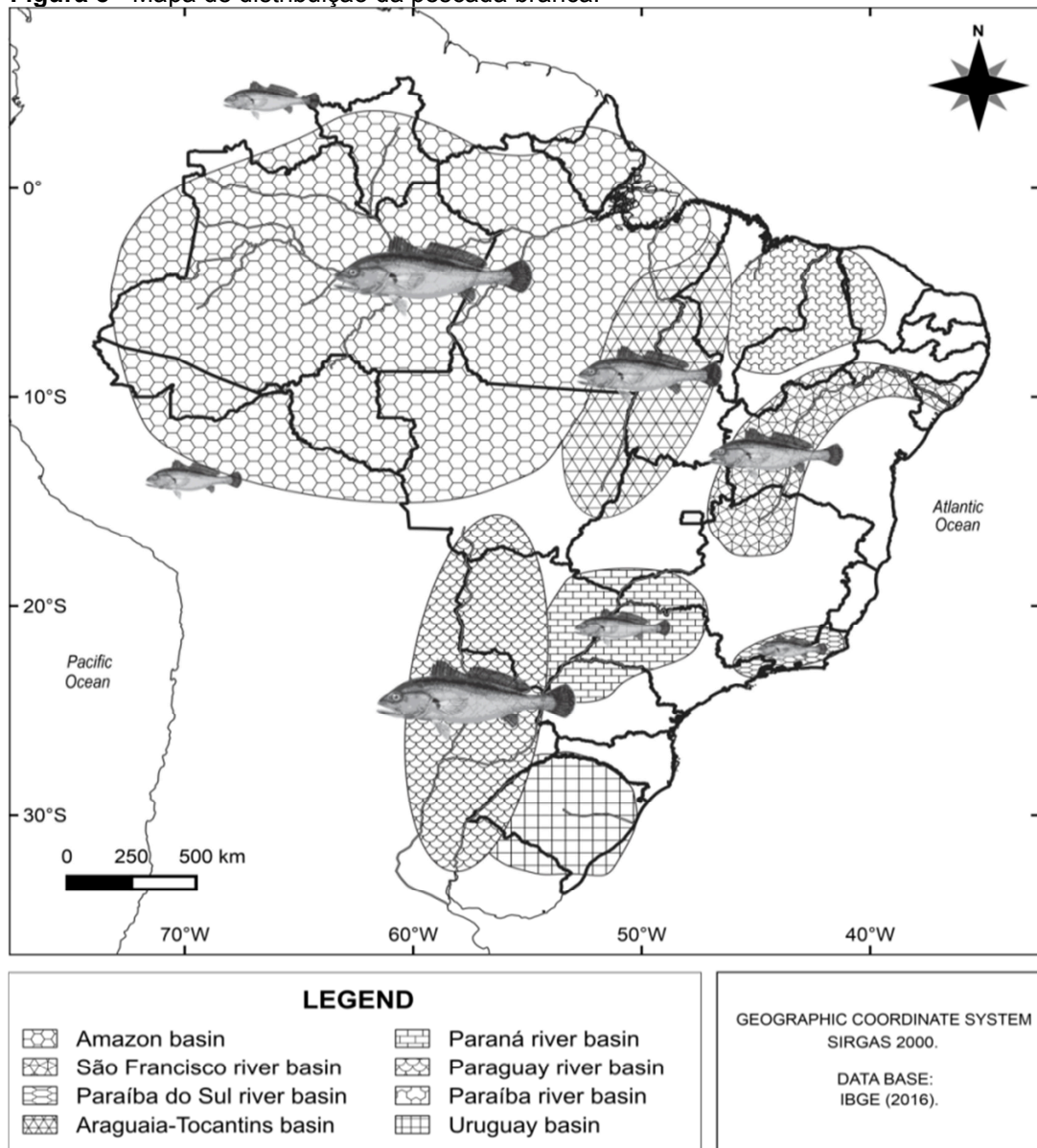
Fonte: a autora.

1.6.2 Ecologia

1.6.2.1 Distribuição e habitat

P. squamosissimus é originária da bacia Amazônica, amplamente distribuída nas bacias do rio da América do Sul (Fig. 8), ocorrendo no rio Orinoco, rios das Guianas e do Brasil. No Brasil a espécie ocorre na bacia Amazônica, Tocantins-Araguaia e em áreas onde foi introduzida como nas bacias do São Francisco, Prata, Rio Paraná e açudes do Nordeste (AGOSTINHO *et al.*, 2004; PEREIRA, 2011).

Figura 8 - Mapa de distribuição da pescada branca.



Fonte: a autora.

1.6.2.2 Hábito comportamental

A pescada branca tem habitat bentopelágico noturno, ocupando variados biótopos como lagos, margens dos rios de águas brancas, claras, pretas e mistas, ocorrendo preferencialmente em águas paradas e em zonas profundas (SIQUEIRA-SOUZA *et al.*, 2006; JURAS *et al.*, 2007; FROESE & PAULY, 2010). Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (2005), os indivíduos dessa espécie vivem em grandes cardumes no fundo ou na meia água, sendo encontrada principalmente na porção central de lagos, lagoas, açudes e praias arenosas de rios. É uma espécie oportunista, classificação dada a peixes de tamanho relativamente pequeno, r-estrategista, com ciclo de vida curto e sem comportamento migratório (RUFFINO & ISAAC, 2000).

Para Melo, (2013) no período da seca (os quais os rios apresentam os níveis mais baixos de água), essa espécie pode ser encontrada em lagos formados nos rios ou regiões alagadas, ou nos cursos de água, o que para Goulding (1980), pode estar relacionado com a busca de alimentos ou desova, no entanto, esse autor afirma que não existem relatos de migração para a cabeceira do rio. Já Granado-Lorencio *et al.*, (2005) consideram essa espécie sedentária, pois não se conhecem movimentos sistemáticos e sazonais por motivos tróficos ou reprodutivos.

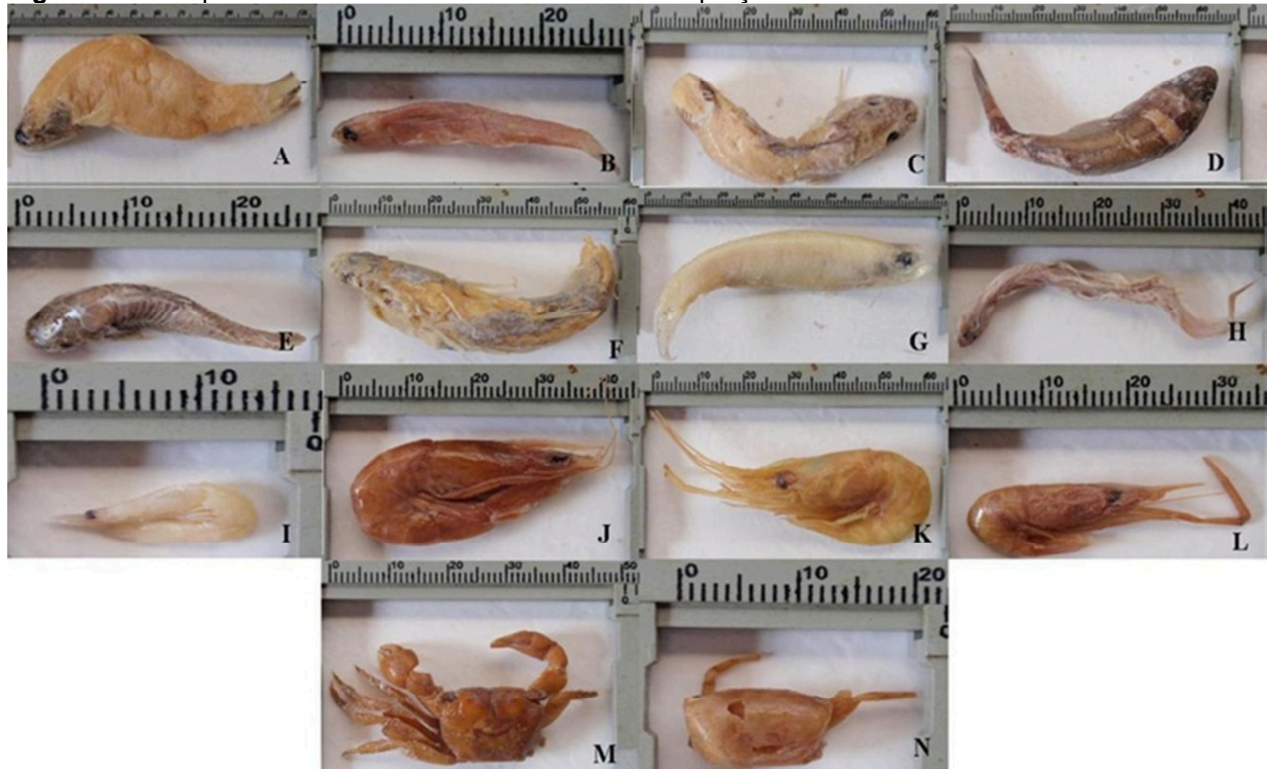
1.6.2.3 Hábito alimentar

P. squamosissimus é carnívora, predadora de topo, tendo o peixe como alimento principal na sua dieta na fase adulta, enquanto que os juvenis tem preferência por larvas de camarões, insetos aquáticos e copépodos (PALOMARES, 1991; FROESE & PAULY, 2010). Bennemann *et al.*, (2006) agruparam os recursos alimentares de *P. squamosissimus* em seis categorias: peixes, camarões, Odonata, Ephemeroptera, bem como, outros grupos de insetos e diversos (constituída de restos de vegetais, detritos e organismos que foram raramente encontrados). Para Galletti, (2009) mesmo tendo preferência por peixes, *P. squamosissimus* tem uma dieta oportunista com a redução do alimento principal, substituindo-o por outro alimento que esteja em abundância, dependendo das condições ambientais.

Em estudo sobre o uso do ambiente e a plasticidade alimentar de *P. squamosissimus* realizado por Mesquita (2011) na porção interna do estuário amazônico (Rio Pará, Baía do Guajará e Baía do Marajó), os resultados mostraram

que todas as áreas analisadas são utilizadas para a alimentação, uma vez que mais da metade dos estômagos analisados possuíam alimento dos quais os crustáceos foram dominantes na dieta, com destaque para o *Macrobrachium amazonicum* e *Acetes paraguayensis* seguido de teleósteos (Fig. 9).

Figura 9 - Principais itens da dieta da Pescada branca na porção interna do estuário amazônico.



A - *Anchoa spinifer*; B - *Anchovia surinamensis*; C - Cichlidae; D - *Crenicichla* sp.; E - *Hoplosternum littorale*; F - *Mugil* sp.; G - *Pellona* sp.; H - Perciformes; I - *Acetes paraguayensis*; J - *Macrobrachium acanthurus*; K - *Macrobrachium amazonicum*; L - *Macrobrachium surinamicum*; M - *Sesarma rectum*; N - *Uca* sp.

Fonte: Mesquita (2011).

Segundo a autora supracitada, a variação na dieta está relacionada ao tamanho dos indivíduos capturados e à plasticidade trófica da pescada branca. Com relação aos períodos sazonais (chuvoso, transição chuvoso-seco, seco e transição seco-chuvoso), a autora observou que o período chuvoso apresentou o maior número de indivíduos com estômagos cheios, principalmente nos exemplares capturados no rio Pará e baía do Guajará. Os igarapés apresentaram intensa atividade alimentar (com predominância de crustáceos) quando comparados ao canal (com predominância de teleósteos), uma vez que há maior disponibilidade de alimento nessas áreas.

Além disso, os indivíduos jovens de *P. squamosissimus*, utilizam a baía do Guajará como principal área de alimentação, e os adultos as duas outras áreas (Rio

Pará e baía do Marajó). A autora afirma ainda que a espécie possui hábito alimentar oportunista, consumindo o item alimentar disponível no ambiente.

1.6.2.4 Reprodução

Essa espécie apresenta desova parcelada e fecundação externa, reproduzindo-se o ano todo, com maior intensidade no período de enchente no Rio Amazonas (ANNIBAL, 1983). Geralmente, essa espécie libera óvulos flutuantes em águas paradas que se espalham no ambiente, onde posteriormente se desenvolvem (SUZUKI, 1992; SIQUEIRA-SOUZA *et al.*, 2006; SOARES *et al.*, 2008) com períodos mais intensos nos meses entre outubro e fevereiro (BRAGA, 1998) o que corresponde com às épocas de alta precipitação pluviométrica, elevadas temperaturas e dias mais longos e coincide com o período reprodutivo da maioria dos peixes tropicais de água doce (FERREIRA & GODINHO, 1990).

Segundo Carnelós & Benedito-Cecilio, (2002) essa espécie atinge a primeira maturação sexual (L_{50%}) com 160mm de comprimento total (CT) e o L_{100%} foi estimado em 225mm de CT. Barbosa (2009), encontrou valores de L_{50%} de 16,14 cm de comprimento total para as fêmeas e 21,43 cm para os machos no porto de Vila do Conde em Barcarena-PA com proporção sexual de 1:1. A mesma autora observou que os picos de reprodução ocorreram nos meses de Outubro a Novembro e de Fevereiro a Março, coincidindo com um pico de abundância dessa espécie no local de estudo, indicando que a mesma está na área para a reprodução. Para Viana, (2006) a abundância de peixe nesses períodos pode ser influenciada pelo aumento da oferta alimentar ou pelo ciclo reprodutivo das espécies ocorrentes na baía do Marajó.

Em estudos realizados por Mojica, (2011) analisando os aspectos reprodutivos de *P. squamosissimus* cultivada em tanque rede no lago do Catalão/Manaus-AM, foi observado que os machos utilizam sua bexiga natatória desenvolvida como câmara de ressonância das vibrações do músculo sonoro extrínseco para produzirem os roncões, identificados para a corte reprodutiva.

Segundo esse autor, esse músculo está sempre presente em indivíduos machos adultos, e foi observado que existe uma hipertrofia do músculo com respeito à maturação das gônadas. Assim, quando as gônadas alcançam um estado avançado de maturação, o músculo apresenta bastante irrigação sanguínea devido a sua cor avermelhada intensa podendo produzir chamados mais longos.

Para Mojica, (2011) quando o músculo sonoro está totalmente desenvolvido envolve por completo a gônada e demais órgãos. Provavelmente, seu desenvolvimento é maior durante a época de reprodução onde poderá englobar toda a bexiga natatória e vísceras. Além disso, os machos começam a emitir o som no final da tarde e os machos maduros são capazes de produzir sons mais longos que machos em processo de maturação. Esse autor não visualizou o músculo emissor de sons nas fêmeas, no entanto, observou que estas produzem sons possivelmente através dos dentes faríngeos.

Os ovários de *P. squamosissimus* são do tipo cistovariano com prolongação no sentido craniocaudal, unindo-se na porção distal formando um único oviduto, por onde são liberados os ovócitos e os testículos com formato lobular unindo-se na porção distal, formando um ducto espermático estendendo-se até a papila urogenital por onde os espermatozoides são liberados. Os ovários são envolvidos por lâminas de peritônio que os prendem à cavidade celomática e à bexiga natatória. Além disso, os ovários e os testículos diferem de tons de coloração, tamanho e vascularização de acordo com os estágios gonadais (Fig. 10 e 11), respectivamente (BARBOSA, 2009; MOJICA, 2011).

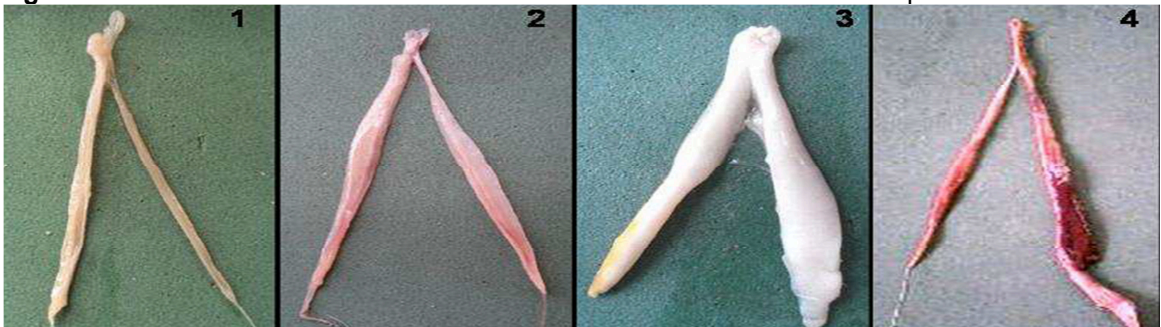
Figura 10 - Gônadas de fêmeas de Pescada branca classificadas macroscopicamente.



Estádios A-imaturo (1); B- em maturação (2); C-maduro (3) e D – desovado (4).

Fonte: Barbosa (2009).

Figura 11 - Gônadas de machos de Pescada branca classificadas macroscopicamente.



Estádios A-imaturo (1); B- em maturação (2); C-maduro (3) e D – desovado (4).

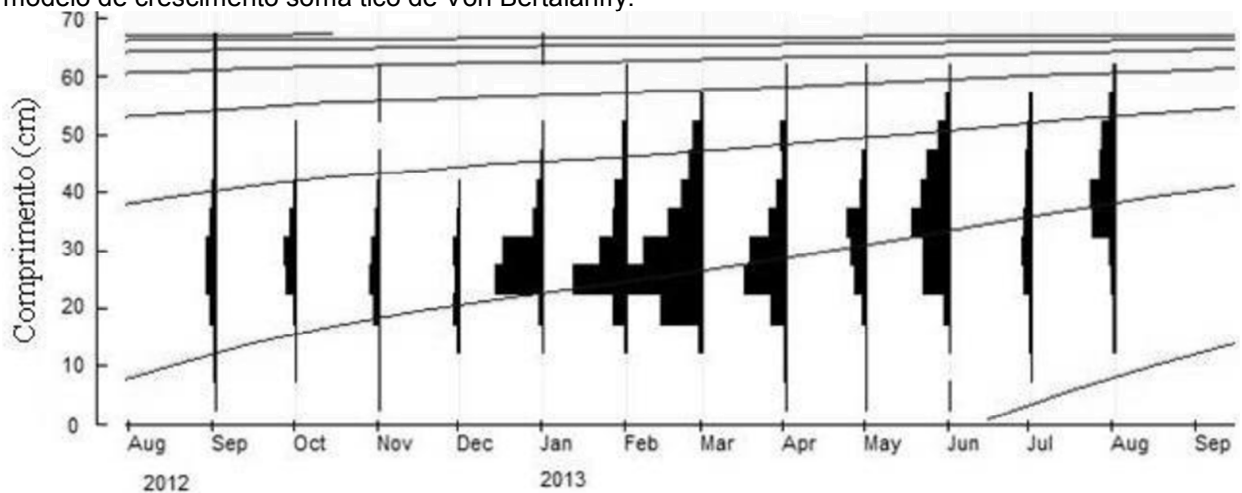
Fonte: Barbosa (2009).

1.6.2.5 Dinâmica do crescimento

Segundo Galetti, (2009) indivíduos adultos da pescada branca podem alcançar mais de 25 cm de comprimento e 0,35 Kg, com comprimentos máximos observados de 55,5 cm e 3,73 Kg e 59 cm e 5,45 Kg para machos e fêmeas, respectivamente. Para Loubens, (2003) na maioria dos espécimes analisados foi possível observar tamanhos e pesos maiores para as fêmeas. Em Vila do Conde, em Barcarena-PA, Barbosa, (2009) encontrou indivíduos variando de 15 a 63 cm.

Mesquita, (2014) usando o método de Bhattacharya no rio Xingu encontrou pelo menos três classes etárias presentes na população de pescada branca. Com a rotina Elefan I (Fig. 12) observou a existência de uma coorte anual, com entrada na população (desova), em junho, que vive por aproximadamente cinco ou seis anos. A espécie apresentou um padrão de crescimento somático associado a uma pequena oscilação na taxa de crescimento (C). O ajuste encontrado com essa rotina resultou nos seguintes parâmetros de crescimento: $L_{inf} = 68,25$ cm, $K = 0,70 \text{ ano}^{-1}$ e $C = 0,3$. A taxa de crescimento anual é mais lenta durante o mês de fevereiro, indicado pelo valor do Winter Point que foi de 0,16. O recrutamento deve ocorrer entre os meses de outubro e abril, com um pico no mês de dezembro (Fig. 12).

Figura 12 - Gráfico da rotina ELEFAN I, mostrando as sequencias mensais das frequências de comprimento total (cm) de *P. squamosissimus*, capturados no Rio PA entre 2012 e 2013 e o ajuste do modelo de crescimento somático de Von Bertalanffy.



Fonte: Mesquita (2014).

A menor longevidade calculada foi de 4,54 anos e a maior de 5,34 ano, com média de 5,05 anos. Worthmann (1979 apud Mesquita, 2014), realizou estudo de crescimento utilizando otólitos de pescada branca e observou que os indivíduos

dessa espécie encontrados em rios de águas pretas tendem a ser menores que os encontrados em águas brancas, devido às diferenças na disponibilidade de cálcio e alimento nesses tipos de ambientes, como da mesma forma, existem diferenças significativas entre os indivíduos capturados em reservatórios e os encontrados na natureza.

1.6.2.6 Mortalidade

A espécie demonstrou ter índices muito elevados de exploração, se encontrando já em estado de insustentabilidade com valores de mortalidade total (Z) $3,5 \text{ ano}^{-1}$, natural (M) $1,17 \text{ ano}^{-1}$, por pesca (F) 1,88 e taxa de exploração (E) de $0,62 \text{ ano}^{-1}$ na região do Xingu (MESQUITA, 2014).

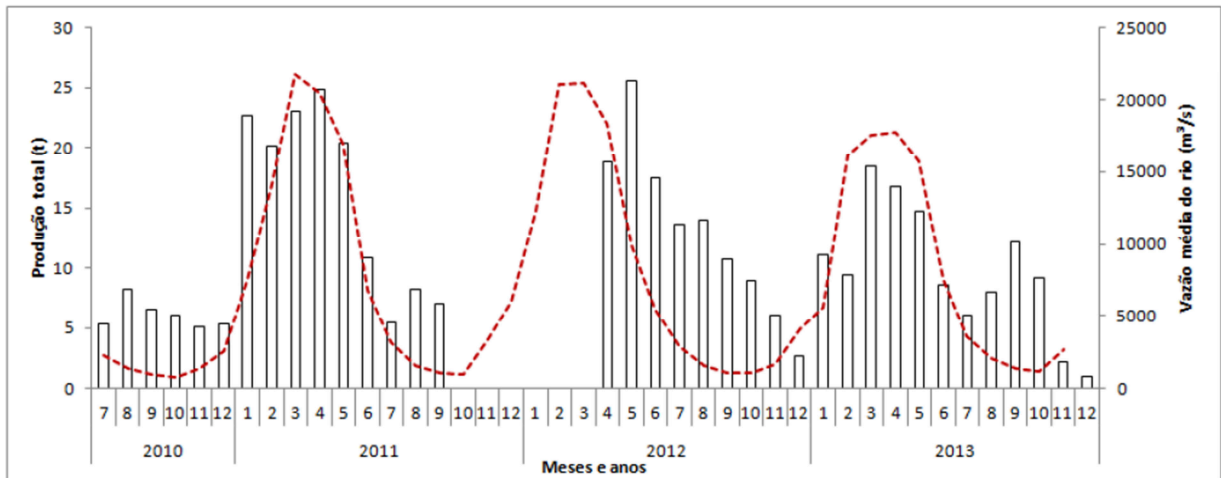
1.6.2.7 Pesca da pescada branca na região Norte

No ano de 1995 a pescada apresentou-se entre os peixes de maior valor comercial (preço no varejo) depois do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e do pirarucu (*Arapaima gigas*), e igualado ao do tucunaré (*Cichla spp*) no comércio de Manaus (PARENTE & BATISTA, 2005). Além disso, foi a principal espécie desembarcada em Marabá/PA no período de 1992 a 1995 e a terceira em Tucuruí onde juntamente com o tucunaré é mais valorizada no mercado e rendeu milhões para economia pesqueira nesse período para a região (GALLETTI, 2009).

Em estudos realizados por Pinheiro & Frédou, (2004) caracterizando a pesca industrial desembarcada no Estado do Pará nos anos de 2001 e 2002, mostrou que a pescada branca estava entre os principais representantes da fauna acompanhante da piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) com uma porcentagem de 0,68 em 2001 e 0,51 em 2002 do total capturado.

Entre julho de 2010 a dezembro de 2013, houve um total desembarcado de aproximadamente 415 toneladas (t) de pescada branca no rio Xingu (MESQUITA, 2014). Essa autora observou que a pesca da pescada branca apresentou caráter sazonal, oscilando conforme o nível do rio uma vez que durante o período de enchente e cheia (dez - abr) a produção atingiu seu máximo, diminuindo à medida que a vazão do rio diminuía (Fig. 13).

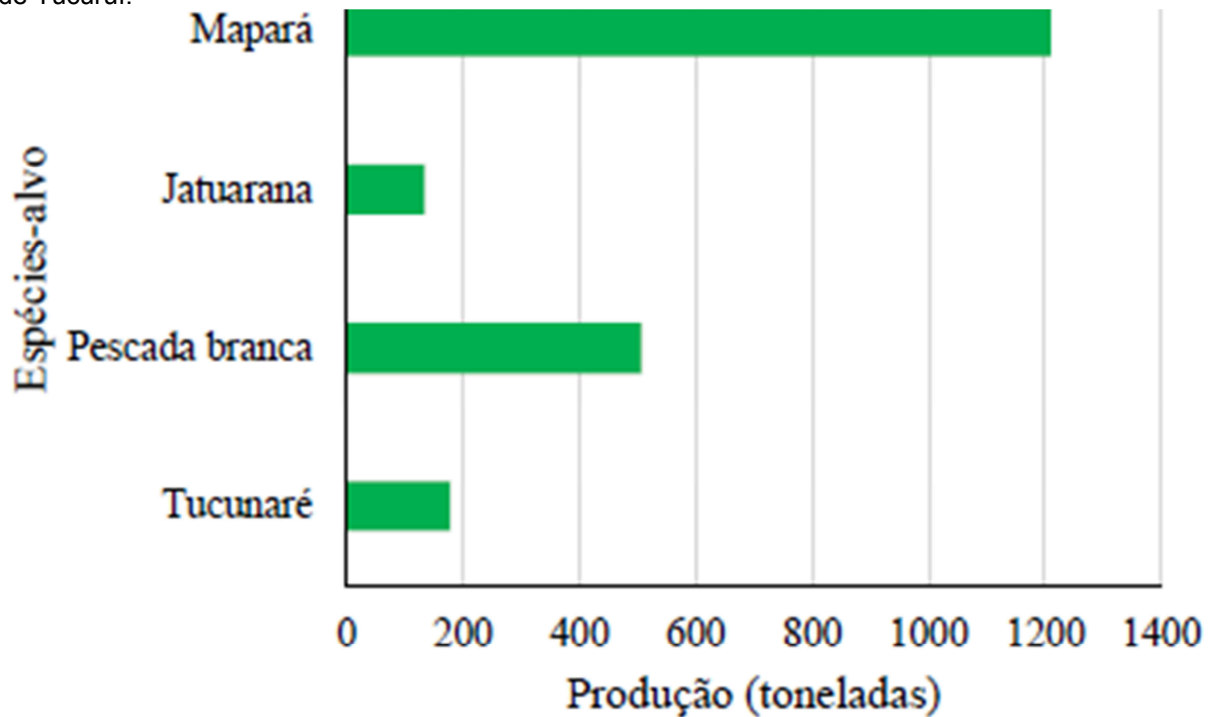
Figura 13 - Produção total de pescada branca (t) desembarcada nos portos do rio Xingu, por mês e ano, no período de julho de 2010 a dezembro de 2013 e vazão média do rio (em vermelho). Nos meses sem dados, não houve coleta.



Fonte: Mesquita (2014).

Em 2017 e 2018 a pescada branca representou a segunda espécie com maior produção desembarcada no lago de Tucuruí com uma produção de 506,79 toneladas (Fig.14) (RAMOS, 2019).

Figura 14 - Produção em toneladas das espécies-alvo desembarcada nos anos 2017 e 2018 no lago de Tucuruí.

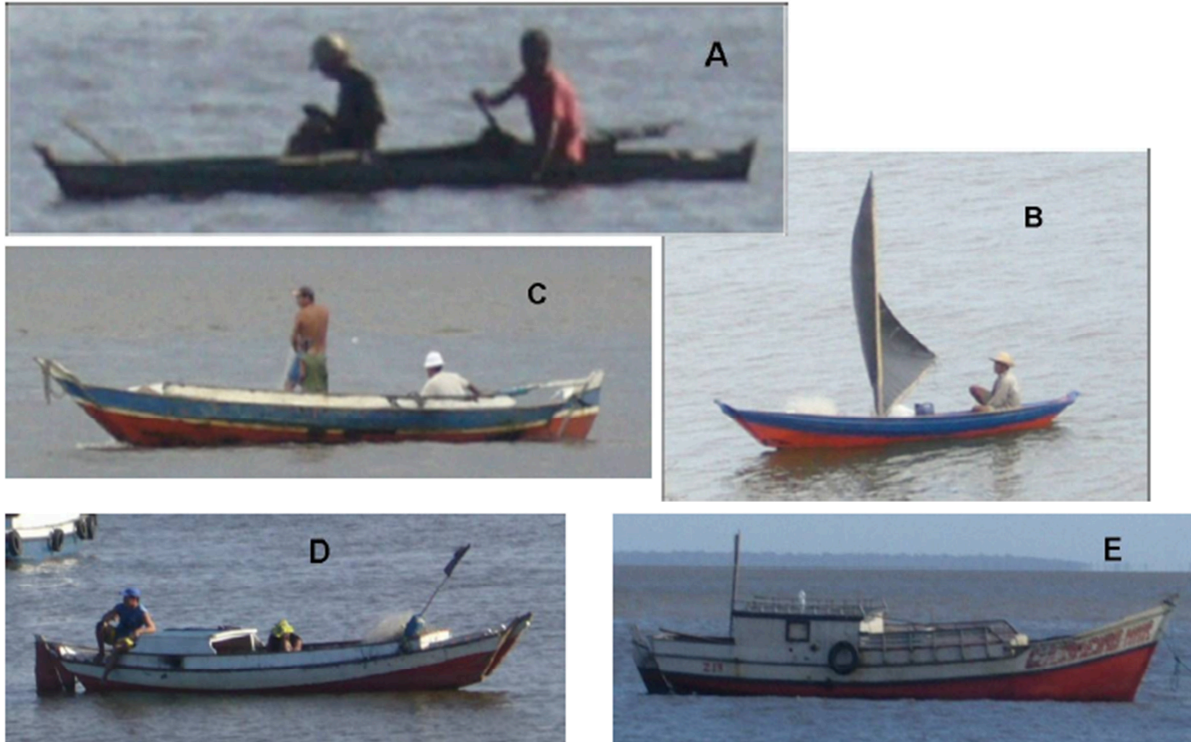


Fonte: Ramos (2019).

A captura da pescada branca na região Norte é realizada com barcos de pequeno (BPP) e média (PMP) porte, canoas movida à vela, canoa motorizada

(CAM) e montarias (Fig. 15). As artes de pesca mais utilizadas são: rede de emalhar de mono e multifilamento, espinhel e anzol. Em Barcarena, a arte de pesca mais utilizada para a captura dessa espécie é a rede de emalhar de mono e multifilamento com malhas variando entre 25mm a 60mm entre nós opostos sendo destinada para o consumo próprio e para a comercialização (PAZ, 2007; BARBOSA, 2009).

Figura 15 - Tipos de embarcações utilizadas na pesca da pescada branca.

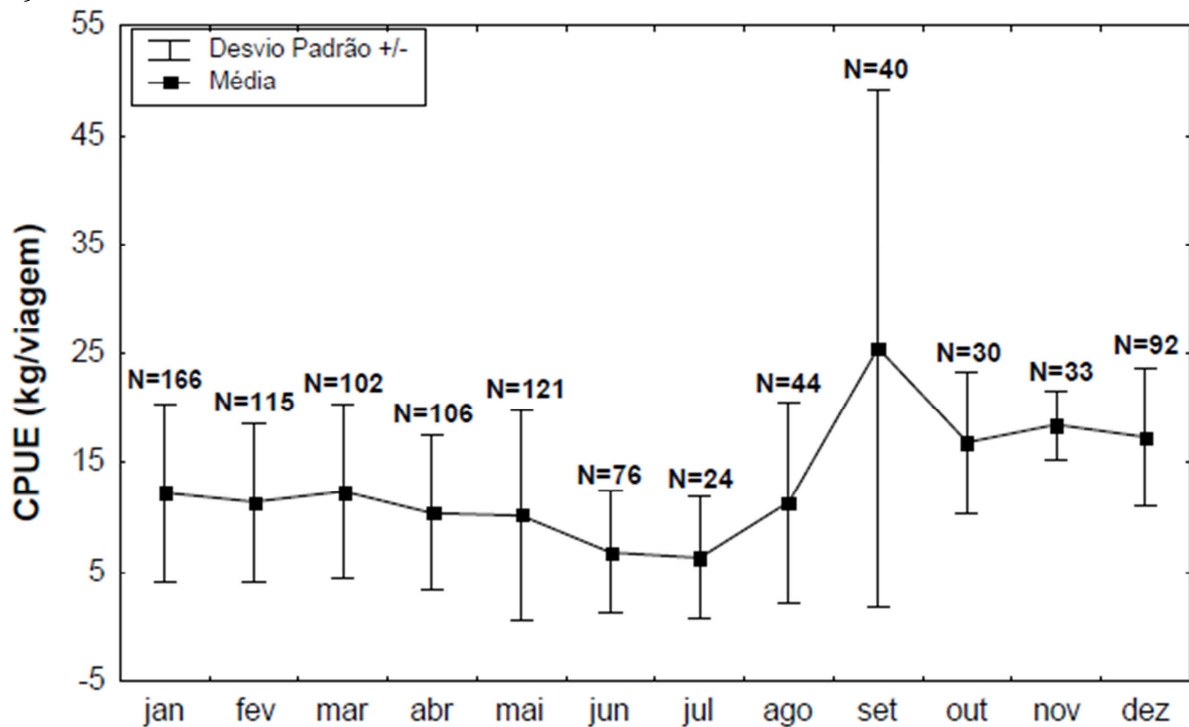


Montaria (A); Canoa (B); Canoa motorizada (C); Barco de pequeno porte (D); Barco de pequeno porte (E).

Fonte: Paz (2007).

Paz, (2007) realizou estudos de captura por unidade de esforço (CPUE) na área adjacente ao terminal do porto de Vila do Conde e observou que a pescada branca foi regular durante todo o ano representando 34% do desembarque, sendo a rede de emalhar mais produtiva que o espinhel. Os maiores valores de CPUE foram registrados nos meses de julho e agosto com CPUE de 25 e 20 Kg/viagem respectivamente e os menores em maio com 7 Kg/viagem (Fig. 16).

Figura 16 - Valores de CPUE por mês da pescada branca e número de viagens na área adjacente ao terminal de Vila do Conde no ano de 2006.



N: número de desembarques com registro da espécie

Fonte: Paz (2007).

A pescada branca ocupou o segundo lugar dentre as principais espécies comerciais em Vila do Conde segundo Paz, (2007) com uma produção de 57.219 kg capturados no ano de 2006, tendo a maior produção no mês de setembro com 10.021 kg com destaque para a frota de barco de médio porte com 23.033 kg (Tabela 2 e 3).

Tabela 2 - Valores de CPUE por mês da pescada branca e número de viagens na área adjacente ao terminal de Vila do Conde no ano de 2006.

MÊS	DOURADA	FILHOTE	P. BRANCA	SARDA	OUTRAS	TOTAL (KG)	%
Jan	5.729	897	4.687	1.169	2.780	15.262	7
Fev	4.478	898	4.750	1.758	1.545	13.429	7
Mar	2.650	2.389	2.677	1.637	2.222	11.576	6
Abr	6.207	1.780	4.612	1.547	4.490	18.635	9
Mai	6.353	603	3.276	796	4.539	15.567	8
Jun	6.657	1.053	4.849	0	9.450	22.009	11
Jul	3.766	636	2.047	0	2.069	8.518	4
Ago	3.312	0	5.703	0	3.491	12.506	6
Set	11.129	0	10.021	0	0	21.150	10
Out	10.190	11.614	8.556	10.734	7.369	48.463	23
Nov	3.179	2.192	4.322	1.677	2.066	13.435	7
Dez	1.349	1.396	1.719	711	684	5.860	3
Total	64.998	23.459	57.219	20.028	40.705	206.409	100
%	31	11	28	10	20	100	

Fonte: Paz (2007).

Tabela 3 - Produção estimada em quilogramas para o município de Barcarena em relação aos tipos embarcação por espécie.

TIPO	DOURADA	FILHOTE	P. BRANCA	SARDA	OUTRAS	TOTAL (KG)	%
BMP	7.139	1.085	23.033	9.479	6.097	46.833	23
BPP	14.734	8.140	21.311	9.153	23.564	76.902	37
CAM	12.715	7.614	1.313	1.396	6.050	29.087	14
CAN	18.344	1.949	6.878		2.376	29.547	14
MON	12.066	4.672	4.683		2.619	24.040	12
TOTAL	64.998	23.459	57.219	20.028	40.705	206.409	100
%	31	11	28	10	20	100	

Fonte: Paz (2007).

A renda da pescada branca por embarcação no ano de 2006 foi de R\$ 196 mil em Barcarena, participando dos desembarques de todas as categorias de embarcação e artes de pesca (Tabela 4). Não foi possível observar um período de safra definido para a pescada branca em Vila do Conde, uma vez que a safra foi regular durante todo o ano.

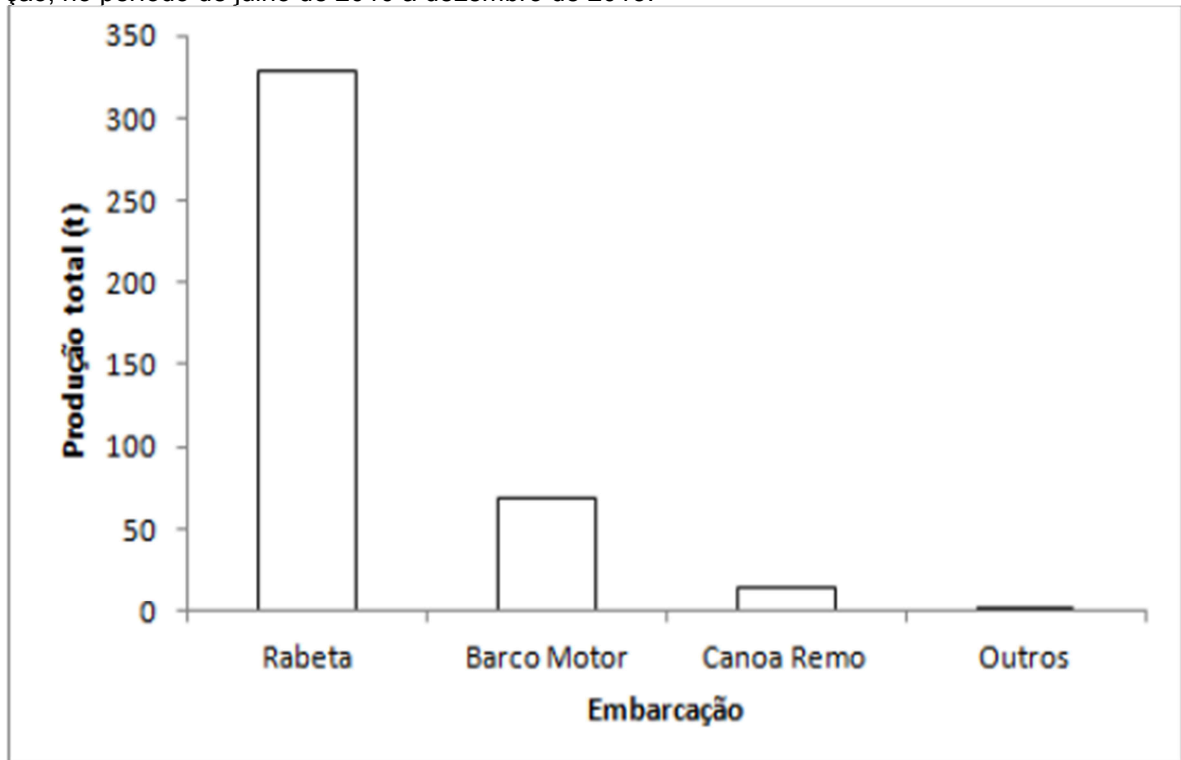
Tabela 4 - Estimativa de renda por categoria de embarcação e principais espécies desembarcadas no município de Barcarena.

TIPO	DOURADA	FILHOTE	P. BRANCA	SARDA	OUTRAS	TOTAL	%
BMP	22.696	1.639	71.479	19.810	11.417	127.043	18
BPP	103.974	39.469	91.522	22.728	36.155	293.849	41
CAM	65.730	26.617	3.083	3.534	13.799	112.763	16
CAN	78.452	6.328	17.251	0	1.696	103.726	14
MON	63.566	7.300	12.493	0	3.691	87.051	12
TOTAL	334.419	81.353	195.829	46.072	66.758	724.431	100
%	46	11	27	6	9	100	

Fonte: Paz (2007).

No rio Xingu, as canoas movidas com motores tipo rabeta foram as embarcações mais utilizadas para a captura dessa espécie no período de julho de 2010 a dezembro de 2013, com cerca de 79 % da produção total (329 t), seguidas dos barcos motorizados com 16% (69 t). Canoas a remo e outros tipos de embarcações (geleiras, voadeira) totalizaram o restante dos desembarques, com menos de 4% (16t) (Fig. 17) (MESQUITA, 2014).

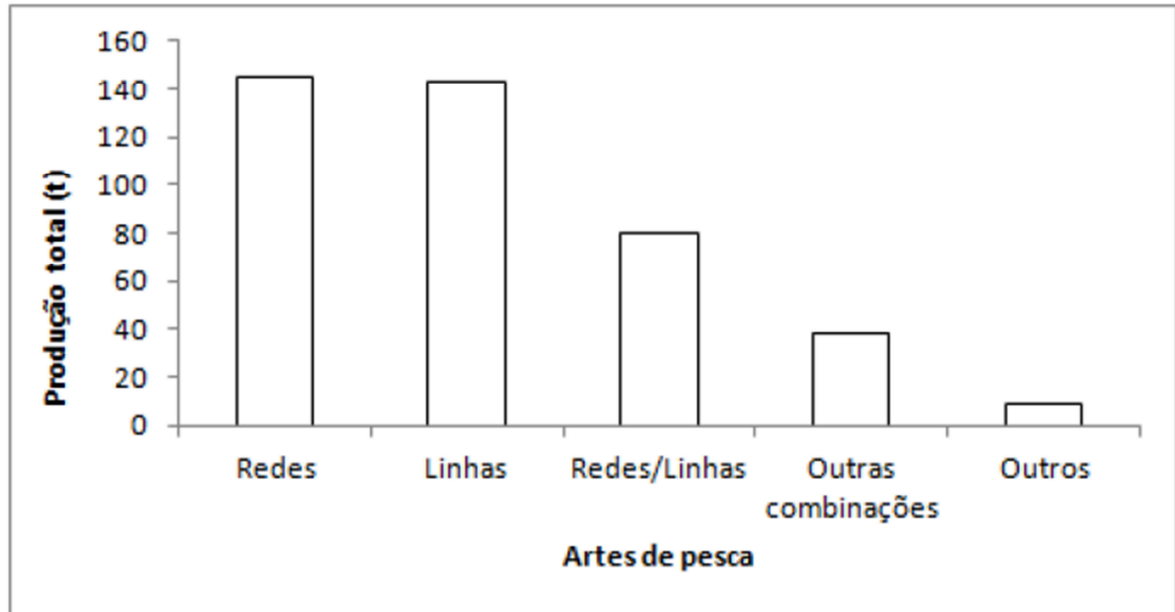
Figura 17 - Produção total de pescada branca (t) desembarcada no rio Xingu por tipo de embarcação, no período de julho de 2010 a dezembro de 2013.



Fonte: Mesquita (2014).

Com relação aos apetrechos as redes e linhas foram os apetrechos mais importantes na captura da pescada branca, correspondendo a 35% (145 t) e 34% (142 t), respectivamente. A combinação de redes com linhas contabilizou 19 % (80 t). Enquanto, os outros apetrechos corresponderam a 11 % da produção, entre os quais se encontram espinhéis, mergulho livre e outras combinações de apetrechos (Fig. 18).

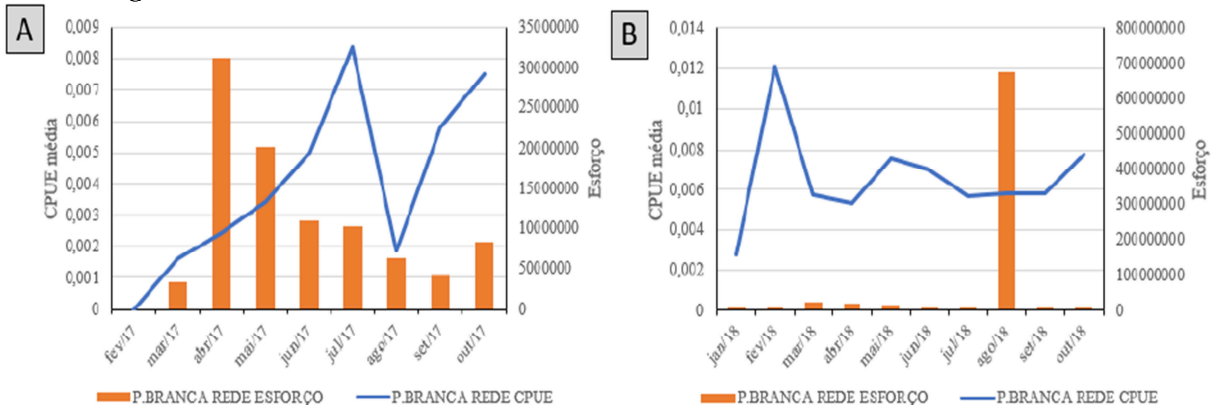
Figura 18 - Produção total de pescada branca (t) desembarcada nos portos do rio Xingu por arte de pesca, no período de julho de 2010 a dezembro de 2013.

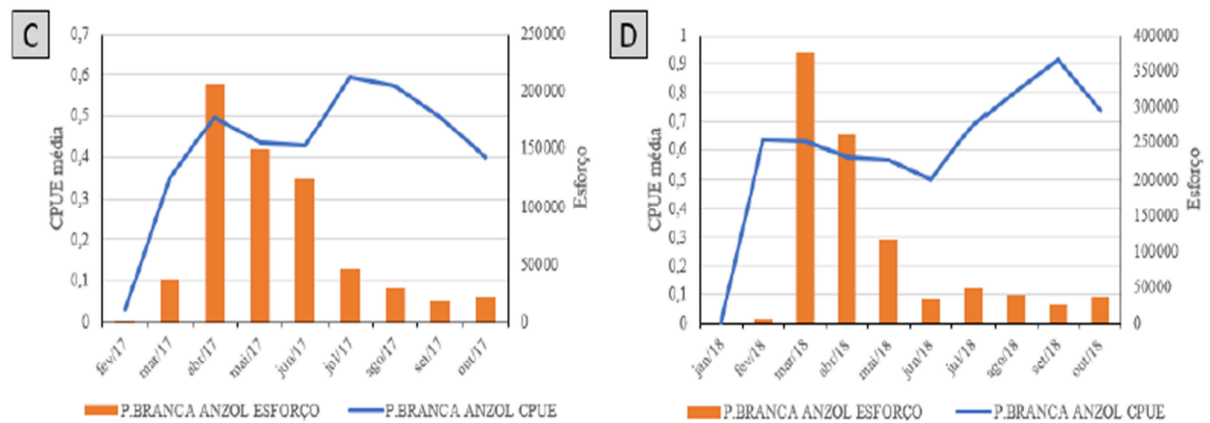


Fonte: Mesquita (2014).

Em 2017 a captura da pescada branca com anzol apresentou maior abundância no mês de julho no lago de Tucuruí, e o mês de abril ocorreu o maior esforço. Em 2018 a maior abundância ocorreu no mês de setembro e o maior esforço no mês de março (Fig. 19) (RAMOS, 2019).

Figura 19 - Captura por unidade de esforço (CPUE) média para a pescada branca nos anos 2017 e 2018 no lago de Tucuruí.





(A) Captura por unidade de esforço média para a pescada branca, com apetrechos rede de emalhar (Kg/100m de rede - hora) (A e B) e espinhel, caniço e linha de mão (Kg/anzol – hora) C e D, realizado nos períodos de fevereiro a outubro de 2017 e janeiro a outubro de 2018

Fonte: Ramos (2019).

A média padronizada da CPUE para a rede de emalhe foi de 0,0329 Kg/100m de rede/hora e para anzol/hora e para anzol a média padronizada 1, 6765 Kg/anzol x hora, CPUE padronizada na pescada branca no lago Tucuruí foi de 6,7369 Kg/100m de rede x hora (Tabela 5).

Tabela 5 - Padronização da CPUE da Pescada branca.

ESPÉCIES/APETRECHO	Barco com motor	canoa com motor	canoa sem motor	geleira	rabeta	voadeira
CPUE Pescada branca/Rede de Emalhe	0,0062	0,0052	0,0042	0,0017	0,0059	0,0097
CPUE Pescada branca/Anzol	0,9413		0,5557	0,3951	0,4761	0,0208
IPP BARCO REDE	1,0000	0,8415	0,6710	0,2777	0,9457	1,5542
CPUE MÉDIA PADRONIZADA (Kg/100 m de rede x horas)	0,0062	0,0052	0,0042	0,0017	0,0059	0,0097
CPUE MÉDIA PADRONIZADA (Kg/100 m de rede x horas)	0,0329					
IPP BARCO ANZOL	1		0,5903	0,4197	0,5058	0,0221
CPUE MÉDIA PADRONIZADA (kg/anzol x horas)	0,9413	0,0000	0,3280	0,1658	0,2408	0,0005
CPUE MÉDIA PADRONIZADA (kg/anzol x horas)	1,6765					
ICE	48,63					
CPUE PADRONIZADA (Kg/100 m rede x horas)	6,7369					

Fonte: Ramos (2019).

Quanto à captura por unidade de esforço (CPUE) com apetrecho de pesca, essa autora observou que o maior esforço ocorreu no mês de abril de 2017, entretanto não a maior abundância, uma vez que a mesma aconteceu no mês de

julho de 2017. Em 2018, a maior abundância ocorreu no mês de fevereiro, no entanto o maior esforço ocorreu no mês de agosto.

1.7 Metodologia

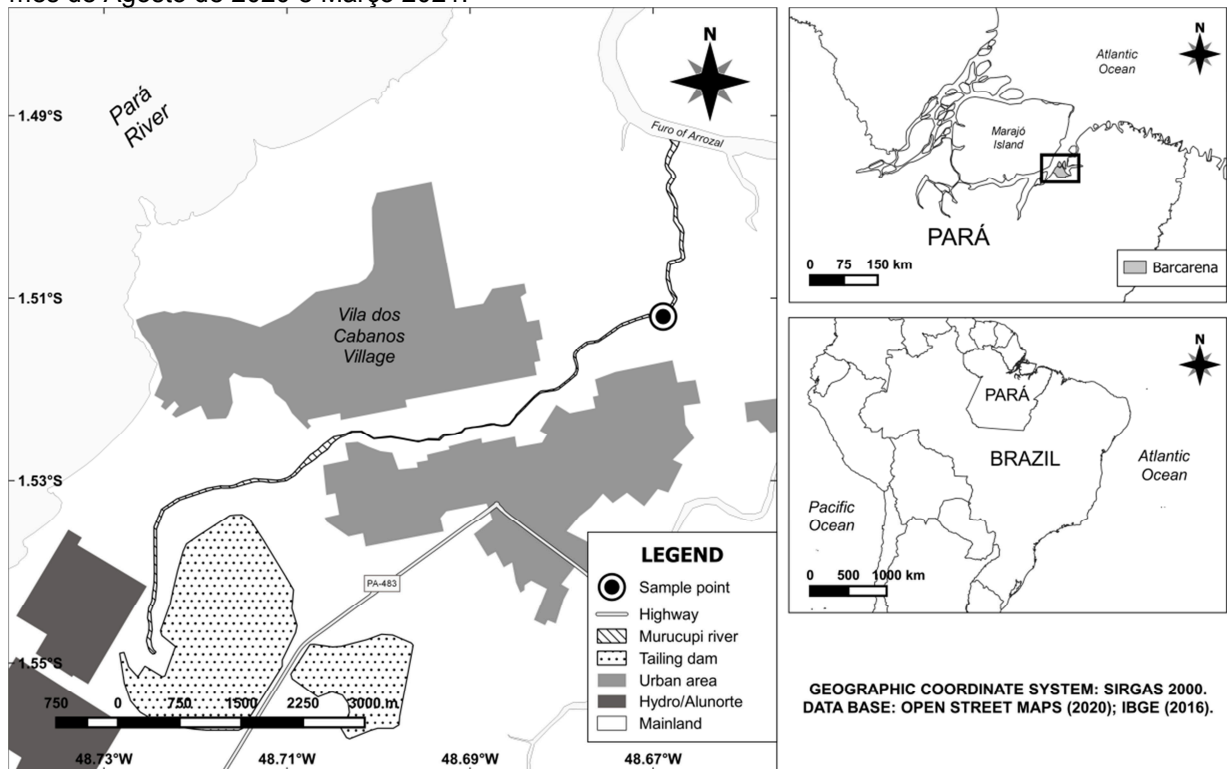
Todos os métodos e manejos utilizados nesse estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais-UFPA (nº 7277210820) (ANEXO 1). Além do comitê de ética, a equipe também solicitou licença ambiental para a coleta de dados em campo (SISBIO nº 15080-9) (ANEXO 2).

1.7.1 Descrição das áreas de estudo

1.7.1.1 Rio Murucupi

O rio murucupi (Fig. 20) delimitado pelas coordenadas geográficas 01°29' a 01°31' S e 48°40' a 48°41' W é o principal curso d'água da bacia hidrográfica do murucupi, tem sua nascente dentro de uma área de preservação ambiental próximo à bacia de armazenamento de lama vermelha da refinaria de alumina da Hydro/Alunorte.

Figura 20 - Localização do ponto de coleta de *P. squamosissimus* no rio Murucupi-Barcarena-PA no mês de Agosto de 2020 e Março 2021.



Fonte: a autora.

Apresenta aproximadamente 8 km de extensão e no seu curso natural atravessa os polos urbanos de vila dos cabanos e do bairro do laranjal e desemboca no furo do arrozal integrado a bacia do Rio Pará (OLIVEIRA, 2013; COSTA, 2015; SANTOS, 2018). O regime fluvial dessa área apresenta clima tropical chuvoso (úmido) geralmente com duas estações chuvosas (verão e outono) com precipitação pluviométrica inferior a 60 mm e média anual em torno de 2.587,7 mm (CUNHA, 2018).

Um relatório divulgado pelo Instituto Evandro Chagas (IEC) em 2009 mostrou que houve a mortes de peixes e alterações nos parâmetros físicos e químicos nas águas do rio Murucupi ocasionando situações de risco para a saúde das populações, proveniente do escoamento de efluentes de lama vermelha liberado pelo transbordamento da bacia de rejeitos da Alunorte, além de modificar a estrutura das comunidades bióticas das áreas afetadas (FERNANDES *et al.*, 2014).

Em 2018 houve novamente o derramamento de lama vermelha oriunda da empresa Hydro/Alunorte que afetou os rios de Barcarena e colocou em risco a saúde de moradores de ao menos três comunidades próximas: Bom Futuro, Vila Nova e Burajuba, uma vez que laudo das amostras de água colhido por técnicos do Instituto Evandro Chagas e do Ministério da Saúde apontou a presença de níveis elevados de chumbo, alumínio, sódio e outras substâncias prejudiciais à saúde humana e animal (IEC, 2018; LEMOS & Pimentel, 2021).

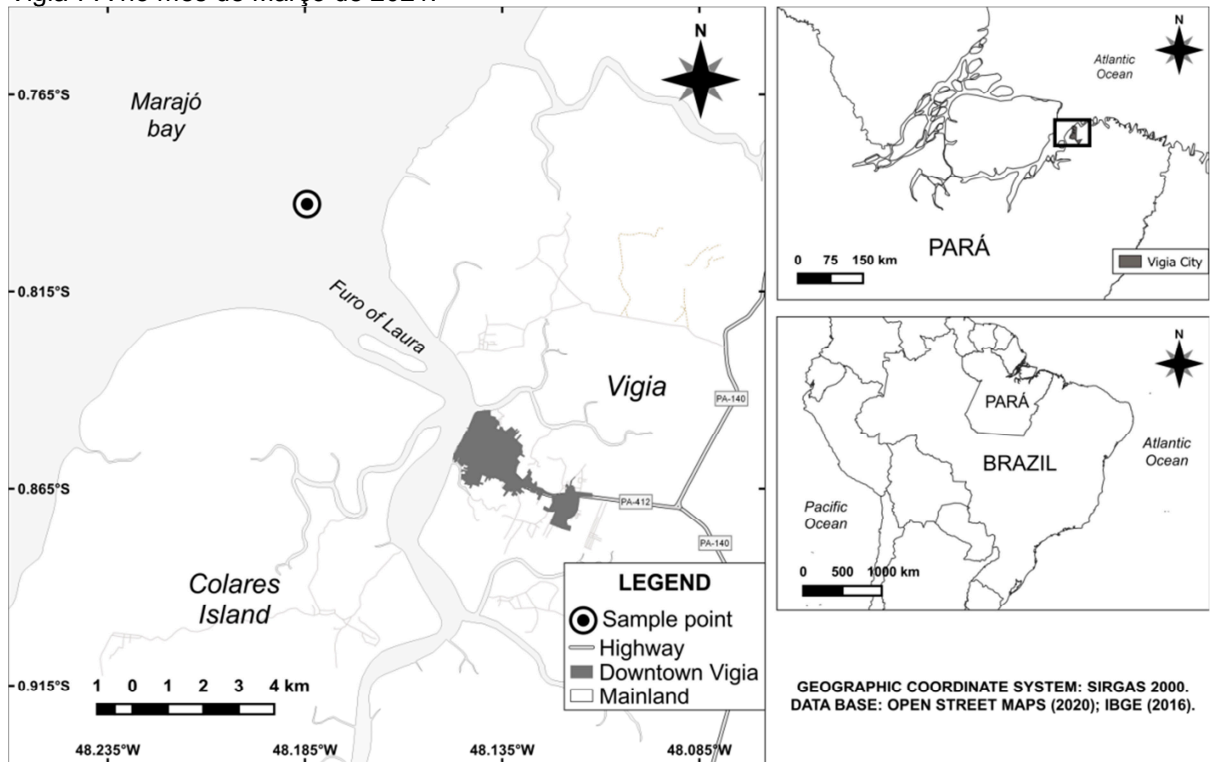
Atualmente o Rio Murucupi é considerado um rio morto, uma vez que devido aos impactos ocasionados pelas interferências antrópicas no Rio a população ficou impossibilitada de continuar a fazer uso da água para atividades domésticas e balneabilidade (SANTOS, 2018). Segundo relatos de moradores quando estes fazem uso da água para beber causa diarreia, dores de estômago e vômitos além de em contato a pele gerar coceiras e diversas e assaduras (FURTADO, 2019).

1.7.1.2 Estuário Furo da Laura

O estuário Furo da Laura (Fig. 21) localizado nas coordenadas geográficas:- 0°51'S- 48° 8'W, é o principal acidente hidrográfico do município de Vigia, nordeste Paraense e microrregião do salgado, limitando-se ao Norte com o oceano atlântico e com o município de São Caetano de Odivelas, a leste com o município de

Castanhal, ao sul com o município de Santo Antônio do Tauá e a oeste com o município de Colares (PARÁ, 2011).

Figura 21 - Localização do ponto de coleta de *P. squamosissimus* no estuário Furo da Laura em Vigia-PA no mês de Março de 2021.



Fonte: a autora.

Possui uma grande extensão de comprimento e fluxo diário de embarcações artesanais e industriais (LIMA *et al.*, 2015). Apresenta água salobra e cerca de 20 km navegáveis, tem sua nascente no município de Mosqueiro, banha a ilha de Colares e deságua no Marajó. As suas margens predominam depósitos de pântanos e mangues holocênicos (LIMA, *et al.*, 2015). Além disso, Cardoso (2009), afirma que nesse local, a cobertura vegetal é formada por bosques de mangues com um misto de vegetação típica de terra firme.

Esse estuário recebe contribuição de vários rios e igarapés com destaque para os rios Bituba ou Patauateua, que serve de limite com o município de Santo Antônio do Tauá, ao Sul Baiacu, o rio Guarimã e seus afluentes, entre os quais, o Santa Maria (margem esquerda) e o Curuçazinho (margem direita), e o rio Açaí, além daqueles que desaguam no Atlântico como o rio Barreta, que serve de limite a nordeste com o município de São Caetano de Odivelas, também, um pequeno trecho do rio Braço Esquerdo Marapanim, a sudeste, sem muita expressão hídrica,

que serve de limite com o Município de Castanhal (Governo do Estado do Pará, 2017).

O regime fluvial dessa área apresenta clima típico equatorial Amazônico, super úmido, com temperaturas relativamente elevadas atingindo mínima de 26°C e máxima de 39°C (MESQUITA, 2020), havendo uma nítida separação em seu regime pluviométrico entre os períodos chuvoso e seco (menos chuvoso), tendo uma elevada precipitação nos seis primeiros meses (Janeiro a Junho) do ano considerado como o período chuvoso e os últimos seis meses (Julho a Dezembro) do ano considerados como período seco (SILVA, *et al.*, 2011).

1.7.2 Desenho amostral

Notadamente, a escolha dos locais de captura dos espécimes obedeceu a critérios que consideramos como atributos para inferir o grau de antropização. Assim, o rio Murucupi, foi o local escolhido como antropizado por receber uma grande carga de contaminação lançada dos domicílios e indústrias, já o estuário Furo da Laura foi escolhido como controle por não ser observada quaisquer unidades industriais nos arredores e também pela pesca da pescada branca ser relativamente frequente entre a população, além de serem próximos a capital Belém e dos respectivos laboratórios de análises toxicológicas.

A proposta inicial do trabalho era realizar a captura dos peixes nos períodos sazonais amazônicos: período menos chuvoso (agosto a novembro) de 2020 e período mais chuvoso (janeiro a março) de 2021. No entanto, devido à pandemia do novo Corona vírus, ficamos impossibilitados de realizar algumas coletas, bem como a perda de material biológico em laboratório uma vez que estes ficaram fechados e sem acesso permitido pelas instituições. Entretanto, apesar de todos os acontecimentos, os resultados apresentados foram muito interessantes mesmo com as lacunas de coleta, o que achamos prudente utilizá-los e discuti-los como apresentado no paper em anexo, que deverá ser submetido tão logo tenhamos as sugestões da banca examinadora, a um periódico reconhecido na publicação de estudos desta natureza.

Foram capturados no total 54 peixes dos quais 16 no período seco e 24 no período chuvoso em Barcarena e 14 no período chuvoso em Vigia. Assim, para o período menos chuvoso no rio Murucupi temos as análises de micronúcleo e ensaio cometa, no período mais chuvoso temos apenas os dados do micronúcleo, pois as

coletas em campo foram realizadas dois dias antes do fechamento das Universidades o que nos impediu de continuar o processamento das análises para o ensaio cometa no laboratório. Para o estuário Furo da Laura, temos as análises do ensaio cometa e micronúcleo no período mais chuvoso, no entanto não conseguimos realizar as coletas previstas para o período menos chuvoso (agosto) de 2020 como mostra a tabela 6.

Tabela 6 - Dados coletados nos períodos sazonais.

Locais de coleta	Períodos	
	menos chuvoso	chuvoso
Rio Murucupi	Teste de micronúcleo	Teste de micronúcleo
	Ensaio cometa	Perdemos o material no laboratório
Furo da Laura	Não conseguimos realizar coletas	Teste de micronúcleo Ensaio cometa

1.7.2.1 Tratamento dos animais no campo

1.7.2.1.1 Captura dos animais

A captura dos peixes foi realizada com o auxílio de pescadores locais utilizando embarcação empregada na pesca artesanal. No rio Murucupi a captura dos peixes foi realizada com rede de emalhar usando o método de espera. Assim uma rede de 100 metros com malhas de 30mm foi colocada no rio por 30 minutos. Em seguida os indivíduos eram retirados da rede, colocados em baldes (Fig. 22) e levados até a margem para a colheita de sangue e biometria.

Figura 22 - Captura de Pescada branca no rio Murucupi Barcarena - PA.



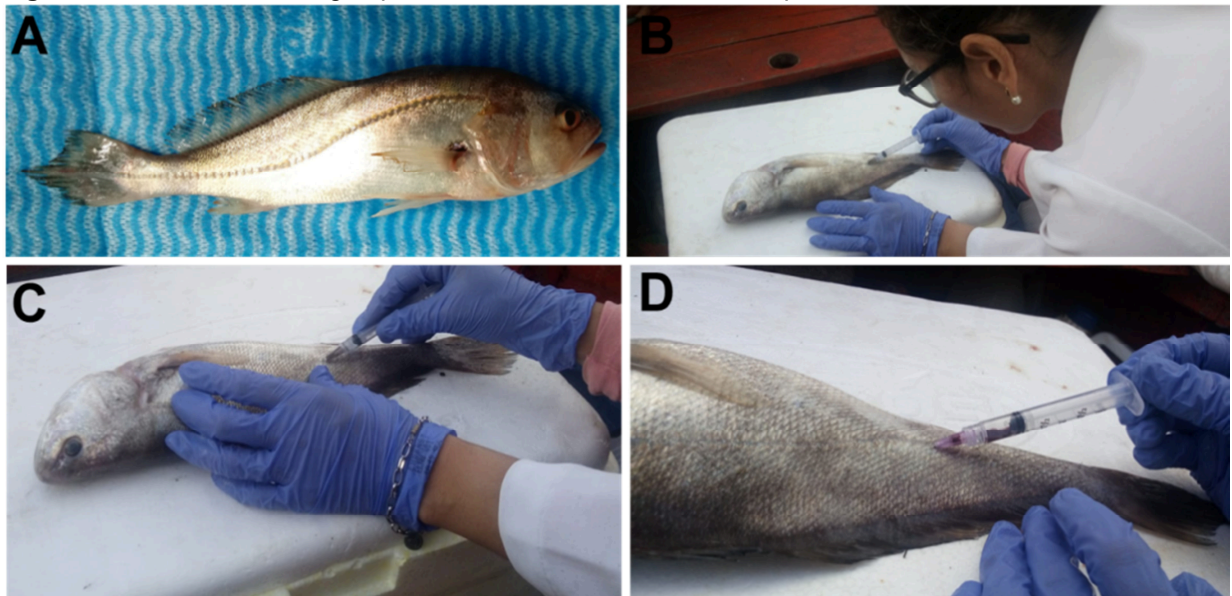
Fonte: a autora.

No estuário furo da Laura as pescadas brancas foram capturadas em currais e conduzidas até a embarcação com auxílio de um puçá.

1.7.2.1.2 Colheita de sangue e biometria

Após a captura, os animais foram colocados sobre um pano úmido para impedir que estes deslizassem devido ao muco produzido como mecanismo de defesa. Após posicionados, foi realizada a colheita de sangue da região caudal de cada espécime por meio de seringa de 3ml contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) (Fig. 23).

Figura 23 - Colheita de sangue periférico da nadadeira caudal da pescada branca in situ.

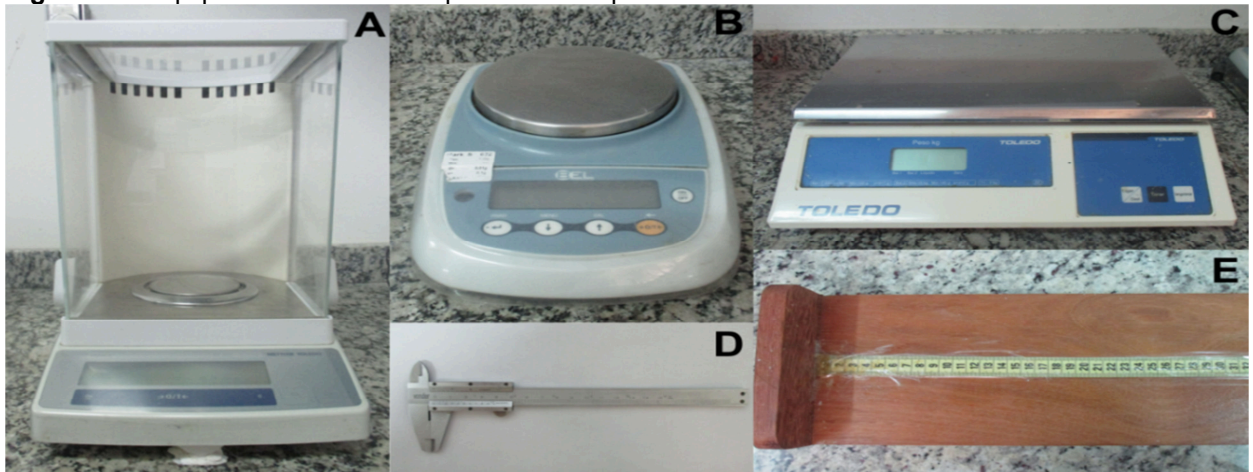


Rio Murucupi em Barcarena - PA (A); Estuário Furo da Laura Vigia - PA (B,C e D).

Fonte: a autora.

Após a colheita de sangue foi registrado o comprimento total (CT) e o peso (em gramas) de cada indivíduo. Para isso, contou-se com o auxílio de balança semi-analítica e Ictiômetro (Fig. 24 - A, B, C, D e E). Após a colheita de sangue e biometria, os indivíduos foram devolvidos para o seu habitat. Em ambos os métodos buscou-se minimizar o estresse no animal causado durante a captura e assim obter um bom resultado nas análises hematológicas, seguindo o protocolo de Ranzani-Paiva *et al.*, 2013.

Figura 24 - Equipamentos utilizados para análises para biometria.



Balança digital de precisão 0,001 g (A); Balança digital de precisão 0,01g (B); Balança (C); Paquímetro com precisão 0,01 mm (D); Ictiômetro (E).

Fonte: a autora

A colheita de sangue em Barcarena foi realizada às margens do rio Murucupi, já em Vigia foi realizada dentro da própria embarcação, uma vez que deveria ser realizada imediatamente, com os peixes vivos. Para o armazenamento do sangue foram utilizados tubos de microcentrífuga do tipo *ependorf*, acondicionados em isopor contendo gelo e levados ao laboratório de Citogenética Humana da Universidade Federal do Pará (UFPA) para posterior análise.

1.8 Análises em laboratório

1.8.1.1 Ensaio cometa

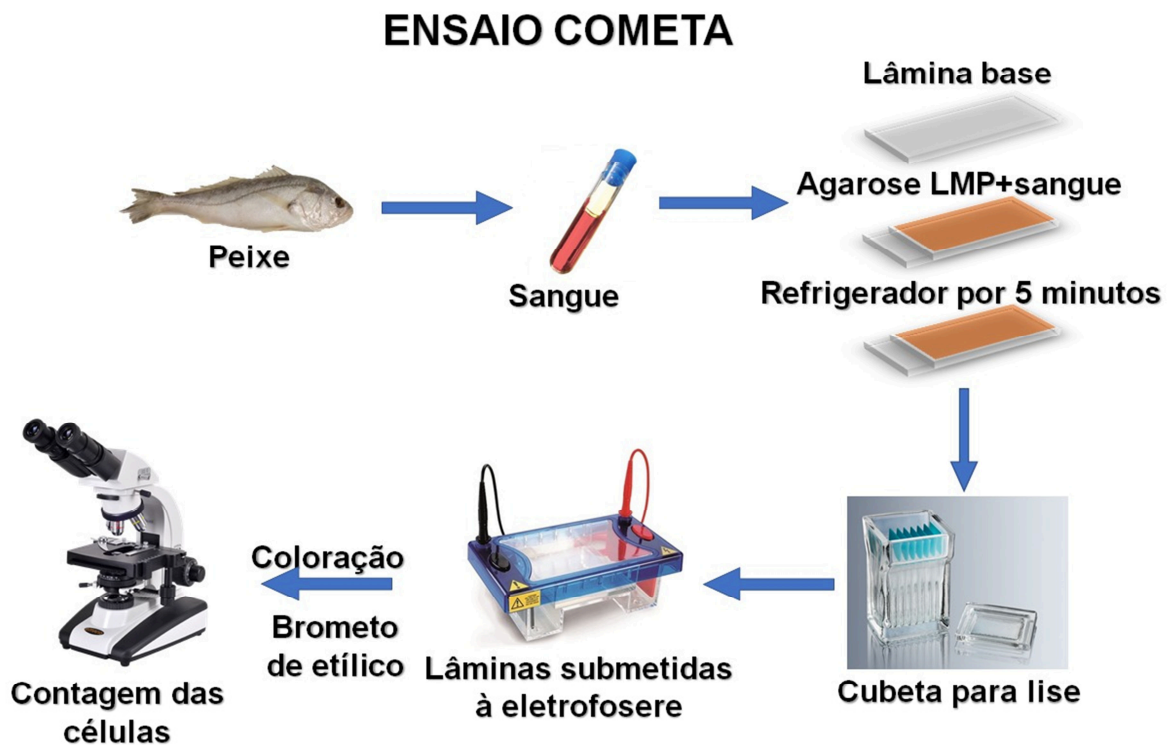
Para o ensaio cometa foram utilizados 2mL de sangue. No laboratório utilizamos o procedimento de Singh *et al.*, (1988) com pequenas modificações (Hartmann; Speit, 1997). Foram preparadas duas lâminas de cada animal previamente cobertas por agarose normal (Gibco). Foram diluídos 10 μ L do sangue coletado em 500 μ L de soro bovino fetal. Dessa solução, foram coletadas 10 μ L e misturados com 120 μ L de gel de agarose com baixo ponto de fusão (“low melting point” – LMP), previamente preparada e levemente aquecida a 37°C. Em seguida as lâminas foram encubadas em tampão de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, 10% DMSO, 1% TRITON X-100), pH 10, por uma hora, na ausência de luz, para remoção das proteínas celulares.

Após essa etapa, as lâminas passaram pelo processo em tampão de desnaturação (NaOH 30 mM, 1 mM EDTA) pH>13, pré-resfriado entre 4-8 °C e incubadas de maneira a cobrir as lâminas, por 10 minutos. A eletroforese foi

realizada com o auxílio de uma cuba horizontal e transcorreu a 25 V e 300 mA, por um período de 20 minutos. Em seguida as lâminas foram removidas, fixadas em etanol absoluto e coradas com 20 μ L de 20 μ L/mL de brometo de etídio. Todas as etapas foram realizadas no escuro para prevenir danos ao DNA.

Para a visualização dos danos do DNA, as lâminas foram observadas em aumento de 1000x utilizando microscópio de epifluorescência equipado com filtro de excitação de 515–560 nm e um filtro de barreira de 590 nm e contador de células manual (Fig. 25). Foram analisadas 100 células (nucleóides) por lâmina, estipulando-se previamente de acordo com Collins *et al.*, (2001) cinco Classes de Danos.

Figura 25 - Etapas do ensaio cometa.



Fonte: Adaptado de Rocha (2009).

1.8.1.2 Teste de Micronúcleo

Para o Teste de Micronúcleo foram realizadas extensões sanguíneas em lâminas limpas e previamente identificadas. Para isso foi colocada uma gota de sangue e realizada a extensão com o auxílio de uma lâmina extensora. Após o esfregão, as lâminas foram expostas ao ar livre até secar e posteriormente foram

aconditionadas em caixas porta lâmina e levadas ao Laboratório de Toxicologia Animal - TOXAN da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) para análise.

Para isso, foram preparadas duas lâminas por indivíduo que foram devidamente coradas com coloração tipo panótico rápido. Essa técnica consiste em submergir as lâminas nas soluções 1, 2 e 3 por cinco segundos em cada solução respectivamente. Depois de coradas, as extensões foram lidas em microscopia óptica de imersão em aumento de 1000. Foram analisadas 2000 (duas mil) células por indivíduo, verificando-se a quantidade de micronúcleo (MN) e de alterações morfonucleares presentes. Para isso contou-se com o auxílio de microscópio óptico (ZEISS/PRIMO STAR) em aumento de 100 e contador manual de células sanguíneas. Os dados foram anotados em uma tabela do Microsoft Word impressa para posterior análise (Fig. 26).

Figura 26 - Etapas para análise do teste de micronúcleo.



Fonte: a autora.

Os dados de qualidade da água utilizados nas análises estatísticas do rio murucupí, foram obtidas no site HIDROWEB da Agência Nacional das Águas (ANA). Para o estuário do furo da Laura os dados foram obtidos por meio de pesquisadores parceiros do Laboratório de Química Ambiental (LQA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) coordenado pela Prof. Dra. Maria de Lourdes Souza Santos.

Os dados foram utilizados por permitir realizar inferências adicionais na pesquisa e comparar os achados com dados de outros trabalhos realizados em áreas sob influência de polos industriais e/ou outra forma de perturbação ambiental.

1.8.1.3 Análises Estatísticas

A quantidade de micronúcleos e de alterações morfonucleares por espécime, foram testadas considerando o local (antropizado ou não antropizado), respectivo período sazonal (seco ou chuvoso), as classes de tamanho dos espécimes a partir da fórmula de Sturges ($k = 1 + 3,322(\log_{10} n)$), considerando a amplitude de comprimentos dos espécimes nas amostras, além de todas as combinações possíveis. Inicialmente, para as análises estatísticas dos dados, foram testadas a normalidade e homocedasticidade dos resíduos e testes de médias (ANOVA) *one way* e *factorial* considerando erro de 5%.

Para o ensaio cometa foram contados 100 nucleóides por animal, 50 em cada lâmina preparada, usando a classificação visual baseada na migração de fragmentos de DNA, seguindo as classes: 0 (sem dano aparente), 1 (pouco dano), 2 (dano médio) 3 (dano extenso) e 4 (dano máximo, apoptose) (WACHTEL, 2017), que para análise estatística foram atribuídos valores numéricos (*rankings*) de 0 a 4 para cada uma das classes respectivamente. Todas as análises supracitadas foram realizadas por meio do Software Statistica 10.0.

Por último, foi realizada uma análise de redundância (RDA) no software CANOCO 4.5 (Software for Canonical Community Ordination), para observação de todos os efeitos e fatores ao mesmo tempo. Para este método foram realizadas 9999 permutações (Método de Monte Carlo) para testar a significância das variáveis independentes (local e classe de tamanho do espécime) que contribuíram para a variabilidade dos dados, sendo inseridas somente as variáveis estatisticamente significativas pela análise ($p < 0,05$). Para as variáveis dependentes (% de micronúcleos, categoria do dano no DNA) foram construídas matrizes separadas de presença e ausência, onde cada linha representa um indivíduo, sendo esta relacionada com uma segunda matriz ('tratamento'), em que as variáveis independentes foram elencadas uma a uma.

REFERÊNCIAS

ACCIOLY, I. V. **Levantamento Cariotípico em Espécies de Peixes Marinhos Costeiros de Fundo Arenoso (Osteichthys, Perciformes)**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado em genética e biologia molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, 2007.

ADHIKARI, S.; SARKAR, B.; CHATTERJEE, A.; MAHAPATRA, C. T.; AYYAPPAN, S. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost; *Labeo rohita* (Hamilton). **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 58, p. 220-226, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (ANA). HIDROWEB. Disponível em: <http://www.snirh.gov.br/hidroweb/mapa>. Acesso em: 19 de Jan. de 2021.

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; LATINI, J. D. Fisheries management in brazilian reservoirs: lessons from/for South América. **Interciência**, v. 29, n. 6, p. 334-338. 2004.

AKINROTIMI, O. A.; ORLU, E. E.; GABRIEL, U. U. Hematological responses of *Tilapia guineensis* Treated Industrial Effluent. **Applied Ecology and Environmental Sciences**, v. 1. p. 10-13, 2013.

ANNIBAL, S. R. P. **Avaliação bio-ecológica e pesquisa das “pescadas” *Plagioscion squamosissimus*, Heckel, 1840 e *Plagioscion monteii*, Soares, 1978) no sistema Lago do Rei Ilha do Careiro-AM-Brasil**. 1983. 162p. Master's Thesis in Biological Sciences - Fundação Universidade do Amazonas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, 1983.

ANSARI, R. A.; RAHMAN, S.; KAUR, M.; ANJUM, S.; RAISUDDIN, S. In vivo cytogenetic and oxidative stress-inducing effects of cypermethrin in freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 74, p. 50-156, 2011.

ARIAS, A.R.L; BUSS, D.F.; ALBUQUERQUE, C.; INÁCIO A.F.; FREIRE, M.M.; EGLER, M. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência, saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v.12, n.1, p.61-72, 2007.

ARAÚJO, A. A. **Saberes Culturais da Pesca Artesanal na Amazônia Ribeirinha de Vigia de Nazaré/PA**. 2019. 133 f. Dissertação (Mestrado em Educação) – Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2019.

BAHIA, V. E.; MORALES, G. P.; FENZL, N. ; LEAL, L. R. B.; LUÍZ, J. G. Impactos ambientais no sistema hídrico superficial da Baía do Marajó - localizada na área de abrangência do pólo industrial de Barcarena (PA). *In: XVII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas e XVIII Encontro Nacional de Perfuradores de Poços*. Mato Grosso do Sul: Bonito. 2012.

BARBOSA, N. D. **Avaliação da biologia reprodutiva de *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) e *Plagioscion Surinamensis* (BLEEKER, 1873) no terminal de vila do Conde e área adjacente (Barcarena-PA).** 2009. Dissertação (Mestrado em ecologia aquática e pesca) - Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2009.

BARROS, D. F.; TORRES, M. F. E FRÉDOU, F. L. Ictiofauna do estuário de São Caetano de Odivelas e Vigia (Pará, estuário amazônico). *Biota Neotrop.* vol. 11, no. 2. Abr/Jun 2011.

BARKHORDAR, M.; VALIZADEH, R.; BAGHERI, T.; TAHERIMIRGHAED, A.; HEDAYATI, A. Detection of heavy metal biomarkers for study of fishes. *Journal of Novel Applied Sciences.* v. 2, p. 180-187, 2013.

BAUMGARTNER, G., *et al.* **Peixes do baixo rio Iguaçu** [online]. Maringá: Eduem, Perciformes. 2012. 169-182p. ISBN 978-85-7628-586-1.

BENNEMANN, S. T.; CAPRA, L. G.; GALVES, W.; SHIBATTA, O. A. Dinâmica trófica de *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes, Sciaenidae) em trechos de influência da represa Capivara (rios Paranapanema e Tibagi). *Iheringia, Sér. Zool,* Porto Alegre, v. 96, n. 1, p. 115-119, 2006.

BONECKER, A. C. T., *et al.* **Ordem Perciformes.** *In:* Catálogo dos estágios iniciais de desenvolvimento dos peixes da bacia de Campos [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, pp. 180- 265. Zoologia: guias e manuais de identificação series.

BORDALO, C. A. L.; SILVA, F. A. O.; SANTOS, V. C. Por uma gestão dos recursos hídricos no estado do Pará: Estudo de caso da bacia hidrográfica do rio Murucupi no município de Barcarena. *Revista Geonorte.* Edição Especial, v.3, N.4, p. 1216-1228, 2012.

BORDALO, C.; FERREIRA, D.; SILVA, F. Conflitos socioambientais pelo uso da água em comunidades ribeirinhas no nordeste Paraense: o caso das bacias hidrográficas dos rios Murucupi e Dendê no município de Barcarena-PA. *In:* **Primeiro Congresso de Geografia física.** 12. 2017. Campinas: Instituto de Geociências Unicampi.

BRAGA, F. M. S. 1998. Alimentação de *Plagioscion squamosissimus* (Osteichthyes, Sciaenidae) no reservatório de Barra Bonita, Estado de São Paulo. *Iheringia, Sér. Zool.*, 84: 11-19.

BRASIL, Ministério do meio ambiente – MMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. **Estatística da pesca 2005:** Grandes regiões e unidades da federação. Brasília, 2005.

BRITO, C. S. F. de; JÚNIOR, I. F.; TAVARES, M. C. S; SILVA, Z. C. Estatística da Pesca Marítima e Estuarina do Estado do Pará - 1997 a 2002. **Centro de Pesquisa**

e **Gestão e Recursos Pesqueiros do Norte do Brasil (CEPNOR)**. 56 p. Belém, PA, 2002.

BRÍGIDA, G. F. S. **Itupanema em meio ao projeto Albras – Alunorte: o desencanto do mundo**. In: *Mineração na Amazônia: Estado, Empresas e Movimentos Sociais*. Fórum Carajás, São Luis, p. 1-72, Out. 2010.

BÜCKER, A., CARVALHO, W.; ALVES-GOMES, J. A. Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. **Acta Amazonica**. v. 36, n. 3, p. 357-364, 2006.

BUENO, A. P. M.; VASCONCELOS, M. da G.; FRANCISCO, C. M.; PAVANIN, L. A. Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 32-36, 2017.

CABRAL, W. B. M. **Análise da genotoxicidade in vivo dos agrotóxicos ciromazina e mancozeb em baixas doses**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Saúde humana e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Pernambuco. Vitória de Santo Antão, 2014.

CALLISTO, M.; GONÇALVES, Jr., J.F.; MORENO, P. Invertebrados aquáticos como bioindicadores. In: **Navegando o Rio das Velhas das Minas aos Gerais**. Belo Horizonte: UFMG, 2004. v. 1, p. 1-12.

CAMPANA, M. A.; PANZERI, A. M.; MORENO, V. J.; DULOUT, F. N. Micronuclei induction in *Rana catesbeiana* tadpoles by the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, p. 99-103. 2003.

CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L. e MYERS, M. S. Assessment of the piscine micronucleus test as na in situ biological indicator of chemical contaminant effects. **Can. J. Fish. Sci.**, Ottawa, v. 47, p. 2123-2136. 1990.

CARNELÓS, R. C.; BENEDITO-CECILIO, E. Reproductive strategies of *Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840 (Osteichthyes, Scianidae) in the Itaipu Reservoir, Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.** Curitiba, v. 45, n. 3. 2002.

CARDOSO, F. F. **Dinâmica da comunidade microfitoplanctônica relacionada com os parâmetros físico-químicos do Estuário do Rio Guajará – Mirim (Vigia – PA)**. 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aquática e Pesca) - Universidade Federal do Pará, 2009.

CARMO, M. B. S. & COSTA, S. M. F. Os paradoxos entre os urbanos no Município de Barcarena, Pará. *Revista Brasileira de Gestão Urbana (Brazilian Journal of Urban Management)*, São José dos Campos, SP, 8(3), p. 291-305, set./dez. 2016.

CASATTI, L. **Sciaenidae (Drums or croakers)**. p. 599-602. In: R.E. Reis, S.O. Kullander and C.J. Ferraris, Jr. (eds.) *Checklist of the Freshwater Fishers of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil. 2003. 601p.

CASATTI, L. Revision of the South American freshwater genus *Plagioscion* (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae). **Zootaxa**, v. 1080, p. 39–64. 2005.

CARVALHO, L. N.; ZUANON, J.; SAZIMA, I. **Natural History of Amazon Fishes**. In: Del Claro, K.; Oliveira, P.S.; Rico-Gray, V.; Ramirez, A.; Barbosa, A.A.A.; Bonet, A.; et al (Eds.). Natural history of Amazon fishes. Tropical Biology and Conservation Management: Case studies. v.1. Eolss Publishers, Oxford, England, 2007. 113-144p.

CAVALCANTE, D. G. S. M. **Avaliação dos efeitos genotóxicos e mutagênicos do Roundup em peixes *Prochilodus lineatus***. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

CORRÊA, I. C. S.; Aplicação do Diagrama de Pejrup na Interpretação da Sedimentação e da Dinâmica do Estuário da Baía de Marajó-PA. **Pesquisas em Geociências**, v. 32, n. 2. p.109 - 118. 2005.

CORREDOR-SANTAMARÍA, W.; GÓMEZ, M. S.; VELASCO-SANTAMARIA, Y. M. Using genotoxic and haematological biomarkers as an evidence of environmental contamination in the Ocoa River native fish, Villavicencio-Meta, Colombia. **SpringerPlus** (2016) 5:351.

COSTA, E. L.; BELTRÃO, H.; SIQUEIRA-SOUZA, F.; YAMAMOTO, K. C. **Peixes de lagos do médio Rio Solimões**. Piatam, Manaus, 2008. 177 p.

COSTA, B. N. S. **Comunidade microzooplanctônica como indicadora de alterações ambientais em um polo industrial e portuário na região amazônica**. 2015. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aquática e Pesca) - Universidade Federal do Pará, Pará, 2015.

CUNHA, C. M. C. **Vulnerabilidade ambiental no município de Barcarena-PA: Análise da erosão nas praias do Caripí e da Vila do Conde**. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Tecnólogo em Geoprocessamento) - Universidade Federal do Pará, Ananindeua, 2018.

Diretoria de Hidrografia e Navegação-DHN. (2012). Tábua das Marés. Marinha do Brasil. 2012.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**. v. 455, p. 81-95. 2000.

FERREIRA, R. M. A.; GODINHO, H. P. 1990. Reproductive biology of the white-piau, *Schizodon knerii* (Steindachner, 1875) (Anostomidae) from a reservoir in Southeast Brazil. **Eur. Arch. Biol.**, 101: 331-344p.

FERREIRA, C. M. **Análises complementares obtidas a partir de testes de toxicidade aquática**. In: RANZANI-PAIVA M.J.T.; TAKEMOTO, R.M. e LIZAMA, M.A.P. (eds) Sanidade de organismos aquáticos. Livraria Varela Editora, São Paulo, 2004. 273-284p.

FERREIRA, D. L. N., SILVA, C. N., LOPES, L. H. **Sensoriamento remoto e análise multitemporal da ocupação humana e do uso do solo no município de Barcarena-PA (2000-2009)**. In: NAHUM, JO. S. (org). **Dinâmicas territoriais e políticas no município de Barcarena no Estado do Pará**. Belém: Açáí, 2011, p. 105-125.

FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S; SANTOS, G. M. **Peixes comerciais do Médio Amazonas: região de Santarém, Pará**. Brasília: Edições IBAMA. 1998. 211p.

FERNANDES, F. R. C.; ALAMINO, R. C. J.; ARAUJO, E. Recursos minerais e comunidade: impactos humanos, socioambientais e econômicos. **Centro de Tecnologia e Mineral**, Rio de Janeiro, n.4, p.1-393, 2014.

FRANÇA, J. G.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; LOMBARDI, J. V.; CARVALHO, S.; SERIANI, R. Toxicidade crônica do cloreto de mercúrio (HgCl₂) associado ao selênio, através do estudo hematológico em tilápia *Oreochromis niloticus*. **Bioikos**, v. 21, p. 11-19, 2007.

FROESE, R.; PAULY, D. **Fish identification: Find species**. 2010. Disponível em: <https://www.fishbase.de/summary/Plagioscion-squamosissimus.html>. Acesso em: 15 out. de 2019.

FURTADO, V. Murucupi: o rio morto. **O liberal**, Belém, 04 Fev. 2019.

FURTADO, L. G.; MORALES, G. P.; SILVA, D. F.; PONTES, A. N. Transformações do uso e cobertura da terra na bacia hidrográfica do rio Murucupi, Barcarena, Pará. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.13, n.05 (2020) 2340-2354.

GALLETTI, E. S. **Distribuição da variabilidade genética da pescada, *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) na calha do Rio Amazonas**. 2009. Dissertação (Mestrado em genética conservação e biologia evolutiva) - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA, Manaus, AM, 2009.

GOULDING, M. **The Fishes and the Forest. Explorations in Amazonian Natural History**. Berkeley, Los Angeles, University of California Press, 1980. 280 pp.

Governo do Estado do Pará. Inventário da oferta turística do Município de Vigia de Nazaré – PA. Belém, 2017.

GRANADO-LORENCIO, C.; ARAUJO-LIMA, C. R. M.; LOBÓN-CERVIÁ, J. Abundance – distribution relationships in fish assembly of the Amazonas floodplain lakes. **Ecography**, v. 28, p. 515-250, 2005.

HAYASHI, M.; UEDA, T.; UYENO, K.; WADA, K.; KINAE, N.; SAOTOME, K.; TANAKA, N.; TAKAI, A.; SASAKI, Y. F.; ASANO, N.; SOFUNI, T.; OJIMA, Y. Development of genotoxicity assays systems that use aquatic organisms. **Mutation Research**, v. 399, n. 2, p. 125-133, 1998.

HARTMANN, A.; AGURELL, E.; BEEVERS, C.; BRENDLER-SCHWAAB, S.; BURLINSON, B.; CLAY, P.; COLLINS, A.; SMITH, A.; SPEIT, G.; THYBAUD, V.; TICE, R.R. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*, v. 18, n. 1. p. 45-51. 2003.

HAHN, N. S.; LOUREIRO, V. E.; DELARIVA, R. L. Atividade alimentar da curvina *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Perciformes, Sciaenidae) no rio Paraná. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, v. 21, n. 2, p. 309-314, 2008.

HAZEU, M. T. O NÃO LUGAR DO OUTRO: **Sistemas migratórios e transformações sociais em Barcarena**. 2015. 336 f. Tese (Doutorado em ciências socioambientais)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

HEDDLE, J. A. A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation Research*. v. 18, p. 187–190, 1973.

HOOFTMAN, R.N & RAAT, W.K. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbrea pygmaea* by ethyl methanesulphonate. *Mutation Research*, 104: 147-152. 1982.

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS (IEC). **Relatório técnico SAMAM 001: Caracterização dos impactos ambientais, danos aos ecossistemas e riscos à saúde decorrentes do lançamento no rio Murucupi de efluentes do processo de beneficiamento de bauxita, Barcarena-Pará**. Ananindeua: IEC, 2009.

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS (IEC). **Laudo do Instituto Evandro Chagas, Barcarena, Vazamento de Resíduos Tóxicos, Mineradora Hydro Alunorte**. 2018. p.4.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO (IBRAM). **Produção Mineral 1º Trimestre de 2020**. 43 p. Disponível em: http://portaldaminerao.com.br/wp-content/uploads/2020/04/PDF_DADOS_1oTRIM20_16ABR20_FINAL.pdf. Acesso em: 12 de Nov. 2020.

JARAMILLO-VILLA, U. & CARAMACHI, E.P. Índices de integridade biótica usando peixes de água doce: Uso nas regiões tropical e subtropical. *Oecologia Brasiliensis*. v. 12 (3), p.442-462, 2008.

JORDAN, D.S & EIGENMANN, C.H Uma revisão dos Sciaenidae da América e Europa. **Relatório do Comissário de Peixes e Pescas**. 14, 343–451.1889.

JÚNIOR, D. O. A.; ALVES, F. J. C.; NORONHA, C. A. Atividade de modelagem em Vigia de Nazaré-PA: A rede de pesca artesanal no ensino de equação da reta. **Atividade de Modelagem em Vigia de Nazaré-PA**. n.1, p.1-62, 2019.

JURAS, A. A.; CINTRA, I. H. A.; ANDRADE, J. A. C. **O desembarque de pescado na área de influência da usina hidrelétrica de Tucuruí, Estado do Pará, Brasil, 2001-2005**. In: Seminário nacional de grandes barragens. 2007, Belém – PA.

Disponível em: <http://www.cbdb.org.br/seminario/belem/T99/A02.PDF>. Acesso em: 15 Abr. 2019.

KARR, J. R. Assessment of biotic integrity using fish communities. **Fisheries**, v. 6, p.21- 27, 1981.

KASPER, D.; BOTARO, D.; PALERMO, E. F. A.; MALM, O. MERCÚRIO EM PEIXES – FONTES E CONTAMINAÇÃO. **Oecol. Bras.** 11 (2): p. 228-239, 2007.

KASPER, N. **Respostas histopatológicas e genotóxicas em peixes de água doce expostos a ambientes antropizado**. 2019. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis) - Universidade Federal da Fronteira Sul. Cerro Largo – RS, 2019.

KIRSCHBAUM, A. A.; SERIANI, R.; PEREIRA, C. D. S.; ASSUNÇÃO, A.; ABESSA, D. M. de S.; ROTUNDO, M. M.; RANZANI-PAIVA M. J.T. Cytogenotoxicity biomarkers in fat snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**. v. 32, p. 151-154, 2009.

KLIGERMAN, A. D. Fishes as biological detector of the effects of genotoxic agents, *In: Mutagenicity: New Horizons in Genetics Toxicology*. **Academic Press**. New York, p. 435-455, 1982.

LAWRENCE, A. & HEMINGWAY, K. Effects os pollution on fish: molecular effects and population responses. UK: **Blackwell Science**, (2003). ISBN: 978-0-632-06406-9.

LEAL, A. L.; SÁ, M. E. R.; NASCIMENTO, N.S. F.; CARDOSO, W. S. PRODUÇÃO MINERAL NO ESTADO DO PARÁ E REFLEXOS NA (RE) PRODUÇÃO DA MISÉRIA: Barcarena, Marabá e Parauapebas. **Revista de Políticas Públicas**, São Luís, v.16, n.1, p. 157-167, jan./jun. 2012.

LÉVÊQUE, C.; OBERDORFF, T.; PAUGY, D.; STIASSNY, M. L. J.; TEDESCO, P. A. Global diversity of sh (Pisces) in freshwater. In: BALIAN, E. V.; LÉVÊQUE, C.; SEGERS, H.; MARTENS, K. (Ed.). **Fresh water animal diversity assessment**. 1 ed. New York: Springer, 2008. p. 545-567.

LEMOS, M. A.Q. & PIMENTEL, M. A.S. Mineração e desastres ambientais com rejeitos de bauxita e caulim no município de Barcarena-Pará-Brasil-Amazônia. **Territorium**, n.º 28 (I), 2021.

LIMA, M. W.; SANTOS, M. L. S.; MELO, N.F. A. C.; FAIAL, K. C. F.; LIMA, M. O.; NUNES, D. M. Distribuição espaço-temporal dos metais Ba, Na, K, Mn e Ca nos sedimentos de fundo do estuário Furo da Laura, Amazônia Oriental, Brasil. **Boletim Técnico Científico do CEPNOR**, v. 15, n. 1, p. 15 - 22, 2015.

LIMA, M. O et al., **Avaliação preliminar dos impactos ambientais referente ao transbordo e lançamentos irregulares de efluentes de lama vermelha na cidade de Barcarena, Estado do Pará**. (Relatório Técnico- RT). Instituto Evandro Chagas – IEC/ SVS/ MS. Ananindeua, Pará, 2018.

LOUBENS, G. 2003. *Biologie de Plagioscion squamosissimus* (Teleostei – Sciaenidae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie Bolivienne). **Ict. Exp. Freshwaters**, v. 14, n. 4, p. 335-352, 2003.

LOPES-POLEZA, S. C. G. **Avaliação do efeito do metilmercúrio (CH³Hg) em *Hoplias malabaricus* através da frequência de Aberrações Cromossômicas e dos ensaio Cometa e Micronúcleo**. 2004. 70 f. Dissertação (Mestrado em genética) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2004.

LOWE-McCONNELL, R., 1999. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: EDUSP, 534p.

MATSUMOTO, S. T. *et al.* Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v., n.1, p.148-158, 2006.

MARTINS, L. PAZ, A. V.; BRETANO, D. M. Avaliação da geração de Micronúcleo em juvenis de *Centropomus parallelus* (Robalo-Peva) expostos a diferentes concentrações salinas. **RTC, Florianópolis**, SC, v.02, nº 01, p. 13-16, 2010.

MARINHO, J. S.; JESUS, I. M.; ASMUS, C. I. R. F.; LIMA, M. O.; OLIVEIRA, D. C. Doenças infecciosas e parasitárias por veiculação hídrica e doenças respiratórias em área industrial, Norte do Brasil. **Cad. Saúde Colet.**, v. 24, n. 4, p. 443-451, 2016.

MAIA, R. O. M. **Territorialidades Específicas em Barcarena Confrontadas com Projetos de “Desenvolvimento”**. 2017.321 f. Tese (Doutorado em Ciências do Desenvolvimento Socioambiental)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

MACHADO, B. R. L.; SILVA, H. A. C.; LIRA, J. R. O. Migração e desenvolvimento: Uma análise do Município de Barcarena-PA. **Novos Cadernos NAEA**. V. 22 n. 3 p. 177-198, set-dez 2019.

MERSCH, J.; BEAUVAIS, M-N.; NAGEL, P. Induction of micronucleus in haemocytes and gill cells of zebra mussels. *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. **Mutation Research**, v. 371, p. 47-55. 1996.

MESQUITA, E. M. C. **Uso do ambiente e plasticidade alimentar da pescada branca (*plagioscion squamosissimus*, heckel, 1840), capturada na porção interna do estuário amazônico**. 2011. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Oceanografia) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

MELO, F. T. V. **Helmintofauna de *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (Osteichthyes: Sciaenidae) da Baía do Guajará-Belém, Pará, Brasil**. 2013. Tese (Doutorado em biologia de agentes infecciosos e parasitários) - Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2013.

MESQUITA, E. M. C. **Pesca e dinâmica populacional da pescada branca *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) no rio Xingu, Pará, Brasil**. 2014. 131 f. Dissertação (Mestrado em ecologia aquática e pesca) - Universidade Federal do Pará. Belém, Pará, 2014.

MEDEIROS, A. C. **Índice de qualidade das águas (IQA) em áreas de exposição a poluentes domésticos e industriais em Abaetetuba e Barcarena, Pará-Brasil.** 2017. 99 f. Tese (Mestrado em Saúde Coletiva) – Universidade federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

MESQUITA, L. C. S. **Análise do grau de eutrofização nas águas do Furo da Laura, VIGIA – PA – BRASIL.** 2020. 67 f. Dissertação (Mestrado em ecologia aquática e manejo de recursos naturais.) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, 2020.

MOLLER, P. Genotoxicity of environmental agentes assessed by the alkaline comet assay. **Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology.** v. 96, p. 3-00, 2005.

MOURÃO, K. R. M.; PINHEIRO, L. A.; LUCENA, F. Organização social e aspectos técnicos da atividade pesqueira no município de Vigia - PA. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, 20:39-52. 2007.

MOJICA, A. B. **Aspectos reprodutivos de *Plagioscion squamosissimus* (TELEOSTEI, SCIAENIDAE) mantidos em tanque rede na comunidade do lago do Catalão, Amazônia Central.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, 2011.

NASCIMENTO, N. S. F. & HAZEU, M. T. Grandes empreendimentos e contradições sociais na amazônia: a degradação da vida no município de Barcarena, Pará, **Argumentum**, Vitória (ES), v. 7, n.2, p. 288-301, jul./dez. 2015.

NELSON, J. S. **Fishes of the World.** Third Edition. 1994. 600p.

NITTROUER, C.A.; KUEHL, S. A.; STERNBERG, R. W.; FIGUEIREDO, A. G.; FARIA, L. E.C. An introduction to the geological significance of sediment transport and accumulation on the Amazon continental shelf. **Marine Geology**, v. 125, p. 177-192, 1995.

OSTLING, G.O. & JOHANSON, K.J.; Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** v. 123, n. 1, p. 291-298. 1984.

OLIVEIRA, D. C. **Distribuição de metais pesados e isótopos de PB em sedimentos de fundo do rio murucupi Barcarena- Pará.** 2013. 86 f. Dissertação (Geoquímica e Petrologia) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

OLIVEIRA, C. A. C. R.; OLIVEIRA; F. C. M.; SOUTO, P. S. S. Estudo morfológico de células sanguíneas de *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1817). **Pubvet**, Maringá-Paraná, v.12, n.9, p.1-6, 2018.

PALOMARES, M. L. D. **La consommation de nourriture chez les poissons: étude comparative, mise au point d'un modèle prédictif et application à l'étude des réseaux trophiques.** 1991. Tese (Doutorado) - Institut National Polytechnique de Toulouse – França, 1991.

PAOLO, C. Avaliação do Ensaio Cometa a estudo de danos ao DNA de robalos, *Centropomus parallelus* (Poey, 1860), expostos à β -naftoflavona. 2006. Dissertação (Mestrado em Oceanografia biológica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

PAZ, A. C. **Pesca e ictiofauna na área adjacente ao terminal de Vila do Conde-Pará, Brasil.** 2007. 111 f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

PAULA, S.N.C. **Biomonitoramento como instrumento de detecção de contaminantes ambientais.** 2010. Monografia (Especialista em Planejamento e Gestão Ambiental)-Universidade Veiga de Almeida. Vitória, ES. 2010.

PARÁ. Secretaria Executiva de Estado de Planejamento, Orçamento e Finanças. 2011.

PARENTE, V. de M.; BATISTA, V. da S. A organização do desembarque e o comércio de pescado na década de 1990 em Manaus, Amazonas, **Acta Amazônica.** v. 35, n. 3, p. 375-382. 2005.

PEREIRA, D. F. B. **COMPARAÇÃO DA DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA POPULACIONAL DE *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) E *P. auratus* (CASTELNAU, 1855) (PERCIFORMES, SCIAENIDAE) ATRAVÉS DA ANÁLISE DO DNA MITOCONDRIAL E NUCLEAR.** 2011. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia) – Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, Pará, 2011.

PICH, C. T. Uso de organismos bioindicadores e de biomarcadores para avaliação de contaminação ambiental. **Rev. Técnico Científica (IFSC)**, v. 3, n. 1 (2012).

PINHEIRO, L. A.; FRÉDOU, F. L. Caracterização geral da pesca industrial desembarcada no estado do Pará. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, 2004.

PIORSKI, N. M; MARANHÃO, F. R. C. L; ROCHA, R. M. V; NUNES, J. L. S. Análise da estratégia alimentar de *Macrodon ancylodon* (BLOCH & SCHNEIDER, 1801) - (Perciformes: Sciaenidae) de um estuário do litoral ocidental do Maranhão-Brasil. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 17, p. 49-52, 2004.

PIRATOBA, A. R. A. **Avaliação da Influência do Polo Industrial de Barcarena na Qualidade Ambiental dos Recursos Hídricos Superficiais na sua Área de Abrangência.** 2013. 321 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade do Estado do Pará, Belém, 2013.

PINAYA, W. H. D.; LOBON-CERVIA, F. J.; PITA, P.; BUSS, S. R.; FREIRE, J.; ISAAC, V. J. Multispecies Fisheries in the Lower Amazon River and Its Relationship with the Regional and Global Climate Variability. **PLOS ONE.** CANADA, v. 11, n. 6, p. 1-29, 2016.

PIRATOBA, A. R. A.; RIBEIRO, H. M. C.; MORALES, G. P.; GONÇALVES, W. G. Caracterização de parâmetros de qualidade da água na área portuária de

Barcarena, PA, Brasil. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, Taubaté, vol. 12 n. 3 p. 1-22, May / Jun. 2017.

RAMELOW, G. J.; WEBRE, C. L.; MUELLER, C. L.; BECK, J. N; YOUNG, J. C.; LANGLEY, M. P. Variations of heavy metals and arsenic in fish and other organisms from the Calcasien River and Lake, Louisiana. **Archives of Environmental Contamination Toxicology**, v.18, p.804-818, 1989.

RASHED, M. N. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. **Environment International**, v. 27, n. 1, p. 27-33, 2001.

RAGAZZO, M. de T. 2002. **Peixes do Rio Negro por Alfred Russel Wallace (1850-1852)**. Livro. Organização – texto introdutório e traduções Mônica de Toledo-Piza Ragazzo. Edusp - Editora da Universidade de São Paulo, Imprensa Oficial do Estado, São Paulo. 1º ed. Pág.486-487.

RAMOS, E. N.F. **Abundância da produção pesqueira por área de pesca do lago da hidrelétrica de Tucuruí**. 2019. 57 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, 2019.

RANZANI-PAIVA, M. J. *et al.* **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: EDUEM, 2013. 140 p.

REIS, R. E.; FONTANA, C. S.; BENCKE, G.A. **Livro Vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul**. Edipucrs, 2003.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARUQUES, E. K. *Mutagenese Ambiental*. Editora Ulbra, Canoas: 1ª ed. 2003.

RIVERO, C. L. G. **Frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em patologia molecular) – Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2007.

ROBERTS, J. M.; CABRAL, O. M. R.; COSTA, J. P.; MCWILLIAM, A. L. C.; SÁ, T. D. A. **An overview of the leaf area index and physiological measurements during ABRACOS**. *In: Amazonian Deforestation and Climate*. Org. por Gash, J.H.C., Nobre, C. A., Roberts, J. M. e Victoria, R.L., John Wiley & Sons, 1996. 287–306p.

ROJAS, V. F.; RUMIZ, D. I. Estudio preliminar de la ictiofauna y los hábitats acuáticos del Río Bajo Paraguá, Santa Cruz, Bolivia. **Biota Neotrop.**, v. 8, n.1, p.1-9. 2008.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T. **Livro vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Os Peixes Brasileiros Ameaçados de Extinção**. V.1, Brasília, DF-2008.

ROCHA, C. A. M. **Avaliação da genotoxicidade do cloreto de metilmercúrio em duas espécies de peixes neotropicais**. 2009. 102 f. Tese (Doutorado em Neurociências e Biologia Celular) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

RODRIGUES, W.C. Insetos como indicadores de qualidade ambiental. 2011. Disponível em:

http://www.izma.org.br/newsite/index.php?option=com_content&view=article&id=66:artigoisetosindicadores&catid=35:curiosidadesfauna&Itemid=78. Acesso em 24 Jan. 2021.

ROCHA, C. A. M. As pernas do caranguejo: Câncer Crura. 1 ed. Belém-PA, 2013. 100 p.

ROCHA, C.A.M.; PESSOA, C.M.F.; RODRIGUES, C.A.C.; PINHEIRO, R.H. S.; COSTA, E.T.; GUIMARÃES, A.C.; BURBANO, R.R. Investigation into the cytotoxicity mutagenicity of the Marajó Archipelago waters using *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes: Scianidae) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.132, p.111-115, Maio 2016.

RUFFINO, M. L.; ISAAC, V. J. 2000. Ciclo de vida e parâmetros biológicos de algumas espécies de peixes da Amazônia brasileira. In: Recursos pesqueiros do médio Amazonas: biologia e estatística pesqueira. Edições IBAMA. Coleção meio ambiente. **Série estudos de pesca**. v. 22. Brasília.

SANYO TECHNO MARINE. **Draft final report for the fishery resources study of the Amazon and Tocantins river mouth areas in the federative republic of Brazil**. Tokyo, 1998. 334p.

SANTOS, A. T. L. M. **Análise temporal dos impactos socioambientais das barragens de rejeito na bacia hidrográfica do rio Murucupi, Barcarena – PA**. Dissertação (Mestrado em Segurança de Barragem e Gestão Ambiental) – Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2018.

SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutat Res**, 31:9-15. (1975).

SERIANI, R.; ABESSA, D. M. S.; KIRSCHBAUM, A. A.; PEREIRA, C. D. S.; ROMANO, P.; RANZANI -PAIVA, M. J. T. Relationship between toxicity and hematological water changes in *Oreochromis niloticus*. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**. v. 15 p.47-53, 2011.

SINGH, N. P.; McCoy, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. **Elsevier**. v.175. n.1. p. 184-191. Mar. 1988.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, v.1. 2003. 424 p.

SIQUEIRA-SOUZA, F. K. BARBOSA, R. P. FREITAS, C. E. C. **Peixes do médio Rio Negro: Uma abordagem ecológica**. Manaus: EDUA, 2006. 45 p.

SILVA, C. A.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM**. Patos de Minas-MG. UNIPAM, vol.1, n. 7, p. 167-179, 2010.

SILVA, A. C.; MANGAS, A. P.; PALHETA, G. D. A.; MELO, N. F. A. C. Variação Intermareal na Composição do Ictioplâncton no Estuário do Rio Guajará-mirim (Vigia de Nazaré-Pará) em período de alta pluviosidade. **Boletim Técnico Científico Cepnor**, Belém, v. 11, n. 1, p. 21-32, 2011.

SILVA, J. G. C.; MORAES, M. R. L. **Posicionamento da Rede da Sociedade Civil Pró-Fórum em Barcarena**: Por uma Barcarena justa, democrática e sustentável. 2012.

SILVA, F. A. O. **Por uma gestão das águas na bacia hidrográfica do rio Murucupi-Barcarena-PA**. 2012. 161 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2012.

SILVA, G. K. R. **Transformações socioambientais na comunidade de Dom Manoel-Barcarena/PA**. 2013. 138 f. Dissertação (Mestrado em Educação)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

SILVEIRA, G. S.; NASCIMENTO, L. A. B.; CASTRO, R. M.S.; JUNIOR, L. N. C.; VASCONCELOS, M. A. M.; BITTENCOURT, P. C. S.; CORREA, D. L.; PALHETA, D.C. Socio-environmental sustainability: a case study in the good future community in barcarena in the Paraense amazon: **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 10, p. 18344-18354, sep. 2019.

SCHULZ, U. H.; MARTINS-JUNIOR, H. *Astyanax fasciatus* as bioindicator of water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brasil. **Brazilian Journal Biology**, v.61, n.4, p.1-8, 2001.

SOUTO, P. S. S. **Risco ecológico associado à contaminação mercurial em ecossistemas aquáticos da Amazônia: Região do Rio Tapajós, Estado do Pará, Brasil. Caracterização através de biomarcadores no gênero *Cicla* (Tucunarés)**. 2004. F. Tese (Doutorado em Geociências) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of *Nile tilápia* exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research**, v. 605, p.87-93, 2006.

SOARES, M. G. M; COSTA, E. L.; SIQUEIRA-SOUZA, F. K.; ANJOS, H. D. B.; YAMAMOTO, K. C. **Peixes de Lagos do Médio Rio Solimões**. 2ª ed. Manaus: Instituto Piatam, 2008, 160p.

SUZUKI, H. I. **Variações na morfologia ovariana e no desenvolvimento do folículo de espécies de peixes teleósteos da bacia do rio Paraná, no trecho entre a foz do rio Paranapanema e a do rio Iguçu**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. 1992.

TERRA, B. F.; ARAÚJO, F. G.; CALZA, C. F.; LOPES, R. T.; TEIXEI, T. P. Heavy Metal in Tissues of Three Fish Species from Different Trophic Levels in a Tropical Brazilian River. **Water air Soil Pollution**. V. 187, p. 275-284, 2008.

TORREZANI, N. C. **Efeitos genotóxicos da fração solúvel do biodiesel para uma espécie de peixe neotropical**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL. Londrina, 2009.

UDROIU, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79, p. 201-204, 2006.

WALLACE, A. R. **Peixes do Rio Negro**. 1.ed. São Paulo: Edusp, 2002. P.518.

WHITE, P. A.; RASMUSSEN, J.B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. **Mutation Research**. n. 410. p. 223-236, 1998.

WORTHMANN, H. O. W. 1979. A relação entre o desenvolvimento do otólito e o crescimento do peixe como auxílio na distinção de populações de pescada (*Plagioscion squamosissimus*). **Acta Amazônica**. 9: 573-586p.

VALENTE, Danel et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**. ISSN: 2317-6369. 42(supl 1):e2s. p.1-21, 2017.

VENTURA, A. S.; CORSINI, F. E.; GABRIEL, A. M. A. Hematologia como biomarcador de contaminação ambiental em peixes. **Nutritime Revista Eletrônica**. Viçosa, v.12, n.6, p.4500-4507, 2015.

VIANA, A.P. **Ictiofauna como biondicador de qualidade ambiental na baía do Guajará (Belém-PA), estuário Amazônico**. 2006. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal do Pará; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém, PA, 2006.

VIANA, A. P. A ictiofauna no monitoramento da qualidade ambiental em um distrito industrial do estuário Amazônico. 2011. 153 f. Tese (Doutorado em Ecologia Aquática e Pesca) – Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2011.

VIEIRA, M. S. G.; FERREIRA, R. L.; OLIVATI, F. N. A utilização de bioindicadores como instrumento de perícia ambiental. **Caderno Meio Ambiente e Sustentabilidade** - v.5, n.3 – 2014.

CAPÍTULO 2 - (Padronizado de acordo com as normas da revista *Marine Pollution* - ISSN 0025-326X)

Evaluation of water genotoxicity in the Amazon River using the micronucleus test and comet assay in fish erythrocytes

Claudia Antonia Campos Rodrigues de Oliveira^a, Paulo Sergio dos Santos Souto^b, Marcelo de Oliveira Bahia^c, Lorena Araújo da Cunha^c, Maria de Lourdes Souza Santos^d, Dulcideia da Conceição Palheta^b, Tatiane do Nascimento Medeiros Rodrigues^a, Bianca Bentes^a

^a Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ecologia Aquática e Pesca, Rua Augusto Corrêa, S/N Guamá, Belém, PA CEP: 66075-110, Brazil, e-mail: claudia.engpesca@yahoo.com.br

^b Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Saúde e Produção Animal-ISPA, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501 Bairro: Terra Firme, Belém, PA CEP: 66077-830, Brazil. E-mail: soutopss@gmail.com

^c Universidade Federal do Pará, campus básico, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Citogenética Humana, Rua Augusto Corrêa, S/N Guamá, Belém, PA CEP: 66075-110.

^d Universidade Federal Rural da Amazônia, Laboratório de Química Ambiental, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501 Bairro: Terra Firme, Belém, PA CEP: 66077-830, Brazil, Rua Augusto Corrêa, S/N Guamá, Belém, PA CEP: 66075-110, Brazil. E-mail: lourdes.santos@ufra.edu.br

^a Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ecologia Aquática e Pesca, Rua Augusto Corrêa, S/N Guamá, Belém, PA CEP: 66075-110, Brazil, e-mail: bianca@ufpa.br

ABSTRACT

Genotoxicity studies in coastal ecosystems have been a priority in Environmental Risk Assessment (ERA). This research aimed to study the mutagenicity (the micronucleus test) and genotoxicity (comet assay) of some Brazilian Amazon rivers in Barcarena and Vigia cities using *Plagioscion squamosissimus* as a bioindicator. Blood samples were collected from 54 specimens. No significant mutagenic effects were detected in the cells analyzed, although the highest occurrence was observed in Barcarena. The percentage of genomic damage differed between the sites studied, being always higher in Barcarena as well. Of the nucleoids analyzed in Barcarena, on average 28±14.42% of the cells were classified in the highest damage class (4). The fish analyzed in the present study are having direct influence of xenobiotic agents capable of producing damage to the genetic material of aquatic organisms in both sites and, consequently, may bring consequences still little reported in studies of morphophysiological alterations in humans.

Key words: biomarkers; environmental monitoring; cells; xenobiotic agents.

Financiamento: Este trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

2.1 Introdução

Na Amazônia, o aumento acelerado do processo de urbanização gerou uma série de impactos ambientais e sociais que passaram a comprometer cada vez mais o meio ambiente e a qualidade de vida da população, dentre os quais a falta de saneamento básico e a poluição hídrica, diretamente ligada à proliferação de doenças infecciosas, que causam mortalidade infantil (Roulet et al., 2001; Maniçoba, 2006; IEC, 2009; Pantoja, 2015; Medeiros et al., 2017). A abundante reserva de água doce na bacia amazônica contrasta com a qualidade da água consumida nas comunidades ribeirinhas.

Os efeitos nocivos de várias substâncias nos ambientes aquáticos tem sido alvo da literatura científica por conta dos desdobramentos causados nos organismos aquáticos e nos seres humanos (Costa et al., 2008; Ghisi et al., 2010; Martins e Costa et al., 2015; Rocha et al., 2016; Oliveira, et al., 2020; Santana, 2020), uma vez que muitos dos poluentes lançados direta ou indiretamente nestes ambientes têm sua origem nas atividades humanas, sendo algumas biodegradáveis, enquanto outras não (Robert, 2008). Além disso, vários estudos têm mostrado que a degradação dos ecossistemas aquáticos expostos a descargas de resíduos industriais pode levar a uma redução na abundância de espécies comercialmente importantes, resultando em problemas econômicos e sociais para as comunidades locais (Kennish, 1985; Blaber, 2000).

Assim, análises hematológicas em peixes expostos a contaminantes podem ser consideradas emergentes no sentido de monitorar a qualidade ambiental uma vez que estes respondem aos compostos tóxicos em vias similares aos grandes vertebrados podendo ser utilizados como bioindicadores para testar substâncias químicas potencialmente teratogênicas e/ou carcinogênicas para o homem (Rivero, 2007; Ranzani-Paiva et al., 2013; Oliveira & Valdes, 2019).

Nesse sentido, várias ferramentas têm sido desenvolvidas para a detecção destas alterações e o Ensaio Cometa também conhecido como SCGE (*single cell gel electrophoresis*) possui ampla utilização para testar agentes genotóxicos de dejetos industriais, domésticos e agrícolas por induzir danos e reparo no DNA das

espécies em um determinado ambiente, além de ser utilizado em pesquisas sobre o câncer (HARTMANN *et al.*, 2003; WHITE & RASMUSSEN, 1998).

Esse ensaio foi proposto por Ostling e Johanson (1984) e pode ser aplicado em uma série de estudos como genética toxicológica, ecotoxicologia e em estudos de reparo de DNA e apoptoses. Esta técnica foi modificada e aprimorada por Singh *et al.* (1988), com a introdução de condições alcalinas, desenvolvendo uma eletroforese de células isoladas e que foi adotada pela maioria dos laboratórios em testes de genética toxicológica (MOLLER, 2005; RIVERO, 2007).

Outro método utilizado para o estudo de genotoxicidade ambiental é por meio do Teste de Micronúcleo (MN), que tem sido utilizado como modelo experimental na detecção de efeitos genotóxicos provocados por diversos agentes físicos e químicos, com o objetivo de avaliar os efeitos que determinados elementos contaminantes podem ocasionar na biota de ambientes aquáticos contaminados por poluentes, os quais o homem também pode estar exposto (MATSUMOTO, 2006; MARTINS *et al.*, 2010; Ranzani-Paiva *et al.*, 2013).

O teste do micronúcleo foi desenvolvido por Schmid (1975) usando células da medula óssea de mamíferos e tem sido extensivamente aplicado para testar a genotoxicidade de compostos químicos em invertebrados, peixes e anfíbios e têm-se obtido excelentes resultados no monitoramento de áreas contaminadas. A frequência de MN observada em um determinado momento pode ser considerada uma resposta complexa entre a atividade genotóxica e a eficiência do mecanismo fisiológico de defesa do organismo teste. Nos peixes, os micronúcleos são encontrados no sangue periférico, diferentemente do teste realizado em alguns mamíferos, onde necessita extrair material da medula óssea (MERSCH *et al.*, 1996; CAMPANA *et al.*, 2003).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo principal estudar a toxicidade ambiental em trecho dos rios Murucupi (ambiente impactado por polo industrial) e Furo da Laura (área controle) utilizando *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (localmente conhecido como pescada branca) como bioindicador de qualidade ambiental. A espécie escolhida para o estudo apresenta desembarques frequentes nas duas áreas estudadas e faz parte da dieta dos moradores locais, além de produto de exportação (Viana, 2011; Furtado-Júnior *et al.*, 2015).

Considerando a importância ecológica e econômica dos estuários amazônicos aqui estudados e a identificação dos impactos causados por

empreendimentos extratores de minério, podem-se sugerir ações que minimizem os efeitos deletérios causados. Medidas compensatórias e/ou mitigatórias podem garantir a produtividade desses ambientes para as gerações futuras, dada a importância tradicional dos recursos pesqueiros dessas áreas como fonte de renda e subsistência para as populações locais.

Apesar da falta de dados históricos para a área de estudo, os procedimentos metodológicos adotados no presente estudo se mostraram adequados para a detecção das alterações ambientais apontadas e principalmente, da espécie considerada. Este estudo além de inédito nessas regiões, ainda pode fornecer informações importantes a respeito da fisiologia da espécie frente às alterações ambientais analisadas.

2.2 Material e Métodos

Todos os métodos e manejos utilizados nesse estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais-UFPA (nº 727721082) (anexo 1) e licença ambiental para a coleta de dados em campo do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) (nº 15080-9) (anexo 2).

2.2.1 Áreas de estudo

A pesquisa foi desenvolvida a partir de amostras de sangue periférico de *P. squamosissimus* coletadas em dois ambientes considerados neste estudo como região antropizada e região controle, neste caso, os rios Murucupi e Furo da Laura respectivamente, nos períodos sazonais amazônicos: período seco (Agosto) de 2020 e período chuvoso (Março) de 2021. Os locais foram escolhidos pela proximidade com a capital Belém e dos respectivos laboratórios de análises toxicológicas. O período de coleta e análise foram realizados durante a pandemia do novo corona vírus, o que nos impossibilitou a realização de coletas no município de Vigia no período seco, o que não afetou nos resultados encontrados.

O rio Murucupi (Fig.1), principal curso d'água da Bacia hidrográfica do Murucupi situado no Município de Barcarena, Nordeste do Estado do Pará, Microrregião do Baixo-Tocantins e da área metropolitana de Belém, foi o local escolhido como antropizado por receber uma grande carga de contaminação

lançada dos domicílios e indústrias sediadas nas redondezas (Silva, 2013; Hazeu, 2015; Piratoba et al, 2017). Apresenta aproximadamente 8 km de extensão, tem sua nascente dentro de uma área de preservação ambiental próximo à bacia de armazenamento de lama vermelha de uma refinaria de alumina e no seu curso natural atravessa os principais polos urbanos do município de Barcarena (Oliveira, 2013; Costa, 2015; Santos, 2018). A área do entorno apresenta clima tropical chuvoso (úmido) com precipitação pluviométrica inferior a 60 mm e média anual em torno de 2.587,7 mm (Cunha, 2018).

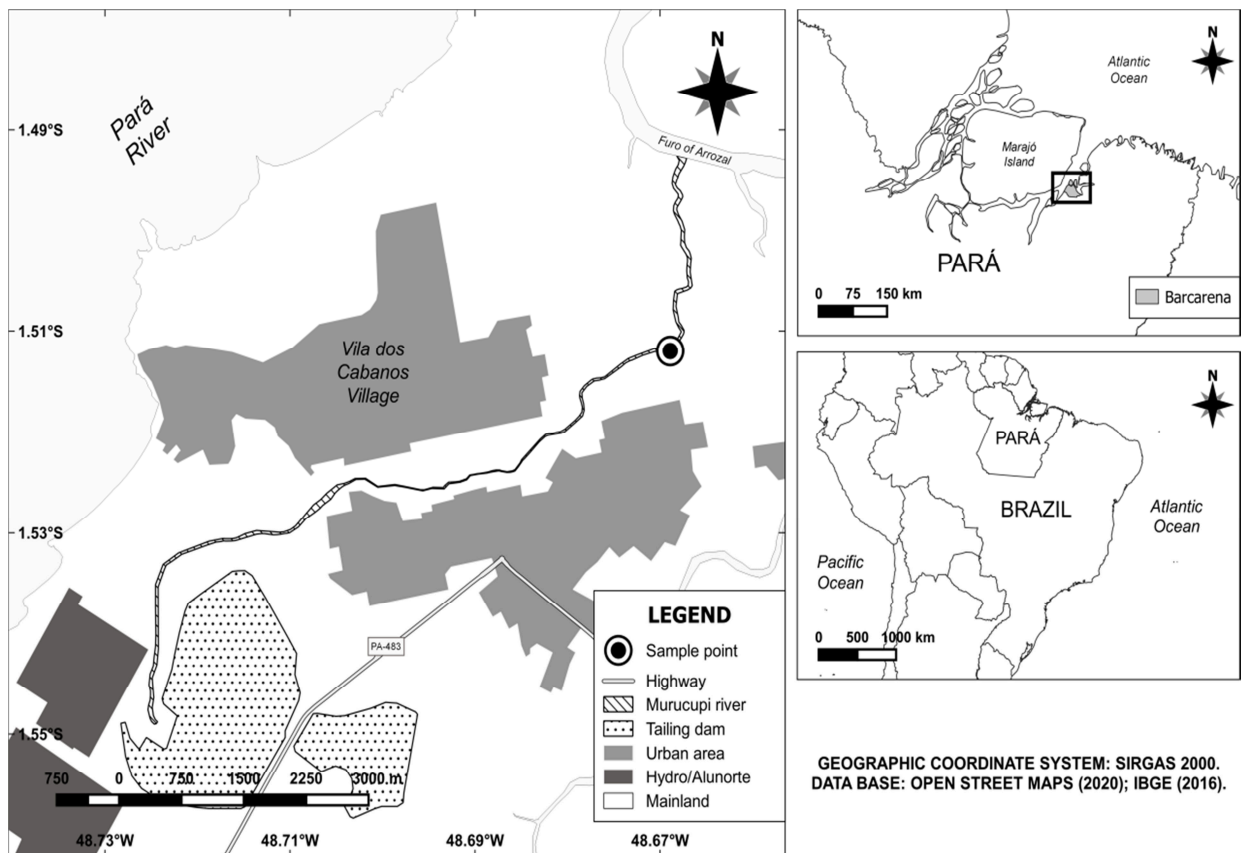


Fig.1. Localização do ponto de captura de *P. squamosissimus* no rio murucupi-Barcarena-PA, Brasil no mês de Agosto/2020 e Março/ 2021.

O estuário Furo da Laura (Fig.2) é o principal acidente hidrográfico do município de Vigia, nordeste Paraense e microrregião do salgado. Possui uma grande extensão de comprimento e fluxo diário de embarcações artesanais e industriais (Lima et al., 2015). Predominam depósitos de pântanos e mangues holocênicos nas margens (Lima et al., 2015). A cobertura vegetal é formada por bosques de mangues com um misto de vegetação típica de terra firme (Cardoso, 2009). O clima do entorno é típico equatorial Amazônico, super úmido, com temperaturas relativamente elevadas atingindo mínima de 26°C e máxima de 39°C

(Mesquita, 2020), havendo uma nítida separação em seu regime pluviométrico entre os períodos chuvoso e seco (menos chuvoso), tendo uma elevada precipitação nos seis primeiros meses (Janeiro a Junho) do ano considerado como o período chuvoso e os últimos seis meses (Julho a Dezembro) do ano considerados como período seco (Silva et al., 2011).

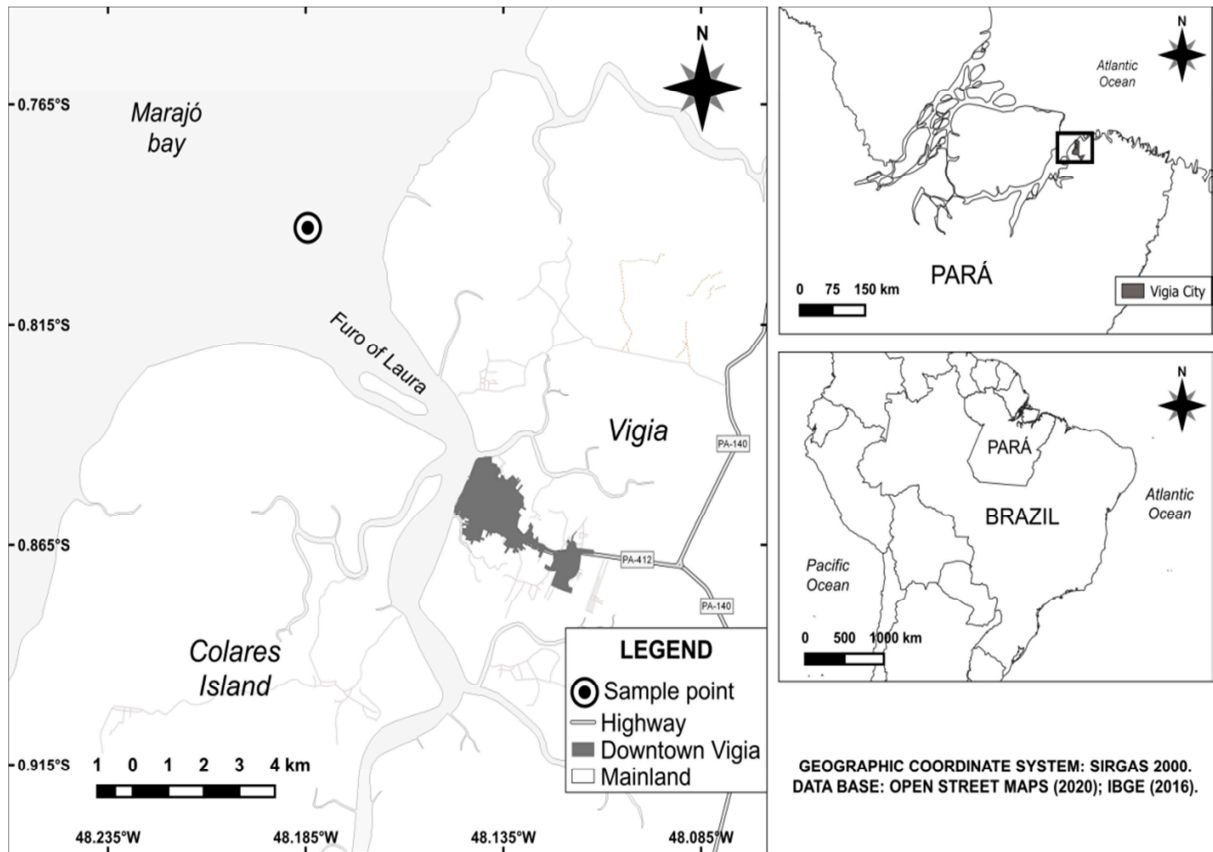


Fig.2. Localização do ponto de captura de *P. squamosissimus* no estuário Furo da Laura em Vigia-PA, Brasil, Março/2021.

2.2.2 Amostragem e preparação das amostras

A captura foi realizada com o auxílio de pescadores locais em currais de pesca de diferentes tamanhos, de modo a minimizar o efeito da seletividade, bem como diminuir o estresse dos indivíduos de acordo com metodologia descrita por Ishikawa et al., (2010). Para a contenção, os peixes foram colocados em um balde contendo água e Benzocaína 2% 190mg/L por cerca de 3 minutos para posterior amostragem de sangue e biometria. No total, foi padronizada a captura de pelo menos vinte exemplares por período sazonal por local.

A colheita de sangue foi realizada em vasos da região caudal com seringas de 3ml contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) conforme

metodologia proposta por Ranzani-Paiva et al. (2013), e Ishikawa et al. (2010). Após a colheita de sangue foi registrado o comprimento total (CT) e o peso (em gramas) de cada indivíduo. Para isso, contou-se com o auxílio de balança semi-analítica e Ictiômetro. Em seguida, os indivíduos foram devolvidos ao ambiente.

Para o armazenamento do sangue foram utilizados tubos de microcentrífuga do tipo *Eppendorf*, acondicionados em isopor contendo gelo a uma temperatura de entre 5 °C a 7 °C (Ishikawa et al., 2010) e levados ao laboratório. No ensaio cometa utilizamos o procedimento de Singh et al. (1988), com pequenas modificações (Hartmann; Speit, 1997). Foram preparadas duas lâminas de cada animal previamente cobertas por agarose normal (Gibco). Foram diluídos 10µL do sangue coletado em 500µL de soro bovino fetal. Dessa solução, foram coletadas 10 µL e misturados com 120 µL de gel de agarose com baixo ponto de fusão (“low melting point” – LMP), previamente preparada e levemente aquecida a 37°C.

Após essa etapa, as lâminas passaram pelo processo em tampão de desnaturação (NaOH 30 mM, 1 mM EDTA) pH>13, pré-resfriado entre 4-8° C e incubadas de maneira a cobrir as lâminas, por 10 minutos. A eletroforese foi realizada com o auxílio de uma cuba horizontal e transcorreu a 25 V e 300 mA, por um período de 20 minutos. Em seguida as lâminas foram removidas, fixadas em etanol absoluto e coradas com 20 µL de brometo de etídio. Todas as etapas foram realizadas no escuro para prevenir danos ao DNA.

Para a visualização dos danos do DNA, as lâminas foram observadas em aumento de 1000x utilizando microscópio de epifluorescência equipado com filtro de excitação de 515–560 nm e um filtro de barreira de 590 nm e contador de células manual. Foram analisadas 100 nucleóides por lâmina, estipulando-se previamente de acordo com Collins *et al.* (2001), cinco classes de danos.

O Teste de Micronúcleo foi realizado de acordo com Al-Sabti & Metcalfe (1995). Foram realizadas extensões sanguíneas em lâminas limpas e previamente identificadas. Para isso, foi colocada uma gota de sangue e realizada a extensão com o auxílio de uma lâmina.

Foram preparadas duas lâminas por indivíduo que foram devidamente coradas com coloração tipo panótico rápido devido à distinção satisfatória entre eritrócitos, de forma rápida e prática, pois cora o núcleo de azul escuro e o citoplasma de azul claro (Meneguetti et al., 2011). Essa técnica consiste em submergir as lâminas nas soluções 1, 2 e 3 por cinco segundos em cada solução

respectivamente. Depois de coradas, as extensões foram lidas em microscopia óptica de imersão em aumento de 1000x. Foram analisadas 2.000 (duas mil) células por indivíduo, verificando-se a quantidade de micronúcleo (MN) e de alterações morfonucleares presentes (AMN). Para isso contou-se com o auxílio de microscópio óptico (ZEISS/PRIMO STAR) em aumento de 1000x e contador manual de células sanguíneas. Os dados foram registrados em planilhas eletrônicas do Microsoft Excel®.

A frequência de micronúcleos foi observada de acordo com metodologia proposta por Carrasco et al. (1990), e Oliveira et al. (2020). Assim, foram consideradas apenas as células intactas nas lâminas e a determinação dos micronúcleos seguiu os seguintes critérios: 1) tamanho menor que 1/3 do núcleo; 2) mesmo plano de foco do núcleo; 3) padrão da estrutura e coloração da cromatina idênticos ao núcleo 4) nenhuma ligação com o núcleo principal.

Os dados de qualidade da água do Rio Murucupi, foram obtidas no site HIDROWEB da Agência Nacional das Águas (ANA) e por meio do monitoramento realizado pelo Laboratório de Química Ambiental (LQA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA).

2.2.3 Análises estatísticas

A quantidade de micronúcleos e de alterações morfonucleares por espécime, foram testadas considerando o local (antropizado ou não antropizado), respectivo período sazonal (seco ou chuvoso), o tamanho dos espécimes considerando a amplitude de comprimentos nas amostras, além de todas as combinações possíveis. Inicialmente, foram testadas a normalidade e homocedasticidade dos resíduos e posteriormente foram realizados testes de médias (ANOVA) *one way* e *factorial* considerando erro de 5%. Para o ensaio cometa foram contados 100 nucleóides por animal, 50 em cada lâmina preparada, usando a classificação visual baseada na migração de fragmentos de DNA, seguindo as classes: 0 (sem dano aparente), 1 (pouco dano), 2 (dano médio) 3 (dano extenso) e 4 (dano máximo, apoptose) (Wachtel, 2017), que para análise estatística foram atribuídos valores numéricos (*rankings*) de 0 a 4 para cada uma das classes, respectivamente. Todas as análises supracitadas foram realizadas por meio do Software Statistica 10.0.

Por último, foi realizada uma análise de redundância (RDA) no software CANOCO 4.5 (Software for Canonical Community Ordination), para observação de todos os efeitos e fatores ao mesmo tempo. Para este método foram realizadas 9999 permutações (Método de Monte Carlo) para testar a significância das variáveis independentes (local e tamanho do espécime) que contribuíram para a variabilidade dos dados, sendo inseridas somente as variáveis estatisticamente significativas pela análise ($p < 0,05$). Para as variáveis dependentes (% de micronúcleos, categoria do dano no DNA) foram construídas matrizes separadas de presença e ausência, onde cada linha representa um indivíduo, sendo esta relacionada com uma segunda matriz ('tratamento'), em que as variáveis independentes foram elencadas uma a uma.

2.3 Resultados

Foram capturados 54 espécimes nos dois locais estudados, sendo que os indivíduos de Vigia foram estatisticamente maiores em tamanho que os de Barcarena ($F=17,69$; $p < 0,01$). Entretanto, os espécimes capturados em Barcarena foram graficamente mais pesados que os capturados em Vigia ($F=0,085$; $p > 0,05$) (Tabela 1; Tabela 5).

Tabela 1- Máximo, média, mínimo e desvio padrão do comprimento total (em cm) e peso (em gramas) de *Plagioscion squamosissimus* nos períodos menos chuvoso e mais chuvoso em Barcarena e Vigia (estuário amazônico brasileiro).

Local de amostra	N	Estação	TL (cm)				Peso(g)			
			Max	Média	Min	SD	Max	Média	Min	SD
Barcarena	16	Seco	35,5	31,91	28	2,7	905	646,19	239	195,05
	24	Chuvoso	29,5	21,06	17	3,21	240	98,46	27	51,85
Vigia	14	Chuvoso	40,2	32,84	23,6	4,44	474	293,5	114	107,32

Não houve diferença significativa nas concentrações de pH, no entanto os valores de oxigênio dissolvido no rio Murucupi foram inferiores aos do local controle. As maiores concentrações de nitrato foram observadas em Barcarena em ambos os períodos (Tabela 2).

Tabela 2 - Variáveis abióticas (Temperatura – Temp., Salinidade - Sal, pH, Oxigênio Dissolvido - DO, Nitrato - Nitra e Fosfato - FOF) nos períodos menos chuvoso e mais chuvoso em Barcarena e Vigia (estuário amazônico brasileiro).

Local de amostra	Estação	Temp. °C	pH	DO (mg.L-1)	Nitra (mg.L-1)	FOF (mg.L-1)
Barcarena	Seco	30,36	6,05	5,6	2,7	0,078
	Chuvoso	29,39	5,82	5,16	5,0	0,026
Vigia	Seco	28,94	6,86	8,48	0,85	0,29
	Chuvoso	29,16	6,37	7,28	0,49	0,04

Fonte: HidroWeb-ANA (2020).

2.3.1 Ensaio Cometa

O percentual de danos genômicos diferiu entre os locais estudados, sendo sempre maiores em Barcarena (Tabela 3; Tabela 5). Dos nucleóides analisados em Barcarena, em média $28 \pm 14,4\%$ das células foram classificadas na classe de maior dano. Em Vigia os nucleóides na classe 4 foram de apenas 1% das células analisadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias e desvios das classes de danos para o ensaio cometa de *Plagioscion squamosissimus* capturados em Barcarena e Vigia nos períodos seco e chuvoso. 0 - sem dano; 1 - mínimo; 2 - médio; 3 - intenso; 4 - máximo.

Local Amostra	Estação	COMET ASSAY CELL DAMAGE (average \pm sd) %					Total
		0	1	2	3	4	
Barcarena	Seco	11,69 \pm 10,70	24,13 \pm 16,34	16,44 \pm 5,1	20,13 \pm 13,79	28,25 \pm 14,43	1610
Vigia	Chuvoso	59,42 \pm 16,78	22,92 \pm 8,69	7,67 \pm 7,70	8,5 \pm 8,28	1,8 \pm 2,20	1200

2.3.2 Micronúcleos e Alterações Morfonucleares

Foram analisadas 107.990 (cento e sete mil, novecentos e noventa) eritrócitos. Do total de células analisadas, graficamente, o maior número de células anormais foi observado em Barcarena (Tabela 5).

Tabela 4 - Frequência de anormalidades nucleares e micronúcleos em 2000 eritrócitos de *Plagioscion squamosissimus* capturados em Barcarena e Vigia nos períodos seco e chuvoso. CN: células normais; AN: anormalidades nucleares; MN: micronúcleo.

Local sample	Estação	MICRONUCLEUS TEST (média±sd)			
		CN	AN	MN	Total
Barcarena	Seco	1,93±0,25	7,44±11,97	4,25±6,76	79.990
	Chuvoso	2 ±0,05	3,54±4,29	0,75±1,15	
Vigia	Chuvoso	1,99±0,01	7,21±7,67	0,69±0,95	28.000

2.3.3 Análise uni e multivariada

Os peixes capturados no município de Vigia apresentaram os maiores tamanhos em relação aos peixes capturados em Barcarena, no entanto, os peixes de Barcarena, apresentaram os maiores pesos. Com relação às classes de danos do ensaio cometa houve diferença significativa nas classes 0, 2, 3 e 4 com os maiores valores encontrados em Barcarena em todos os períodos com destaque para a classe 4, de maior dano, com média de $28,25 \pm 14,43$ no período seco e Vigia $1,8 \pm 2,20$ no período chuvoso (Tabela 5; Fig. 3). Apenas na classe 1 não foi observada diferença significativa entre os locais. As alterações morfonucleares encontradas para o período seco de Vigia e o período chuvoso em Barcarena não apresentaram diferenças significativas, no entanto a presença de micronúcleos em Barcarena foi superior às encontradas em Vigia (Tabela 5; Fig. 3).

As maiores concentrações de Nitrato foram observadas nos quadrantes 1 e 2 (Fig. 3), associado ao local antropizado (Barcarena). Os maiores valores de pH e oxigênio dissolvido estão associados ao Furo da Laura, onde foram observados os menores danos genômicos, alterações morfonucleares e a menor presença de eritrócitos com micronúcleos. Os efeitos celulares estudados estão associados à qualidade da água nos locais estudados, uma vez que os fatores testados responderam por 76,31% da variabilidade dos dados (Tabela 6).

Tabela 5 - Análises de variância (one and two way) e interpretação gráfica e/ou estatística do tamanho, peso, danos genômicos do ensaio cometa e análise de micronúcleo de eritrócitos de *Plagioscion squamosissimus* capturados em dois estuários amazônicos. CA = ensaio cometa; 0-4 – nível de dano genômico; AN = alterações morfonucleares; MN = micronúcleo; VIG = Furo da Laura, município de Vigia; BAR = Rio Murucupi, município de Barcarena; P = probabilidade; Df= graus de liberdade; MS = média dos quadrados; SS= soma dos quadrados. * diferença significativa.

Variável dependente	Fator de variação	MS	SS	Df	Teste de Fisher	P	Gráfico e /ou interpretação estatística
Comprimento total (cm)	Local	574,1	574,1	1	17,69	<0.01*	VIG>BAR
	Estação	477,1	477,1		13,91	<0.01*	SECO>CHUVOSO
Peso (g)	Local	5998	5998		0,085	>0.05	BAR≥VIG
	Estação	2,55E+06	2,55E+06		118,5	<0.01*	SECO>CHUVOSO
CA0	Local	1,56E+04	1,56E+04		84,33	<0.01*	BAR>VIG
CA1		10,01	10,01		0,054	>0.05	BAR≥VIG
CA2		527,5	527,5		13,08	<0.01*	BAR>VIG
CA3		926,7	926,7		6,68	<0.05*	BAR>VIG
CA4		4305	4305		32,63	<0.01*	BAR>VIG
CN		0	0		0,094	>0.05	BAR≥VIG
AN		46,36	46,36		0,692	>0.05	VIG>BAR
MN		20,85	20,85		1,26	>0.05	BAR>VIG

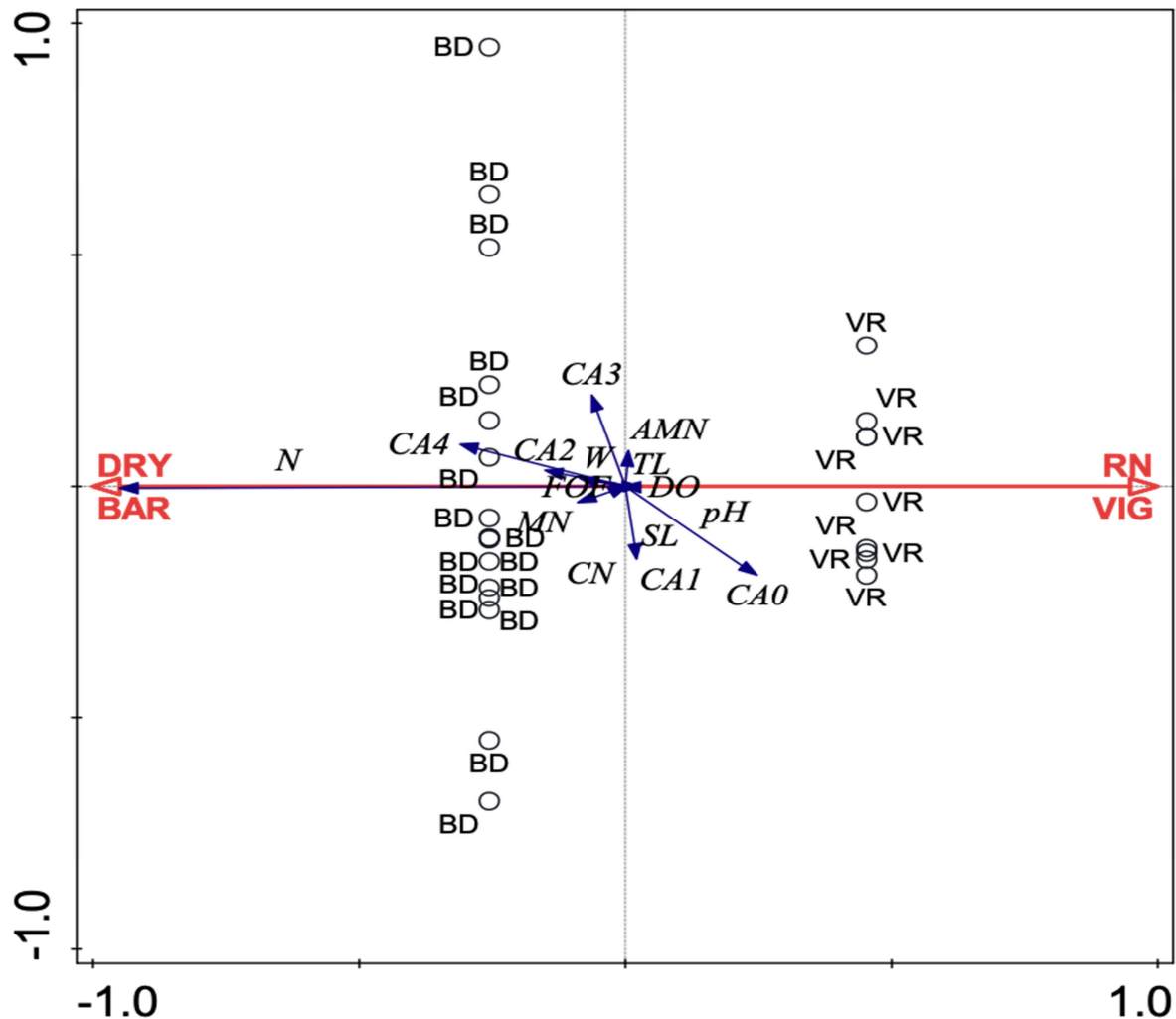


Fig.3 Diagrama de ordenação para os dois primeiros eixos resultante da análise de redundância do nível de dano do ensaio do cometa. (C0 – C4), peso (g), comprimento total (cm), alterações morfológicas nuclear (AMN); células com micronúcleos (MN) e células normal (CN) de *Plagioscion squamosissimus* capturada em estuários da Amazônia brasileira. RN – estação chuvosa; VR – Vigia chuvoso; BD – Barcarena seco.

Tabela 6 – Resultado da análise de redundância (RDA) para os efeitos das diferentes variáveis (Fig. 3) sobre *Plagioscion squamosissimus* obtidos durante o presente estudo em dois estuários da Amazônia brasileira.

Estatística	Axis 1	Axis 2
Autovalores	0.7631	0.0810
Varição explicada (cumulativa)	76.31	84.41
Correlação pseudo-canônica	0.9941	0
Ajustado explicado (cumulativo)	100	-

2.4 Discussão

Para uma investigação mais abrangente da genotoxicidade em modelos animais, o National Toxicology Program (NTP) sugere a combinação de análises do ensaio cometa e o teste de micronúcleo como parte da detecção das substâncias com interesse para a saúde pública, uma vez que esses ensaios avaliam os potenciais genotóxicos de produtos químicos para humanos (Kang et al., 2013). A identificação e o monitoramento dos compostos mutagênicos presentes no meio ambiente têm recebido grande atenção, pois estes podem levar ao aumento na incidência de câncer, embora nem todo agente mutagênico seja cancerígeno (McKenna et al., 2008; Rocha, 2013; Bolognesi et al., 2014).

O uso de peixes como bioindicador ambiental tem sido utilizado em vários estudos (Grisólia e Cordeiro, 2000; Souto, 2004; Arias et al., 2007; Costa et al., 2008; Delunardo et al., 2012; Carrola et al., 2014; Lima et al., 2015; Rocha et al., 2016; Bueno et al., 2017; Hussain et al., 2018; AnvariFar et al., 2018; Delunardo et al., 2020; Santana et al., 2020) para avaliar efeitos genotóxicos devido a capacidade de metabolização e acumulação de poluentes os quais o homem também pode estar exposto (Ranzane-Paiva, 2013; Ventura, 2015; Lima et al., 2015).

Na região Amazônica, *P. squamosissimus* é importante não apenas para a subsistência de muitas famílias e à exportação (Chao et al., 2015; Barbosa et al., 2021), mas também adequada para o biomonitoramento em ambientes aquáticos (Viana et al., 2013; Rocha et al., 2016) por conta de sua sensibilidade aos efeitos tóxicos, além de sua relativa abundância (Jonsson e Castro, 2005; Santos et al., 2020). Neste estudo, as diferenças de respostas nos grupos controle e contaminados para a espécie *P. squamosissimus* foram significativas tanto no Ensaio cometa quanto no Teste do Micronúcleo, porém com maiores índices de danos no primeiro grupo.

Neste estudo, os peixes capturados no município de Barcarena, apresentaram tamanhos menores, maior peso médio, maior frequência de micronúcleo, alterações nucleares e índices de danos do cometa comparado ao local menos antropizado, denotando a relação com a qualidade da água. Em Barcarena, a classe de maior dano (4) representou 28% dos nucleóides analisados, enquanto que para Vigia foi apenas de 1%.

Os valores encontrados para o micronúcleo foram semelhantes ao observados por Santos et al. (2015), que analisaram a relação peso-comprimento e o teste de micronúcleo na espécie *Colossoma macropomum* exposto a agrotóxicos e herbicidas na região Norte brasileira. Esses autores encontraram indivíduos com maior incremento em peso semelhante ao encontrado nesta pesquisa. A correlação da relação peso-comprimento e o teste de micronúcleo pode ser útil para o biomonitoramento de ambientes contaminados (Santos et al., 2015), além de fornecerem indicações sobre o estado fisiológico em relação à poluição, sendo que animais de locais mais impactados tendem a ter fator de condição (K) inferior aos de lugares não poluídos (Oliveira-Ribeiro et al., 2013).

Como no presente estudo, indicadores descritivos para a estrutura das classes de tamanho têm sido usados por vários autores para avaliar a variação sazonal e espacial nas comunidades de peixes, o que pode ocasionar mudanças no comportamento das espécies aquáticas e nas respostas fisiológicas frente à poluição (Arias et al., 2007; Costa et al., 2008; Copatti & Copatti, 2011. Santos et al., 2015). No Senegal, por exemplo, uma diminuição no comprimento máximo dos peixes foi observada após 20 anos de impacto antrópico (Ecoutin et al., 2010). Os tamanhos dos peixes capturados no rio Murucupi foram semelhantes aos encontrados por Oliveira et al. (2019), nesse mesmo local.

Nos organismos aquáticos, os contaminantes solúveis na água são introduzidos por meio da exposição dérmica e por tecidos respiratórios (bioconcentração), além da ingestão de alimentos contaminados (bioacumulação). À medida que o aumento da concentração de contaminantes nos tecidos avança nos níveis tróficos subsequentes, como resultado da acumulação ocasionada pela dieta alimentar, recebe o nome de biomagnificação (Costa et al., 2008). Segundo esses autores, os parâmetros físicos e químicos da água e os testes de toxicidade são complementares, uma vez que os primeiros identificam as concentrações de substâncias tóxicas e os testes de toxicidade avaliam o efeito dessas substâncias sobre sistemas biológicos.

No presente trabalho, os valores de oxigênio dissolvido observados no rio Murucupi foram inferiores aos encontrados no local controle e superiores aos encontrados por Pereira et al. (2007). Esses autores encontraram valores de 2,6 mg/L abaixo da resolução brasileira 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (> 5,0mg/L OD) e associaram a baixa concentração de oxigênio dissolvido

ao aumento significativo de matéria orgânica proveniente do efluente que é despejado no rio Murucupi.

Os valores de pH encontrados nos locais estudados nos dois períodos sazonais estão de acordo com as características dos rios amazônicos (ácido) que tem em sua composição argila rica em caulinita e ácidos húmicos oriundos da decomposição de matéria vegetal (Pereira et al., 2007; Medeiros et al., 2017).

A ocorrência de micronúcleos por origem endógena é amplamente relatada e não ultrapassa valores iguais a 1 MN por 1.000 células (1%) (Thomé et al., 2016). Com relação ao número exato de micronúcleos que devem ser contados por animal, existem vários trabalhos na literatura variando de 1000 a 10.000 células. Assim, Ghisi et al. (2010), buscaram desenvolver uma padronização comparando as contagens de 1000, 2000, 3000 e 4000 células e concluíram que estatisticamente apenas 1000 células mostram resultados satisfatórios. Neste estudo, a contagem de 2.000 eritrócitos por animal mostrou-se eficiente na identificação de células micronucleadas e de alterações nucleares em eritrócitos de *P. squamosissimus* nos dois locais analisados.

Os valores de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares encontrados tanto em Barcarena como em Vigia foram semelhantes aos resultados encontrados por Rocha et al. (2016), no arquipélago do Marajó, Brasil, utilizando *P. squamosissimus* como bioindicador e superiores aos encontrados por Bueno et al. (2017), em uma represa no sudeste brasileiro utilizando *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) nos períodos seco e chuvoso.

Por meio do teste de micronúcleo, Goes et al. (2016), utilizando *Pellona flavipinnis* (Pristigasteridae) como bioindicador, em 3 pontos do Rio Tapajós (Amazônia brasileira), indicaram que a ação dos poluentes sobre o rio provocou alterações genéticas celulares, devido à grande quantidade de micronúcleos encontrados. As altas concentrações genotóxicas observadas no local antropizado no período chuvoso podem estar ligados à ocorrência de maior índice de precipitação nesse período, uma vez que para Silva et al. (2014), nestas condições, as substâncias químicas são mais facilmente lixiviadas para dentro do rio.

Gomes et al. (2019), avaliaram o potencial genotóxico em amostras de água do rio Doce no estado de Minas Gerais, no Brasil (área semelhante ao ambiente antropizado deste estudo), utilizando *Geophagus brasilienses* (Cichlidae) como bioindicador antes e depois do acidente de rejeitos de uma das barragens e

observaram que as águas do Rio Doce, antes mesmo do acidente, já apresentavam potencial genotóxico com um aumento significativo na quantidade de micronúcleos eritrocitários e no índice de danos do DNA em relação aos peixes controle.

O ensaio cometa não é utilizado para detectar mutações, mas sim lesões genômicas que são passíveis de correção, podendo dessa forma ser utilizado para estudos de reparo do DNA, trazendo informações importantes sobre a cinética e o tipo de lesão reparada, embora não possibilite inferir a fidedignidade do processo de reparo (Albertini et al., 2000).

Em Barcarena, as classes dos nucleóides analisados foram semelhantes ao encontrados por Rocha (2009), em sangue periférico de *C. macropomum* e *Aequidens tetramerus* (Cichlidae) expostos a diferentes concentrações de metilmercúrio. Esse autor observou que os níveis de danos detectados pelo ensaio cometa foram maiores comparados ao Teste de MN, semelhantes aos resultados observados neste estudo o que pode ser considerado normal, uma vez que, o Ensaio Cometa avalia danos primários ao DNA, muitos dos quais não são passados às futuras gerações de células.

O fato de serem observados um elevado percentual de micronúcleos, alterações nucleares e danos no cometa nos espécimes de *P. squamosissimus* capturados em Barcarena, pode-se inferir uma relação direta com o hábito alimentar (piscívoro) dessa espécie, uma vez que Porto et al. (2005), avaliaram os efeitos genotóxicos de poluição por mercúrio em três espécies de peixes da ordem Characiformes com hábitos alimentares diferentes usando o Teste de Micronúcleo, eles observaram que a frequência média de MN na espécie piscívora foi cerca de cinco vezes maior que nas espécies detritívora e onívora.

Neste estudo não foram realizadas análises de metais pesados, no entanto, Barros et al. (2010), estudaram as concentrações destes metais no músculo de piranhas (*Serrasalmos spp.*), branquinhas (*Potamorhina spp.*) e tucunarés (*Cicha spp.*) no igarapé Gelado em Parauapebas, área que também sofre influência de extração mineral. Os autores constataram a contaminação dessas espécies, uma vez que foram encontrados valores de alumínio (Al), cádmio (Cd) e cromo (Cr) em altas concentrações. Para eles, esses resultados são preocupantes principalmente em relação ao cádmio (Cd), elemento altamente tóxico, bioacumulativo e cancerígeno, e o cromo (Cr) na forma hexavalente também tóxico e cancerígeno, podendo afetar a população que consome esse pescado.

A poluição de sistemas aquáticos por metais pesados, afeta a qualidade do meio ambiente e constitui risco eminente de intoxicação ao homem (Muniz e Oliveira-Filho, 2006). A solubilidade, disponibilidade e mobilidade desses metais estão relacionados a processos químicos e biológicos e, além disso, os efeitos genotóxicos no ser humano respondem à exposição aos compostos orgânicos e inorgânicos por eles formados, sendo determinados pela quantidade e pelo tempo de exposição. Os metais pesados em peixes, quando presentes em níveis elevados, podem influenciar tanto na redução do crescimento corporal quanto na diminuição da sobrevivência de embriões e larvas (Sisinno e Oliveira-Filho, 2013; Kasper, 2019).

Em estudos realizados por Hussain et al. (2018), no rio Chenab em Faisalabad (Paquistão) exposto a resíduos de indústrias e esgotos doméstico, utilizando o teste de micronúcleo, alterações nucleares e ensaio cometa com a espécie *Labeo rohita* (Cyprinidae), foram observados níveis agudos de toxicidade e alta carga de poluição, que aumentaram inclusive a mortalidade dos espécimes, indicando que a água não pode ser usada nem mesmo para irrigação.

A mineradora sediada em Barcarena, pertence a uma das maiores corporações do setor de alumínio do mundo. Ao longo dos últimos 20 anos, vários acidentes ambientais já foram registrados no município, provenientes da extração de bauxita com destaque para o desastre de 2018 onde ocorreu o vazamento de lama vermelha tóxica de uma das bacias de rejeitos, considerado um dos desastres mais significativo já ocorrido na Amazônia (Steinbrenner et al., 2020). Após o ocorrido, a empresa foi advertida e várias iniciativas de ordem mitigatória foram exigidas (Lemos e Pimentel, 2021).

Assim, com o objetivo de investigar os danos nesse corpo hídrico, vários estudos já foram realizados para avaliar as concentrações de metais pesados presentes na água e no solo (Pereira et al., 2007; IEC, 2009; Lima et al., 2011; IEC, 2018; Medeiros et al., 2016 e 2017; Almeida-Junior et al., 2019), bem como em doenças por veiculação hídrica para a população (Marinho, 2016). Pereira et al. (2007), encontraram concentrações de alumínio 13,2 vezes maiores que os valores normais em águas naturais no rio Murucupi. O alumínio em altas concentrações nos seres humanos pode ocasionar doenças neurológicas como Alzheimer e Parkinson (SILVA JÚNIOR, 2013).

Nos peixes, o alumínio solubilizado nas águas dos rios com pH ácido e em contato com as brânquias, provoca aumento de pH e a formação de $Al_2(OH)_3$ pouco solúvel e conseqüentemente provoca danos ao DNA (Muniz e Oliveira-Filho, 2006; Sultana et al., 2020) o que acaba por matá-los por sufocamento. Nesse sentido, há uma forte preocupação e anseio da população de Barcarena com relação à qualidade do pescado que está sendo consumido na região. Para Barros et al. (2010) e Foran (1990), os riscos à saúde por conta da ingestão de pescado contaminado chegam a ser de vinte a quarenta vezes mais elevados do que os da ingestão de água contaminada, uma vez que os organismos aquáticos são capazes de concentrar elementos traços em até cento e cinco vezes as concentrações observadas no meio ambiente.

Marinho et al. (2016), realizaram o perfil de morbidade dos moradores do município de Barcarena e entorno e concluíram que várias enfermidades causadas por doenças infecciosas, parasitárias e doenças respiratórias, podem estar sendo maximizadas pela qualidade da água e dos recursos utilizados como alimento por estas populações, alertando para a necessidade de estudos quantitativos e qualitativos mais específicos de possíveis contaminações ambientais na região.

As análises utilizadas neste estudo permitiram uma observação holística das variáveis ambientais elencadas frente aos efeitos biológicos observados em *P. squamosissum*, demonstrando que, assim como outras análises estatísticas multivariadas, são ferramentas poderosas na interpretação dos dados complexos de qualidade de água. Shrestha e Kazama, (2007) avaliaram a eficiência de modelos estatísticos para análises de dados de qualidade de água, considerando os parâmetros frequentemente observados, e concluíram que dados de descarga, temperatura, demanda bioquímica de oxigênio, pH, condutividade elétrica, nitrato de nitrogênio e nitrogênio amônico são os que mostram os maiores percentuais de correlações com a qualidade de água dos ambientes, denotando que devem ser utilizados nestes tipos de análises. Neste estudo, utilizamos a temperatura, pH e oxigênio dissolvido, além da salinidade, e os resultados frente aos efeitos deletérios do comprometimento dos cursos de água e de um dos principais recursos pesqueiros locais – no caso, *P. squamosissimus* – foram evidentes.

Essa avaliação nos permitiu inferir que os peixes analisados no presente estudo estão tendo influência direta de agentes xenobiontes capazes de produzir danos ao material genético dos organismos aquáticos nos dois locais e,

consequentemente, podem trazer consequências ainda pouco relatadas em estudos de alterações morfofisiológicas em humanos. Reitera-se a necessidade urgente de medidas capazes de minimizar esses efeitos por meio do tratamento de resíduos industriais gerados, pois é evidente que eles já trazem danos ambientais irreparáveis em curto e médio prazos.

Sugere-se que os maiores valores de alterações genômicas encontrados em Barcarena estejam relacionados à das grandes indústrias de extração e beneficiamento de minério, bem como do local analisado ter sua nascente a poucos metros da bacia de decantação de lama vermelha da extração de bauxita e receber frequentemente rejeitos. Neste sentido, ações diretas e imediatas precisam ser tomadas pelos agentes públicos no que se refere ao cuidado extremo com os resíduos armazenados nas bacias de rejeitos que já causam grandes impactos nestes rios. Além disso, este trabalho vem suprir uma lacuna uma vez que não existem trabalhos anteriores de genotoxicidade em peixes nas áreas analisadas.

Referências

- Al-Sabti, K., & Metcalfe, C. D. (1995). Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 343 (2–3), 121–135. DOI: 10.1016 / 0165-1218 (95) 90078-0.
- AnvariFar, H., Amirkolaie, A. K., Jalali, A. M., Miandare, H. K., Sayed, A. E. D. H., Üçüncü, S.I., Ouraji, H., Ceci, M. & Romano, N., 2018. Environmental pollution and toxic substances: Cellular apoptosis as a key parameter in a sensible model like fish. *Aquatic Toxicology*, 204,144–159. DOI: 10.1016/j.aquatox.2018.09.010.
- Arias, A. R. L., Buss, D. F., Albuquerque, C., Inácio A. F., Freire, M. M., Egler, M., 2007. Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers. *Ciência, saúde coletiva*, Rio de Janeiro, Brasil, 12 (1), 61-72. DOI:<https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100011>.
- Almeida-Junior, C. F., Silva, L. P., Santos, M. A. B., Ribeiro, R. P., 2019. Physical-chemical analysis of rural Murucupi water located in Barcarena-PA. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, 5 (10), 21292-21301. DOI:10.34117/bjdv5n10-287.
- Barros, B. C. V., Pinheiro, S. F., Palheta, D. C., Silva, C. S., 2010. Cd, Cr and Al determination in fish tissue from gelado river/APA, Carajás-PA forest. *Holos Environment* 10 (2), 195-208. DOI:10.14295/holos.v10i2.3668.
- Barbosa, A. J., Sampaio, I., Santos, S., 2020. Re-visiting the occurrence of mislabeling in frozen “pescada-branca” (*Cynoscion leiarchus* and *Plagioscion squamosissimus*-

Sciaenidae) sold in Brazil using DNA barcoding and octaplex PCR assay. *Food Research International*, (143). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110308>.

Blaber, S.J.M., 2000. *Tropical Estuarine fishes: ecology, exploitation and conservation*. London: Ed. Chapman & Hall. 367 p.

Bolognesi, C., Bruzzi, P., Gismondi, V., Volpi, S., Viassolo, V., Pedemonte, S., Varesco, L., 2014. Clinical Application of Micronucleus Test: A Case-Control Study on the Prediction of Breast Cancer Risk/Susceptibility. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112354>.

Bueno, A.P.M., Vasconcelos, M.G., Francisco, C.M., Pavanin, L.A., 2017. Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais. *Acta Brasiliensis* 1(3), 32-36. DOI: <https://doi.org/10.22571/Actabra13201755>.

Carrasco, K. R., Tilbury, K. L., & Myers, M. S. (1990). Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(11), 2123–2136. DOI: <https://doi.org/10.1139/f90-237>.

Cardoso, F. F., 2009. Dinâmica da comunidade microfitoplanctônica relacionada com os parâmetros físico-químicos do Estuário do Rio Guajará-Mirim (Vigia-PA). Mestrado em ecologia aquática e pesca. 76p. <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/3507>.

Carrola, J., Santos, N., Rocha, M. J., Fontainhas-Fernandes, A., Pardal, M. A., Monteiro, R. A., Rocha, E., 2014. Frequency of micronuclei and of other nuclear abnormalities in erythrocytes of the grey mullet from the Mondego, Douro and Ave estuaries – Portugal. *Environmental Science and Pollution Research*, 21 (9), 6057-6068. DOI: 10.1007 / s11356-014-2537-0.

Campana, M. A., Panzeri, A. M., Moreno, V. J., Dulout, F. N., 2003. Micronuclei induction in *Rana catesbeiana* tadpoles by the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin. *Genetics and Molecular Biology*, (26), 99-103.

Collins, A.R., Dusinská, M., Horská, A., 2001. Detection of alkylation damage in human lymphocyte DNA with the comet assay. *Acta Biochim*, 48 (3) 611-614. DOI: https://doi.org/10.18388/abp.2001_3895.

Chao, N. L., Frédou, F. L., Haimovici, M., Peres, M.B., Polidoro, B., Raseira, M., Subirá, R., Carpenterh, K., 2015. A popular and potentially sustainable fishery resource under pressure–extinction risk and conservation of Brazilian Sciaenidae (Teleostei: Perciformes). (4)117-126. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2015.06.002>.

Copatti, C.E., Copatti, B.R., 2011. Seasonal variation and diversity of fishes of the Cambará River, Uruguay Basin. *Biota Neotrop*. 11(4): <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n4/en/abstract?inventory+bn02611042011>.

Costa, C. R., Olivi, P., Botta, C. M. R., Espindola, E. L. G. 2008. Toxicity in aquatic environments: discussion and evaluation methods. *Quim. Nova*, 31(7), 1820-1830. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>.

Costa, B. N. S., 2015. Comunidade microzooplanctônica como indicadora de alterações ambientais em um polo industrial e portuário na região amazônica. Belém-PA. Mestrado em Ecologia Aquática e Pesca Universidade Federal do Pará. 114. http://ppgeap.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2015/PPGEAP_Disserta%C3%A7%C3%A3o_Brenda%20Natasha%20Souza%20Costa_2015.pdf.

Cunha, C. M. C., 2018. Vulnerabilidade ambiental no município de Barcarena-PA: Análise da erosão nas praias do Caripí e da Vila do Conde, Ananindeua, Belém, Pará. Trabalho de conclusão de curso. <https://bdm.ufpa.br:8443/jspui/handle/prefix/1021>.

Delunardo, F. A. C., Silva, B. F., Paulino, M. G., Fernandes, M. N., Chippari-Gomes, A. R., 2013. Danos genotóxicos e morfológicos em *Hippocampus reidi* exposto ao petróleo bruto. *Ecotoxicol Environ Saf*. 87, 1-9. DOI:10.1016 / j.ecoenv.2012.09.029.

Delunardo, F. A. C., Paulino, M. G., Medeiros, L. C. C., Fernandes, M. N., Scherer, R., Chippari-Gomes, A. R., 2020. Mudanças morfológicas e histopatológicas em guelras de cavalos-marinhos (*Hippocampus reidi*) após a exposição à fração de óleo diesel acomodada em água. *Mar Pollut Bull*. 150, DOI:10.1016/j.marpolbul.2019.110769.

Ecoutin, JM., Simier, M., Albaret, JJ., LAE, R. and Tito de Moraes, L., 2010. Changes over a decade in fish assemblages exposed to both environmental and fishing constraints in the Sine Saloum estuary (Senegal). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 87 (2) 284-292.

Foran, J.A., 1990. Toxic substances in surface Waters. *Environmental Science Technology* 24 (15), 604-608. DOI: <https://doi.org/10.1021/es00075a002>.

Furtado-Júnior, I., Tavares, M. C. S., Matsunaga, A. M. F., 2015. Biodiversidade do Nécton do rio Pará nas proximidades de Itupanema-Barcarena- Amazônia Brasileira, *Biota Amazônia*, Macapá, 5 (3),72-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v5n3p72-77>.

Goes, I. M. C., Freitas, J. S. A., Santos, J.M. K., Maciel, L. A. M., Portela, A., 2016. Avaliação da poluição do rio tapajós, no município de Santarém-PA, através do teste do micronúcleo, utilizando peixes como bioindicador. *Revista de publicação acadêmica da pós-graduação do IESPES*. 1-11. <https://docplayer.com.br/50192441-Avaliacao-da-poluicao-do-rio-tapajos-no-municipio-de-santarem-pa-atraves-do-teste-do-micronucleo-utilizando-peixes-como-bioindicador.html>.

Gomes, L. C., Chippari-Gomes, Miranda, A. R., T. O., Pereira, T. M., Merçon, J., Davel, V. C., Barbosa., B. V., Pereira, A. C. H., A, Frossard, Ramos, J. P. L., 2019.

Genotoxicity effects on *Geophagus brasiliensis* fish exposed to Doce River water after the environmental disaster in the city of Mariana, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 79 (4), 659-664. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.188086>.

Grisolia, C.K., Cordeiro, C.M.T., 2000. Variability in micronucleus induction with different mutagens applied to several species of fish. *Genetics and Molecular Biology*, 23 (1), 235-239.

Ghisi, N.C., Ferraro, M. V. M., Ramsdorf, W., Ribeiro, C. A. O., 2010. Evaluation of genotoxicity in *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes) after subchronic contamination with Fipronil. *Environ Monit Assess*. DOI: 10.1007/s10661-010-1807-7.

Hartmann, A., Agurell, E., Beevers, C., Brendler-Schwaab, S., Burlinson, B., Clay, P., Collins, A., Smith, A., Speit, G., Thybaud, V., Tice, R.R. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*. *Mutagenesis*, v. 18, n. 1. p. 45-51. 2003.

Hazeu, M. T., 2015. O não lugar do outro: Sistemas migratórios e transformações sociais em Barcarena, Belém-Pará. <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/7771>.

Hussain, B., Sultana, T., Sultana, S., Masoud, M. S., Ahmed, Z., Mahboob, S., 2018. Fish eco-genotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution. *Saudi Journal of Biological Sciences* (25) 393–398. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.048>.

Instituto Evandro Chagas (IEC), 2009. Relatório técnico SAMAM 001: caracterização dos impactos ambientais, danos ao ecossistema e riscos à saúde decorrentes do lançamento no rio Murucupi de efluentes do processo de beneficiamento de bauxita, Barcarena-Pará. Ananindeua, PA, Brasil. 32 p. <http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/relatorios/barcarena2009.pdf>.

Instituto Evandro Chagas (IEC), 2018. Relatório técnico RT SAMAM 10.2 – 001: Avaliação preliminar dos impactos ambientais referente ao transbordo e lançamentos irregulares de efluentes de lama vermelha na cidade de Barcarena, estado do Pará. Ananindeua, PA, Brasil. 51 p. <https://www.iec.gov.br/wp-content/uploads/2018/03/RELAT%C3%93RIO-T%C3%89CNICO-003-2018-Final-Tabelas-Modificadas-SS-1.pdf>.

Ishikawa, M. M., Pádua, S. B., Satake, F. Pietro, P. S., Hisano, H. 2010. Procedimentos Básicos para Colheita de Sangue em Peixes. Circular Técnica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. 8p. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/874164/1/CT201017.pdf>.

Jonsson, C. M., Castro, V. L., 2005. Bioindicadores e biomarcadores de agroquímicos no contexto da relação saúde-ambiente. Embrapa-Meio

ambiente,p.5.http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Jonsson_Castro_bio_marcadoresID-U4Vhi5C93K.pdf.

Kang, S. H., Kwon, J. Y. Lee, J. K., Seo, Y. R., 2013. Avanços recentes nos testes de genotoxicidade in vivo: previsão do potencial carcinogênico usando ensaio de cometa e micronúcleo em modelos animais. *Journal of Cancer Prevention*,18 (4): 277-288. DOI: <https://doi.org/10.15430/JCP.2013.18.4.277>.

Kasper, N., 2019. Respostas histopatológicas e genotóxicas em peixes de água doce expostos a ambientes antropizados Cerro Largo-RS. 90 p. <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/2995>.

Kennish, MJ.,1985. Ecology of estuaries: biological aspects. Flórida: Ed. CRC Press. 408 p.

Lima, M. W., Santos, M. L. S., Melo, N.F. A. C., Faial, K. C. F., Lima, M. O., Nunes, D. M., 2015. Distribuição espaço-temporal dos metais Ba, Na, K, Mn e Ca nos sedimentos de fundo do estuário Furo da Laura, Amazônia Oriental, Brasil. *Boletim Técnico Científico do CEPNOR* 15 (1) 15 - 22. 10.17080/1676-5664/btcc.v15n1p15-22.

Lima, D. P., Santos, C., Silva, R. S., Yoshioka, E. T. O., Bezerra, R. M., 2015. Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil. 45 (4), 405-414. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201403995>.

Lemos, M. A. Q., Pimentel, M. A. S., 2021. Mining and environmental disasters with bauxite and kaolin waste in the municipality of Barcarena-Pará-Brasil-Amazônia. *territorium* 28 (I),137-156. DOI: https://doi.org/10.14195/1647-7723_28-1_8.

Maniçoba, R. S., 2006. Urbanização e qualidade de vida nos municípios da Amazônia Legal criados após 1988. Brasília,DF,Brasil,378 p. <https://repositorio.unb.br/handle/10482/5487>.

Martins, M., Costa, P. M., 2015. O ensaio do cometa na Avaliação de Risco Ambiental de Poluentes Marinhos: aplicações, ativos e desvantagens do levantamento da genotoxicidade em organismos não-modelo. *Mutagenesis*, 30 (1) 89–106. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/geu037>.

Martins, L. PAZ, A. V.; Bretano, D. M. Avaliação da geração de Micronúcleo em juvenis de *Centropomus parallelus* (Robalo-Peva) expostos a diferentes concentrações salinas. *RTC Florianópolis, SC, 02 (01)*, 13-16, 2010.

Marinho, J. S., Jesus, I. M., Asmus, C. I. R. F., Lima, M. O., Oliveira, D. C., 2016. Doenças infecciosas e parasitárias por veiculação hídrica e doenças respiratórias em área industrial, Norte do Brasil. *Cad. Saúde Colet.* 24 (4), 443-451. DOI: <https://doi.org/10.1590/1414-462x201600040120>.

Matsumoto, S. T. et al., 2006. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, (1), 148-158. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000100028>.

Medeiros et al., Faial, K. R. F., Faial, K. C.F., Lopes, I. D. S., Lima, M. O., Guimarães, R. M., Mendonça, N. M., 2017. Quality index of the surface water of Amazonian rivers in industrial areas in Pará, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 123 156 -164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.09.002>.

Meneguetti, D. U. O., Silva, F. C., Zan, R. A., Poletto, P. O., & Ramos, L. J., 2011. Adaptação da técnica de micronúcleo em *allium cepa*, para futuras análises de mutagenicidade dos rios da região do Vale do Jamari, Rondônia, Amazônia Ocidental. *Revista Pesquisa & Criação*, 10 (2), 181-187. <https://www.periodicos.unir.br/index.php/propesq/article/viewFile/423/476>.

Mesquita, L. C. S., 2020. Análise do grau de eutrofização nas águas do Furo da Laura, VIGIA-PA-BRASIL. Mestrado em ecologia aquática e manejo de recursos naturais. 67 p. <http://repositorio.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/1075>.

Mersch, J., Beauvais, M-N., NAGEL, P., 1996. Induction of micronucleus in haemocytes and gill cells of zebra mussels. *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. *Mutation Research*, (371), p. 47-55. DOI: 10.1016 / s0165-1218 (96) 90093-2.

McKenna, Declan J., McKeown, Stephanie R., McKelvey-Martin, Valerie J. 2008. Potential use of the comet assay in the clinical management of cancer. *Mutagenesis*, 23 (3), 183–190. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem054>.

Muniz, D. H. F., Oliveira-Filho, E. C., 2006. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. *Revista Ciências da Saúde* 4 (1/2), 83-100. DOI: <https://doi.org/10.5102/ucs.v4i1.24>.

Moller, P., 2005. Genotoxicity of environmental agentes assessed by the alkaline comet assay. *Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology*. (96) 3-00, 2005.

Oliveira, D. C., 2013. Distribuição de metais pesados e isótopos de PB em sedimentos de fundo do rio murucupi Barcarena-Pará. <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/11639>.

Oliveira-Ribeiro, C. A., Katsumiti, A., França, P., Maschio, J., Zandoná, E., Cestari, M. M., Vicari, T., Roche, H., Silva de Assis, H. C., Filipak Neto, F., 2013. Biomarkers responses in fish (*Atherinella brasiliensis*) of Paranaguá Bay, southern brazil, for assessment of pollutant effects. *Brazilian Journal of Oceanography*, São Paulo, 61(1),1-11.DOI:<https://doi.org/10.1590/S1679-87592013000100001>.

- Oliveira, H.W., Valdes, S. A. C., 2019. Frequência de micronúcleos em Tilápias *Oreochromis niloticus* (PERCIFORMES, CICHLIDAE) de pisciculturas no município de Matutina (MG), Brazil. *Revista do Comeia*, 1(1), 1-10.
- Oliveira, N. C. L., Teixeira, H. P., LIMA, T. H. A., Silva, J. F., Oliveira, N. C. L. Cabra, I G. S., 2019. Análise anatomohistopatológica dos peixes expostos aos efluentes de lama vermelha lançados irregularmente na cidade de Barcarena, Pará. II Seminário de Toxicologia Veterinária.
- Oliveira, D. G., Paula, D. A. J., Murgas, L. D. S., 2020. Genotoxicidade em *Danio rerio* expostos a concentrações crescentes da fração solúvel do biodiesel. *PUBVET*, 14 (04), 141. DOI: 10.31533/pubvet.v14n4a549.1-6.
- Ostling, G.O., Johanson, K.J., 1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 123(1), 291-298. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(84\)90411-X](https://doi.org/10.1016/0006-291X(84)90411-X).
- Pantoja, N. G. P., 2015. A utilização da água de rio para o consumo humano nas comunidades ribeirinhas na região de Coari a Itacoatiara/Amazonas -Brasil. 123 p. <http://rigeo.cprm.gov.br/jspui/handle/doc/15315>.
- Pereira, S.F.P., Lima, M.A., Freitas, K.H., Mescouto, C.S., Saraiva, A.F., 2007. Estudo químico ambiental do rio Murucupi-Barcarena, PA, Brasil, área impactada pela produção de alumínio. *Revista Ambi-Água* 2 (3), 62-82. DOI: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.34>.
- Piratoba, A. R. A., Ribeiro, H. M. C., Morales, G. P., Gonçalves, W. G., 2017. Caracterização de parâmetros de qualidade da água na área portuária de Barcarena, PA, Brasil. *Revista Ambiente-Água* 12 (3), 435-456. DOI: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1910>.
- Porto, J. I. R. Araujo, C. S. O., Feldberg, E., 2005. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research* 97 (3), 287-92. DOI: 10.1016 / j.envres.2004.04.006.
- Pratheepa, Sivasankari, N, Kaur, S, Reddy, KS e Vivekanandam, S (2008). Índice de micronúcleo: um diagnóstico precoce no carcinoma oral. *J Anat Soc India*, 57, 8-13.
- Ranzani-Paiva, M. J. et al. 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: EDUEM, 140 p.
- Rivero, C. L. G., 2007. Frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil. 103 p. <http://repositorio.unb.br/handle/10482/2626>.

Roulet, M., Lucotte, M., R. Canuel., Farella, N., Goch, Y.G. De F., Peleja, J.R. P., Guimarães, J.R.D., Mergler, D., Amorim, M., 2001. Spatio-temporal geochemistry of mercury in waters of the Tapajós and Amazon rivers, Brazil. *Limnology and Oceanography*. 46(5), 1141-1157. DOI: <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.5.1141>.

Robert, W.H., 2008. Coastal nitrogen pollution: a review of sources and trends globally and regionally. 8 (1), 14-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.015>.

Rocha, C. A. M., 2009. Avaliação da genotoxicidade do cloreto de metilmercúrio em duas espécies de Peixes neotropicais. Tese de doutorado em Neurociências e Biologia Celular. Belém, Pará, Barsil. 102 p.

Rocha, C. A. M., 2013. As pernas do caranguejo: Câncer Crura. 1 ed. Belém-PA, 100 p.

Rocha, C. A. M., Pessoa, C. M. F., Rodrigues, C. A. C., Pinheiro, R. H. S., Costa, E.T., Guimarães, A. C., Burbano, R. R., 2016. Investigation into the cytotoxicity mutagenicity of the Marajó Archipelago waters using *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes: Scianidae) as a bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132, 111-115. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.020>.

Santos, V.T. F., Gutierrez, M. P., Bay, M., Bianchini-Pontuschka, R., Hurtado, F. B., 2015. Frequência de micronúcleos em tabaquis de cultivo semiintensivo em pisciculturas de Presidente Médici-RO, Porto Velho, Brasil. <https://www.researchgate.net/publication/288993480>.

Santos, A. T. L. M., 2018. Análise temporal dos impactos socioambientais das barragens de rejeito na bacia hidrográfica do rio Murucupi, Barcarena - PA. Mestrado em Segurança de Barragem e Gestão Ambiental, Belém, PA. <https://bdm.ufpa.br:8443/jspui/handle/prefix/1021>.

Santos, S. L., Viana, L. F., Merey, F. M., Crispim, B. A., Solorzano, J. C., Barufatti, Alexeia., Cardoso, C. A. L., Lima-Junior, S. E., 2020. Evaluation of the water quality in a conservation unit in Central-West Brazil: Metals concentrations and genotoxicity in situ. *Chemosphere*, (251). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126365>

Santana, L. M. B. M., Abreu, F. E. L., Abessa, D. M. S., 2020. Piscine micronucleus assay and the evidence of environmental degradation: the case of catfish from Brazilian tropical estuaries. *Braz. J. Anim. Environ. Res.*, Curitiba, 3 (4), 3369-3394. DOI: 10.34188/bjaerv3n4-048.

Silva, A. C., Mangas, A. P., Palheta, G. D. A., Melo, N. F. A. C., 2011. Variação Intermareal na Composição do Ictioplâncton no Estuário do Rio Guajará-mirim (Vigia de Nazaré-Pará) em período de alta pluviosidade. *Boletim Técnico Científico Cepnor*, 11 (1) 21-32. : DOI: <http://dx.doi.org/10.32519/tjfas.v11i1.1199>.

Silva, G. K. R., 2013. Transformações socioambientais na comunidade de Dom Manoel-Barcarena/PA. <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/4475>.

SINGH, N. P., McCoy, M.T., TICE, R.R., SCHNEIDER, E.L., 1988. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. Elsevier. 175 (1), 184-191.

Shrestha, S., Kazama, F., 2007. Assessment of surface water quality using multivariate statistical techniques: A case study of the Fuji river basin, Japan. *Environmental Modelling & Software* 22 (4), 464-475. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2006.02.001>.

Sisinno, C. L. S., Filho-Oliveira., E. C., 2013. Princípios de Toxicologia Ambiental. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: Interciência. 216 p.

Silva Júnior, A. F., 2013. Intoxicação crônica experimental com alumínio: padrões degenerativos, comportamentais e terapia experimental com magnésio após lesão hipocampal. (tese de doutorado em neurociências e biologia celular). 116 p. <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/3735>.

Silva, M. D., Rossi, S. C., Ghisi, N. C., Ribeiro, C. A. O., Cestari, M. M., De Assis H. C. S., 2014. Using multibiomarker approach as a tool to improve the management plan for a Private Reserve of Natural Heritage (RPPN). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92 (5) 602–608. DOI: 10.1007 / s00128-014-1230-9.

Souto, P. S. S., 2004. Risco ecológico associado à contaminação mercurial em ecossistemas aquáticos da Amazônia: Região do Rio Tapajós, Estado do Pará, Brasil. Caracterização através de biomarcadores no gênero *Cicla* (Tucunarés). Doutorado em Geociências. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 35(3), 395-401. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v35i3.18032>.

Steinbrenner, R. A., Neto, G. G., Bragança, P. L., Castro, E. M. R., 2020. Mining disaster in Barcarena, Pará and media coverage: differences in duration and listening directions. *Rev Eletron Comun Inf Inov Saúde*.14(2), 307-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.29397/reciis.v14i2.2063>.

Sultana, S., Jabeen, F., Sultana, T., AL-Ghanimb, K. A., Al-Misnedb, F., Mahbooba, S., 2020. Assessment of heavy metals and its impact on DNA fragmentation in different fish species, *Braz. J. Biol.*, 80 (4), 823-828, DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.221849>.

Thomé, R. G., Silva, P. M., Santos, H. B., 2016. Avaliação de genotoxicidade da água de um rio urbano utilizando estudo de células sanguíneas de *Danio rerio*. *Conexão Ciência* 11 (2), 9-16. DOI: <https://doi.org/10.24862/cco.v11i2.415>.

Ventura, A. S., Corsini, F. E., Gabriel, A. M. A., 2015. Hematologia como biomarcador de contaminação ambiental em peixes. *Nutritime Revista Eletrônica*. Viçosa, 12 (6), 4500-4507. <http://www.nutritime.com.br>.

Viana, A. P. A., 2011. Ictiofauna no monitoramento da qualidade ambiental em um distrito industrial do estuário Amazônico. Belém, PA, Brasil. 153 p. <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/3513>.

Viana, A. P., Frédou, F. L., Montes, C. S., Rocha, R. M., 2013. Fish histopathology and catalase activity as biomarkers of the environmental quality of the industrial district on the Amazon estuary, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 35(3), 395-401. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v35i3.18032>.

Wachtel, C. C., 2017. Utilização de biomarcadores genéticos para a avaliação do principal rio de abastecimento público da cidade de Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. 50 p. <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2514>.

White, P. A., Rasmussen, J.B., 1998. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutation Research*, (410), 223-236. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(98\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(98)00002-7)

CAPÍTULO 3- Padronizado de acordo com as normas da Universidade Federal Rural da Amazônia e da Associação Brasileira de Normas Técnicas 2021.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Plagioscion squamosissimus* foi considerada como um bom bioindicador para análise de genotoxicidade de águas contaminadas no estuário Amazônico. Os dois testes de genotoxicidade, Ensaio Cometa e Teste do Micronúcleo, foram eficientes na avaliação de danos ao material genético de peixes expostos em áreas contaminadas.

Os efeitos mutagênicos e clastogênicos avaliados pelo teste de micronúcleo foram mais elevados no rio Murucupi evidenciando a presença de substâncias capazes de causar danos ao material genético desses organismos. Além disso, as águas do rio Murucupi, demonstraram-se altamente genotóxicas, o que foi observado pelos elevados índices obtidos no Ensaio Cometa com os maiores índices nas classes de maior dano. Constatou-se que o descarte incorreto de resíduos provenientes dos esgotos domésticos e indústrias das empresas de mineração no rio Murucupi, possivelmente podem ser os responsáveis pelo aparecimento de mutações em eritrócitos sanguíneos dos peixes analisados.

Foram encontrados peixes com maiores pesos e menores tamanhos no rio Murucupi. Não podemos afirmar se a contaminação do corpo hídrico é responsável por essa diminuição de tamanho, sugerindo que sejam necessários futuros trabalhos que possam elucidar esses resultados. Entretanto, uma das inferências desta pesquisa foi a de um comprometimento evidente das áreas estudadas, o que indiretamente (ou diretamente!) pode estar causando danos à saúde da população, especialmente a mais carente, que se utiliza dos rios para obtenção de alimento.

Sugerimos que estudos emergentes devem ser realizados para avaliar o potencial genotóxico por meio de um biomonitoramento constante no rio Murucupi, uma vez que ao longo dos anos a contaminação desse estuário pode levar a alterações genéticas nos organismos aquáticos, bem como a diminuição do tamanho dos espécimes além do que foi encontrado neste estudo. Adicionalmente, é imperativo que medidas de controle do descarte de resíduos e mitigação dos impactos que já foram gerados sejam implementadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio da bolsa de estudo.

APÊNDICES

Apêndice 1- Planilha utilizada para anotar dados biométricos de *P. squamosissimus* em Barcarena no período seco.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO SÓCIOAMBIENTAL E DOS RECURSOS HÍDRICOS – ISARH
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS
AQUÁTICOS TROPICAIS**

Biometria da Pescada branca (<i>P. squamosissimus</i>) capturadas no rio Murucupi Barcarena - PA no período seco.			
Peixes	CT (CM)	CP (CM)	Peso (G)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

Apêndice 2- Planilha utilizada para anotar dados biométricos de *P. squamosissimus* em Barcarena no período chuvoso.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO SÓCIOAMBIENTAL E DOS RECURSOS HÍDRICOS – ISARH
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS
AQUÁTICOS TROPICAIS**

Biometria da Pescada branca (<i>P. squamosissimus</i>) capturadas no rio Murucupi Barcarena - PA no período chuvoso.			
Peixes	CT (CM)	CP (CM)	Peso (G)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

Apêndice 3-Planilha utilizada para anotar dados biométricos de *P. squamosissimus* em Vigia no período chuvoso.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO SÓCIOAMBIENTAL E DOS RECURSOS HÍDRICOS – ISARH
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS
AQUÁTICOS TROPICAIS**

Biometria da Pescada branca (<i>P. squamosissimus</i>) capturadas no estuário Furo da Laura - Vigia - PA no período chuvoso.			
Peixes	CT (CM)	CP (CM)	Peso (G)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

ANEXOS

Anexo 1- Certificado da Comissão de Ética para Uso de Animais.



UFPA
Universidade Federal do Pará

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE AMBIENTAL UTILIZANDO *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) COMO BIOINDICADOR EM DOIS TRECHOS DE RIOS DA AMAZÔNIA, BRASIL", protocolada sob o CEUA nº 7277210820 (ID 001539), sob a responsabilidade de **Bianca Bentes da Silva** e equipe; *Paulo Sergio dos Santos Souto*; *Claudia Antonia Campos Rodrigues de Oliveira* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 29/10/2020.

We certify that the proposal "EVALUATION OF ENVIRONMENTAL GENOTOXICITY USING *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) AS A BIOINDICATOR IN TWO STREETS OF AMAZON RIVERS, BRAZIL", utilizing 80 Fishes (males and females), protocol number CEUA 7277210820 (ID 001539), under the responsibility of **Bianca Bentes da Silva** and team; *Paulo Sergio dos Santos Souto*; *Claudia Antonia Campos Rodrigues de Oliveira* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 10/29/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2020** a **03/2021**

Área: **Biologia Pesqueira - Manejo dos Recursos Aquáticos (Ufpa)**

Origem: **Não se aplica**

Espécie: **Peixes**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **2 a 3 anos**

N: **80**

Linhagem: **selvagem**

Peso: **200 a 500 g**

Local do experimento: O ensaio cometa será realizado no laboratório de Citogenética Humana da Universidade Federal do Pará (UFPA). O Teste Micronúcleo será realizado no Núcleo de Ecologia Aquática e Pesca -NEAP da Universidade Federal do Pará

Belém, 03 de novembro de 2020

Barbarella de Matos Macchi

Profa. Dra. Barbarella de Matos Macchi

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

M^a Vivina B. Monteiro

Profa. Dra. Maria Vivina Barros Monteiro

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

Anexo 2- licença permanente de coleta biológica.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15080-9	Data da Emissão: 11/08/2020 14:19:36	Data da Revalidação*: 27/03/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MAURICIO HOSTIM SILVA	CPF: 649.341.109-25
Título do Projeto: Projeto Meros do Brasil	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta em materia biológico em UCs	05/2020	04/2023
2	Conhecimento Ecológico Local	05/2020	04/2023
3	Relatório Final	05/2020	05/2023
4	Acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado	05/2020	04/2023
5	Manutenção de exemplares em cativeiro	05/2020	04/2023
6	Continuação Obtenção de imagens	05/2020	04/2023
7	Continuação de transporte de material biológico	05/2020	04/2023

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	LEONARDO SCHLOGEL BUENOL	Pesquisador - Mergulho Científico- Censo Visual	045.197.299-63	Brasileira
2	Beatrice Padovani Ferreira	Coordenadora Técnica de Pernambuco	702.596.317-87	Brasileira
3	ATHILA BERTONCINI ANDRADE	Pesquisador - Mergulho Científico- Censo Visual	003.577.459-22	Brasileira
4	FELIPPE ALEXANDRE LISBOA DE MIRANDA DAROS	Pesquisador - Mergulho Científico- Censo Visual	025.608.439-43	Brasileira
5	Eduardo Gomes Sanches	Pesquisador - Coleta, transporte e manutenção dos peixes	080.491.028-66	Brasileira
6	MATHEUS OLIVEIRA FREITAS	Pesquisador - Biologia Pesqueira - BA	788.588.525-91	Brasileira
7	Alberto da Silva Santos	Técnico executor ponto focal PE	808.434.684-91	Brasileira
8	Cláudio Luis Santos Sampaio	Pesquisador	531.099.455-68	Brasileira
9	JONAS RODRIGUES LEITE	Pesquisador	098.023.327-55	Brasileira
10	Vander Calmon Tosta	Pesquisador - Genética	003.170.686-01	Brasileira
11	THIAGO FELIPE DE SOUZA	Técnico de campo e análise de dados - SC	058.905.779-05	Brasileira
12	BIANCA BENTES DA SILVA	Pesquisador-Coordenador de campo PA	637.205.742-53	Brasileira
13	Luciano de Jesus Gomes Pereira	Técnico de campo-PA	788.570.662-15	Brasileira
14	Lorena Lopes Almeida	Pesquisadora	088.192.177-75	Brasileira
15	HELEN AUDREY PICHLER	Pesquisador	019.599.399-39	Brasileira
16	Maira Borgonha	Pesquisadora	027.323.379-35	Brasileira
17	ANA PAULA CAZERTA FARRO DA ROSA	Pesquisadora	273.155.608-07	Brasileira
18	Tainara Fonseca Simões	Pesquisadora Junior	145.898.757-48	Brasileira
19	Diogo Augusto Moreira	Pesquisador Junior	040.483.129-01	Brasileira
20	Johnatas Adeliir Alves	Pesquisador	034.244.919-26	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0150800920200811

Página 1/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15080-9	Data da Emissão: 11/08/2020 14:19:36	Data da Revalidação*: 27/03/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MAURICIO HOSTIM SILVA	CPF: 649.341.109-25
Título do Projeto: Projeto Meros do Brasil	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
21	TIAGO ALBUQUERQUE	Pesquisador Junior	814.109.305-30	Brasileira
22	Luana Barbosa Seixas	Pesquisadora Junior	071.662.867-84	Brasileira
23	Rachel Ann Hauser Davis	Pesquisadora Junior	095.227.257-14	Brasileira
24	TOMMASO GIARRIZZO	Pesquisador	526.336.242-00	Brasileira
25	Márcio José Costa de Albuquerque Lima Júnior	Pesquisador Junior	147.003.177-95	Brasileira
26	LUCIAN JOSE DE LACERDA INTERAMINENSE	Pesquisador	438.958.914-87	Brasileira

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0150800920200811

Página 2/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15080-9	Data da Emissão: 11/08/2020 14:19:36	Data da Revalidação*: 27/03/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MAURICIO HOSTIM SILVA	CPF: 649.341.109-25
Título do Projeto: Projeto Meros do Brasil	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Observações e ressalvas

8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
9	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	1 – No PARNAMAR e APA de Fernando de Noronha, não está autorizada a coleta de E. Itajara. O pesquisador deverá apresentar cronograma de atividades no escritório do ICMBio antes do início do trabalho em Fernando de Noronha. 2 - Informar a gestão da RESEX Marinha de Caeté-Taperaçu sobre a ida a campo com antecedência pelo email: resexcaete@icmbio.gov.br , ou pelo tel: (91)34251574, ou pessoalmente em nosso escritório em Bragança. 3 - Os pesquisadores devem comparecer na sede administrativa do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos em Caravelas/BA antes do início dos trabalhos de campo para organizar as ações e evitar conflitos com as atividades de uso público e monitoramento já realizadas na unidade. 4 - Nas RESEX, os dados da pesquisa deverão ser apresentados à comunidade ou ao Conselho Deliberativo de forma oral e ou escrita, em linguagem acessível, sendo ainda que qualquer captura de fauna acompanhante (robalo) no defeso deverá ser solicitada previamente ao Conselho Deliberativo da UC.	COINF
2	ATENÇÃO: Conforme Portaria ICMBIO/ No 227 de 22/03/2020, o (a) pesquisador (a) somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente. Antes de realizar os trabalhos de campo os pesquisadores deverão contactar a sede do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos em Caravelas/BA pelo e-mail pesquisa.parnaabrolhos@icmbio.gov.br , com no mínimo 25 dias de antecedência, para elaboração de um plano de coleta e alinhamento das atividades da pesquisa com as demais atividades de uso público, monitoramento e pesquisa desenvolvidas na UC, conforme o caso. Os pesquisadores devem enviar ao Parque cópia das publicações resultantes da pesquisa e conforme disponibilidade agendar uma breve apresentação no Centro de Visitantes para divulgação das informações para a equipe do Parque e sociedade local, e acompanhamento nas atividades marinhas por mergulhador da UC ou por ela indicado.	PARNA Marinho dos Abrolhos
3	Comunicar por email: resexcaete@icmbio.gov.br , ou pelo tel: (91)34251574, ou pessoalmente em nosso escritório em Bragança, as datas de coleta de fauna e flora no interior da UC, ou nos estuários do rio Caeté e Taperaçu com certa antecedência; Disponibilizar cópia dos resultados e produtos gerados com os dados coletados no interior da Unidade; Disponibilizar um membro da equipe para esclarecimento do projeto, caso seja necessário, junto ao Conselho Deliberativo, ou em alguma comunidade específica da RESEX que possa ter interesse nos resultados da pesquisa desenvolvida.	CR 4 Belém-PA
4	Há restrição de acesso ao interior das unidades de conservação federal, que diz: O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente. Em caso de dúvidas, entre contato através do e-mail: atendimento.sisbio@icmbio.gov.br	CEPENE Tamandaré/PE
5	Manter o Núcleo de Gestão Integrada- ICMBIO Bragança informado sobre os resultados obtidos, repassando exemplares de teses, artigos e demais publicações. Podendo ser enviadas no formato digital para o email: ngi.braganca@icmbio.gov.br	RESEX Marinha de Caeté-Taperaçu

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0150800920200811

Página 3/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15080-9	Data da Emissão: 11/08/2020 14:19:36	Data da Revalidação*: 27/03/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MAURICIO HOSTIM SILVA	CPF: 649.341.109-25
Título do Projeto: Projeto Meros do Brasil	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Outras ressalvas

6	O acesso a áreas fechadas à visitação pública deverá constar em cronograma e poderá ser acompanhado por servidor do ICMBio designado pela chefia do NGI-FNI/ICMBio. O pesquisador deverá entrar em contato através do email pesquisaparnamarfn@gmail.com informando a data das expedições ao Arquipélago de Fernando de Noronha e deverá comparecer à sede do ICMBio em Fernando de Noronha para entregar cronograma das atividades antes do início dos trabalhos de campo em FN. Recomendamos que o pesquisador acesse o site https://www.parnanoronha.com.br/pesquisa , se informe e baixe o manual do pesquisador antes de contatar a unidade. Em função da pandemia de COVID 19, o campo está temporariamente suspenso, sendo liberado novamente quando for oficializado o fim oficial do Isolamento.	APA Fernando de Noronha
7	O acesso a áreas fechadas à visitação pública deverá constar em cronograma e poderá ser acompanhado por servidor do ICMBio designado pela chefia do NGI-FNI/ICMBio. O pesquisador deverá entrar em contato através do email pesquisaparnamarfn@gmail.com informando a data das expedições ao Arquipélago de Fernando de Noronha e deverá comparecer à sede do ICMBio em Fernando de Noronha para entregar cronograma das atividades antes do início dos trabalhos de campo em FN. Recomendamos que o pesquisador acesse o site https://www.parnanoronha.com.br/pesquisa , se informe e baixe o manual do pesquisador antes de contatar a unidade. Em função da pandemia de COVID 19, o campo está temporariamente suspenso, sendo liberado novamente quando for oficializado o fim oficial do Isolamento.	PARNA Marinho de Fernando de Noronha
8	O pesquisador deverá anexar no relatório apresentado ao SISBIO toda a publicação científica resultante de suas atividades na APA Costa dos Corais. Não será permitido atividades na Zona de Preservação da Vida Marinha e na Zona de Visitação da APA Costa dos Corais (verificar Plano de Manejo da UC no site: www.icmbio.gov.br/apacostadoscorais)	APA Costa dos Corais
9	Os resultados da pesquisa devem ser apresentados, oportunamente, ao Conselho Deliberativo da Resex de Cassurubá, em linguagem clara e acessível.	RESEX Cassurubá
10	Para a implantação do projeto é necessário o Termo de Anuência Prévia (TAP) citado na IN 04 ICMBio 2008.	RESEX Cururupu

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Caravelas	BA	Marinho	Não	Fora de UC Federal
2	São Francisco do Sul	SC	Marinho	Não	Fora de UC Federal
3	Tamandaré	PE	Marinho	Não	Fora de UC Federal
4	Ubatuba	SP	Marinho	Não	Fora de UC Federal
5	Baía de Guaraqueçaba, Paranaguá, Antonina e plataforma adjac	PR	Marinho	Não	Fora de UC Federal
6	Parque Nacional Marinho de Fernando de Noronha	PE	Marinho	Não	Dentro de UC Federal
7	Reserva Extrativista de Cassurubá	BA	Marinho	Não	Dentro de UC Federal
8	Reserva Extrativista Marinha de Caeté-Taperaçu	PA	Marinho	Não	Dentro de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0150800920200811

Página 4/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15080-9	Data da Emissão: 11/08/2020 14:19:36	Data da Revalidação*: 27/03/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MAURICIO HOSTIM SILVA	CPF: 649.341.109-25
Título do Projeto: Projeto Meros do Brasil	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
9	Parque Estadual Itaúnas	ES	Marinho	Não	Dentro de UC Estadual
10	Área marinha estuarina de Augusto Corrêa	PA	Marinho	Não	Fora de UC Federal
11	Litoral do Estado do Espírito Santo	ES	Marinho	Não	Fora de UC Federal
12	Bragança	PA	Marinho	Não	Fora de UC Federal
13	Área de Proteção Ambiental de Fernando de Noronha - Rocas - São Pedro e São Paulo	PE	Marinho	Não	Dentro de UC Federal
14	Parque Nacional Marinho dos Abrolhos	BA	Marinho	Não	Dentro de UC Federal
15	Área de Proteção Ambiental da Costa dos Corais	Barra de Santo Antônio-AL	Marinho	Não	Dentro de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Atividades ex-situ (fora da natureza)
4	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
5	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
6	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Outras atividades
7	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Outras atividades
8	Marcação de animais silvestres in situ	Outras atividades
9	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Dentro de UC Federal
10	Captura de animais silvestres in situ	Outras atividades
11	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Atividades ex-situ (fora da natureza)
12	Levantamento de dados abióticos em UC federal	Dentro de UC Federal
13	Pesquisa socioambiental em UC federal	Dentro de UC Federal
14	Pesquisa em unidade de conservação federal	Outras atividades

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0150800920200811

Página 5/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15080-9	Data da Emissão: 11/08/2020 14:19:36	Data da Revalidação*: 27/03/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MAURICIO HOSTIM SILVA	CPF: 649.341.109-25
Título do Projeto: Projeto Meros do Brasil	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Marcação de animais silvestres in situ	Epinephelus itajara	-
2	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Epinephelus itajara	-
3	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Epinephelus itajara	-
4	Captura de animais silvestres in situ	Epinephelus itajara	-
5	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Epinephelus itajara	-
6	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Epinephelus itajara	-
7	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Epinephelus itajara	3

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Peixes)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Ectoparasita, Escama, Sangue, Fragmento de tecido/órgão, Sêmen, Ovos
2	Método de captura/coleta (Peixes)	Armadilha (covo, manzuá, potes para polvos, substrato específico, manilha e variações), Artes fixas (gamboa, curral e variações), Captura manual, Coleta manual, Espinhel vertical, pargueira ou variações, Rede de emalhar (emalhe de deriva, de fundo, malhadeiras, caceio, feiteiras, tresmalhos e caçoeira), Tarrafa, Anzol e linha (op.manual); linha de mão, de curso, carretilha, molinete, corrico, vara e isca viva, Puçá, Arbaletes e arpão (mergulho livre), Espinhel de fundo
3	Método de marcação (Peixes)	Outros métodos de marcação (etiquetas plásticas com numeração)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1		Outro

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0150800920200811

Página 6/7

Anexo 3 - Regras de submissão da Revista Marine Pollution.



MARINE POLLUTION BULLETIN

The International Journal for Marine Environmental Scientists, Engineers, Administrators, Politicians and Lawyers

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

●	Description	p.1
●	Audience	p.2
●	Impact Factor	p.2
●	Abstracting and Indexing	p.2
●	Editorial Board	p.2
●	Guide for Authors	p.4



ISSN: 0025-326X

DESCRIPTION

Marine Pollution Bulletin is concerned with the rational use of maritime and **marine resources** in estuaries, the seas and oceans, as well as with documenting **marine pollution** and introducing new forms of measurement and analysis. A wide range of topics are discussed as news, comment, reviews and research reports, not only on **effluent disposal** and **pollution control**, but also on the **management**, **economic** aspects and **protection** of the **marine environment** in general.

A distinctive feature of *Marine Pollution Bulletin* is the number of different categories of articles which are published.

'**Research Papers**' form the core of the journal, with a maximum of 10000 words. Guidelines for the preparation of such papers are given under the section "preparation (hyperlink to the section)" below. '**Baselines**' document measurements which are expected to have value in the future. Baseline manuscripts are less than 5000 words, contain an abstract and keywords, brief introductory remarks and discussion but do not have sections or subsections.

'**Short communication**' are short research papers of less than 4000 words, and a maximum of 3 Figures or Tables.

'**Reviews**' / '**Short reviews**' are generally invited by the editors on subjects which cross traditional lines, but suggestions for topics are welcomed. There are less than 20000 words (Reviews) or 8000 words (short reviews).

'**Viewpoints**' are a less formal forum for scientists to comment freely on matters of relevant national and international importance.

Other sections of the bulletin include '**News**', '**New Products**', '**Conference Reports**', '**Conference Diary**', '**Correspondence**' and '**Book Reviews**'.

Two volumes are published annually, one of which contains a series of special issues on topics of particular current interest. The importance and influence of these special issues, which address the major marine environmental concerns of our time, is increasingly being recognised not just by the wider scientific community, but also by environmental policy makers at national and international level.

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

AUDIENCE

Marine pollution environmental scientists, engineers, administrators, managers, politicians and lawyers.

IMPACT FACTOR

2019: 4.049 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2020

ABSTRACTING AND INDEXING

Aqualine Abstracts
 Chemical Abstracts
 Engineering Village - GEOBASE
 BIOSIS Citation Index
 Environmental Periodicals Bibliography
 Fish and Fisheries Worldwide
 EMBiology
 Current Contents
 Elsevier BIOBASE
 Cambridge Scientific Abstracts
 Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Embase
 Health and Safety Science Abstracts
 Petroleum Abstracts
 Science Citation Index
 Tox Abstr Environment Abstracts
 Scopus
 Marine Literature Review
 Oceanographic Literature Review

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief

Francois Galgani, French Research Institute for Exploitation of the Sea, 92138, Bastia, Corsica, France

Pat Hutchings, Australian Museum, 1, William Street, Sydney NSW 2010, 2010, Australia

Gui-Peng Yang, Ocean University of China, 266100, Qingdao, China

Baseline Editor

B.J. Richardson, City University of Hong Kong Department of Biology and Chemistry, 83 Tat Chee Avenue, Kowloon, Hong Kong

News Editor

P. Kingston

Associate Editors

P. Boehm, Exponent, Maynard, Massachusetts, United States

M. Boufadel, New Jersey Institute of Technology, Newark, New Jersey, United States

J. Burt, New York University - Abu Dhabi Campus, Abu Dhabi, United Arab Emirates

P. Chakraborty, Indian Institute of Technology Kharagpur, Kharagpur, India

R.A. Hauser-Davis, Oswaldo Cruz Foundation, Oswaldo Cruz Institute, Environmental Health Promotion and Evaluation Laboratory, Rio de Janeiro, Brazil

G. R. MacFarlane, The University of Newcastle, Newcastle, New South Wales, Australia

M. Pelletier, US Environmental Protection Agency, Washington, District of Columbia, United States

K. Schiff, Southern California Coastal Water Research Project, Costa Mesa, California, United States

H. Shi, State Key Laboratory of Estuarine and Coastal Research, Shanghai, China

P.K.S. Shin, City University of Hong Kong, Kowloon, Hong Kong

T. R. Walker, Dalhousie University School for Resource and Environmental Studies, Halifax, Nova Scotia, Canada

Editorial Board

M Ateweberhan, Coventry, United Kingdom

A. Borja, Pasaia, Spain
J.C. Dauvin, Wimereux, France
M. Elliott, Hull, United Kingdom
D.A. Holdway, Oshawa, Ontario, Canada
K.M.Y. Leung, Kowloon, Hong Kong
M. Martin, Marposa, California, United States
B. Morton, London, United Kingdom
J.W. Readman, Plymouth, United Kingdom
R.S. Tjeerdema, Davis, California, United States
A. Turner, Plymouth, United Kingdom
R.K.F. Unsworth, Swansea, United Kingdom
V. Wepener, Potchefstroom, South Africa

GUIDE FOR AUTHORS

Your Paper Your Way

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

To find out more, please visit the Preparation section below.

INTRODUCTION

Types of paper

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

Submission checklist

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

Ensure that the following items are present:

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

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

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

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

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

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

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

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

Declaration of competing interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors should complete the declaration of competing interest statement using [this template](#) and upload to the submission system at the Attach/Upload Files step. **Note: Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required.** If there are no interests to declare, please choose the first option in the template. This statement will be published within the article if accepted. [More information](#).

Submission declaration and verification

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

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

Changes to authorship

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

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

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

Copyright

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

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

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

Author rights

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

Elsevier supports responsible sharing

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

Role of the funding source

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

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language Services

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

Referees

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

Page charges

Marine Pollution Bulletin has no page charges.

PREPARATION

NEW SUBMISSIONS

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

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality

figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

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

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Abstract

Abstracts should not exceed 150 words.

Keywords

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

Please note that the instructions related to Abstract and Graphical abstract still apply to all new submissions.

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of one independent expert reviewer to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review.](#)

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

LaTeX

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

Our [LaTeX site](#) has detailed submission instructions, templates and other information.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

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

Graphical abstract

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

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Formatting of funding sources

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

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

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

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

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

Artwork

Electronic artwork

General points

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

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

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

Formats

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

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

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

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

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

Please do not:

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

Color artwork

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

Figure captions

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

References

Citation in text

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

Data references

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

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal,

please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/marine-pollution-bulletin>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

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

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

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

Research data

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

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

Data linking

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

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

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

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

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

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

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into a data article published in *Data in Brief*. A data article is a new kind of article that ensures that your data are actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and made publicly available to all upon publication (watch this [video](#) describing the benefits of publishing your data in *Data in Brief*). You are encouraged to submit your data article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed, published open access and linked to your research article on ScienceDirect. Please note an [open access fee](#) is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your *Data in Brief* data article.

MethodsX

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

Data statement

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

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

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

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

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>