





Universidade Federal do Pará **Faculdade de Oceanografia** **Instituto de Geociências**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

JOHNATA AZEVEDO FERREIRA

BIOMARCADORES DE POLUIÇÃO EM CAMARÕES *MACROBRACHIUM AMAZONICUM* (DECAPODA: PALAEMONIDAE) ORIUNDOS DE REGIÃO AMAZÔNICA COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO POR ARSÊNIO

Belém - Pará

2016

JOHNATA AZEVEDO FERREIRA

BIOMARCADORES DE POLUIÇÃO EM CAMARÕES *MACROBRACHIUM AMAZONICUM* (DECAPODA: PALAEMONIDAE) ORIUNDOS DE REGIÃO AMAZÔNICA COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO POR ARSÊNIO

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

Orientadora: Profª. Drª. Lílian Lund Amado

Coorientado:Prof.Dr. Estanislau Luczynski

Belém - Pará

2016

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

Ferreira, Johnata Azevedo, 1989 -

Biomarcadores de poluição em camarões *Macrobrachium Amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) oriundos de região Amazônica com histórico de contaminação por arsênio / Johnata Azevedo Ferreira. – 2016.

56 f : il.; 30 cm

Inclui bibliografias

Orientadora: Lílian Lund Amado

Coorientador: Estanislau Luczynski

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Geociências, Faculdade de Oceanografia, Belém, 2015.

1. Camarão - Contaminação - Amazônia. 2. Decápode (Crustáceo) - Contaminação - Amazônia. 3. Arsênio – Aspectos Ambientais. 4. Exploração mineral – Aspectos Ambientais. I. Título.

CDD 22 ed.: 595.3809811

JOHNATA AZEVEDO FERREIRA

BIOMARCADORES DE POLUIÇÃO EM CAMARÕES MACROBRACHIUM AMAZONICUM (DECAPODA: PALAEMONIDAE) ORIUNDOS DE REGIÃO AMAZÔNICA COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO POR ARSÊNIO

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

Data de aprovação: 19 / 02 / 2016

Conceito: Excelente

Banca examinadora:

Profª. Lílian Lund Amado.
Doutora em Oceanografia Biologia,
UFRG. Universidade Federal do Pará.

Prof. Marcelo Petracco.
Doutor em Oceanografia Biologia, USP.
Universidade Federal do Pará.

Prof. Jose Luiz Fernandes Vieira,
Doutorado em Toxicologia, USP
Universidade Federal do Pará.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus por todas as conquistas que vem dado.

Agradeço a minha família especialmente minha mãe Estela, meu pai Valdenor e ao meu irmão Paulo Victor, por todo o apoio que me deram durante todo período do curso. Agradeço ao meu primo Neto pelas aulas de cálculo (precisei muito dessas aulas rs) e as minha tia Fatima e Lorimar por sempre ajudar quando precisava.

Agradeço a minha orientadora Lilian Lund por aceitar-me em seu grupo de pesquisa (BIOPAQ). Mais ainda pelos seus ensinamentos, puxões de orelha e sua paciência. Ao restante do grupo Dani, Carla, Lucas, Sarita, Irina, Tamirys, Thaiane e Natasha agradeço pelo apoio durante a preparação para a defesa. Muito obrigado mesmo!

As minhas queridas amigas: Jaci, Bruna, Keity e Laís que a mais de 7 anos estamos juntos nessa caminha. Muito obrigado por todos os ótimos momentos que passamos.

Aos amigos Malandro, Raque, Esther (baka mor), David, Leon, Tuca, Luciana (baka), Dani Ratis e Fernandinha (parceira do cinema) por sua amizade e pelos momentos de distração quando mais precisava.

Agradeço as pessoas que a UFPA me deu a minha amiga Camila Costa (parceira de filme de terror), Marcela Castro (medrosa) e a fofa da Aline Braga muito obrigado por estarem sempre torcendo por min.

Aos amigos da Turma de 2010: Fabio, Rogerio, Leo, Francisco, PV, Guilherme, Marina, Carol (seca), Mayara e Lorena (lóooo) que me ajudaram no percurso da graduação.

Agradeço aos meus amigos e colegas da Meteorologia: Verena, Thiago e Jéssica.

Ao Prof. José Luiz Vieira, por nos receber no Laboratório de Toxicologia/UFPA. À Amanda pelas nossas conversas sobre a vida acadêmica.

Ao Cléverson e Ronny, por darem aquela força durantes as coletas.

Aos professores do curso de Oceanografia, por se esforçarem pelo desenvolvimento da ciência na Amazônia.

Agradeço ao CNPq, pelo financiamento do projeto e também pela concessão da bolsa de iniciação científica.

“Nada se obtém sem esforço; tudo se pode conseguir com ele”.

Ralph Waldo Emerson

RESUMO

A exploração de manganês na localidade de Serra do Navio (AP), seu transporte até a cidade de Santana (AP) e o beneficiamento do minério na região foram fatores que levaram à liberação de grandes quantidades de arsênio (As) para o sistema hídrico adjacente. Este trabalho tem como objetivo avaliar biomarcadores bioquímicos: atividade da glutationa S-transferase (GST), capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) e o conteúdo de lipídeos peroxidados (LPO) em animais residentes em locais com histórico de contaminação por As, utilizando camarões da espécie *Macrobrachium amazonicum* como organismos biomonitores. Neste estudo, os organismos foram capturados em Agosto de 2013 (Estiagem; ET) e março de 2014 (chuvoso; CH) em três pontos com distintos históricos de contaminação por As: foz do rio Amazonas, comunidade do Elesbão – AP (local com histórico de contaminação de As), rio Beija-flor, Mazagão- AP (afluente do rio Amazonas, situado a 16 km do local historicamente contaminado) e rio Campumpema, Abaetetuba – PA (afluente do rio Pará, local sem histórico de contaminação por As e localizado a cerca de 100 km do primeiro sítio). Os camarões foram capturados com o auxílio de matapis, imediatamente crioanestesiados. Em seguida, foram dissecados sendo separadas as brânquias e o músculo para as análises bioquímicas. Também foram coletadas amostras de água para a análise do conteúdo de arsenito (As^{III}) e arsenato (As^{V}), em todos os pontos de coleta dos animais. Na análise da água só foi encontrada a presença de As^{v}, com maiores concentrações de As^{v} na água no CH em relação ao ET. Pode-se notar um gradiente de concentração de As^{v} na água, onde há um aumento de As^{v} do ambiente referência (Campumpema) em direção aos ambientes contaminados (Beija-flor e Amazonas). Em relação aos biomarcadores, os resultados mais relevantes foram encontrados nas brânquias dos camarões. Neste órgão, a capacidade antioxidante total (ACAP) não apresentou diferenças significativas entre os locais amostrados no período de estiagem. No entanto, no período chuvoso foi maior nos animais dos ambientes mais contaminados, em relação ao período de estiagem. A atividade da GST no período de estiagem foi menor nos organismos dos ambientes com maiores teores de As na água. No período chuvoso a atividade desta enzima de detoxificação foi induzida apenas nos animais coletados no ambiente mais próximo ao local de beneficiamento de Mn. Quanto à

lipoperoxidação, tanto no período de estiagem como no chuvoso, ela foi menor nos animais de Beija-flor, tendo havido um aumento deste dano oxidativo nos animais dos rios Campumpema e Amazonas do período de estiagem para o período chuvoso. Pode-se concluir que durante o período chuvoso, quando ocorre um aumento da concentração de As^{V} na água, os organismos dos ambientes contaminados conseguiram induzir respostas antioxidantes. Os camarões de Beija-flor apresentam uma maior capacidade de detoxificação em relação aos demais pontos, representando os menores níveis de LPO, tanto no período chuvoso como no de estiagem, provavelmente em resposta à uma exposição mais prolongada aos contaminantes devido à menor hidrodinâmica deste corpo d´água.

Palavras- chave: Manganês. Estuários. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Manganese exploration in Serra do Navio (AP), its transport to Santana City (AP) and the processing of ore in the region were factors that led to the release of a large amounts of arsenic (As) on adjacent water system. This study aims to evaluate biochemical biomarkers: glutathione-S-transferase activity (GST), total antioxidant capacity against peroxyl radical (ACAP) and lipoperoxidation content (LPO) in residents animals from sites with arsenic contamination history, using the shrimp *Macrobrachium amazonicum* as biomonitor organism. In this study, the organisms were captured in August/2013 (Dry season , ET) and March/ 2014 (rainy season , CH) in three points with distinct arsenic histories of contamination : the mouth of the Amazon River , the Elesbão community - AP (place with history the contamination) , Beija-Flor river, Mazagão- AP (tributary of the Amazon river , located 16 km from the site historically contaminated) and the Campumpema river , Abaetetuba - PA (tributary of the Para river , site without contamination history and located about 100 km from the first site). The animals were sampled using matapis and immediately anesthetized on ice. Then, the gills and muscle were dissected and separated for biochemical analysis. Also water samples were collected for analysis of arsenite content (As^{III}) and arsenate (As^{V}) at all sampling sites . In the analysis of the water was only found the presence of As^{V}, with higher concentrations in water from CH compared to ET. It is noted a As^{V} gradient of concentration in the water, where there is an increase of As^{V} from reference environment (Campumpema river) towards contaminated environments (Beija-Flor and Amazon rivers). About the biomarkers, the most significant results were found in the gills of shrimp. In this tissue, the total antioxidant capacity (ACAP) showed no significant differences between the sites sampled in the dry season. However, during the rainy season, this biomarker was higher in animals of the most contaminated environments compared to the dry season. The GST activity in the dry season was lower in animals of environments with higher As content in water. In the rainy season the activity of this detoxification enzyme was induced only in animals collected in the nearest environment to Mn beneficiation site.The lipid peroxidation during both dry and rainy seasons was lower in Beija-Flor river's animals, with an increase of this oxidative damage in animal from Campumpema and Amazon rivers from dry season to the rainy season . It can be concluded that during the rainy season when there is an increase of As^{V}

concentration in the water, the organisms from contaminated environments can induce antioxidants responses. The Beija-Flor river's shrimps showed higher detoxifying capacity in relation to other points, representing the lowest levels of LPO, both in the rainy season and the dry season, probably in response to a more prolonged exposure to contaminants due to lower hydrodynamic of this water body.

Key-words: Manganese. Estuaries and Oxidative stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ciclo biogeoquímico do arsênio (As) 15
Figura 2 - Localização dos pontos de coleta. 24
Figura 3 - Resumo das atividades realizadas durante o estudo..... 26
Figura 4 - Media da precipitação. 30
Figura 5 - Concentração de arsenato (As^{v}) na água. 32
Figura 6 - Biomarcadores nas brânquias de *M. amazonicum* 34
Figura 7 - Biomarcadores no músculo de M. amazonicum 37

SUMÁRIO

1 **INTRODUÇÃO** 12
1.1 **Arsênio e a toxidade das formas inorgânicas** 14
1.2 **O arsênio e seu potencial de geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ativação de defesas antioxidantes** 16
1.3 **Espécie biomonitora e biomarcadores** 18
1.4 **Características ambientais e sua relação com a biodisponibilidade do arsênio na água** 20
1.4.1 Clima 20
1.4.2 Precipitação 20
1.4.3 Hidroquimica 21
2 **OBJETIVOS** 23
2.1 **Objetivos geral** 23
2.2 **Objetivo específico** 23
3 **MATERIAIS E MÉTODOS** 24
3.1 Área de estudo 24
3.2 Coleta dos organismos 24
3.3 Determinação do arsênio total e sua especiação nas amostras de água 27
3.4 Análise dos biomarcadores 27
3.4.1 Atividade da glutationa S-transferase (GST) 27
3.4.2 Determinação da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) 28
3.4.3 Determinação da lipoperoxidação (LPO) 28
3.5 Análise estatística 29
4 **RESULTADOS** 30
4.1 Precipitação e parâmetros físico-químicos 30
4.2 Concentração de Arsênio na água 31
4.3 Biometria dos organismos biomonitores 32
4.3 Biomarcadores 33
4.3.1 Brânquias 33
4.3.2 Músculo 36
5 **DISCUSSÃO** 38
5.1 Precipitação, parâmetros abióticos e concentração de arsenato na água 38
5.2 Biomarcadores 40

6 **CONCLUSÃO** 46
REFERÊNCIAS 47

1. INTRODUÇÃO

O ambiente aquático ocupa 70% da superfície do globo terrestre, abrigando importantes ecossistemas. Os estuários compreendem um desses ecossistemas. Estuários são definidos segundo Pritchard (1967) como corpos de águas costeiras, semi-fechados, que apresentam livre conexão com o mar aberto. Em regiões estuarinas a água do mar é gradativamente diluída pela água doce proveniente das drenagens terrestres. O ambiente estuarino é muito complexo e dinâmico, sendo influenciado pelas variações sazonais, descargas hídricas, marés, ventos e correntes. Esse ambiente é muito importante por servir de berçário e local de crescimento de muitos organismos de interesse comercial (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE-MMA, 2002) e na reciclagem de nutrientes e outras substâncias (CHESTER, 1993; BIANCHI, 2007). Apesar desta imensa importância ecológica, o ambiente estuarino frequentemente recebe efluentes de origem doméstica e industrial, ocasionando a contaminação das águas e dos organismos aquáticos (AKAISHI et al., 2007).

A região estuarina amazônica tem sido intensamente explorada por grandes projetos de mineração que têm liberado grandes quantidades de compostos tóxicos para o ecossistema aquático (COMPANHIA DE PESQUISA DE RECURSOS-CPRM, 2002). No estado do Amapá (AP) entre os anos de 1957 e 1997, na região da Serra do navio funcionava a Indústria e Comércio de Minérios S.A (ICOMI), uma empresa direcionada à extração do manganês (Mn). O mineral era transportado por via férrea (extensão de 194 km) até o porto de Santana às margens da foz rio Amazonas. De acordo com Santos et al. (2003) entre os anos de 1973 e 1983, foi construída na região portuária e industrial da empresa uma usina de pelotização. Nesta usina, os fragmentos não comercializáveis do mineral eram submetidos a altas temperaturas, da ordem de 900°C a 1000°C, com a finalidade de aglomerar os fragmentos finos não comercializáveis, em forma de pelotas de 1 centímetro de diâmetro, estas comercializáveis. Devido às altas temperaturas, as ligações entre o arsênio, o hidróxido de ferro e o manganês foram rompidas (SCARPELLI et al., 2003). Os resíduos gerados pela indústria de pelotização, contendo altos teores de As, foram depositados de forma inadequada em uma lagoa de decantação escavada nas proximidades da empresa. Esses resíduos foram solubilizados,

alcançando o lençol freático e alguns pequenos igarapés próximos à usina (SANTOS et al., 2003).

Segundo Scarpelli et al. (2003) em 1998 cerca de 75.600 toneladas de resíduos foram removidos da lagoa de decantação, após ter sido constatada a contaminação. Os resíduos foram depositados em uma área a céu aberto, cobertos com uma lona, o que de fato não diminuiu o risco de contaminação (SCARPELLI et al., 2003).

O arsênio é tóxico para todos os organismos especialmente plantas e animais, podendo provocar alterações no metabolismo. As espécies inorgânicas do arsênio têm ação cancerígena comprovada em seres humanos em órgãos de grande importância como cérebro, rins, fígado e estômago (SMITH et al., 1992). A exposição dos organismos aquáticos ao arsênio pode estimular a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) com isso alterando as funções de biomoléculas e celulares (ERCAL et al., 2001; FATTORINI et al., 2004). Como consequência o aumento de EROs pode provocar danos em biomoléculas essenciais (DNA, lipídeos e proteínas), alterações no sistema de defesa antioxidante (BHATTACHARYA, A.; BATTACHARYA, S., 2007; VENTURA-LIMA et al., 200) e inibição de enzimas (FATTORINI et al., 2004).

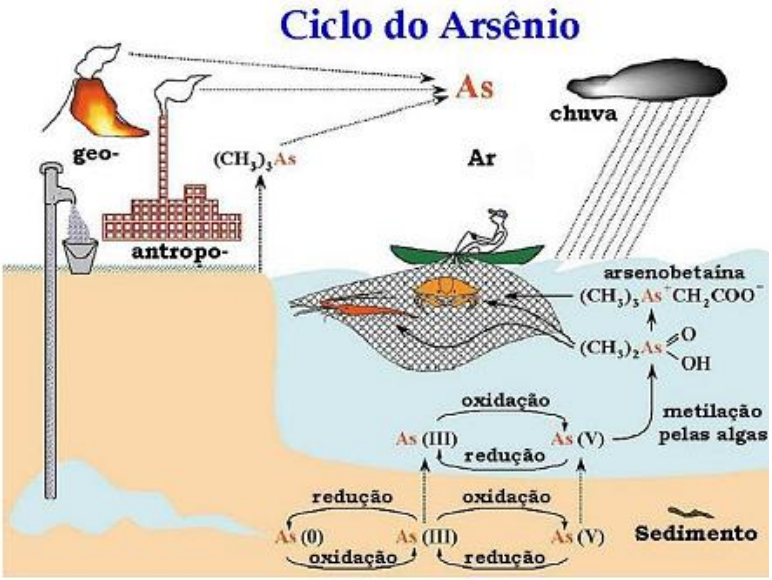
Além de apresentar toxicidade aguda, o arsênio pode ser bioacumulado pelos organismos expostos. A bioacumulação pode ser definida como um processo em que os organismos vivos absorvem e retém substâncias químicas ou elementos presentes em seu ambiente (SIJM; HERMENS, 2000; VENTURA-LIMA et al., 2009). Nos organismos as vias de entradas pelas quais os metais tóxicos são bioacumulados ocorrer principalmente pela a alimentação e/ou sistema respiratório (SIJM; HERMENS, 2000). Segundo Neff (2002) os níveis de arsênio em organimos aquáticos marinhos varia entre 1 à 10 µg/g. Alguns autores relatam que o arsênio também é capaz de biomagnificar, ou seja, aumentar de concentração ao longo da cadeia trófica atingindo concentrações cada vez mais altas nos tecidos dos organismos de nível trófico mais elevado (NEFF, 2002). Apesar de alguns autores considerarem o processo de biomagnificação mais exceção do que regra entre metais tóxicos (GRAY, 2002), em estudo realizado por Hayase (2010) verificou-se um aumento na concentração de As de crustáceos (0,389, ± 0,288 µg/g) para peixes (1,28 ± 0,70 µg/g) que compunham uma mesma cadeia alimentar.

Desta forma, é de extrema importância o estudo de efeitos deste semi-metal na saúde dos organismos que habitam regiões contaminadas, como é caso das áreas de coleta deste estudo. Para isso pode ser usada a análise de biomarcadores, que são definidos como variações induzidas por xenobióticos em componentes moleculares ou celulares, processos, estruturas ou funções, determináveis em sistemas biológicos ou amostras (DEPLEDGE, 1995). Portanto, as propriedades bioquímicas e celulares alteradas na presença de um poluente no ambiente podem indicar que existem compostos tóxicos biodisponíveis no ambiente em tempo e quantidade suficientes para gerar resposta biológica (MONSERRAT et al., 2003).

1.1 **Arsênio e a toxidade das formas inorgânicas**

O arsênio (As) é um metaloide de ocorrência natural tanto no ambiente aquático como no terrestre (SHARMA E SOHN, 2009). Ele é liberado durante a ação do intemperismo, erosão do solo e das rochas, lixiviação do solo e pela erupção vulcânica. Como fontes antropogênicas o As pode ser encontrado em pesticidas, herbicidas (BARRA et al., 1999), na atividade da mineração (SANTOS et al., 2003) e no processo de beneficiamento do petróleo (FLORA, 2015). As concentrações de arsênio encontradas naturalmente no ambiente marinho variaram entre 0,5-3 µg/L, em águas continentais os valores são próximos à 0,65 µg/L (FLORA, 2015) enquanto que na crosta terrestre existe em média 3 µg/kg (BARRA et al., 1999). O ciclo biogeoquímico do arsênio (Figura 1) envolve processos físico-químicos de oxidação-redução, adsorção-dessorção e floculação, ressuspensão e absorção-transformação por organismos (BIANCHI, 2007; LIÈVREMONT et al., 2009).

Figura 1- Ciclo biogeoquímico do arsênio (As).



Fonte: Cipradi (2011)

O arsênio quando e absorvidos pelos organismos, sofre um processo de biotransformação das espécies químicas inorgânicas em formas orgânicas menos tóxicas. A biotransformação começa com a redução de arsenato para arsenito. Essa reação é catalisada pela arsenato redutase. Após a redução o arsenito sofre processo de metilação pela enzima arsenito metiltransferase (THOMAS et al., 2001; APOSHIAN et al., 2004).

O As existe na natureza em uma variedade de formas orgânicas e inorgânicas. As principais formas orgânicas são: ácido monometilarsônico (MMAA), ácido dimetilarsínico (DMAA), arsenobetaína (AsB), Arsenocolina (AsC). As formas inorgânicas possuem 4 diferentes estados de oxidação 3-, 0, 5+, 3+ (CAUSSY, 2003). Entre essas formas, as mais importantes são arsenato (As^{v} ou As^{5+}) e arsenito (As^{III} ou As^{3+}), devido a sua alta toxicidade em relação as espécies orgânicas (SAKURAI et al., 2005). Os diferentes estados de oxidação do As apresentam diferentes efeitos tóxicos. As^{III} é considerado mais tóxico do que o As^{v} (VENTURA-LIMA et al., 2011).

O arsenato é a forma inorgânica que tem maior ocorrência na água (FLORA, 2015). A toxicidade do As^{v} está relacionada à sua competição com o íon fosfato (PO_4^-) nas vias sinalizadoras celulares, podendo substituí-lo por apresentar propriedades bioquímicas semelhantes (APOSHIAN et al., 2004). Assim, o arsenato pode ser

ligado em diversas moléculas, podendo substituir o fosfato na reação de fosforilação (NÉMETI; GREGUS, 2002). Esse processo, além de afetar vias de sinalização intracelular, inibe a formação de adenosina trifosfato (ATP), formando o composto adenosina difosfato arsenato (ADP-As). A ADP-As pode servir de substrato para a formação glicose-6-arsenato ao invés de glicose-6-fosfato, alterando o metabolismo energético normal podendo causar dando oxidativo e levar a morte celular (HUGHES, 2002).

O arsenito é uma espécie química mais reativa do que o arsenato, possui uma afinidade por grupos funcionais específicos dentro de enzimas, receptores ou coenzimas, tais como tióis e sulfidrila podendo afetar processos bioquímicos normais do meio intracelular (BERGQUIST et al,. 2009). O arsenito é um inibidor da piruvato desidrogenase e da α-cetoglutarato desidrogenase. A inibição da piruvato desidrogenase ocasiona redução da produção de acetil-CoA, com isso inibindo a formação do citrato (HUGHES, 2002). Além da redução da produção do citrato, que por si só inibe o Ciclo de Krebs, algumas enzimas do ciclo são diretamente inibidas pelo arsenito (caso da α-cetoglutarato desidrogenase). Em conjunto, todos estes efeitos levam à uma desorganização no balanço energético da célula, trazendo diversos outros danos associados (HUGHES, 2002)

1.2 **O arsênio e seu potencial de geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ativação de defesas antioxidantes**

Segundo trevisan (2008) “o oxigênio (O_2) é essencial para os organimos aeróbios, atuando como aceptor final de elétrons na produção de energia através da cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria e na membrana celular de muitas bactérias, além de ser essencial em inúmeras vias metabólicas”. No entanto, o consumo de O_2 gera espécies intermediárias que podem ser tóxicas no meio intracelular. Esses compostos são produzidos durante o metabolismo celular, transporte de elétrons e reações enzimáticas, sendo conhecidos como espécies reativas de oxigênio (EROs) (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

Durante a respiração dos organismos, cerca de 0,1 a 0,4% do oxigênio utilizado na respiração mitocondrial, acaba produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs) (HERMES-LIMA, 2004). Segundo Lee (2012) EROs podem ser produzidos tanto

pela respiração celular como pela metabolização de xenobióticos orgânicos, íons metálicos e radiação.

A exposição dos organismos ao arsênio pode acarretar a formação de EROS (BOULSKILL et al., 2006). As EROs formadas pela toxidade do arsênio incluem o radical ânion superóxido ($O_2^{-\bullet}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) radical hidroxil ($OH^{\bullet}$) e o radical peroxil ($ROO^{\bullet}$) (LUSHCHAK, 2011). O aumento excessivo de EROs leva ao estresse oxidativo, podendo provocar danos em lipídeos, proteína e DNA (FLORA, 2011)

Para poder contrabalancear a geração de EROs, os organismos possuem um sistema defesa antioxidante que é capaz de interceptar ou degradar espécies reativas de oxigênios (ALDINI et al., 2010). O sistema de defesa antioxidante pode ser classificado como enzimático e não-enzimático. As defesas antioxidantes enzimáticas são constituídas por moléculas com atividade catalítica como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx) (HERMES-LIMA, 2004). A SOD é uma enzima que age sobre o radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) dismutando-o à H_2O_2 e protegendo as células do ataque do ânion superóxido (VLAHOGIANNI et al., 2007). A CAT tem como função dismutar o H_2O_2 em H_2O e O_2 (ALDINE et al., 2010). A GPX também pode atuar na dismutação do peróxido de hidrogênio, com a diferença de também reduzir os hidroperoxidos lipídicos (LOOH) a álcool. GR (glutationa redutase) enzima responsável pela reciclagem da glutationa, convertendo a glutationa oxidada (GSSG) em GSH (glutationa reduzida). A glutationa-S-transferase (GST), uma enzima de fase 2 de detoxificação, atua conjugando xenobióticos orgânicos, incluindo os aldeídicos produzidos durante a lipoperoxidação, com a glutationa na forma reduzida (GSH) tornando-os mais polares e facilitando a remoção do meio intracelular (HERMES-LIMA et al., 2004).

O sistema de defesa antioxidante não enzimático é composto por moléculas que servem como substratos para a oxidação no lugar de componentes importantes da célula, interceptando-os antes que possam causar danos celulares (Dickinson e Forman, 2002). Um desses compostos é a glutationa reduzida (GSH). A GSH é um tripeptídeo de grande importância na proteção contra danos oxidativos, sequestra espécies radicalares ou serve de co-substrato de enzimas antioxidantes

(DICKINSON; FORMAN, 2002). Sendo encontrada no meio-intracelular em uma concentração entre 2mM a 10mM, em todos organismos aeróbicos (Huber e Almeida, 2008). Um metabolismo normal requer a reconstituição rápida e constante da GSH, que é feito tanto pela redução da GSSG (via atividade da GR e/ou pela síntese de uma nova) GSH (biossíntese, via atividade da glutamato cisteína ligase (GCL). Outros exemplos de antioxidantes não enzimáticos incluem vitamina C, A e E; bioflavonas e glutationa (MADHIKARMI; MURTHY , 2012).

1.3 **Espécie biomonitora e biomarcadores**

O biomonitoramento ou monitoramento biológico utiliza organismos residentes em locais impactados para determinar a qualidade do ambiente em nível biológico podendo fornecer informações sobre como uma população está respondendo à poluição que está exposta (LI et al., 2010; MARKERT et al., 2003).

Para o monitoramento biológico de locais impactados tem sido crescentemente aplicada a avaliação de biomarcadores em espécies biomonitoras residentes. Os biomarcadores são respostas biológicas (molecular, celular, fisiológica ou comportamental) que podem informar se os organismos estão à expostos à susbtâncias tóxicas e/ou se esta exposição está induzindo efeitos tóxicos. Os biomarcadores podem ser classificados como de exposição ou efeito e como específicos e não-especificos. Biomarcadores de exposição podem ser definidos como qualquer xenobiótico ou produto da interação entre o xenobiótico e uma molécula ou célula que é medido em organismos (WALKER et al. 2001). Já biomarcadores de efeito representam qualquer alteração fisiológica, bioquímica e comportamental, que pode modificar a saúde do organimos (VAN DER OOST et al., 2003). Biomarcadores específicos tem sido amplamente utilizados para determinar efeitos tóxicos característicos de alguma classe de xenobióticos (WALKER et al. 2001). Exemplos de tais biomarcadores são a metalotioneína (MT) e acetil-colinesterase (AchE) que têm sido utilizadas para determinar a exposição dos organismos a metais e organofosforados, respectivamente (GIGUÈRE et al., 2003; MONSERRAT et al., 2001). Xenobióticos podem modificar o equilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes, ocasionando estresse oxidativo e/ou respostas antioxidantes em espécies aquáticas. Tais respostas são utilizadas como biomarcadores não-específicos (GERACITANO et al., 2004). No presente estudo

foram utilizados biomarcadores não-específicos de exposição (glutationa-s-transferase -GST e capacidade antioxidante contra racial peroxil - ACAP) e de efeito (lipoperoxidação -LPO).

A avaliação de biomarcadores utilizando crustáceos como organismos biomonitores vem se evidenciando por se tratarem de organismos bentônicos e de baixa dispersão, características importantes para determinação da qualidade ambiental do ecossistema aquático (CARVALHO et al., 2011). O uso de camarões como organismos biomonitores é relevante por que estes organismos servem de alimento para diversos outros (como peixes, anfíbios e aves aquáticas) transferindo assim a energia para os demais níveis tróficos. Desta forma, servem de intermediários entre os produtores e os organismos de topo de cadeia, sendo uma das primeiras classes de animais a sofrerem os impactos da biodisponibilidade de poluentes (CREMONA**,** 2008).

Os camarões do gênero *Macrobrachium* são encontrados em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (BENTES et al., 2012). No Brasil existe muitas espécies de camarões de água doce, sendo que as espécies: *Macrobrachium carcinus, Macrobrachium acanthurus e Mcrobrachium amazonicum* possuem uma grande importância econômica (FREIRE et al., 2012).

O *M.amazonicum* é conhecido, como o nome sugere, como camarão da Amazônia. É a espécie mais amplamente explorada pela pesca artesanal nos estados do Pará e Amapá (ARAUJO; VALENTI, 2011; VIEIRA; ARAUJO-NETO, 2006). O *M. amazonicum* apresenta uma grande variedade de tolerância à condições físico-química (pH, condutividade, salinidade e temperatura), sendo que essa faixa de tolerância varia entre as populações (MACIEL; VALENTI, 2009).

No que diz respeito ao hábito alimentar, durante a fase larval os camarões são carnívoros, porém no decorrer do desenvolvimento passam a ser onívoros (MACIEL, 2007). Sabe-se também que durante as estações chuvosas, onde há um aumento da densidade de zooplâncton, os camarões apresentam uma maior taxa de alimentação (MARTINS, 2006), obviamente, devido a uma maior facilidade de encontrar as suas presas (MACIEL, 2007).

Em relação ao período reprodutivo, estudos demonstram que as fêmeas de *M. amazonicum* estão em constante reprodução durante todo o ano (SAMPAIO et al., 2006). Porém, há uma maior ocorrência de fêmeas ovígeras na estação chuvosa do que na estiagem (MACIEL E VALENTI, 2009), o que pode ter relação com o maior aporte alimentar no período chuvoso, conforme mencionado acima.

1.4 **Características ambientais e sua relação com a biodisponibilidade do arsênio na água**

1.4.1 Clima

Segundo a classifcação de Klopper (2006) a região amazônica é caracterizada por apresentar um clima equatorial de monção (Am), apresentando altas temperaturas, devido a grande incidência da energia solar. A temperatura da região não apresenta grande variações sazonais em grande parte da região. Os valores da temperatura do ar variam de 24°C 26°C com uma amplitude anual de 1°C à 2°C. As temperaturas diurnas possuem maior amplitude em relação as anuais (NOBRE et al., 2009). As variações da temperatura da água não apresentam efeito direto na solubilidade do Arsênio.

1.4.2 Precipitação

A precipitação é um dos elementos climáticos mais importantes para a região amazônica, pois influencia as características e o comportamento das outras variáveis físico-químicas (temperatura, ventos, umidade relativa entre outros (NOBRE et al., 2009). A região amazônica apresenta uma variação anual de preciptação entre 2800 mm/ano a 3000 mm/ano (NOBRE et al., 2009). A estação chuvosa na região ocorre durante os meses de dezembro a maio, sendo os meses de fevereiro, março e abril os mais chuvosos. O período de menor intensidade da precipitação (período de estiagem) ocorre durante os meses de junho a novembro, sendo os meses de agosto a outubro os com menores ocorrências de chuvas (MORAIS et al., 2005).

Durante o período de menor precipitação, os metais sofrem mais facilmente processos químicos (complexação) e físicos (adsorção e sedimentação) sendo carreados da coluna d'água para o sedimento. O aumento da precipitação provoca

um distúrbio no sistema aquático ocasionando um desequilíbrio entre água e o sedimento. A ressuspensão do sedimento devido ao aumento da vazão tem o potencial de aumentar a disponibilidade dos metais na coluna d' água (CUNHA et al., 2005), o que pode aumentar a exposição dos organismos aquáticos neste período.

1.4.3 Hidroquimica

Os rios da porção nordeste do Pará são caracterizados por possuírem águas turvas, ricas em material particulado em suspenão (orgânico e inorgânico), um pH variando de 6,2 a 7,2 e uma visibilidade de 0,1 a 0,5 m, sendo assim classificados como rios de águas brancas (CUNHA; PASCOALOTO, 2006).

Durante a estação chuvosa há um aumento da turbidez da água devido à erosão das margens, lixiviação e ao aumento da drenagem dos canais (ROSA-FILHO et al., 2011). Um estudo realizado por Pinheiro (1987) mostrou um aumento do conteúdo de material em suspensão do período seco (100 mg/L) para o chuvoso (115 mg/L) no estuário guajarino. Variações entre períodos no material em suspensão provoca flutuações nos valores transparecia oscilando entre 0,2 a 1m (PAIVA et al., 2006).

O material em suspensão, quando entra em contado com metais de transição ocasionar a formação de fases residual e móvel. A fase residual representa os metaloides que podem ser complexados pelo material em suspensão, como resultado da ligação das forças moleculares. Enquanto a fase móvel corresponde as frações químicas que estão biodisponÍvel para a absorção dos organismos (CAMPANELI, 2008).

O rio Amazonas apresenta uma alta condutividade elétrica devido à grande quantidade de sais presentes e partículas em suspensão (ESTEVES, 1998). Os sais presentes nas águas dos ecossistemas estuarinos possuem uma importante papel, pois apresentam funções de tamponantes do pH tornado assim as águas com caracteristicas mais básicas (RHEINHEIMER; SOUZA, 2000). As variações de pH determinam os tipos de espécie química de As que estará predominantemente presente no ambiente aquático. Em regiões onde as águas possuem uma característica mais ácida há predominância da espécie química As^{III}. Enquanto em águas com característica básica a espécie química dominante é o As^{V} (SHARMA E

SOHN, 2009). Alterações no pH também influenciam a capacidade de adsorção do metaloide com o material em suspensão. Em águas de pH ácido há um aumento na competição dos ions metalicos e o H^+ para serem adsorvido, diminuindo assim a adsorção. Já em pH básicos a um aumento no processo da adsorção dos metais (JIMENEZ et al., 2004).

2 **OBJETIVOS**

2.1 **Objetivos geral**

Avaliar biomarcadores de exposição e de efeito em camarões da espécie *Macrobrachium amazonicum* residentes em locais com distintos históricos de contaminação por As no estuário do rio Amazonas.

2.2 **Objetivo específico**

- Determinar a concentração de arsênio e suas espécies químicas inorgânicas (arsenito e arsenato) nas águas do Rio Amazonas (Santana/AP), Rio Beija-flor (Mazagão/AP) e Rio Campumpema (Abaetetuba/PA) em dois períodos pluviométricos (estiagem e chuvoso).

- Analisar os biomarcadores de exposição glutationa-S-transferase (GST) e a capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) em brânquias e músculo de *Macrobrachium amazonicum* coletados no Rio Amazonas (Santana/AP), Rio Beija-flor (Mazagão/AP) e Rio Campumpema (Abaetetuba/PA) em dois períodos pluviométricos (estiagem e chuvoso).

- Avaliar o biomarcador de efeito lipoperoxidação (LPO) em brânquias e músculo de *Macrobrachium amazonicum* coletados no Rio Amazonas (Santana/AP), Rio Beija-flor (Mazagão/AP) e Rio Campumpema (Abaetetuba/PA) em dois períodos pluviométricos (estiagem e chuvoso).

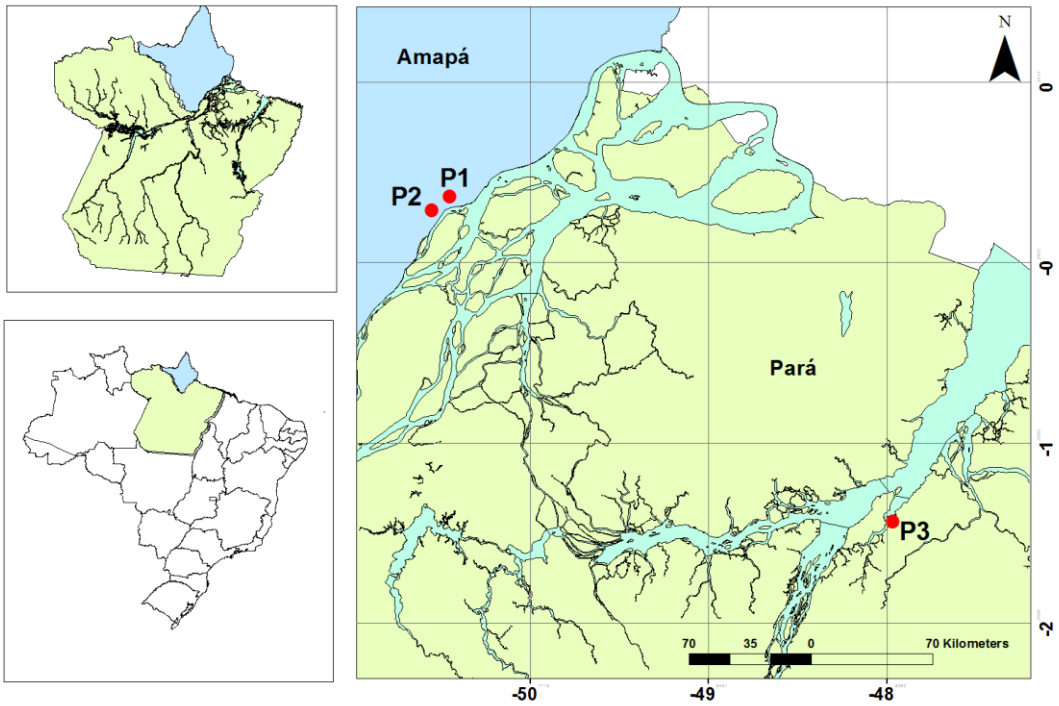
- Analisar em conjunto as respostas dos biomarcadores avaliados e as espécies inorgânicas de As a fim de verificar se os camarões estão aptos a lidar com os insultos oxidativos a que estão potencialmente expostos.

3 **MATERIAIS E MÉTODOS**

3.1 **Área de estudo**

As coletas de água e organismos foram realizadas em três pontos (figura 2): (P1) foz do rio Amazonas, município de Santana, AP (00° 03' 13,3" S 051° 11' 26,7" W), local com maior histórico de contaminação por arsênio (As) devido à proximidade com a empresa beneficiadora de manganês (Mn); (P2) rio Beija-Flor, afluente do rio Amazonas, município de Mazagão, AP (00° 007' 23,8" S 051° 16' 53,4" W) localizado a cerca de 16 km do ponto de coleta na foz do rio Amazonas, sendo considerado um local com um gradiente de contaminação (ambiente intermediário) e (P3) rio Campumpema, município de Abaetetuba/PA (01 44' 09,1" S 048° 53' 46,3" W) local sem histórico de contaminação por arsênio (ambiente referência).

Figura 2 - Localização dos pontos de coleta no rio Amazonas (P1) - Santana/AP, rio Beija-Flor (P2) - Mazagão/AP, e rio Campumpema (P3) - Abaetetuba/PA.



Fonte: Do autor

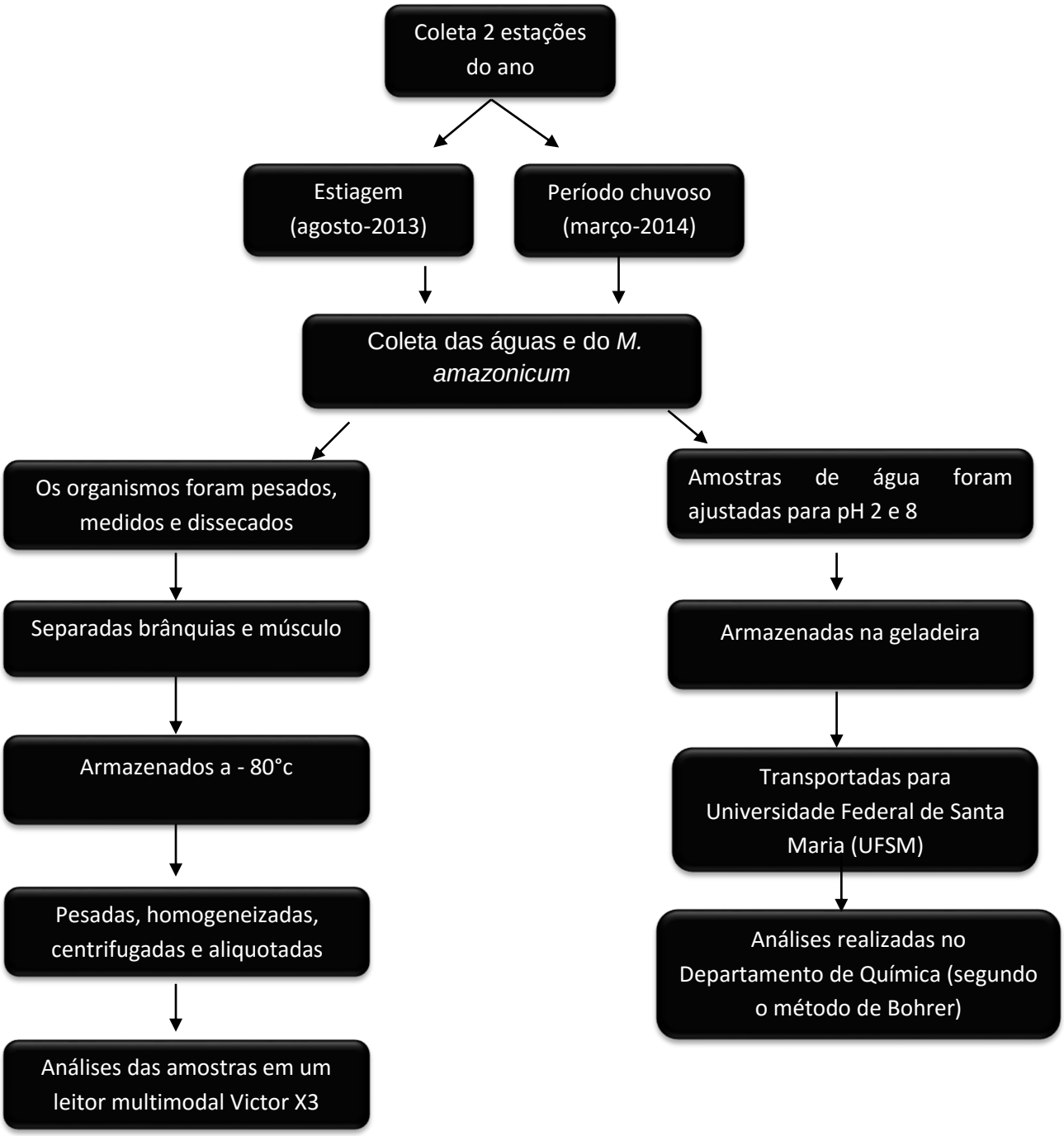
3.2 **Coleta dos organismos**

Os camarões *M. amazonicum* foram coletados em 2 períodos distintos: agosto de 2013 (período de estiagem) e março de 2014 (período chuvoso). Para diminuir o estresse da captura, os animais foram coletados utilizando o matapi como arte de pesca. Logo após a captura os animais foram imediatamente crioanestesiados (em caixa térmica contendo gelo) e mortos. Os animais foram levados ao laboratório onde foram medidos (comprimento total e do cefalotórax) e pesados. Em seguida os camarões foram dissecados separando-se o músculo e as brânquias para análise dos biomarcadores bioquímicos. Os tecidos foram acomodados em microtubos de 1,5 ml e armazenados em um ultrafreezer a – 80 °C até o momento das análises.

Junto com a captura dos organismos foram medidas as variáveis abióticas: temperatura, salinidade, potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD) e condutividade elétrica (CE). Além disso foram coletadas amostras de água para análise de concentração de As^{V} e As^{III} utilizando tubos falcon em uma distância de 10 cm da lâmina d'água.

O fluxograma abaixo resume as atividades desenvolvidas para a realização deste estudo (figura 3).

Figura 3 - Resumo das atividades realizadas durante o estudo



Fonte: Do autor

3.3 **Determinação do arsênio total e sua especiação nas amostras de água**

Este método foi baseado no trabalho de Bohrer et al. (2005). Foi utilizado um espectrômetro (SpectrAA 200, Varian, Austrália) com um sistema VGA 77 (para a geração de hidreto). Além de um aparato para destilação (Enigen, Alemanha), uma autoclave Phoenix AV50 (São Paulo, Brasil) e um pHmetro D-20 (Digimed, São Paulo,Brasil). O arsênio total em solução foi determinado pela alteração do tampão citrato em 6.0 mol/L de HCl. O arsenito foi determinado pela redução do tampão citrato (pH 4,5) nas amostras ajustadas para pH 2. A concentração de arsenato foi determinada pela subtração entre a concentração de arsênio total analisada e a concentração de arsenito. As curvas analíticas foram obtidas com padrões contendo entre 5-1000 µg/L de arsênio. As curvas analíticas foram obtidas com padrões contendo entre 5-1000 µg/L de arsênio.

3.4 **Análise dos biomarcadores**

O processo de preparação das amostras para as dosagens dos biomarcadores inclui uma primeira etapa que consiste na homogeneização dos tecidos para a obtenção do conteúdo intracelular. Para tanto, as amostras foram retiradas do ultrafreezer e pesadas em balança de precisão e quando necessário foram feitos pools (de dois organismos) para atingir o peso mínimo exigido pelo ensaio. A seguir, foi acrescentado solução tampão contendo Tris-HCl (100 mM), EDTA (2 mM), MgCl2.6H2O (5 mM) e pH 8,0 (White et al., 2003) em uma proporção de 1:4 (peso:volume). As amostras foram processadas em um homogeneizador tipo Potter e centrifugadas à 20.000x g, 4 °C, 20 min. Após a centrifugação, o *pellet* foi descartado, o sobrenadante foi recolhido, separado em alíquotas para dosagem de proteínas totais e de biomarcadores de exposição e armazenadas em ultrafreezer (-80°C).

3.4.1 **Atividade da glutationa S-transferase (GST)**

A dosagem de GST foi baseada nos trabalhos de Habig et al. (1974) e Habig e Jakoby (1981). Basicamente, a metodologia consiste em avaliar a conjugação de 1mM de GSH (Sigma) com 1mM do reagente 1-cloro-2,4 dinitrobenzeno (CDNB, Sigma), processo catalisado pela GST. O complexo conjugado formado possui absorbância máxima em 340 nm. Como meio de reação foi utilizado tampão fosfato

0,1 M, pH 7,00. As leituras foram realizadas em espectrofluorímetro (Victor X3, Perkin Elmer) com leitora de microplacas. A atividade da GST foi expressa em unidades de GST/mg de proteínas, onde uma unidade é a quantidade de enzima necessária para conjugar 1 µmol de CDNB/min/mg de proteína, à 25 °C e pH 7.A medida do conteúdo de proteínas totais nas amostras para a relativização do resultado foi realizada com um kit comercial baseado no método de Biureto em 550 nm (Doles Reagentes Ltda., MG/Brasil), utilizando uma leitora de microplacas multimodal (Victor X3, Perkin Elmer)

3.4.2 **Determinação da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP)**

A capacidade antioxidante total contra radicais peroxil foi analisada através da determinação da concentração de espécies ativas de oxigênio (EAO) nas amostras com e sem exposição a um gerador de radicais peroxil. Os radicais peroxil são produzidos por termólise (a 35°C) do reagente 2'2'-azobis-2-metilpropiamidina dihidrocloreto (ABAP, 4 mM; Sigma-Aldrich) (Winston et al. 1998). As leituras do ensaio foram realizadas em leitora de microplaca multimodal (Victor X3, Perkin Elmer), em um meio contendo 30 mM de HEPES (pH 7,2), 200 mM KCl, 1 mM $MgCl_2$, 40 µM H_2DCF-DA. A geração de fluorescência total (485 e 530 para excitação e emissão respectivamente) é calculada pela integração da unidade de fluorescência (UF) durante o período de leitura, após ajustar os dados da UF para uma função polinomial de segunda ordem. A diferença relativa entre as áreas com e sem ABAP foram consideradas como medida da capacidade antioxidante total, onde a maior área significa uma menor capacidade antioxidante uma vez que uma alta fluorescência será obtida após adição de ABAP, indicando baixa competência para neutralizar radicais peroxil (Amado et al. 2009). Os resultados são expressos pelo inverso da área relativa.

3.4.3 **Determinação da lipoperoxidação (LPO)**

O conteúdo de lipídeos peroxidados foi determinado segundo o método FOX, descrito por Hermes-Lima et al. (1995) e adaptado por Monserrat et al. (2003a). Os tecidos foram homogeneizados em metanol 100% (resfriado) em relação peso:volume padronizada para cada tecido (diluição de 1:4 P/V para brânquias e

músculos), centrifugados (1000xg, 4°C, 10 min) e o sobrenadante foi utilizado para determinação da lipoperoxidação. Este ensaio é baseado na oxidação do Fe II por hidroperóxidos lipídicos (substâncias reativas de FOX) presentes na amostra, em pH ácido e na presença do corante laranja de xilenol (Fe III-complexante). O aumento na absorbância foi registrado a 550 nm em leitor de microplaca multimodal após o tempo de incubação específico para cada extrato de tecido (90 min e 120 min para brânquias e músculos, respectivamente). Os resultados são expressos em relação ao padrão hidroperóxido cumeno (CHP), em nmol CHP/g tecido úmido.

3.5 **Análise estatística**

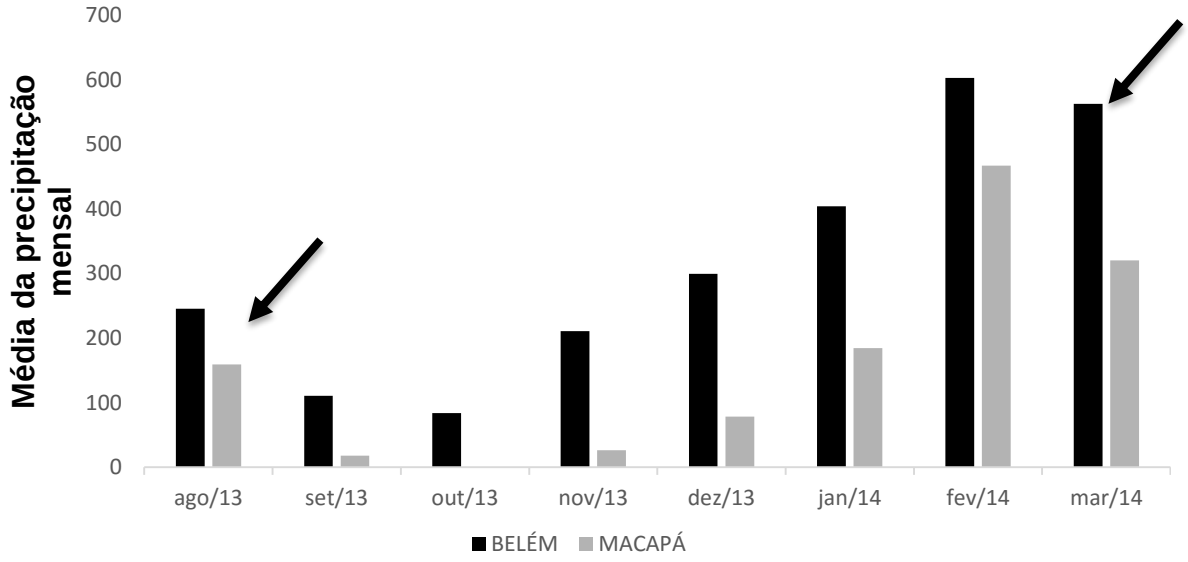
Os dados foram testados quanto a sua normalidade (teste de Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (teste de Levene). Quando necessário, para o ajuste aos pressupostos da ANOVA, os mesmos foram transformados matematicamente (ZAR, 1984). Após esta etapa, foram analisados através do teste de ANOVA para amostras independentes, comparando as médias dos grupos amostrados e submetidos a teste post hoc de Tukey para identificar onde residiam as diferenças, quando existentes.

4 **RESULTADOS**

4.1 **Precipitação e parâmetros físico-químicos**

Em agosto de 2013 (período de estiagem) as médias mensais máximas de precipitação foram 245,5 mm em Belém e 159,3 mm em Macapá. Em março de 2014 (período chuvoso) pode-se notar uma aumento considerável nas médias mensais máximas de precipitação,sendo de 562,7mm em Belém e de 320,3 mm em Macapá (Figura 4)

Figura 4 - Media da precipitação de agosto de 2013 a março de 2014 nas cidades de Macapá/AP e Belém/PA. Em destaque os meses de Agosto/2013 e Março/2014 em que houve campanhas.



Fonte: Agência Nacional de Água (ANA)

Os parâmetros abióticos temperatura da água, salinidade, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica que foram medidos no momento da captura dos organismos estão apresentados na Tabela 1.

Não ocorreu variação na salinidade nas estações de estiagem e chuvosa em todos os ambientes amostrado. A temperatura não apresentou grandes variações. Os valores encontrados no período chuvoso foram 27,3°C no rio Beijar-flor; 28,4°C no rio Amazonas e 29°C no rio Campumpema. No período seco o rio Beija-flor apresentou 30,6°C; o rio Amazonas 30°C e o rio Campumpema 30°C. A concentração de oxigênio dissolvido encontrada durante o perodos chuvoso no rio Beijar-flor foi de 3,35 mg/L; no rio Amazonas de 4,6 mg/L e no rio Campumpema de

5,6 mg/L. Durante a estação de estiagem o valores observados foram 0,67 mg/L em Beijar-flor; 0,87 mg/L no amazonas e 0,56 em Campumpema. Os valores de condutividade encontrados foram de 29,1 µS/cm para o rio Beija-flor; 32,5 µS/cm no rio Amazonas e 40 µS/cm no rio Campumpema durante a estação chuvosa. Enquanto que no período seco o rio Beija-flor apresentou uma condutividade de 44,1 µS/cm; o rio Amazonas de 25,9 µS/cm e o rio Campumpema de 35,6 µS/cm.

Tabela 1- Parâmetros físico-químicos dos pontos amostrados no momento das coletas nos períodos de estiagem (agosto-2013) e chuvoso (março-2014).

Local	Salinidade		Temp. água (°C)		OD (mg/L)		Cond. (µS/cm)	
	Est	Chuv	Est	Chuv	Est	Chuv	Est	Chuv
Beija-flor	0	0	30,6	27,3	0,7	3,4	44,7	29,1
Amazonas	0	0	30	28,4	0,9	4,6	25,9	32,5
Campumpema	0	0	30	29	0,6	5,8	35,6	40

Est.: Estiagem; Chuv.: Chuvoso; Cond.: Condutividade (µS); Temp. água: Temperatura da água; OD: Oxigênio Dissolvido

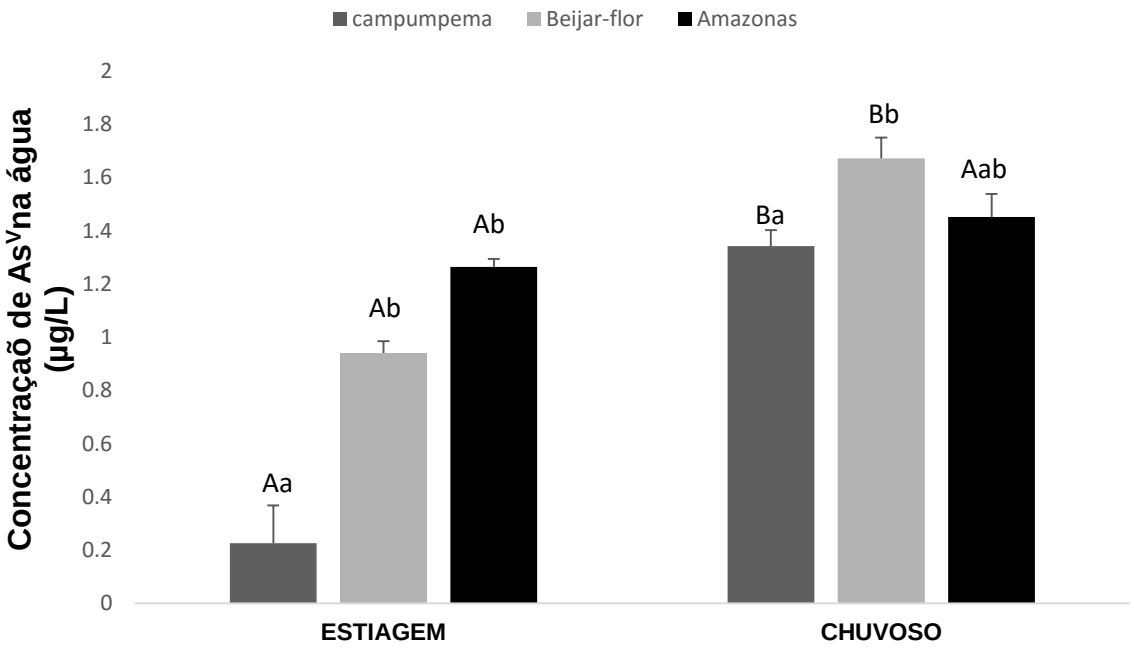
Fonte: Do autor

4.2 **Concentração de Arsênio na água**

Foi detectada apenas a presença de arsenato na água, desta forma, os valores estão representados como conteúdo total de arsênio na forma de arsenato (Figura 5). No período de estiagem a concentração de arsenato na água foi menor ($p=0,0001$) no rio Campumpema (0,33 ± 0,15 µg/L) em relação aos rios Beijar-flor (0,94 ± 0,04 µg/L) e Amazonas (1,26 ± 0,03 µg/L). Na estação chuvosa houve um aumento ($p =0,02$) na concentração de arsenato na água dos rios Campumpema (1,27 ± 0,08 µg/L) e Beija- flor (1,67 ± 0,07 µg/L). O rio Amazonas no período chuvoso pemaneceu com concentração de arsenato estatisticamente igual à do período anterior (1,26 ± 0,02 µg/L). Comparando-se os pontos de coleta no período chuvoso, o rio Campumpema apresenta menor concentração de arsenato que o rio Beija-flor e concentrações semelhantes às encontradas no rio Amazonas. Os ambientes mais próximos à região de beneficiamento de manganês (rios Beija-flor e Amazonas) não se diferenciaram nesta estação pluviométrica e men no periodo de estiagem.

Pode-se notar uma variação sazonal havendo um aumento na concentração de arsenato (p=0,0001) da estação de estiagem para a chuvosa nos rios Campumpema (0,33 ± 0,15 – estiagem; 1,27 ± 0,08 µg/L – chuvoso) e Beijar-flor (0,94 ± 0,04 µg/L – estiagem; 1,67 ± 0,07 µg/L – chuvoso). Porém há uma manunteção nos valores de arsenato no rio Amazonas no período de estiagem (1,26 ± 0,03 µg/L) e chuvoso (1,45 ± 0,08 µg/L) não apresentando diferenças entre estações (p=0,99)

Figura 5 - Concentração de arsenato (As^{v}) na água coletada em distintos locais em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. As letras minúsculas diferentes representam diferenças (p< 0,05) entre os locais no mesmo período. As letras maiúsculas diferentes indicam diferenças (p< 0,05) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados. Os dados são expressos como a média ± erro padrão (n=5).



4.3 Biometria dos organismos biomonitores

No período de estiagem (agosto de 2013, TABELA 2), os camarões coletados no rio Beija-flor (n= 101) apresentaram valores médios de peso de 4,52 ± 0,26 g, comprimento do cefalotórax (Cc) médio 1,73 ± 0,03 cm e comprimento total (CT) médio 8,38 ± 0,14 cm. Enquanto que os organismos do rio Amazonas (n=66) apresentaram valores médios de peso de 8,27 ± 0,2 g, comprimento do cefalotórax de 1,78 ± 0,03 cm e comprimento total de 8,39 ± 0,1 cm. Já os organismos

campumpema (n= 90) apresentaram valores médios de peso 1,97 ± 0,09 g, Cc médio 1,36 ± 0,19 cm e CT médio 6,38 ± 0, 97 cm.

Tabela 2- Valores de peso total, comprimento do cefalotórax (Cc) e comprimento total (CT) do camarão *Macrobrachium amazonicum* coletados nos períodos estiagem (agosto-2013) e chuvoso (março-2014).

Período de estiagem	Números de Indivíduos (n)	Peso	Comprimento do cefalotórax (Cc)	Comprimento total (CT)
Beija-flor	101	4,52 ± 0,26	1,73 ± 0,03	8,38 ± 0,14
Amazonas	66	4,28 ± 0,2	1,78 ± 0,03	8,39 ± 0,11
Campumpema	90	1,97 ± 0,09	1,36 ± 0,19	6,38± 0,97
Período chuvoso				
Beija-flor	80	3,65 ± 0,4	1,69 ± 0,04	7,8 ± 0,38
Amazonas	76	3,27 ± 0,11	1,78 ± 0,02	7,2 ± 0,08
Campumpema	79	2,49 ± 0,08	1,55 ± 0,01	6,8 ± 0,13

Fonte: Do autor

No período chuvoso (março de 2014, tabela 2) , os camarões do rio Beijar-flor (n= 80) apresentaram valores médios de peso 3,65 ± 0,4 g, comprimento do cefalotórax (Cc) médio 1,69 ± 0,04 cm e comprimento total (CT) médio 7,89 ± 0,38 cm. Enquanto que os organismos do rio Amazonas (n=76) apresentaram valores médios de peso de 3,27 ± 0,11 g, comprimento do cefalotórax de 1,78 ± 0,02 cm e comprimento total de 7,2 ± 0,08 cm. Já os organismos de campumpema (n= 79) apresentaram valores médios de peso 2,49 ± 0,08 g, Cc médio 1,55 ± 0,01 cm e CT médio 6,8 ± 0,13 cm.

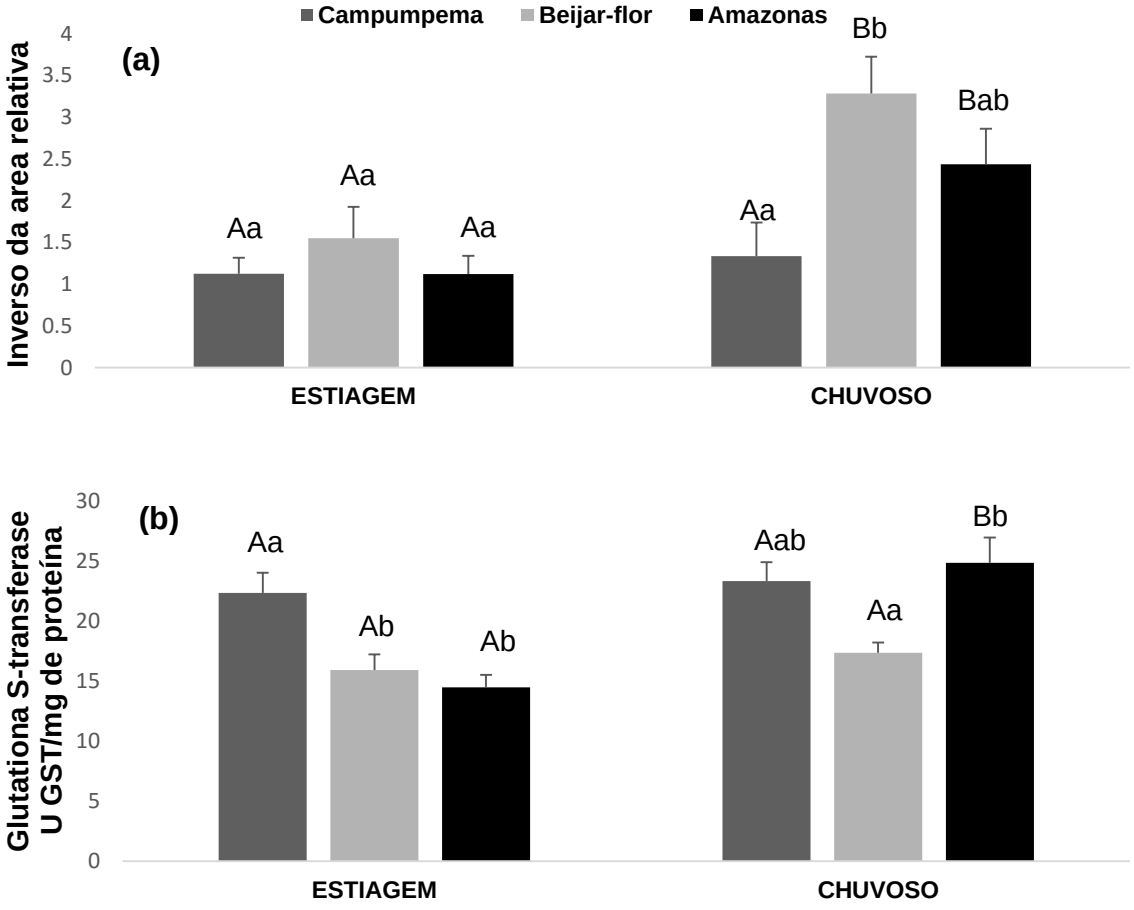
4.3 **Biomarcadores**

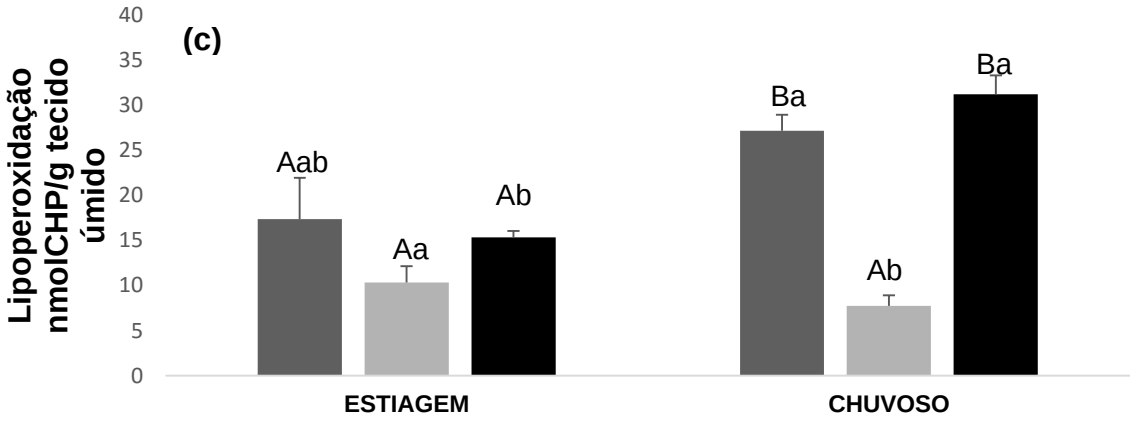
4.3.1 Brânquias

Na estação de estiagem a capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP, figura 6 a) não apresentou diferenças (p=0,99) significativas entre os animais coletados nos distintos rios. Já na estação chuvosa os organismos do rio Campumpema (1,12 ± 0,19) demonstraram uma menor (p=0,006) capacidade antioxidante em relação aos camarões de Beijar-flor (1,54±0,37). Os camarões do Amazonas não apresentaram diferenças (p=0,99) entre os pontos amostrados.

Da estação de estiagem para a chuvosa há um aumento (p=0,006) da capacidade antioxidante nos organimos do rio Beija-flor (1,54 ± 0,37 - estiagem; 3,28 ± 0,44 - chuvoso) e Amazonas (1,12 ± 0,21 - seco; 2,43 ± 0,42 - chuvoso). Os camarões do rio Campumpema (1,12 ± 0,19 - seco; 1,33 ± 0,40 - chuvoso) não apresentaram diferenças entre as estações.

Figura 6 - Biomarcadores nas brânquias de *M. amazonicum* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. As letras minúsculas diferentes representam diferenças (p< 0,05) entre os locais no mesmo período. A: Capacidade antioxidante total; B: Atividade da enzima Glutationa S-transferase; C: conteúdo de lipídeos peroxidados. As letras maiúsculas diferentes indicam diferenças (p< 0,05) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados. Os dados são expressos como a média ± erro padrão (n=8-16).





Em relação à atividade da enzima de detoxificação, GST (Figura 6 b), os organismos do rio Campumpema apresentaram uma maior (p=0,0008) atividade (22,31 ± 1,68 U GST/mg proteína) nas brânquias no período de estiagem relação aos camarões do rio Beija-flor (15,91 ± 1,29 U GST/mg proteína) e Amazonas (14,46 ± 2,09 U GST/mg proteína). Os camarões do rio Beija-flor (15,91 ± 1,29 U GST/mg proteína) e Amazonas (14,46 ± 2,09 U GST/mg proteína) não apresentaram diferenças (p=0,99) entre eles na atividade da GST nesta estação. Na estação chuvosa os camarões do rio Amazonas demonstraram uma maior atividade da GST (24,82 ± 1,29 U GST/mg proteína) em relação aos do rio Beija-flor (17,33 ± 0,83 U GST/mg proteína). Não há difrenças na atividade da GST (p=0,99) da estação de estiagem para a chuvosa nos organismos de Campumpema e Beija-flor. Entretanto, há um aumento da GST (p =0,0001) nos animais do rio Amazonas em relação ao período de estiagem (14,46 ± 2,09 U GST/mg proteínas).

Quanto ao conteúdo de lipídeos peroxidados (Figura 6 c), as brânquias de *M. amazonicum* provenientes do rio Amazonas apresentaram um maior (p=0,0009) conteúdo de lipídeos peroxidados no período de estiagem (15,34 ±0,83 nmols CHP/g tecido úmido) em relação aos espécimes do rio Beija-flor (10,34 ± 1,80 nmols CHP/g tecido úmido). No período chuvoso há uma maior (p=0,0001) concentração de lipídeos peroxidados nos camarões dos rios Campumpema (17,39 ± 2,04 nmols CHP/g tecido úmido) e Amazonas (15,34 ± 2,45 nmols CHP/g tecido úmido) em relação aos camarões de Beija-flor (7,64 ± 0,75 nmols CHP/g tecido úmido). Há um aumento (p = 0,0001) na lipoperoxidação nos organismos de Campumpema da estação de estiagem (17,39 ± 5,26 nmols CHP/g tecido úmido) para o período chuvoso (27,17 ± 2,06 nmols CHP/g tecido úmido). Esse aumento (p=0,0001) da

lipoperoxidação também foi verificado nos animais do rio Amazonas que apresentaram 15,34 ± 0,83 nmols CHP/g tecido úmido e 31,23 ± 2,45 nmols CHP/g tecido úmido na estação seca e chuvosa, respectivamente.

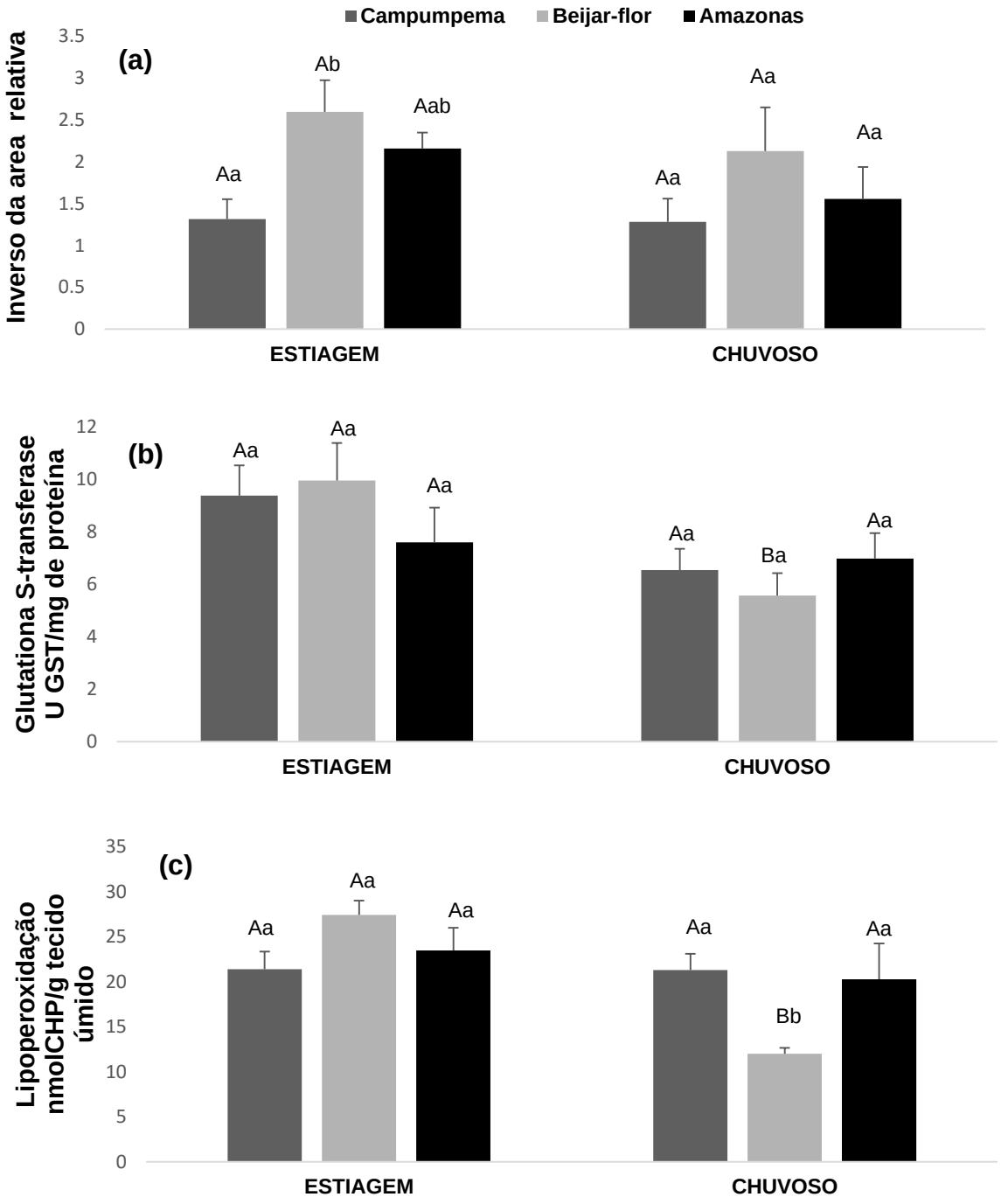
4.3.2 Músculo

Na estação de estiagem há uma menor (p=0,0001) capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP, figura 7A) nos camarões do rio Campumpema (1,31 ± 0,23) em relação aos organimos do rio Beijar-flor (2,59 ± 0,37). No período chuvoso, os organismos não apresentaram diferenças significativas (p= 0,99) entre os pontos analisados. Também não houve diferenças entre estações de coleta para nenhum dos pontos amostrados.

Em relação à atividade da enzima de detoxificação, GST (Figura 7B), no período de estiagem não houve diferenças significativas (p=0,99) entre os animais dos diferentes rios. Os organismos do rio Campumpema (9,36±1,15 U GST/mg proteína – estiagem; 6,53±0,81 U GST/mg proteína – chuvoso) e Amazonas (7,54±1,31 U GST/mg proteína – estiagem; 6,97±0,97 U GST/mg proteína – chuvoso) não apresentaram diferenças entre as estações. Porém, foi registrada uma diminuição na atividade da GST nos organismos do rio Beija-flor da estiagem (9,94 ± 1,43 U GST/mg proteína) para o período chuvoso (5,56 ± 0,85 U GST/mg proteína).

Quanto ao conteúdo de lipídeos peroxidados, durante a estiagem não ocorreram diferenças (p=0,99) entre os organismos dos três locais amostrados. Já no período chuvoso a a concentração de lipídeos peroxidados nos organismos do rio Campumpema (21,38 ± 2,07 nmols CHP/g tecido úmido) e Amazonas (23,47 ± 4,58 nmols CHP/g tecido úmido) foi maior (p=0,0005) em relação aos camarões do rio Beija-flor (25,91 ± 0,75 nmols CHP/g tecido úmido). Os animais dos rios Campumpema e Amazonas não apresentaram diferenças entre as estações amostradas. Já os organismos do rio Beija–flor apresentaram uma diminuição (p=0,0001) da concentração no conteúdo de lipídeos peroxidados do período de estiagem (25,91 ± 1,97 nmols CHP/g tecido úmido) para o chuvoso (12 ± 0,75 nmols CHP/g tecido úmido).

Figura 7 - Biomarcadores no músculo de *M. amazonicum* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. As letras minúsculas diferentes representam diferenças (p< 0,05) entre os locais no mesmo período. A: Capacidade antioxidante total; B: Atividade da enzima Glutationa S-transferase; C: conteúdo de lipídeos peroxidados. As letras maiúsculas diferentes indicam diferenças (p< 0,05) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados. Os dados são expressos como a média ± erro padrão (n=8-16).



5 **DISCUSSÃO**

5.1 **Precipitação, parâmetros abióticos e concentração de arsenato na água**

Essas variáveis são importantes por que determinam a distribuição dos organismos vivos e interligam os demais processos geológicos e biológicos, sendo muito relevantes para criação de modelos ecológicos (COSTA, 1991). Além disso, agem diretamente ou indiretamente, nos processos biogeoquímicos dos metais de transição e por consequência influenciam na toxicidade destes elementos.

Os valores de temperatura registrados nos 3 ambientes amostrados estão de acordo com o esperado para regiões de clima tropical, que apresentam médias superiores a 25° C (GAILLADERT et al., 1997). Em ambientes estuarinos tropicais a temperatura é sempre elevada e as pequenas variações que ocorrem durante o ciclo sazonal dependem do grau de insolação e de outras condições meteorológicas (MILLERO, 1996; KRUPEK et al., 2010), como por exemplo os níveis de precipitação. Estes se mostraram bastante diferentes nos dois períodos amostrados (chuvoso e estiagem) e podem ser os responsáveis pelo leve aumento de temperatura da água observado no período de estiagem.

A menor concentração de oxigênio dissolvido no período de estiagem pode estar relacionada ao aumento do processo de decomposição da matéria orgânica (oxidação química) que consome o oxigênio (VALENTE et al, 1997). Na estação chuvosa, devido ao aumento da precipitação há uma maior oxigenação, por um maior movimento das águas (ESCHRIQUE et al., 2006), com isso a um aumento na concentração de OD na água.

A condutividade não apresentou um padrão de variação sazonal como apresentado pelos outros dados abióticos. Entretanto os valores obtidos durante o nosso estudo estão de acordo com o esperado para a região amazônica. Em um estudo realizado no rio Amazonas por Duncan e Fernandes (2010) observaram valores entre 17,4 – 104,3 µS/cm.

Nos três ambientes onde foram coletadas as amostras de água e de organismos a espécie química de As predominantemente encontrada foi o arsenato (As^{v}). Embora não tenha sido possível o registro do pH neste estudo, sabe-se que as águas do

estuário amazônico apresentam pH básico (GAILLADERT et al., 1997). Na presença de pHs mais alcalinos a espécie química de As mais estável é o arsenato (SILVA et al., 2013). Esta estabilidade de distintas espécies químicas inorgânicas de As em pH ácidos ou alcalinos foi bem exemplificada em um rio espanhol (SÁNCHES-RODAS et al, 2005). Durante o inverno quando ocorre uma maior drenagem de resíduos industriais devido ao aumento da precipitação as águas adquirem um pH ácido com isso predominando a presença de arsenito (As^{III}). Porém, durante o verão há o predomínio de arsenato (As^{v}) devido a uma redução na drenagem industrial, as águas nessa estação possuem pH mais básico favorecendo a presença dessa espécie química (SÁNCHES-RODAS et al, 2005).

De uma maneira geral, a flutuação sazonal de metais pode estar associado a diversos fatores ambientais e biológicos. Sendo que descargas dos rios é o principal fator associado a variações interanuais de metais (PISANELLI et al., 2009). Processos naturais, como a ação do intemperismos (desgaste de rochas) são responsáveis pela liberação do As na biosfera e hidrosfera (CIPRANDI,2011).E processos antrópicos como mineraçao, queima de combustíveis fósseis, inseticidas e herbicidas intensificam a liberação de As para o ambiente (MATEOS et al., 2006).

A menor concentração de As^{v} registrada no período de estiagem pode estar relacionada à biogeoquímica do metaloide. Neste período há a tendência do arsenato ficar adsorvido ao sedimento de fundo (HATJE et al., 2010) ou formando complexos com matéria orgânica presente no ambiente aquático (SHARMA; SOHN, 2009). A maior concentração de As^{v} observada no período chuvoso pode ter sido influenciada pelo retrabalhamento do sedimento de fundo. Devido ao aumento da chuva, e de processos associados como erosão e lixiviação do solo, o As^{v} pode retornar à coluna d'água (GUILHERME et al., 2005). Este tipo de disponibilização diferenciada do arsênio, relacionada aos níveis de precipitação, já foi observada também para metais de transição como Fe, Pb, e Cr. Em outros estudos estes também estiveram mais presentes na água na estação chuvosa (PARRA et al., 2009).

No período de estiagem pode-se perceber que existe um gradiente de contaminação do rio Campumpema (ambiente referência) para os ambientes com histórico de contaminação por As. As maiores concentrações de As^{v} nos rios Beija-

flor (ambiente intermediário) e Amazonas (ambiente poluído) em relação ao rio Campumpema, devem-se as características geológicas do local e ao seu histórico de contaminação. A região do estado do Amapá é rica em minério de manganês (historicamente explorado na região), mineral onde o As encontra-se associado na forma de arsenopirita (FeAsS) (SCARPELLI, 2003). O processamento do minério de Mn libera o As da arsenopirita favorecendo o aparecimento da sua forma dissolvida nas águas (SCARPELLI, 2003).

No período de estiagem para o chuvoso tanto Campumpema como Beija-flor apresentaram um aumento na concentração de arsênio. Esse aumento no rio Beija-flor pode estar relacionado ao fato deste rio ser um ambiente ser mais protegido em relação aos rios Campumpema e Amazonas. Desta forma, apresenta uma menor hidrodinâmica que favorece o acúmulo desse metaloide. A menor hidrodinâmica favorece a formação de bancos lamosos de sedimento finos (ricos de silte e argila) (AVIZ et al., 2012). O As^{v} fica adsorvido a argila, hidróxidos de matéria orgânica e de ferro (LIÈVREMONT et al., 2009), sendo assim liberado durante a estação chuvosa. O aumento da concentração de arsênio do rio Campumpema durante a estação chuvosa, pode estar relacionado ao maior carreamento de metais oriundos de outros rios quem compõe sua bacia de drenagem (PISANELLI et al., 2009; DOREA; BARBOSA, 2007), pelo aumento do fluxo das águas neste período.

5.2 **Biomarcadores**

Os biomarcadores foram analisados em dois órgãos do camarão *M. amazonicum*: brânquias e músculo. As brânquias estão em contínuo contato com o ambiente e seus contituintes devido ao processo de respiração. Como as brânquias de *M. amazonicum*, são o primeiro órgão de contato com os contaminantes, apresentam um grande potencial de detoxificação (ROCHA et al., 2009). Em um estudo realizado com peixes da espécie *Cyprinus carpio* e *Carassius auratus* foi constatada a utilização das brânquias como o principal órgão de defesa contra a toxicidade do arsênio e níquel (VENTURA-LIMA et al. 2009; KUBRAK et al. 2013). Já o músculo é um órgão de grande importância comercial, sendo a porção do *M. amazonicum* consumida durante a alimentação humana.

Como era de se esperar, de uma maneira geral, os biomarcadores avaliados foram mais responsivos nas brânquias. Neste órgão, os organismos dos rios Beija-flor e Amazonas apresentaram uma menor atividade da GST em relação aos do rio Campumpema no período de estiagem. Este achado pode estar relacionado às maiores concentrações de As^{v} na água nos rios Amazonas e Beija-flor neste período. O acúmulo de metais nas células pode levar à diminuição da glutationa reduzida (GSH). A GSH é um antioxidante celular que está diretamente ligada ao metabolismo do As. Sendo muito importante no processo de metilação, pois serve como doador de elétrons reduzindo o arsenato (As^{v}) para arsenito (As^{III}) (Scott et al.,1993). No final desse processo há a formação do arsenitotriglutationa ($As^{III}(GS)_3$) e metilarsenio diglutationa ($CH_3As(GS)_2$), essas duas formas químicas são excretadas do organismos (Kobayashi et al,. 2005). Este processo de detoxificação do As acaba por reduzir a concentração de GSH disponível para servir como co-substrato da GST, favorecendo a diminuição da atividade desta enzima sem afetar a detoxificação do organismo, que ocorre por reação direta com a glutationa reduzida.

Este fato já foi demonstrado em um estudo de laboratório realizado com o peixe *Procambarus clarkii,* onde a atividade da GST foi reduzida quando os animais foram expostos a 100 µg/L de Cd^{+2} (BARATA et al., 2005). De fato, não foi observada a indução da lipoperoxidação nas brânquias dos camarões no período de estiagem quando comparamos animais do rio Campumpema (menos contaminado) com animais do rio Beija-flor e Amazonas, o que corrobora um processo de detoxificação efetivo. Pelo mesmo motivo, pode-se inferir que a capacidade antioxidante total não foi alterada por haver vias de detoxificação efetivas (como citado anteriormente) atuando para evitar o acúmulo de EROs. Sem esse acúmulo não há necessidade de indução do sistema de defesa antioxidante.

No entanto, ao compararmos a LPO nas brânquias entre os animais dos pontos mais contaminados verificamos maior LPO nos camarões do rio Amazonas em relação aos do rio Beija-flor na estação de estiagem. Este achado pode estar relacionado ao fato do rio Amazonas apresentar uma maior concentração de As^{v} na água em relação ao demais pontos. Entretanto esses dois ambientes apresentaram níveis de LPO semelhantes aos camarões do ambiente sem histórico de contaminação (Campumpema), ou seja, estão dentro da normalidade.

O aumento da precipitação e da vazão provoca uma elevação da hidrodinâmica dos rios, o que favorece a diluição dos poluentes (AVIZ et al., 2012; GARCÍA-BARCINA et al., 2006). Entretanto, durante o período chuvoso também ocorre o retrabalhamento dos sedimentos de fundo e a lixiviação de áreas em torno, o que acaba liberando contaminantes e torna os organismos mais expostos a substâncias tóxicas podendo aumentar a incorporação de xenobióticos (ZHENG et al., 2012; BRINKMANN et al., 2013) e com isso, induzir a danos oxidativos. De fato, durante a estação chuvosa há uma indução da capacidade antioxidante dos *M.amazonicum* do rio Amazonas e do rio Beija-flor. Isso pode estar relacionado a uma maior exposição dos organismos aos xenobióticos. Além disso, também pode-se observar que os camarões do Amazonas necessitaram de um aumento na atividade da GST para manter os níveis de LPO semelhantes de Campumpema. Sendo assim uma resposta dos organismos em tentar eliminar os contaminantes. Organismos aquáticos expostos a contaminantes podem gerar respostas antioxidantes adaptativa, prevenindo as células de danos oxidativos (MONSERRAT et al., 2007). Resultados semelhantes foram observados por Company et al. (2010) em mexilhões *Bathymodiolus azoricus* expostos a concentrações sub-letais de cádmio, podendo sugerir um mecanismo compensatório para combater o aumento de EROs na célula.

Os camarões de Campumpema não apresentaram alterações da capacidade antioxidante e da GST estação de estiagem para a chuvosa. Entretanto há um aumento no conteúdo de lipídios peroxidados em brânquias de *M.amazonicum* na estação chuvosa, podendo estar relacionada uma maior exposição ao As. Metais de transição (Fe, As, Hg e Cd) leva ao aumento das EROs como, peróxidos de hidrogênio, superóxido e radicais hidroxila, ocasionado lipoperoxidação (HUGHES, 2002; LUSHCHAK, 2011).

Na estação de estiagem para a chuvosa não ocorreu mudança na atividade da GST nos organismos de Beija – flor. Contudo, era esperado um aumento da atividade da GST a estação chuvosa. Devido há um maior contato dos organismos com As^{v}. Em um estudo realizado com a ostra *Crassostrea rhizophorae* mostrou um aumento da GST em locais com históricos de contaminação durante o período de maior precipitação (ZANETTE et al., 2006).

Além da maior exposição a contaminantes, o aumento da LPO no período chuvoso também pode estar relacionado ainda à uma maior produção de energia pelos organismos devido à uma maior alimentação nesse período. Segundo Hermes Lima (2004) durante o período de maior atividade alimentar há uma maior produção de ATP e, com isso, ocorre um aumento da possibilidade de formação de EROs, o que na falta de defesas antioxidantes suficientes, principalmente quando a geração de EROs também ocorre por fatores exógenos (como exposição a metais) leva à lipoperoxidação.

Os organismos do rio Beija-flor, no período chuvoso, apresentam uma menor LPO em relação aos camarões dos outros rios nesta estação. Provavelmente devido à alta capacidade antioxidante dos animais deste rio neste período. Em um estudo realizados com o bivalve (*Mytilus edulis,*) em locais com históricos de contaminação por metais de transição, demonstrou um aumento da capacidade antioxidante que foi capaz de conter a lipoperoxidação (NAHRGANG et al,.2013).

Em relação ao músculo do *M.amazonicum* no período de estiagem não houve diferenças na atividade da GST e no conteúdo de lipídeos peroxidados quando comparados os organismos oriundos dos 3 rios, entretanto os organismos de Beija-flor apresentaram uma maior capacidade antioxidante em relação aos animais de Campumpema. Isto sugere que os organismos de Beija-flor estão expostos à uma maior concentração de pró-oxidantes capazes de induzir o sistema de defesa antioxidante na tentativa de proteção contra danos oxidativos. A presença de metais de transição pode induzir processos oxidativos (NIEDŹWIECKA et al., 2011). Mesmo com essa capacidade antioxidante mais elevada no músculo dos organismos de beija-flor, os mesmos não se diferenciaram dos animais dos outros dois rios em termos de conteúdo de LPO durante a estiagem. No entanto, é possível que a indução do SDA nos organismos de Beija-flor tenha sido a responsável pela permanência dos níveis de LPO dentro da normalidade. A exposição de organismos aquáticos ao As pode ocasionar um excesso na produção de EROs podendo gerar dano em lipídeos, proteínas e DNA (FLORA, 2015).

Os organismos de Beija-flor na estação chuvosa apresentaram uma menor atividade de GST no músculo de *M.amazonicum* em relação ao período de estiagem. Podendo estar relacionado ao aumento da concentração de As^{v}. Levando a

diminuição da GSH por outras vias de detoxificação, com isso reduzindo a sua participação como co-substrato da GST. Sabe-se que o arsenato tem grande afinidade com os grupos tiols das enzimas podendo provocar inibição de enzimas como GPx, GST entre outras (CARTER et al., 2003).

Em relação ao LPO no músculo, os organismos de Campumpema e Amazonas mantiveram o mesmo nível de dano a lipídeos da estação de estiagem para chuvosa. Podendo estar relacionado há uma tendência do gênero *Macrobrachium* têm em acumular As e outros metais de transição (Cd, Pb e Zn) nos músculos (CRESSWELL et al., 2014). E a principal via de para bioacumulação de arsênio ocorre pela alimentação. Contudo, os organismos do ambiente contaminado apresentaram níveis semelhantes ao ambiente referência, ou seja, estão de acordo com a normalidade

Os organismos de Beija-flor apresentaram um menor conteúdo de lipídios peroxidados na estação chuvosa, o pode estar relacionado a manutenção dos níveis da capacidade antioxidante. Não sendo assim necessário a indução da GST enzima de detoxificação para eliminar os produtos da lipoperoxidação. Além disso, não se pode descartar a possibilidade de outras vias de detoxificação, não analisadas neste estudo, estarem relacionadas à um menor conteúdo de LPO. Uma possibilidade é a indução do aumento da concentração de metalotioneínas (MT), proteínas responsáveis pela eliminação de metais do meio intercelular, sendo responsável pelo processo de detoxificação de metais essenciais e não essenciais. O aumento da concentração de MT nos tecidos protege os organismos contra a toxicidade dos metais limitando a disponibilidades desses no meio intracelular (MONSERRAT et al., 2007). Estudo realizado por Bertrand (2015) com o camarão *Palaemonetes argentinus,* mostrou que existe um aumento da transcrição da MT quando exposta a uma maior concentração de cadmio.

No período chuvoso era esperado um aumento da capacidade antioxidante e da LPO nos organismos do Amazonas, devido ao aumento do contado dos organismos com xenobióticos. Porém, o músculo é um tecido menos reativo por, essencialmente, não ser um órgão de detoxificação (KUBRAK et al., 2013). Isto pode explicar o fato do mesmo não ter apresentado variação entre os períodos no ambiente com histórico de contaminação.

De uma maneira geral, os organismos do ambiente com maior histórico de contaminação (rio Amazonas) estando em contato constante com os poluentes, possuem uma resposta diferenciada em relação aos camarões dos demais rios analisados. Tal observação pode estar relacionada ao processo adaptativo chamado de tolerância de comunidade induzida por poluição (TCIP). Tal processo acaba selecionando os organismos que apresentam melhores capacidades (bioquímicas, fisiológicas e de reprodução) possibilitando assim a sua sobrevivência em ambientes impactados (MILLWARD; GRANT, 2000). Já os organismos dos rio Campumpema e Beija-flor apresentam um maior contato com o As somente na estação chuvosa, assim necessitam de uma maior competência antioxidante e resposta de detoxificação. Um estudo realizado por Geracitando et al. (2004) mostrou que os organimos coletados em locais poluídos possuem uma melhor indução de respostas proteroras em relações aos de locais menos poluídos.

6 **CONCLUSÃO**

Os resultados indicam que os organismos de Campumpema e Beija-flor estão sujeitos à uma intensificação da exposição ao As^V durante o período chuvoso em relação aos animais do ambiente com maior histórico de contaminação. Deste modo, os organismos dos rios Beija-flor e Campumpema enfrentam uma sazonalidade em termos de exposição ao As, o que altera o grau de exigência de sua competência antioxidante e resposta de detoxificação (ZHENG et al., 2012; BRINKMANN et al., 2013) entre períodos sazonais. Por outro lado, como os organismos do Amazonas estão expostos a concentrações constantes de As^V durante os dois períodos analisados, conseguem expressar melhor mecanismos adaptativos que lhes confere proteção. Portanto, podemos concluir que os camarões dos 3 ambientes estão conseguindo induzir medidas protetivas contra o estresse oxidativo ocasionado pelas variações sazonais.

REFERÊNCIAS

ALDINI, G.; YEUN, K.J.; NIKI, E.; RUSSELL, R.M. **Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical applications**. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. 363p.

AMADO, L. L.; LONGARAY GARCIA, M.; RAMOS, P. B.; FREITAS, R. F.; ZAFALON, B.; RIBAS FERREIRA, J. L.; YUNES, J. S.; MONSERRAT, J. M. A method to measure total antioxidante capacity against peroxyl radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. **Science of the Total Environmolent**, 407, p. 2115-2123, 2009.

ANDRADE, S. F.; MATOS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. Variação sazonal de metais pesados em Siris *Callinectes ornatus* (Ordway,1863) da Lagoa de Iquiparí, Brasil. **Rev. Virtual Quimica**, v. 3, n. 2, p. 129-137, 2011.

APOSHIAN, H.V.; ZAKHARYAN, R.A.; AVRAN, M.D.; SAMPAYO-REYES, A.; WOLLENBERG, M.L. A review of the enzymology of arsenic metabolism and new potential role of hydrogen peroxide in the detoxication of the trivalent species. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 198, p. 319-326, 2004.

ARAUJO, M.C.; VALENTI, W.C. Efeito da intensidade luminosa no desenvolvimento larval do camarão-da-amazônia, *macrobrachium amazonicum*. **Bol. Inst. Pesca**, v.37. n. 2, p. 155 – 164, 2011.

AVIZ, D.; CARVALHO, I. L. R.; ROSA FILHO, J. S. Spatial and temporal changes in macrobenthic communities in the Amazon coastal zone (Guajará Estuary, Brazil) caused by discharge of urban effluents. **Scientia Marina**, v. 76, p. 381-390, 2012.

AKAISHI, F.M.; ST-JEAN, S.D.; BISHAY, F.; CLARKE, J.; RABITTO, I.S.; OLIVEIRA RIBEIRO, C.A. Immunological responses, histopathological finding and disease resistance of blue mussel (*Mytilus edulis*) exposed to treated anduntreated municipal wastewater. **Aquat. Toxicol**., v. 82, n.1, p.1-14, 2007.

BARATA, C.; LEKUMBERRI, I.; VILA-ESCALÉ, M. PRAT, N.; PORTE, C. Trace metal concentration, antioxidant enzyme activities and susceptibility to oxidative stress in the tricoptera larvae Hydropsyche exocellata from the Llobregat river basin (NE Spain). **Aquatic Toxicology**, v. 74, p. 3–19, 2005.

BATTACHARYA, A.; BATTACHARYA, S. Induction of oxidative stress by As in *Clarias batrachus*: involvement of peroxissomes. **Ecotox. Environ. Saf**., v. 66, p. 178-187,2007.

BARRA, C. M.; SANTELLI, R.E.; ABRÃO, J. J; GUARDIA, M. L. Especiação de arsênio - uma revisão. **Química Nova** (Impresso), SBQ, São Paulo, v. 23, n.1, p. 58-70, 2000.

BENTES, BS.; MARTINELLI, JM.; SOUZA, LS.; CAVALCANTE, DV.; ALMEIDA, MC.; ISAAC, VJ. Spatial distribution of the amazon river prawn *Macrobrachium Amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Caridea, Palaemonidae) in two perennial creeks of na estuary on the northern coast of Brazil (Guajará Bay, Belém, Pará). **Braz. J. Biol.**, 2011, v. 71, n. 4, p. 925-935, 2011.

BERGQUIST, E.R.; FISCHER, R.J.; SUGDEN, K.D.; MARTIN, B.D. Inhibition by methylated organoarsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenases**. Journal of Organometallic Chemistry**, v. 694, p.973–980, 2009.

BERTRAND, L.; MONFERRÁN, M.V.; MÉTAIS, I.; MOUNEYRAC, C.; AMÉ, M.V. MTs in Palaemonetes argentinus as potential biomarkers of zinc contamination in freshwaters. **Ecological Indicators**, v. 48, p. 533–541, 2015.

BIANCHI, T.S. **Biogeochemistry of estuaries**. Oxford: Oxford University Press Inc., 2007. 706p.

BOUSKILL, N. J.; HANDY, R. D.; FORD, T. E.; GALLOWAY, T. S**.** Differentiating copper and arsenic toxicity using biochemical biomarkers in *Asellus aquaticus* and *Dreissena polymorpha*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, n. 3, p. 342-349,2006.

BOHRER, D.; NASCIMENTO, P.C.; BECKER, E.; CARVALHO, L.M.; DESSUY, M. As species in solutions for parental nutrition. **J. Parental Enteral Nut**., v. 29, p. 1-7,2005.

BRINKMANNA, M.; HUDJETZA, S.; KAMMANNB, U.; HENNIGA, U. M.; KUCKELKORNA, J.; CHINORAKSA, M.; COFALLAC, C.; WISEMAND, S.; GIESYD, J. P.; SCHÄFFERF, A.; HECKERE, M.; WÖLZA, J.; SCHÜTTRUMPFC, H.; HOLLERT. H. 2013. How flood events affect rainbow trout: Evidence of a biomarker cascade in rainbow trout after exposure to PAH contaminated sediment suspensions. **Aquatic Toxicolology**; v. 128-129, p. 13-24, 2013.

WALKER, C. H..; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B. **Principles of ecotoxicology**, 2nd ed.London, Taylor & Francis, 2001. 3009p.

CAILLEAUD, K.; MAILLET, G.; BUDZINSKI, H.; SOUISSI, S.; FORGET-LERAY, L. Effects of salinity and temperature on the expression of enzymatic biomarkers in Eurytemora affinis (Calanoida, Copepoda). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A,** v. 147, p. 841-849, 2007.

CAUSSY, D. Case studies impact of understanding bioavailability: arsenic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 164-173, 2003.

CARTER, D. E.; APOSHIAN, H. V.; GANDOLFI, A. J. The metabolism of inorganic arsenic oxides, gallium arsenide, and arsine: a toxicochemical review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 193, p. 309–334, 2003.

CIPRANDI, A. **Análise proteômica da resposta ao arsênio e do exoproteoma de *chromobacterium violaceum***. 2011. 121f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Para, Instituto de saúde, Pós-Graduação de Doenças Tropicais, Belém, 2011.

COMPANY, R.; SERAFIM, A.; COSSON, R.P.; FIALA-MÉDIONI, A.; CAMUS, L.; SERRÃO-SANTOS, R.; BEBIANNO, M.J. Sub-lethal effects of cadmium on the antioxidant defence system of the hydrothermal vent mussel Bathymodiolus azoricus. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v**.** 73, p. 788–795, 2010.

COSTA, K. M. P. **Hidrologia e biomassa primária da região Nordeste do Brasil entre as latitudes de 8º00'00"S e 2º44' 30"S e as longitudes de 35º56'30"W e 31º48'00"W**. 217 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Universidade Federal de Recife, CGT, Recife, 1991.

CUNHA, H. B.; PASCOALOTO, DOMITILA. **Hidroquímica dos rios da Amazônia.** Manaus: Governo do Estado do Amazonas.Secretaria de Estado da Cultura; CCPA, v. 01. 127p, 2006.

CUNHA, D.G.F.; CALIJURI, M.C.; MIWA, A.C.P. A precipitação pluviométrica como agente indutor de modificações nas características químicas do sedimento do rio Jacupiranguinha, Vale do Ribeira de Iguape, SP. **Minerva**, v. 4, N. 1, p. 41-49, 2005.

CHESTER, R. **Marine geochemistry**. London: Unwin Hyman, 1993. 698p,

GRAY, J. S. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. **Mar. Pollut. Bull**., v. 45, p. 46–52, 2002.

CREMONA, F.; PLANAS, D.; LUCOTTE, M. Assessing the importance of macroinvertebrate trophic dead ends in the lower transfer of methylmercury in littoral food webs. **Aquatic Science**, v. 65, p. 2043–2052, 2008.

CRESSWELL, T.; SMITH, R. E.W.; NUGEGODA, D.; SIMPSON, S. L. Comparing trace metal bioaccumulation characteristics of three freshwater decapods of the genus Macrobrachium. **Aquatic Toxicology**, v. 152, p.256–263, 2014.

Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CRPM). **Perspectivas do meio ambiente do Brasil** – uso do subsolo. Brasília, MME - Ministério de Minas e Energia, 2002.

DICKINSON, D.A.; FORMAN, H.J. Celular glutathione and thiols metabolism. **Biochemical Pharmocology**, v. 64, p.1019-1026, 2002.

DEPLEDGE, M.H; AAGAARD, A.; GYÖRKÖS, R. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioural biomarkers**. Mar. Poll. Bull**., v. 31, p. 19-27,1995.

DOREA, J. G.; BARBOSA, A. C. Anthropogenic Impact of Mercury Accumulation in Fish from the Rio Madeira and Rio Negro Rivers (Amazonia). **Biological Trace Element Research**, v. 115, p. 243-254, 2007.

DUNCAN, W.P.; FERNANDES, M. N. Physicochemical characterization of the white, black, and clearwater rivers of the Amazon Basin and its implications on the distribution of freshwater stingrays (Chondrichthyes, Potamotrygonidae). Pan-**American Journal of Aquatic Sciences**, v. 5, p. 454-464, 2010.

ESCHRIQUE, S. A.; SANTOS, M. L. S.; SARAIVA, A. L. L.; DELFINO, I. B.; Botelho, V.F. Estudo dos nutrientes no ambiente pelágico adjacente à costa do estado do Pará. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 39, p. 120-130, 2006.

ERCAL, N.; GURER-ORHAN, H.; AYKIN-BURNS, N. Toxic metals and oxidative stress. Part I. Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 1, p. 529–539,2001.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602 p.

FATTORINI D., BOCCHETTI R., BOMPADRE S., REGOLI F. Total content and chemical speciation of arsenic in the polychaeta Sabella spallanzanii**. Marine Environmental Research**, v. 58, p. 839-843, 2004.

FLORA, S. J. S. Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 257–281, 2011

FLORA, S. J. S. **Handbook of Arsenic Toxicology**. London: Academic Press, 2015, 752p,

FREIRE, J.L.; MARQUES, C. B.; SILVA, B. B. Estrutura populacional e biologia reprodutiva do camarão-da-amazônia *Macrobrachium Amazonicum* (heller,1862) (decapoda:palaemonidae) em um estuário da região nordeste do pará, brasil. **Braz. J. Aquat. Sci. Technol**, v. 16, n. 2, p. 65-76, 2012.

GARCÍA-BARCINA, J. M.; GONZÁLEZ-OREJA, J. A.; SOTA, A. Assessing the improvement of the Bilbao estuary water quality in response to pollution abatement measures. **Water Research**, v. 40, p. 951– 960, 2006.

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

GIGUÈRE, A.; COUILLARD, Y.; CAMPBELL, P.G.C.; PERCEVAL, O.; HARE, L.; PINELALLOUL, B.; PELLERIN, J. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. **Aquat. Toxicol**., v. 64, p. 185–200, 2003.

GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.G.S.M.; PIERANGELI, M.A.P.; ZULIANI, D.Q.; CAMPOS, M.L. Elementos-traço em solos, sedimentos e nas águas. In: Tópicos em ciência do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa**, v. 5 p. 345-390, 2005.

HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. 1981**.** Assay for differentiation of Glutathione-S-transferases. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 398-405.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B**.** Glutathione-S-trasferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Biological Chemistry**, v. 249, p. 7130-7139, 1974.

HATJE, V.; MACEDO, S. M.; JESUS, R. M.; COTRIM, G.; GARCIA, K. S.; QUEIROZ, A. F.; FERREIRA, S. L. C. Inorganic As speciation and bioavailability in estuarine sediments of Todos os Santos Bay, BA, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 2225–2232, 2010.

HAYASE, D.; AGUSA, T.; TOYOSHIMA, S.; TAKAHASHI, S.; HIRATA, S.H.; ITAI, T.; OMORI, k, NISHIDA, S.; TANABE, S. **Biomagnification of Arsenic Species in the Deep-sea Ecosystem of the Sagami Bay, Japan.** Environmental Chemistry, p. 199–204, 2010.

HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K. B. (Ed.). **Functional Metabolism: Regulation and Adaptation**. New Jersey: John Wiley & Sons, p. 319–368, 2004.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FATIMA, Â. Glutationa e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quím. Nova [online]**, v. 31, n.5, p. 1170-1179, 2008.

HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters***,* 133, p. 1–16, 2002.

JIMENEZ, R.S.; DAL BOSCO, S.M.; CARVALHO, W.A. Remoção de metais pesados de efluentes aquosos pela zeólita natural escolecita - influência da temperatura e do pH na adsorção em sistemas monoelementares. **Quim. Nova**, v. 27, N. 5, p. 734-738, 2004.

LEE, J. C.; SON, Y. O.; PRATHEESHKUMAR, P.; SHI, X. Oxidative stress and metal carcinogenesis. **Free Radical in Biology and Medicine**, v. 53, n. 4, p. 742-757, 2012.

LI, L.; ZHENG, B.; LIU, L. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. **Procedia Environmental Sciences,** v. 2, p. 1510–1524, 2010.

LIÈVREMONT D, BERTIN PN, LETT MC**.** Arsenic in contaminated waters: biogeochemical cycle, microbial metabolism and biotreatment processes. **Biochimie,** v. 10, p. 1229-1237,2009.

LORO, V. L.; JORGE, M. B.; SILVA, K. R.; WOOD, C. M. Oxidative stress parameters and antioxidant response to sublethal waterborne zinc in a euryhaline teleost Fundulus heteroclitus: protective effects of salinity. **Aquatic Toxicology**, v. 110-111, p. 187-193, 2012.

LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 13–30, 2011.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C.; MONOHARAN.; KIM, WOOK. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and

scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

KOBAYASHI Y.; CUI X.; HIRANO S. Stability of arsenic metabolites, arsenic triglutathione [$As(GS)_3$] and methylarsenic diglutathione [$CH_3As(GS)_2$] in rat bile. **Toxicology**, v. 211, p. 115-123, 2005.

KUBRAK, O.I.; HUSAK V.V.; ROVENKO, B.M.; POIGNER ,H.; KRIEWS, M.;ABELE, D.; LUSHCHAK, V. I. Antioxidant system efficiently protects goldfish gills from Ni^{2+}-induced oxidative stress. **Chemosphere,** v. 90, p. 971–976, 2013.

KRUPEK, R. A; BRANCO, C. C ZANINI; PERES, C.K**.** Variação sazonal das variáveis físicas e químicas em riachos de duas bacias da região centro-sul do estado do Paraná, sul do Brasil. **Ambiência Guarapuava (PR)**, v.6 n.2, p.297 – 310, 2010.

MACIEL, C. R.; VALENTI, W. C. Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review. **Nauplius**, v. 17, n. 2, p. 61- 79, 2009.

MACIEL, C.R. **Alimentação do camarão-da-Amazônia (*Macrobrachium Amazonicum*) durante a fase larval**. 122 f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal**,** 2007.

MADHIKARMI, N.L.; MURTHY, K.R.S. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant and lipid peroxidation status in iron deficient anemic individuals. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 3, p. 130, 2013.

MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment **Bioindicators & Biomonitors: Principles, Concepts and Applications***.* Oxford: Elsevier Science, 2003, 328p.

MARTINS, A. A. V.; COSTA, R. A. M.; PEREIRA, L. C. C. Space-time distribution of zooplankton community in an Amazonian artificial coastal lagoon in Bragança, Pará, Brazil. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, Ciências Naturais**, v. 1, n. 3, p. 103-111, 2006.

MATEOS L.M, ORDÓÑEZ E, LETEK M, GIL JA. *Corynebacterium glutamicum* as a model bacterium for the bioremediation of arsenic**. Int Microbiol**., v. 9, n. 3, p. 207-15, 2006.

MILLERO, F.K.; 1996. **Chemical Oceanograohy**. 2. ed. New York: CRC Press, 469 p.

MILLWARD, R. N.; GRANT, A. Pollution-induced tolerance to copper of nematode communities in the severely contaminated Restronguet Creek and adjacent estuaries, Cornwall, United Kingdom. **Environmental Toxicology & Chemistry**, v. 19, p. 454–461, 2000.

MONSERRAT, J.M.; YUNES, J.S.; BIANCHINI, A. Effects of Anabaena spiroides (Cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. **Environ. Toxicol. Chem**., v. 20, p. 1228–1235, 2001.

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

MONSERRAT, J. M.; GERACITANO, L. A.; PINHO, G. L. L.; VINAGRE, T. M.; FALEIROS, M.; ALCIATI, J. C.; BIANCHINI, A. Determination of lipid peroxides in invertebrates tissues using the Fe (III) xylenol orange complex formation. **Archives of Environmolental Contamination and Toxicology**, v. 45, p. 177-183, 2003a.

MORAES, B.C; COSTA, J.M.N; COSTA, A.C.L; COSTA, M.H. Variação espacial e temporal da precipitação no estado do Pará. **Acta amazonia** v. 35, n. 2, p. 207 – 214,2005.

MONSERRAT, J. M.; MARTÍNEZ, P. E.; GERACITANO, L. A.; AMADO, L. L.; MARTINS, C. M.; PINHO, G. L.; CHAVES, I. S.; FERREIRA-CRAVO, M.; VENTURA-LIMA, J.; BIANCHINI, A. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, n. 1–2, p. 221-234, 2007.

NAHRGANG, J.; BROOKS, S.J.; EVENSET, A.; CAMUS, L.; JONSSON, M.;SMITH, T.J.; LUKINA, J.; FRANTZEN, M.; GIARRATANO, E.; RENAUD, P.E. Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (Mytilus edulis), Icelandic scallop (Chlamys islandica) and Atlantic cod (Gadus morhua)—Implications for environmental monitoring in the Barents Sea. **Aquatic Toxicology**, v. 127, p. 21–35, 2013.

NEFF, JM. **Arsenic in the ocean. In Bioaccumulation in Marine Organisms – Effect of Contaminants from Oil Well Produced Water**. Local: Oxford, Elsevier Science, 2002.452p.

NÉMETI, B.; GREGUS, Z. Mitochondria Work as Reactors in Reducing Arsenate to Arsenite. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 182, p. 208–218,2002.

NIEDŹWIECKA, N.; MIKA, A.; BIAŁK-BIELIŃSKA, A.; STEPNOWSKI, P.; SKORKOWSKI, E.F. Effect of cadmium andglutathione on malic enzyme activity in brown shrimps (*Crangon crangon*) from the Gulf of Gdańsk. **Oceanologia**, v. 53, n 3, p. 793–805, 2011.

NOBRE, C.; OBREGON, G.; MARENGO, J. A.; RONG FU; POVEDA, G. **Characteristics of Amazonian Climate: Main Features**. In: John Gash, Michael Keller, Mercedes Bustamante, and Pedro Silva Dias. (Org.). Amazonia and Global Change. 1ed.Washington: American Geophysical Union, v. 186, p. 149-162, 2009.

PAIVA, R.S.; ESKINAZI, L. E.; PASSAVANTE, J.Z.O.; CUNHA, M.G.S.; MELO, N.F.A.C. Considerações ecológicas sobre o fitoplâncton da baía do Guajará e foz do rio Guamá, Pará, Brasil. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, Belém, v. 1, n. 2, p. 133-146, 2006

PINHEIRO, R. V. L**. Estudo hidrodinâmico e sedimentológico do Estuário Guajará-Belém (PA).** 185 f. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade Federal do Pará, Belém, 1987.

PISANELLI, B.; BENEDETTI, M.; FATTORINI, D.; REGOLI, F. Seasonal and inter-annual variability of DNA integrity in mussels *Mytilus galloprovincialis*: A possible role for natural fluctuations of trace metal concentrations and oxidative biomarkers. **Chemosphere,** v. 77, n. 11, p. 1551–1557, 2009.

PRITCHARD, D. W. **What is an Estuary: Physical Viewpoint. In: Estuaries.** G. H. Lauff (Ed.) American Association for the Advancement of Science, nº 83, Washington D. C.; 1967.

ROSA-FILHO, J. S. Diagnóstico da qualidade ambiental da Baía do Guajará (Belém-PA) utilizando indicadores químicos e biológicos (QUALIGUAJARÁ). **Relatório de pesquisa.** CNPq – Edital CT Hidro 01/2003 – Nº. Processo 504.308/2003-3, 2011.

ROCHA, A. M.; FREITAS, D. P. S.; BURNS, M.; VIEIRA, J. P.; TORRE, F. R.; MONSERRAT, J. M. Seasonal and organ variations in antioxidant capacity, detoxifying competence and oxidative damage in freshwater and estuarine fishes from Southern Brazil. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 150, p. 512–520, 2009.

RHEINHEIMER, D.S.; SOUZA R.O. Eletrical condutivity and acidification of water used in the aplication of herbicides in the state of Rio Grande do Sul. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 30, n. 1, p. 97-104, 2000.

PARRA, R.R.; ROESER, H.M.P.; LEITE, M.G.P.; NALINI Jr, H.A.; GUIMARÃES, A.T.A.; PEREIRA, J.C.; FRIESE, K. Influência antrópica na geoquímica de água e sedimentos do rio conceição, quadrilátero ferrífero, Minas Gerais – brasil. **Geochimica Brasiliensis,** v. 21, n. 1, p.036 - 049, 2007

SAKURAI, T.; OCHIAI, M.; KOJIMA, C.; OHTA, T.; T.; SAKURAI, M.H.; TAKADA, N.O.; QU, W.; WALLKES, M.P.; HIMENO, S.; FUJIWARA, K. Preventive mechanism of cellular glutathione in monomethylarsonic acid-induced cytolethality. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 206, p. 54-65, 2005.

SAMPAIO, C. M. S.; SILVA, R. R.; SANTOS, J. A. ; SALES, S. P**.** Reproductive cycle of *Macrobrachium amazonicum* females (Crustacea, Palaemonidae). **Braz. J. Biol.**, v. 67, n. 3, p. 551-559, 2007.

SÁNCHEZ-RODAS, D.; GÓMEZ-ARIZA, J.L.; GIRÁLDEZ, I.; VELASCO, A.; MORALES, E**.** Arsenic speciation in river and estuarine waters from southwest Spain. **Science of the Total Environment**, v. 345, p. 207–217, 2005.

SANTOS E. C. O.; JESUS I. M.; BRABO E. S.; FAYAL K. F.; SÁ-FILHO G. C.; LIMA, M. O.; MIRANDA A. M. M.; MASCARENHAS A. S.; SÁ L. L. C.; SILVA A. P.; CÂMARA V. M. Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia**. Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, p. 171-185, 2003.

SCARPELLI, W. (2003). Arsênio do minério de manganês de Serra do Navio. **Novos Cadernos NAEA**, v. 6, n.1, p. 101-133, 2006.

SHARMA V.K, SOHN M. Aquatic arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation**. Environment International**, v. 35, p.743–759, 2009.

SIJM, D.T.H.M.; HERMENS J.L.M. Internal effect concentration: link between bioaccumulation and ecotoxicity for organic chemicals. In: BEEK , B. (Edit.). **Bioaccumulation**: new aspects and developments. [S.l.; s.n.], 2000. v. 2 Part J, p. 167-199. (The Handbook of Environmental Chemistry).

SCOTT, N.; HATLELID, K.M.; MACKENZIE, N.E.; CARTER, D.E. Reactions of arsenic (III) and arsenic(V) species with glutathione. **Chem. Res. Toxicol.** v. 6, p.102, 1993.

SMITH, A.H.; HOPENHAYN, C.; BATES, M.N; GOEDEN, H.M.; PICCIOTTO, I.H.; DUGGAN, H.M. Cancer risks from arsenic in drinking water**. Environ Health Perspect**, v. 97, p. 259–67, 1992.

THOMAS, D.J.; STYBLO, M.; LIN, S. The cellular Metabolisms and Systemic Toxicity of Arsenic*.* **Toxicology and Applied Pharmacology,** v. 176, p.127-144, 2001.

TREVISAN, R. **Marcadores de estresse oxidativo e outros parâmetros biológicos em peixes e bivalves como ferramentas de monitoramento ambiental: análise de dois ecossistemas catarinenses**. 63 f. Trabalho de conclusão de curso (Instituto de Ciências Biológicas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

VALENTE, J.P.S; PADILHA, P.M; SILVA, A.M.M. Oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu - SP. **Eclet. Quím.** v. 22, São Paulo 1997.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk. **Environ. Toxicol. Pharmacol,** v. 13, p. 57–149, 2003.

VENTURA-LIMA, J.; SANDRINI, J.Z.; FERREIRA-CRAVO, M.; PIEDRAS, F.R.; MORAES, T.B.; FATTORINI, D.;; NOTTI, A.; REGOLI, F.; GERACITANO, L.A. MARINS, L.F.; MONSERRAT, J.M. Toxicological responses in *Laeonereis acuta* (Annelida, Polychaeta) after As exposure. **Environ. Intern**., v. 33, p. 559-564, 2007.

VENTURA-LIMA, J.; FATTORINI, D.; REGOLI, F.; MONSERRAT, J.M. Effects of different inorganic arsenic species in *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) tissues after short-time exposure: bioaccumulation, biotransformation and biological responses. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 3479-3484, 2009.

VIEIRA, I.M.; ARAÚJO N.M.D. Aspectos da socioeconomia dos pescadores de camarão da ilha do Pará (pa) e arquipélago do Bailique (ap). **Boletim do laboratório de hidrobiologia**, v. 19, p. 85-94. 2006

VLAHOGIANNI, T.; DASSENAKIS, M.; SCOULLOS, M.J.; VALAVANIDIS, A. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation)

in mussels Mytilus galloprovincialis for assessing heavy metals pollution in coastal áreas from the Saronikos Gulf of Greece. **Marine Pollution Bulletin,** v. 54, p.1361–1371, 2007.

WINSTON, G. W.; REGOLI, F.; DUGAS JR, A. J.; FONG, J. H. ; BLANCHARD, K. A. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. **Free Radicals in Biology and medicine**, v. 24, p. 480-493, 1998.

ZANETTE, J; MONSERRAT, J; BIANCHINI, A. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster Crassostrea rhizophorae from three Brazilian estuaries. **Comparative Biochemistry and Physiology. C. Toxicology & Pharmacology**, v. 143, p. 187-195, 2006.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.

ZHENG, Y.; LUO, X.; ZHANG, W.; WU, B.; LIN, Z.; HAN, F.; WANG, X. Enrichment behavior and transport mechanism of soil-bound PAHs during rainfall-runoff events. **Environmental Pollution**, v. 171, p. 85-92, 2012.