



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE E MUDANÇA DO CLIMA
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
NÚCLEO DE GESTÃO INTEGRADA ICMBIO SÃO LUÍS
R. das Hortas, 223, - Bairro Centro - São Luís - CEP 65020-270
Telefone: (98) 3221-4167 / 0191

PLANO DE TRABALHO - PIBIC/ICMBIO
17º EDITAL DE SELEÇÃO – CICLO 2023/2024



Título do Plano de Trabalho:

ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS EM SIRIS (*Callinectes sp.*) DOS MANGUEZAIS DA BAÍA DE SÃO MARCOS E BAÍA DE TUBARÃO, MARANHÃO, BRASIL

Grande Área do Conhecimento

<input checked="" type="checkbox"/> Ciências Exatas e da Terra	<input type="checkbox"/> Ciências da Saúde	<input type="checkbox"/> Ciências Humanas
<input checked="" type="checkbox"/> Ciências Biológicas	<input type="checkbox"/> Ciências Agrárias	<input type="checkbox"/> Linguística, Letras e Artes
<input type="checkbox"/> Engenharias	<input type="checkbox"/> Ciências Sociais Aplicadas	<input type="checkbox"/> Outras áreas

Orientador: Bruno de Brito Gueiros Souza

Unidade do orientador: NGI ICMBio São Luís

Coorientador: Msc. Ione Marly Arouche-Lima

Instituição do coorientador: Professora do COLUM/UFMA - Curso Técnico em Meio Ambiente / Doutoranda no Programa Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal

Estudante: Eliamara de Sousa Linhares

Instituição do Estudante (Cidade/UF): Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís/MA

Curso de graduação e semestre atual do estudante: Ciências Biológicas, 5º período

Escolha do(s) tema(s):	Temas estratégicos de pesquisa - Conforme anexo I do 17º Edital PIBIC - 2023/2024
	1 - Valorização da biodiversidade, serviços ecossistêmicos e patrimônio espeleológico e arqueológico
	2 - Manejo integrado e adaptativo do fogo
	3 - Recuperação de habitats terrestres e aquáticos
	4 - Manejo de espécies exóticas invasoras
	5 - Boas práticas e regulação do uso de fauna
	6 - Diagnóstico das atividades e cadeias econômicas responsáveis pela exploração predatória e/ou ilegal dos recursos da biodiversidade
	7 - Fortalecimento das cadeias produtivas de produtos madeireiros e não-madeireiros em unidades de conservação e em seu entorno
	8 - Avaliação do estado de conservação das espécies da fauna e flora brasileiras e melhoria do estado de conservação das espécies categorizadas como ameaçadas de extinção (Criticamente em Perigo - CR, Em Perigo - EN, Vulnerável - VU) e com Dados Insuficientes (DD)
	9 - Monitoramento participativo dos recursos naturais e dos compromissos estabelecidos para a gestão das UC e conservação e uso da biodiversidade
	10 - Gestão da informação sobre a biodiversidade para subsidiar das ações de conservação
X	11 - Identificação e monitoramento de impactos de atividades antrópicas sobre a biodiversidade e medidas de mitigação que afetem UCs ou espécies da fauna ameaçada
	12 - Planejamento e implementação de Unidades de Conservação
	13 - Criação ou ampliação de unidades de conservação e conectividade

Indique – assinalando com um **X** – o(s) tema(s) no qual a proposta está inserida:

1- INTRODUÇÃO:

A introdução deverá abordar os seguintes itens:

- Contextualização da questão-chave abordada no Plano de Trabalho e justificativa para atendimento do(s) tema(s) estratégico assinalado(s) ;
- Relação e contribuição do Plano de Trabalho do bolsista para a questão chave apresentada;
- Ineditismo do Plano de Trabalho no contexto local;
- Caso o Plano de Trabalho seja a continuação de trabalhos de ciclos anteriores, deve-se deixar claro qual a novidade da pesquisa e novos desafios/questionamentos surgidos ao longo do trabalho que serão abordados neste ciclo, assim como **qual a relevância da continuidade do projeto** no contexto local.

A sanidade dos ambientes marinhos é indispensável para a manutenção da vida, considerando que estes cobrem dois terços da superfície terrestre, representam uma fonte expressiva de diversidade biológica, como também fornecem recursos fundamentais para a sobrevivência e qualidade da vida humana, tais como: água, produção de biomassa, oxigênio, fonte de proteína, qualidade de vida, recreação, além de ser parte integral das atividades econômicas em diversas localidades (SANDIFER et al. 2004; DEWAILLY; KNAP, 2006;).

Todavia as atividades antrópicas tem acarretado grande degradação ambiental; a fonte de contaminação é muito diversa, indo desde efluentes industriais, processos de drenagem agrícola (fertilizantes, agrotóxicos), derrames acidentais e não acidentais de resíduos químicos (metais pesados, compostos orgânicos e inorgânicos) e resíduos domiciliares comprometendo a manutenção da biodiversidade aquática bem como do próprio ser humano (RASHED, 2001; VELEZ, 2016).

O monitoramento contínuo, através da utilização destes biomarcadores em crustáceos, associado aos parâmetros ambientais e químicos, nas áreas de influência portuária, oferecerão um diagnóstico seguro sobre a saúde das comunidades ícticas e de crustáceos.

Na Baía de São Marcos está instalado o Complexo Portuário de São Luís – MA, integrado pelo Porto do Itaqui, considerado o porto público mais profundo do Brasil, que conecta o Brasil ao mundo nas atividades comerciais de exportação e importação, por conseguir receber navios de capacidade de carga de até 100 mil toneladas. As cargas podem ser divididas em granéis sólidos e líquidos, os sólidos são subdivididos em minerais – produtos e subprodutos da atividade de mineração – e em vegetais – commodities ligadas ao agronegócio. Os líquidos também tem subcategorias, sendo derivados de petróleo – diesel, gasolina, gás liquefeito de petróleo (GLP), etc. – petroquímicos, como a soda cáustica e biocombustíveis no caso do etanol (ANTAQ, 2019).

O presente trabalho propõe estudos que contribuam para a compreensão do potencial e a dinâmica de xenobióticos oriundos de atividades portuárias ou de outros contaminantes na biota de interesse comercial para o estado do Maranhão. A localidade necessita de contínuo monitoramento, e o biomonitoramento tem se mostrado uma tecnologia eficaz, corroborado por diversos trabalhos com espécies nativas em São Luís, na região do complexo Portuário de São Luís - MA tem mostrado os potenciais impactos sofridos pelos organismos que ali vivem. (CARVALHO-NETA e ABREU-SILVA, 2010; JESUS et al, 2020; VIANA et al, 2021).

Nessas áreas esses organismos podem estar sujeitos a condições fisiológicas desestabilizadoras em função dos contaminantes oriundos da carga e descarga de navios, portanto estudos de biomonitoramento norteiam projetos para o manejo e conservação destas espécies que são utilizadas como alimento e para comercialização, o que constitui uma preocupação no que tange a segurança alimentar. Pretende-se avaliar também a possibilidade de que áreas da RESEX Baía de Tubarão possam ser tomadas como referência para novos estudos.

Ademais, a proposta contribui com a formação de recursos humanos na área de biomonitoramento e estudos em ecotoxicologia, ambiental, oportunizará para o graduando experiência de trabalho em campo para coleta das amostras; no laboratório, o aprendizado das técnicas para histologia e posterior análise dos dados.

Desta forma, a proposta se adequa ao edital de seleção 17º do “Anexo I - Temas estratégicos de pesquisa”: **11 - Identificação e monitoramento de impactos de atividades antrópicas sobre a biodiversidade e medidas de mitigação que afetem UCs ou espécies da fauna ameaçada.**

As questões levantadas constituem questões de saúde pública, estes e outros organismos aquáticos, por acumularem os contaminantes do ambiente, têm sido utilizados em larga escala em estudos de segurança alimentar.

Estes organismos são capazes de concentrar metais pesados em níveis superiores aos encontrados na água, sendo assim, responsáveis por grande parte da dinâmica destes poluentes no ambiente marinho (SMITH, GUENTZEL, 2010). Dos metais, arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), níquel (Ni), manganês (Mn), mercúrio (Hg) e zinco (Zn), são os principais elementos nos estudos de contaminação em peixes.

Enfatizando questões de saúde pública, diversos metais têm demonstrado possuir atividade carcinogênica mediante sua ingestão em quantidades excedentes ao permitido, neste caso o cromo, chumbo e mercúrio são os principais. Organismos pertencentes ao topo da cadeia alimentar são comumente utilizados na avaliação da contaminação ambiental por metais por refletirem o acúmulo dessas substâncias nos níveis anteriores da cadeia trófica, indicando respostas de efeitos crônicos, acumulativos e persistentes no nível de cadeia, além de efeitos diretos no nível do indivíduo (MURUGAN et al., 1995).

2 - OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS DO PLANO DE TRABALHO

2.1 Objetivo Geral:

Analisar os efeitos toxicológicos em crustáceos (*Callinectes sp*) que habitam uma região portuária, por meio de biomarcadores histológicos.

2.2 Objetivos Específicos:

- Comparar a frequência e severidade das lesões branquiais em siris da Baía de São Marcos e da Baía de Tubarão – MA.
- Comparar a frequência e severidade das lesões nos hepatopâncreas em siris da Baía de São Marcos e da Baía de Tubarão – MA.
- Verificar a associação entre as frequências, níveis de severidade das lesões com as características físico-químicas da água e níveis de metais no ambiente.

3 - METODOLOGIA

Área de estudo

Este trabalho terá como áreas de estudo a Baía de São Marcos (A1) e a Baía de Tubarão (A2), dentro dos limites da RESEX da Baía do Tubarão. Na primeira área estão as localidades próximas ao complexo portuário que recebem influência direta da presença de xenobióticos de acordo com trabalhos pretéritos realizados. A Baía de Tubarão foi selecionada como área de referência por estar distante das atividades portuárias e suas possíveis influências.

Amostragem

Serão coletados 15 indivíduos *Callinectes sp.* em cada incursão a campo, em cada área de estudo. Durante o ano, serão realizadas 2 expedições no período chuvoso e 2 no período de estiagem em cada área de estudo, com o esforço de captura para alcançar 60 espécimes em cada área de estudo- área de referência (Baía de Tubarão) e área contaminada (Baía de São Marcos), totalizando 120 indivíduos.

Os exemplares de siris serão capturados por pesca artesanal, e, em campo, serão medidos, pesados e encaminhados ao laboratório para análise. Os indivíduos serão eutanasiados após a imersão em uma solução analgésica de óleo de cravo na concentração de 200mg/L. Todas as amostras para as diversas análises serão acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e etiquetados, colocados em caixa térmica contendo gelo para serem transportados e armazenados no laboratório.

Análise histológica

Serão removidas as brânquias com o auxílio de pinças. Os órgãos de cada exemplar será fixado em solução de Davidson durante 24 horas. Em seguida, serão lavadas e mantidas em álcool 70% até o processamento histológico usual. A etapa posterior é submeter os órgãos a desidratação em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e inclusos em parafina. Os blocos de parafina serão seccionados em cortes de espessura de 5µm com auxílio de micrótomo (Leica RM 2125 RT), seguidas de secagem à temperatura ambiente no Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos – LABOAQ – da Universidade Estadual do Maranhão - (UEMA). Os cortes serão corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Em microscopia de luz, serão analisados dois cortes para cada órgão de cada animal. As alterações serão identificadas com base em MAHARAJAN et al. (2015), NEGRO (2015), VASANTHI et al. (2014), BERNNET et al. (1999). Após a identificação foram fotomicrografadas com auxílio de microscópio AXIOSKOP - ZEIS.

Análise Estatística

A normalidade dos dados será testada por meio do teste de Shapiro-Wilk e teste de Smirnov-Kolmogorov e a homocedasticidade com o teste de Levene. Para todos os dados com distribuição normal, será aplicada uma ANOVA (Análise de Variância) para investigar se há diferenças significativas entre os tratamentos (pontos estudados e estações do ano). Quando constatadas diferenças significativas entre os tratamentos será aplicado o teste de Tukey para saber quais tratamentos diferiram.

Para os dados que não possuem distribuição normal, os dados serão comparados pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Em todos os casos, o nível de significância adotado será de $p < 0,05$. Todas as análises serão realizadas com a utilização do software Graphpad Prism 8.4.2.

Análise de metais

Físico-química

Os parâmetros analisados serão temperatura, condutividade, pH, oxigênio dissolvido e salinidade, obtidos *in situ* por teste de multiparâmetro.

Metais na água e no sedimento

Os metais analisados serão: zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), alumínio (Al), cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) detectados através da técnica de espectrometria de absorção atômica.

4 - RESULTADOS ESPERADOS

Essa pesquisa contribuirá de forma essencial para o conhecimento das alterações histológicas em brânquias em peixes de níveis tróficos diferentes de uma área supostamente afetada pelas ações antrópicas portuárias.

O trabalho com a histopatologia corrobora um resultado robusto de consequências da exposição dos organismos aquáticos em áreas portuárias com presença de xenobióticos. Espera-se que na área longe desta influência a biota não apresente a frequência e o mesmo nível de lesões, atestando a importância da reserva extrativista.

As informações geradas sobre os biomarcadores utilizados nas espécies oferecerão subsídios para elaboração e/ou aplicação de modelos de avaliação da saúde e implementação de políticas de recuperação ambiental de ambientes aquáticos costeiros, além de poder avaliar a saúde das populações de peixes comerciais.

5 - IMPORTÂNCIA DA EXECUÇÃO DA PESQUISA PARA A CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

O presente estudo propiciará uma avaliação da qualidade ambiental para prevenir efeitos que podem ser irreversíveis, como a perda da biodiversidade. Estudos pretéritos sobre o gênero *Callinectes* no litoral maranhense tem registrado perda da biodiversidade e notória diminuição dos espécimes na Baía de São Marcos.

A RESEX Baía de Tubarão foi selecionada como área controle por se esperar que não haja impactos antrópicos ou naturais que afetem a sanidade da biota. Por meio da presente proposta, além da identificação das espécies encontradas na área, serão levantados os dados abióticos de qualidade ambiental integrados aos de saúde animal por meio de estudo com biomarcadores.

A partir do grupo de crustáceos a ser estudado, poderá se ter uma avaliação da qualidade ambiental das águas e dos pescados, consumidos e comercializados por pescadores da RESEX da Baía de Tubarão, podendo subsidiar medidas de controle ambiental para a conservação da biodiversidade de siris e outros crustáceos de importância socioeconômicas, que são consumidos pela população, como caranguejos e camarões.

O estudo com este gênero portanto, pode servir de como base para avaliação de aspectos relacionados ao manejo e conservação das espécies, a sanidade ambiental e dos organismos e por conseguinte a segurança alimentar, haja vista que são itens alimentares comercializados e consumidos na pesca de subsistência pelas comunidades locais, beneficiárias da RESEX.

6 - ETAPAS E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PLANO DE TRABALHO

Etapa 1 – Revisão de literatura

Etapa 2 – Expedições de coletas

Etapa 3 – Preparação de lâminas

Etapa 4 – Leitura das lâminas

Etapa 5 – Tratamento estatístico dos dados e organização dos índices

Etapa 6 - Submissão de artigo/Relatório Final

Etapa	Set/23	Out/23	Nov/23	Dez/23	Jan/24	Fev/24	Mar/24	Abr/24	Mai/24	Jun/24	Jul/24	Ago/24
1	X	X	X	X	X	X	X	X				

2	X			X		X		X				
3		X		X		X		X				
4			X		X		X		X			
5										X	X	X

Marque com um X o período correspondente a cada uma das etapas. Podem ser acrescentadas novas etapas caso necessário

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARSIENE J, DEDONYTE V, RYBAKOVAS A, ET AL Investigation of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral blood and kidney of marine fish treated with crude oil. **Aquat Toxicol** 99–104, 2006.
- CARVALHO-NETA, R.N.F.; TORRES JR., A.R.; ABREU-SILVA, A.L. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). **Applied Biochemistry and Biotechnology** , v.166, p.1-12, 2012.
- DEWAILLY E. & KNAP A. Food from the oceans and human health: balancing risks and benefits. **Oceanography** 19:84-93. 2006.
- FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. *Mutat. Res.* 455, p. 81-95, 2000.
- FONSECA, I. C; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in on root-tips. **Genet. And Molec. Biol.** 29, n. 1, p. 148-158, 2006.
- HEATH, A. G. Water pollution and fish physiology. Lewis Publishers, v. 2, 1995.
- HOOFTMAN R., RAAT W. (1982) Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmaea* by ethyl methanesulphonate. *Mutat Res* 104:147–152. doi: 10.1016/0165-7992(82)90136-1
- JESUS, W.B. et al. Biomarcadores enzimáticos e histológicos em brânquias de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) indicativos de impactos ambientais em uma região portuária do nordeste do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**. 2020, v. 72, n. 04. pp. 1413-1423. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-11666>>. Epub 14 Ago 2020. ISSN 1678-4162. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11666>.
- KIRSCH-VOLDERS M.; VANHAUWAERT A.; BOECK M. D.; DECORDER I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutat. Res.* 504, p. 137-148, 2002.

LINS, J.A.P.N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V.S.; CIRIO, S. M.. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v.8, n.4, p. 469-484, out./dez. 2010.

LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of Armed Forces Institute of Pathology. New York: MC GRAW-HILL BOOK COMPANY, 1968.SANDIFER P.A., HOLLAND A.F., ROWLES T.K. & Scott G.I.. The ocean and human health. **Environmental Health Perspectives** 112:A454-A455. 2004.

MONSERRAT J M, GERACITANO L A, BIANCHINI A Current and future perspectives using biomarkers to assess pollution in aquatic ecosystems. *Comments Toxicol.* 9:55–269 , 2003.

MURUGAN, S. S.; KARUPPASAMY, R.; POONGODI, K.; PUVANESWARI, S. Bioaccumulation pattern of zinc in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch.) after chronic exposure. **Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 8, p. 55-59, 2008.

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

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fishi gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. (Eds.). *Sblethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Oxford: FISHING NEWS BOOKS. p. 339-352, 1994.

QIAN, H., LI, J., SUN, L., CHEN, W., SHENG, GD, LIU, W. e FU, Z. Efeito combinado de cobre e cádmio no crescimento de *Chlorella vulgaris* e transcrição do gene relacionado à fotossíntese. **Aquatic Toxicology**, 2009, 94 (1), 56-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2009>

QUADRA, G. R. et al. Poluição da água: um dos principais desafios da Limnologia no Antropoceno. *Acta Limnologica Brasiliensia* [online].v.31e203. 2019. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X5118>.

RASHED, M.N. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. **Environment International**.vol.27P :27–33.2001

SILVA, Q.D. **Mapeamento Geomorfológico da Ilha Do Maranhão**. UNESP, 2012.

VELEZ, C., FIGUEIRA, E., SOARES, A.M.V.M., FREITAS, R.. Accumulation and sub-cellular partitioning of metals and As in the clam *Venerupis corrugata*: different strategies towards different elements. **Chemosphere** 156, 128–134. 2016.

VIANA, C., SILVA, L., JORGE, M., SILVA, SANTOS, D., CARVALHO-NETA, R. (2021). HISTOPATHOLOGY ANALYSIS OF *Sciades herzbergii* (PISCES, ARIIDAE) AND Bagre bagre (PISCES, ARIIDAE) GILLS TO ASSESS ENVIRONMENTAL POLLUTION. *Applied Ecology and Environmental Research*. 19. 2983-3001. 10.15666/aer/1904_29833001.



Documento assinado eletronicamente por **Bruno de Brito Gueiros Souza**, **Analista Ambiental**, em 14/07/2023, às 17:25, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.icmbio.gov.br/autenticidade> informando o código verificador **15325586** e o código CRC **FB5DB8D1**.

