



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA

Antônio Leonildo Nascimento Dergan

**Biomarcadores bioquímicos em duas espécies aquáticas
amazônicas na avaliação da qualidade de ambientes com
histórico de contaminação por arsênio**

Belém - Pará

2015

Biomarcadores bioquímicos em duas espécies aquáticas amazônicas na avaliação da qualidade de ambientes com histórico de contaminação por arsênio

Antônio Leonildo Nascimento Dergan

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia Aquática e Pesca.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lílian Lund Amado

Belém - Pará.

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela saúde durante a realização deste trabalho e por todas as oportunidades que tive de amadurecimento pessoal e profissional.

À minha família, minha mãe Ivanilde Gomes, por seu amor e carinho, seu incentivo e suporte incansável durante toda a minha vida. À minha Princesa, Dayana Mesquita, por seu amor incondicional, sua dedicação, e por todas as felicidades que pude ter ao seu lado, me dando seu apoio nos momentos de felicidade e de incerteza, algo que quero para minha vida inteira. Às minhas irmãs Jéssica e Joyce, por toda nossa parceria, amor e carinho sem os quais não teria chegado a este momento.

À minha orientadora Prof. Dr^a. Lílian Amado. Tenho muita gratidão por todo seu apoio na realização deste trabalho, por todo carinho e dedicação durante a construção de mais conhecimento sobre a ecotoxicologia na região amazônica.

Aos companheiros do BIOPAQ e nossos parceiros: John, Tamyris, Carla, Sarita, Dani, Thaianne, Cléverson, Roni, Roberta, Zé Luís, e Lucas por todo o auxílio durante as coletas e análises. Seu apoio foi muito importante, e com vocês aprendi valores que levarei para toda minha vida.

Aos amigos da turma PPGEAP/2013: Isabelle, Thiago, Ualerson, Cleize, Brenda, Seu Oswaldo, Evelyn, Mylena, Ana Paula e Ivan. Tenho imensa alegria e pela amizade que construímos e por ter compartilhado muitos momentos bons com vocês.

Ao Prof. Dr. Roberto Bezerra, por todo o auxílio durante os trabalhos de campo.

Ao Prof. Dr. Leandro Carvalho, pela realização das análises de arsênio.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia Aquática e Pesca e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, por prover as condições para realização do curso de mestrado.

À Universidade Federal do Pará, pela utilização de seu espaço físico.

O problema é grande demais para um homem resolver sozinho, em segredo e sem ajuda.

Wilbur Wright

Resumo

A atividade humana em ambientes estuarinos tem impactado negativamente seus componentes bióticos e abióticos através da liberação de compostos tóxicos e modificação de suas características naturais. Na foz do Rio Amazonas, houve a contaminação por arsênio (As) que foi liberado no sistema hídrico como rejeito do beneficiamento de hidróxidos de manganês e ferro. Tal contaminação ainda não havia sido avaliada do ponto de vista biológico. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar, em nível biológico, a qualidade ambiental de dois rios pertencentes ao estuário amazônico: o Rio Amazonas (município de Santana/AP, região mais próxima à empresa de beneficiamento de Manganês) e o Rio Mazagão (município de Mazagão/AP, distante 15 Km do primeiro ponto). As duas localidades estão sob influência da mineração de Manganês e, portanto, representam um gradiente espacial da contaminação de As. Para comparar a influência da poluição por As nos biomarcadores analisados, o Rio Campumpema (município de Abaetetuba/PA) foi escolhido como ponto referência externo, por não apresentar histórico conhecido de contaminação por este metal e ter características abióticas semelhantes. Os parâmetros bioquímicos analisados incluem dois biomarcadores de exposição (atividade da enzima antioxidante glutationa S-transferase e a capacidade antioxidante total) e um biomarcador de efeito (lipoperoxidação). Como espécies biomonitoras, nas quais os biomarcadores foram analisados, foram escolhidas o mandí-branco (*Propimelodus eigenmannii*) e o camarão regional (*Macrobrachium amazonicum*). Estas espécies são amplamente distribuídas no estuário amazônico, de fácil captura e representam distintos níveis tróficos. No mandí-branco, os biomarcadores foram avaliados no fígado, brânquias e músculo. Para o camarão, os biomarcadores foram avaliados nas brânquias e no músculo. A coleta destes organismos foi realizada duas vezes no período chuvoso (abril/13; março/14) e duas vezes no período de estiagem (agosto/13; novembro/13). Além dos biomarcadores bioquímicos, também foram caracterizadas as concentrações de As na água e no sedimento, e as espécies químicas inorgânicas (arsenito e arsenato) na água. Embora baixas, as concentrações de arsenato encontradas nos três rios estavam acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira (0,14 µg As/L água) para águas de classe 2 com atividade de pesca. Já as concentrações de As no sedimento estiveram dentro do limite permitido pela legislação brasileira. A capacidade antioxidante total e a capacidade de detoxificação sofreram modulações órgão-específicas nos peixes e camarões dos ambientes contaminados, mostrando preferência pelas brânquias como órgão de defesa em ambos os animais, sendo capazes de conter os efeitos tóxicos do arsênio em termos de lipoperoxidação.

Palavras-chave: Poluição aquática, *Propimelodus eigenmannii*, *Macrobrachium amazonicum*, estresse oxidativo.

Abstract

Human activity in estuaries has negatively impacted their biotic and abiotic components through the release of toxic compounds and modification of their natural features. At the mouth of the Amazon River, there was contamination with arsenic (As) which was released in the water system as waste of the processing of manganese and iron hydroxides. Such contamination had not yet been evaluated from a biological point of view. The objective of this study was to analyze, in biological level, the environmental quality of two rivers belonging to the Amazon estuary: the Amazon River (municipality of Santana/AP, region closest to Manganese processing company) and Rio Mazagão (municipality of Mazagão/AP, 15 Km far from the first point). The two locations are under the influence of mining manganese and therefore represent a spatial gradient of contamination. To compare the influence of pollution in the analyzed biomarkers, the Campumpema River (municipality of Abaetetuba/PA) was chosen as the reference point external, because it has known history of contamination by this metal and have similar abiotic characteristics. The biochemical parameters analyzed include two biomarkers of exposure (activity of antioxidant glutathione S-transferase enzyme and total antioxidant capacity) and a biomarker of effect (lipid peroxidation). How biomonitor, in which biomarkers were analyzed were chosen Mandí (*Propimelodus eigenmanii*) and the regional prawn (*Macrobrachium amazonicum*). These species are widely distributed in the Amazon estuary, easy to capture and represent different trophic levels. In Mandí, biomarkers were evaluated in the liver, gills and muscle. For prawn, biomarkers were evaluated in the gills and muscle. The capture of these organisms was performed twice during the rainy season (April/13; March/14) and twice in the dry season (August/13, November/13). In addition to the biochemical biomarkers were also characterized the concentrations of arsenic in water and sediment, and inorganic chemical species (arsenite and arsenate) in the water. Although low, the arsenate concentrations found in the three rivers were above the maximum extent permitted by Brazilian law (0.14 µg As / L water) for Class 2 waters with fishing activity. Arsenic concentrations in sediment were within the limit allowed by Brazilian law. The total antioxidant capacity and the detoxification capacity suffered organ-specific modulations in fishes and prawns of contaminated environments, showing preference for gills in both animals, and was able to contain the toxic effects of arsenic in terms of lipid peroxidation.

Keywords: Aquatic pollution, *Propimelodus eigenmanii*, *Macrobrachium amazonicum*, oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Biotransformação do arsênio em modelos mamíferos.	14
Figura 2: Geração mitocondrial de espécies reativas de oxigênio mediadas pelo arsênio. ...	16
Figura 3: Localização dos pontos de coleta em três rios do estuário amazônico.	21
Figura 4: Chuva acumulada mensal nas cidades de Macapá/AP e Belém/PA.	26
Figura 5: Biomarcadores no fígado de <i>P. eigenmanni</i>	32
Figura 6: Biomarcadores nas brânquias de <i>P. eigenmanni</i>	35
Figura 7: Biomarcadores no músculo de <i>P. eigenmanni</i>	37
Figura 8: Biomarcadores nas brânquias de <i>M. amazonicum</i>	39
Figura 9: Biomarcadores no músculo de <i>M. amazonicum</i>	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos na água de três rios do estuário amazônico coletados em diferentes períodos pluviométricos.	27
Tabela 2: Concentração de arsênio total ($\mu\text{g As/L}$) na água de três rios do estuário amazônico coletados em diferentes períodos pluviométricos.	28
Tabela 3: Concentração de arsênio total (mg As/Kg) no sedimento de três rios do estuário amazônico amostrados em março/2014.	29
Tabela 4: Valores médios de peso total e comprimento padrão de <i>Propimelodus eigenmanni</i>	30
Tabela 5: Valores médios de peso total e comprimento total de <i>Macrobrachium amazonicum</i>	31

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	10
1.1 Arsênio no estuário Amazônico	12
1.2 Metabolismo e toxicidade do arsênio	13
1.3 Influência do arsênio na geração de estresse oxidativo	15
1.4 Biomonitoramento ambiental	18
2- OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3- MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Área de estudo	21
3.2 Coleta dos organismos, água e sedimento	22
3.3 Preparação dos órgãos para análise e determinação de proteínas totais	23
3.4 Atividade da glutathione-S-transferase (GST)	23
3.5 Determinação da capacidade antioxidante total	24
3.6 Determinação da lipoperoxidação (LPO)	24
3.7 Determinação do arsênio e sua especiação nas amostras de água e As total no sedimento	24
3.8 Precipitação	25
3.9 Análise Estatística	25
4- RESULTADOS	25
4.1 Precipitação	26
4.2 Parâmetros físico-químicos	27
4.3 Concentração de arsênio total e sua especiação nas amostras de água	27
4.4 Concentração de arsênio total nos sedimentos	29
4.5 Biometria	30
4.6 Biomarcadores	31
4.6.1 <i>Propimelodus eigenmanni</i>	31

4.6.1.1 Fígado	31
4.6.1.2 Brânquias	33
4.6.1.3 Músculo.....	36
4.6.2 <i>Macrobrachium amazonicum</i>	38
4.6.2.1 Brânquias	38
4.6.2.2 Músculo.....	40
5- DISCUSSÃO	42
6- CONCLUSÃO	49
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1- INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos têm sido intensivamente impactados devido ao desenvolvimento urbano e industrial, muitas vezes desordenado (RIDGWAY E SHIMMIELD, 2002). Neste contexto, a exposição ao arsênio (As) tem sido considerada um problema global, e que carece de estudos sobre o efeito na saúde dos organismos aquáticos e na saúde humana em muitos locais (RAHMAN et al., 2012).

Devido aos intensos esforços para caracterizar as fontes de contaminação por arsênio na América Latina, o número de países com problemas relacionados a este metal aumentou de 8 para 14 apenas nos últimos 15 anos, incluindo o Brasil nesta nova lista. No Brasil, muito pouco tem sido descrito sobre a contaminação por As. Inclusive, este quadro tem uma previsão negativa de que os focos aumentem a medida que os trabalhos se expandam para áreas impactadas que ainda não foram estudadas (BUNDSCHUH et al., 2012a).

Mais de 245 minerais contém arsênio e o aproveitamento desses recursos principalmente através da mineração, queima de combustíveis fósseis e aplicação de pesticidas têm causado grandes focos de contaminação da água e do solo (SHARMA e SOHN, 2009). Não somente a água, mas também os animais aquáticos podem ser fontes de risco para a saúde humana devido ao uso destes organismos na alimentação e o potencial de acúmulo do arsênio de algumas espécies (LUSHCHAK, 2011). Os seres humanos também podem ser atingidos de forma indireta, pela diminuição de recursos pesqueiros que serviriam de alimento em regiões contaminadas. Assim, é importante que se conheçam os efeitos do arsênio em organismos residentes em locais com histórico de contaminação.

Na região Amazônica, destaca-se uma contaminação por As que se prolongou por mais de 40 anos (1957-1997). Este quadro esteve relacionado à atividade de mineração de manganês na região da Serra do Navio – AP que foi realizada pela empresa Indústria e Comércio de Minérios S/A (MONTEIRO, 2003). Até a década de 70, o minério passava apenas por um beneficiamento inicial e era transportado por via férrea até o porto de Santana, às margens do Rio Amazonas, sendo encaminhado aos compradores finais por navio em uma concentração aproximada de 42% de manganês. Então, na busca de melhorar a concentrações de manganês obtidas do minério bruto, a empresa criou usinas de concentração e de pelotização que expunha os finos de minérios de baixo teor de manganês a temperaturas da ordem de 900 a 1.000 °C para a formação de pelotas comercializáveis. Deste modo, as frações de arsênio dos hidróxidos de manganês eram separadas e se obtinha um beneficiamento 17% melhor que o anterior (SCARPELLI, 2003). Anos mais tarde, a

demanda do mercado mudou e a usina foi adaptada para sinterização, produzindo um aglomerado ainda mais frágil que as pelotas e que ainda tinha rejeitos de arsênio sendo liberados (MONTEIRO, 2005).

Estes processos de pelotização e sinterização deixaram grandes quantidades de resíduos que foram depositados em uma bacia de rejeitos artificial situada na própria área industrial em Santana, contaminando os lençóis freáticos e as águas superficiais próximas ao Rio Amazonas com arsênio e manganês (OBSERVATÓRIO SOCIAL, 2003). Quando a contaminação foi identificada, os rejeitos com teores médios de arsênio de 1.877,7 mg/g de sedimento foram retirados da barragem, transferidos para uma área de terra firme da empresa na cidade de Santana e cobertos por plástico na tentativa de impedir a lixiviação e transporte aéreo (SCARPELLI, 2003). MOREIRA (2003) destaca que os teores de manganês e de arsênio na água estavam acima dos limites permitidos pela legislação brasileira vigente na época (10 µg As/L), e que existiram indícios de bioacumulação de ferro e manganês em algumas espécies de peixes.

Reside ainda um grande problema na exposição de organismos aquáticos ao As, que condiz à espécie química deste metaloide, sendo suas formas inorgânicas (arsenito e arsenato) as mais biodisponíveis dependendo das características físico-químicas e da produtividade da região (ZHANG et al., 2012). O arsenito é considerado mais tóxico que o arsenato e tem reconhecido potencial carcinogênico, genotóxico e teratogênico, sendo mais abundante em ambientes com águas mais ácidas (FLORA, 2011). Já o arsenato tem maior presença em ambientes com águas mais básicas (VENTURA-LIMA et al., 2011).

Os poluentes são capazes de expressar seus efeitos tóxicos desde o nível bioquímico ou subcelular até o nível de ecossistema conforme sua concentração e tempo de exposição. Esses efeitos tóxicos, quando analisados em baixo nível de organização biológica, são chamados de biomarcadores e considerados como um aviso do estresse induzido pela poluição (GESTEL E BRUMMELEN, 1996; VAN DER OOST et al., 2003). A partir de análises funcionais a nível subcelular, fisiológico ou comportamental, pode-se inferir se o organismo está sendo exposto a algum tipo de contaminante (biomarcador de exposição), e se a concentração e/ou o tempo de exposição tem causado alterações bioquímicas, moleculares, histológicas ou fisiológicas (biomarcador de efeito) (ALLAN et al., 2006).

Em nível bioquímico, os poluentes são capazes de induzir alterações na homeostase redox celular através da indução e/ou produção de espécies tóxicas do metabolismo do oxigênio, as espécies reativas de oxigênio (EROs). Estas espécies são capazes de causar danos oxidativos a componentes celulares importantes como lipídeos, proteínas e DNA (HERMES-LIMA,

2004). Assim, as defesas celulares contra as EROs e as análises de danos oxidativos podem ser utilizadas como biomarcadores bioquímicos. Atualmente, estes biomarcadores bioquímicos têm sido considerados como uma das ferramentas mais sensíveis e de baixo custo para avaliar a poluição aquática no mundo (VIARENGO et al., 2007; REGOLI E GIULIANI, 2014).

O objetivo deste trabalho foi analisar biomarcadores bioquímicos em peixes da espécie *Propimelodus eigenmanni* (Siluriformes: Pimelodidae) e camarões da espécie *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) e determinar a concentração das diferentes espécies químicas do As na água, e de As total no sedimento a fim de avaliar a qualidade hídrica de duas áreas historicamente contaminadas por arsênio no estuário amazônico, ao longo de um ano de coletas trimestrais.

1.1 Arsênio no estuário Amazônico

No entorno da área de depósito de manganês da empresa Indústria e Comércio de Minérios S/A, localizada no município de Santana/AP, existe uma comunidade com cerca de 4737 habitantes que vivem principalmente de atividades extrativistas, produção de embarcações e do comércio local (IBGE, 2015). Esta comunidade carece de infraestrutura sanitária e urbana apropriada, e como agravante para o caso da exposição ao arsênio (As), grande parte dos moradores utilizam a água do rio Amazonas para consumo, que passa apenas por um processo simplificado de decantação e desinfecção (LIMA et al., 2007). Soma-se a esta situação a utilização de peixes e camarões pescados na região para alimentação diária dos moradores da comunidade do Elesbão, os quais podem ser fontes de contaminação devido à sua capacidade de bioacumulação de As (FACUNDES, 2011).

Em 1998, foi observado que os dois igarapés da comunidade de Elesbão apresentavam altos níveis de arsênio dissolvido na água (Igarapé 1: valor médio de 910,58 mg As total/L; Igarapé 2: valor médio de 300,6 mg As total/L) decorrentes da atividade de lixiviação e infiltração do material retirado da bacia de rejeito e depositado em céu aberto (MONTEIRO, 2003). Nesse período os teores de arsênio eram maiores no Rio Amazonas que nos poços abertos por particulares, mostrando que esta era a principal rota de diluição.

O uso de rejeitos de minério de manganês da usina de sinter como aterro na cidade de Santana também foi um veículo para a contaminação do solo (SCARPELLI, 2003). PEREIRA et al. (2009a) constataram que 57,89% das amostras de solo da região

apresentavam teores de As em torno de 500 mg.kg^{-1} , uma concentração 33 vezes maior do que o limite estabelecido pelo CONAMA (2009) (15 mg.kg^{-1}). LIMA et al. (2007) observaram que os poços de captação de água da comunidade de Elesbão apresentavam teores de arsênio total entre 4,14 e $10,39 \mu\text{g As/L}$ no final do período chuvoso, e entre 0,65 e 9,99 no final do período de estiagem.

Quanto à exposição humana, SANTOS et al. (2003) observaram que o teor médio em amostras de cabelo da população da comunidade de Elesbão foi $0,2 \text{ mg As.kg}^{-1}$ de cabelo, sendo os maiores valores em homens da faixa etária de 30 a 35 anos. PEREIRA et al. (2009b) observaram que 88% dos moradores desta mesma comunidade tiveram concentrações de As próximas a $5,94 \text{ mg As.kg}^{-1}$ no cabelo, valores elevados quando comparados aos obtidos em pessoas da região urbana de Santana ($2,37 \text{ mg As.kg}^{-1}$) e de outras regiões do Brasil (Altamira: média de $0,43 \text{ mg As.kg}^{-1}$; Rio de Janeiro: média de $0,70 \text{ mg As.kg}^{-1}$).

Os peixes e crustáceos do estuário amazônico são amplamente utilizados como alimento pela população local, e o preparo destes para consumo pode liberar as formas mais tóxicas do metaloide (RAVENSCROFT et al., 2009). Por exemplo, a arsênio-betaína (AsB) é a forma menos tóxica do metaloide, mas quando aquecida é transformada em espécies com grande potencial carcinogênico como o monometilarsenato (MMA^{V}) e dimetilarsenato (DMA^{V}). Deste modo, o consumo destes animais pode apresentar um grande risco à população (BUNDSCHUH et al., 2012b). Existe pouca informação sobre as formas de As em organismos de água doce, mas as evidências disponíveis sugerem que a AsB e DMA^{V} são as principais espécies presentes (VENTURA-LIMA et al., 2011).

1.2 Metabolismo e toxicidade do arsênio

O arsênio (As) é um dos maiores problemas da saúde animal e humana no mundo inteiro (SHARMA E SOHN, 2009). As formas inorgânicas se encontram em quatro estados de oxidação de acordo com as propriedades físico-químicas da água: arsina (-3; AsH), arsênio (0; As), arsenato (+5; As^{V}) e arsenito (+3; As^{III}) (FLORA, 2015).

O arsenato (As^{V}) é a forma inorgânica que tem maior ocorrência na água, e tem potencial tóxico, porém menor que o do arsenito. A principal toxicidade do As^{V} reside na similaridade estrutural com o fosfato inorgânico, o que causa uma competição nas vias de transportadores de fosfato e é a principal rota de absorção deste metaloide (NÉMETI E GREGUS, 2002).

Este processo diminui a produção de energia (formação de ATP) e causa danos que conduzem à perda das funções celulares e morte celular (HUGHES, 2002).

O arsenito (As^{III}) entra no meio intracelular por aquaporinas, que são proteínas da membrana responsáveis pela troca de solutos através de um gradiente de concentração. Por si só, essa entrada causa problemas na síntese de diversas biomoléculas devido a diminuição na concentração celular de seus constituintes (ROSEN, 2002; MUKHOPADHYAY et al., 2013). O As^{III} também tem grande capacidade de afetar a produção de energia e aumentar a probabilidade de dano celular através da apoptose (FLORA, 2011). No cérebro de ratos expostos a baixas concentrações de arsenito (4 ppm por 60 dias) houve diminuição da atividade das enzimas ubiquinona citocromo c redutase, citocromo oxidase e ATP sintase, além da succinato desidrogenase, corroborando a hipótese de dano à cadeia respiratória e ao ciclo de Krebs, prejudicando a síntese de energia celular (HONG et al., 2009).

Recentemente tem se alertado que as espécies orgânicas intermediárias como o monometilarsenito (MMA^{III}) e dimetilarsenito (DMA^{III}), que passaram pelo processo de biotransformação, são mais tóxicas que as espécies inorgânicas (VENTURA-LIMA et al., 2011). O processo de biotransformação (Figura 1) é, então, considerado o passo inicial para a bioativação do As, onde o As^{V} é transformado em arsenito pela enzima arsenato redutase e depois, em espécies mono-, di- e trimetiladas (RAHMAN E HASSLER, 2014).

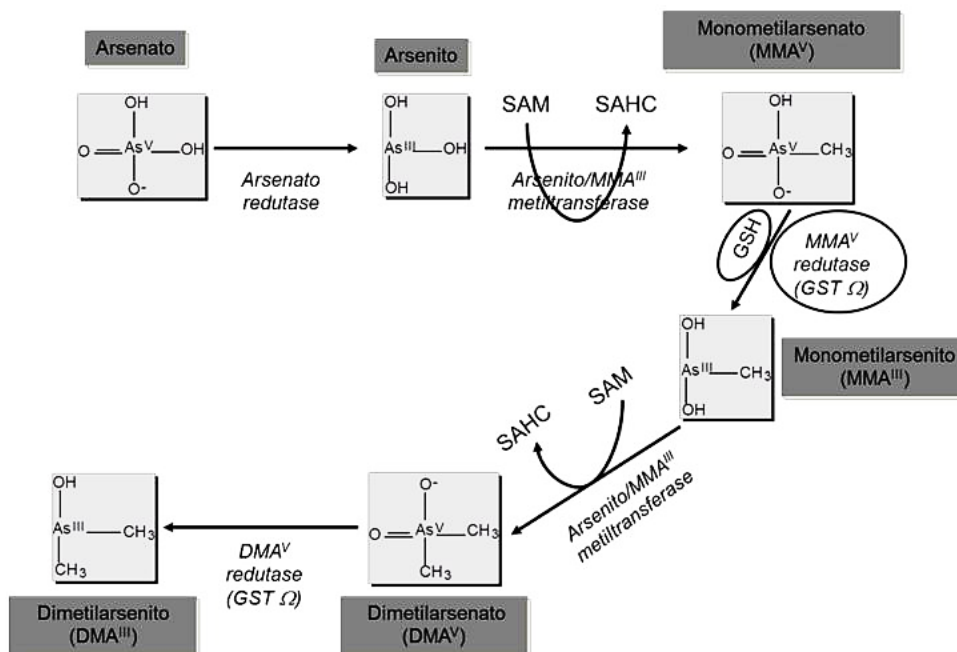


Figura 1: Biotransformação do arsênio em modelos mamíferos. SAM: S-adenosilmetioneína; SAHC: S-adenosilhomocisteína (adaptado de APOSHIAN et al., 2004).

Os peixes são particularmente suscetíveis à toxicidade do arsênio devido à contínua exposição através da respiração (brânquias) e da alimentação (intestino). Considerando o intestino como via de exposição, estes animais têm uma baixa taxa de acumulação através da alimentação. Por exemplo, no fitoplâncton e algas que metilam o arsênio inorgânico a concentração pode ser 10 vezes maior do que em consumidores terciários (CULIOLI ET AL., 2009; RAHMAN et al., 2012). Contudo, os peixes podem absorver altas concentrações de As inorgânico através das brânquias (SHAH et al., 2009). VENTURA-LIMA et al. (2009a) observaram que as espécies MMA^V e DMA^V tiveram grandes taxas de acumulação nas brânquias da carpa comum (*Cyprinus carpio*) exposta a 1000 ppb de As^V por 10 dias. Estes resultados foram corroborados ainda com uma alta atividade da GST Ω , uma enzima chave na detoxificação do As, que foi maior nas brânquias do que no fígado, revelando uma estratégia de contenção da exposição ao arsênio neste órgão.

VENTURA-LIMA et al. (2009b) observaram nas brânquias de peixes um aumento dos níveis de glutathione reduzida (GSH) e na atividade da glutamato cisteína ligase (enzima limitante na produção de GSH), mesmo quando expostos cronicamente a concentrações de As permitidas pela legislação brasileira (10 μ g As/L) no período do experimento. Ainda ocorreu uma diminuição significativa do consumo de oxigênio quando foi testada uma concentração mais elevada (100 μ g As/L), indicando que o aumento das concentrações de As é capaz de alterar a produção de energia e pode levar à morte dos organismos.

Deste modo, pode-se observar que o uso de diversos biomarcadores bioquímicos é importante para determinar os efeitos do As em organismos aquáticos (BUCALOSSI et al., 2006), e quando avaliado em diferentes organismos e diferentes órgãos aumentar a compreensão dos possíveis efeitos dessa contaminação no ecossistema (BOUSKILL et al., 2006).

1.3 Influência do arsênio na geração de estresse oxidativo

O estresse oxidativo tem sido o mecanismo mais estudado sobre a toxicidade do arsênio (ERCAL et al., 2001). A exposição a este metaloide induz a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que tem o potencial de causar danos a lipídeos, proteínas e DNA (figura 2). As EROs, formadas pela redução monoelétrica do oxigênio, incluem o radical ânion superóxido (O₂^{•-}), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) radical hidroxil (OH[•]) e o radical peróxil (ROO[•]) (LEE et al., 2012).

Tem sido observado que o arsênio é capaz de induzir a auto-regulação e fosforilação da NADPH oxidase e da glicolato oxidase. A produção das EROs nas mitocôndrias, ocasionada pela maior atividades destas enzimas, promove a oxidação celular (ZHANG et al., 2011; GUPTA et al., 2012). O As também pode induzir a formação de EROs nas mitocôndrias através da fuga de elétrons nos complexos I e III e no citocromo c da cadeia transportadora mitocondrial (Figura 2). A mitocôndria é a principal maquinaria celular de produção de energia. Devido ao intenso fluxo de elétrons e a presença de oxigênio livre, de 0,1 a 0,4% de todo o oxigênio consumido nas mitocôndrias produz EROs, principalmente o radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (HERMES-LIMA, 2004). Porém, o arsênio forma um complexo com a ubiquinona, causando a liberação de elétrons e liberando-os para a membrana mitocondrial externa pela alteração da permeabilidade dos poros de transição da mitocôndria (FLORA, 2015). O $O_2^{\cdot-}$ produzido, por sua vez, oxida componentes celulares importantes e forma outras espécies reativas como o peróxido de hidrogênio, o radical hidroxila (OH^{\cdot}), o ONOO $^{\cdot}$ radical peroxinitrito. Deste modo, a geração excessiva de EROs é capaz de causar danos graves a biomoléculas e induzir a apoptose celular. (FLORA, 2011; SELVARAJ et al., 2013).

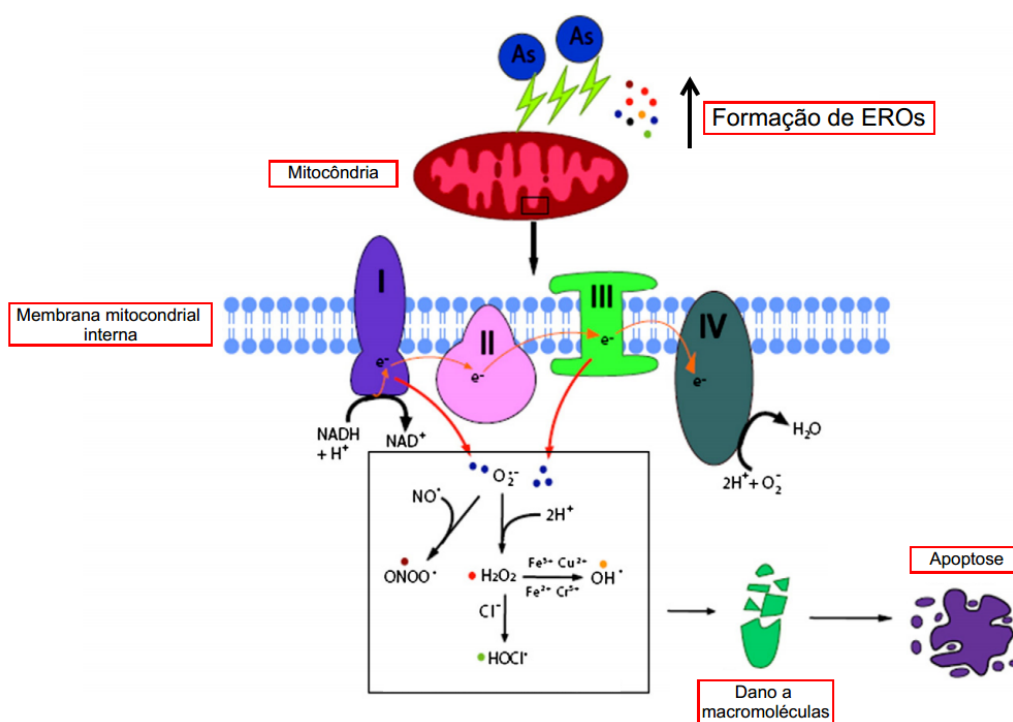


Figura 2: Geração mitocondrial de várias espécies reativas de oxigênio mediadas pelo arsênio induzindo apoptose. NADH: nicotinamida adenosina dinucleotídeo reduzida; NAD⁺: nicotinamida adenosina dinucleotídeo oxidada; H⁺: íon hidrogênio; HOCl[•]: ácido hipocloroso; OH[•]: radical hidroxil; ONOO[•]: radical peroxinitrito; O₂^{•-}: radical ânion superóxido; H₂O₂: peróxido de hidrogênio. Adaptado de FLORA (2011).

A própria oxidação de lipídeos (lipoperoxidação), um subproduto da ação das EROs, é uma reação em cadeia que gera muitas outras moléculas bioativas (EROs, peróxidos e isoprostanos) e aldeídos (malondialdeídos) como produtos finais da oxidação (JOMOVA et al., 2011).

Apesar deste papel negativo, sabe-se que espécies reativas de oxigênio são produzidas em pequenas quantidades para desempenhar uma série de funções biológicas essenciais, como a sinalização celular (TORRE-RUIZ et al., 2012) e a proteção contra bactérias nas membranas celulares de fagócitos (BYLUNDA et al., 2010). Assim, os organismos aeróbicos desenvolveram um complexo sistema de defesa antioxidante para manter o status redox celular estável (HERMES-LIMA, 2004). Como os principais sistemas redox celulares não estão em completo equilíbrio e respondem de forma diferente a compostos tóxicos e estímulos fisiológicos, o estresse oxidativo é definido como uma desorganização do controle e da sinalização redox celular que leva a danos em importantes biomoléculas (JONES, 2006).

As principais defesas contra as EROs incluem antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que atuam de maneira integrada para prevenir as células de danos oxidativos e representam a capacidade antioxidante total dos organismos (LUSHCHAK, 2011). Dentre as enzimas antioxidantes pode-se destacar aquelas que atuam na degradação de EROs, como a catalase. A catalase é responsável pela degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio (NICHOLLS, 2012). Também existem enzimas que atuam na retirada de compostos orgânicos e subprodutos do metabolismo oxidativo (lipídeos peroxidados), como a glutathione S-transferase (GST). A GST constitui uma grande família de enzimas de fase II envolvidas na conjugação de xenobióticos orgânicos com a glutathione reduzida (MONSERRAT et al., 2007).

1.4 Biomonitoramento ambiental

O biomonitoramento pode fornecer informações sobre a qualidade dos ambientes aquáticos, permitindo a compreensão acerca dos efeitos dos poluentes e a identificação de possíveis alterações da estrutura e função das populações residentes (MARKERT e WÜNSCHMANN, 2011).

Os organismos de diferentes espécies podem exibir diversas estratégias de eliminação de poluentes, o que pode influenciar o modo de ação contra esses compostos (BEYER et al., 2013). Assim, a escolha de organismos de diferentes posições tróficas pode ser uma opção eficaz para caracterizar os efeitos do arsênio ao longo da cadeia alimentar (BESSE et al., 2012).

Os peixes são ótimos organismos biomonitores por terem parâmetros fisiológicos similares a outros vertebrados (REISCHL et al., 2007), permitindo, em alguns casos, a extrapolação de resultados (PETER, 2013). *Propimelodus eigenmanni* é uma espécie bentopelágica que vive permanentemente associada a canais profundos de rios com substratos lamosos e detritos e se alimenta de pequenos peixes, invertebrados, frutos e detritos orgânicos (ZUANON E FERREIRA, 2008).

Macrobrachium amazonicum é um crustáceo com grande importância ecológica e social na região Amazônica, pois é uma espécie que faz parte da dieta de diversos peixes e que tem alta aceitação no mercado regional (MACIEL e VALENTI, 2009; BENNEMANN et al., 2011). Embora possa se deslocar livremente na coluna d'água, os indivíduos adultos do camarão regional têm maior contato com sedimentos ricos em matéria orgânica com grande potencial de acúmulo de poluentes (KIMPORA et al., 2011).

Considerando sua ampla distribuição, baixas taxas de migração e grande abundância (LUNDBERG e PARISI, 2002; CAVALCANTE et al., 2012), *P. eigenmannii* e *M. amazonicum* atendem aos principais requisitos para escolha de um organismo biomonitor. Estas duas espécies estão bem adaptadas às flutuações sazonais da precipitação, e a conseqüente influência na descarga do rios do estuário amazônico, bem como à entrada diária da maré nessa região. A manutenção destes fatores através da escolha de locais com

características abióticas semelhantes pode auxiliar na compreensão dos efeitos de poluentes sobre os parâmetros bioquímicos desses animais (MARKET et al., 2003).

2- OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar, do ponto de vista biológico (biomarcadores) e químico (conteúdo de As na água e sedimento), a qualidade ambiental de três locais com distintos históricos de contaminação por arsênio no estuário amazônico, utilizando como organismos biomonitores espécies de diferentes posições tróficas.

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Analisar os biomarcadores de exposição glutathione S-transferase (GST) e a capacidade antioxidante contra radicais peróxido (ACAP) no fígado, músculo e nas brânquias de *Propimelodus eigenmanni* e nas brânquias e músculo de *Macrobrachium amazonicum* coletados no Rio Amazonas (Santana/AP), Rio Mazagão (Mazagão/AP) e Rio Campupema (Abaetetuba/PA) ao longo de um ano, com coletas trimestrais, contemplando por duas vezes no período chuvoso e duas vezes no de estiagem.
- ❖ Analisar o biomarcador de efeito lipoperoxidação no fígado, músculo e nas brânquias de *Propimelodus eigenmanni* e brânquias e músculo de *Macrobrachium amazonicum* coletados no Rio Amazonas (Santana/AP), Rio Mazagão (Mazagão/AP) e Rio Campupema (Abaetetuba/PA) ao longo de um ano, com coletas trimestrais, contemplando por duas vezes os períodos chuvoso e de estiagem.
- ❖ Determinar o conteúdo de arsênio total e das espécies inorgânicas arsenato e arsenito presente na água dos três locais amostrados ao longo de um ano, com coletas trimestrais, contemplando por duas vezes os períodos chuvoso e de estiagem.
- ❖ Determinar o conteúdo de arsênio total nos sedimentos dos três rios amostrados em uma coleta do período chuvoso.
- ❖ Verificar se há relação entre os resultados dos biomarcadores bioquímicos analisados em cada uma das espécies biomonitoras com as concentrações de As em suas diferentes espécies químicas na água e sedimentos de cada um dos pontos coletados.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

Este trabalho foi realizado na Foz do Rio Amazonas (P1), em uma localidade dentro do município de Santana, Estado do Amapá, chamada Vila de Elesbão ($00^{\circ} 03' 13,3''$ S $051^{\circ} 11' 26,7''$ W), sendo este local tomado como o com maior histórico de contaminação por arsênio, pela proximidade com a indústria de beneficiamento de manganês; na região da comunidade de Mazagão Velho, município de Mazagão, Estado do Amapá, (P2) – Rio Beija-Flor ($00^{\circ} 007' 23,8''$ S $051^{\circ} 16' 53,4''$ W), que representa um gradiente de contaminação e está localizado a cerca de 15 Km do ponto acima mencionado; e por último na região da cidade de Abaetetuba – Rio Campumpema (P3) ($01^{\circ} 44' 09,1''$ S $048^{\circ} 53' 46,3''$ W), localizado no estado do Pará, e tomado como um ponto referência externo por não apresentar histórico conhecido de contaminação por arsênio.

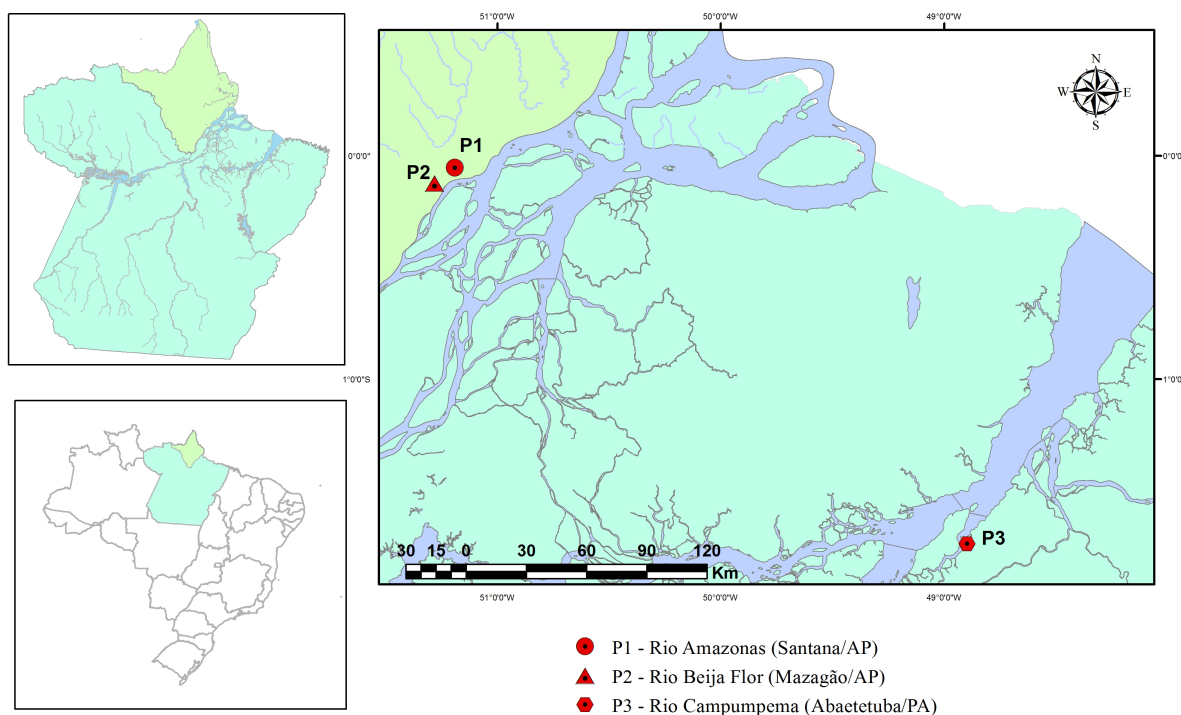


Figura 3: Localização dos pontos de coleta no rio Amazonas ($00^{\circ} 03' 13,3''$ S $051^{\circ} 11' 26,7''$ W, P1) - Santana/AP, rio Beija-Flor ($00^{\circ} 007' 23,8''$ S $051^{\circ} 16' 53,4''$ W, P2) - Mazagão/AP, e rio Campumpema ($01^{\circ} 44' 09,1''$ S $048^{\circ} 53' 46,3''$ W, P3) - Abaetetuba/PA.

Todos os locais de estudo, pertencentes ao estuário amazônico, apresentam características abióticas semelhantes, sendo influenciados diariamente pela entrada e saída da maré semi-diurna (NITTROUER E DEMASTER, 1996). Existem duas estações climáticas bem definidas, uma mais chuvosa que se dá de dezembro até maio, e uma estação menos chuvosa que se dá no período de junho até novembro (MORAES et al., 2005; AMANAJÁS et al., 2010). A elevada umidade favorece a formação de nuvens de convecção e a influência de fenômenos de meso e grande escala (como a Zona de Convergência Intertropical) alteram os regimes pluviométricos (COHEN, 1995).

3.2 Coleta dos organismos, água e sedimento

As coletas de água e organismos foram realizadas duas vezes em cada estação pluviométrica no período de Abril de 2013 a Março de 2014; Sendo divididas em: Abril de 2013 (período chuvoso 1); Agosto de 2013 (período estiagem 1), Novembro de 2013 (período estiagem 2) e Março de 2014 (período chuvoso 2). Por questões logísticas e financeiras, a coleta de sedimento para dosagem de As total foi realizada somente no período chuvoso 2.

Para diminuir o estresse de captura, os espécimes de mandí-branco (*Propimelodus eigenmanni*) foram coletados com o auxílio de anzol. Já os camarões (*Macrobrachium amazonicum*) foram coletados com o auxílio de matapi, que garante a diminuição do estresse de captura devido ao refúgio e alimentação disponíveis. Ambos os organismos foram imediatamente crioanestesiados para transporte até o laboratório. Foi realizada a biometria dos animais, sendo retirado comprimento padrão e peso dos peixes e comprimento do cefalotórax e o peso dos camarões. Foram dissecados o fígado, brânquias e músculo dos peixes e as brânquias e músculo dos camarões para realização das análises bioquímicas. Os tecidos foram acondicionados em microtubos e armazenados em ultrafreezer à -80 °C até o momento de análise.

A coleta de água foi realizada subsuperficialmente com tubos de polipropileno estéreis, a cerca de 10 cm de profundidade, sendo retiradas 5 amostras de cada local com duas réplicas cada. Para cada amostra, uma réplica teve o pH foi ajustado para determinação de arsenito (pH 2) e outra para determinação de arsênio total (pH 8).

As coletas de sedimento foram realizadas nas margens dos rios com o auxílio de uma draga de Petersen, sendo utilizada apenas a fração mais interna obtida pelo amostrador para evitar contaminação. Em seguida, os sedimentos foram secados em temperatura ambiente.

As amostras de água (sob refrigeração) e sedimento (após secagem) foram encaminhadas para análise na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Em cada ponto de amostragem também foram medidas a temperatura da água, a condutividade e a concentração de oxigênio dissolvido no mesmo momento de coleta da água, mas não foi possível realizar a medição de pH devido à problemas logísticos.

3.3 Preparação dos órgãos para análise e determinação de proteínas totais

As amostras dos distintos órgãos das duas espécies foram homogeneizadas em tampão contendo Tris-HCl (100 mM), EDTA (2 mM) e $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ (5 mM), com pH ajustado para 7,75, em diluição específica para cada tecido conforme protocolo padronizado para as espécies em estudo. Sempre que necessário, para que fosse atingido o peso mínimo para as dosagens bioquímicas, os órgãos de 2 ou mais camarões coletados foram agrupados compondo-se “*pools*” para as análises. Os homogeneizados foram centrifugados a 20.000xg por 20 min (4° C). Os sobrenadantes foram utilizados para dosagem da atividade da glutationa S-transferase e determinação da capacidade antioxidante total.

A atividade da glutationa S-transferase foi relativizada pela quantidade total de proteínas presentes nos extratos obtidos. Esta quantificação de proteínas totais (550 nm) foi realizada com um kit comercial baseado no método de Biureto (Doles Reagentes Ltda., MG/Brasil), utilizando uma leitora de microplacas multimodal (modelo Victor X3, Perkin Elmer, USA).

3.4 Atividade da glutationa-S-transferase (GST)

A dosagem da GST foi baseada nos trabalhos de HABIG (1974) e HABIG e JAKOBY (1981). Basicamente, a metodologia consiste em avaliar a conjugação de 1 mM de GSH (Sigma) com 1 mM do xenobiótico sintético 1-cloro-2,4 dinitrobenzeno (CDNB, Sigma), processo catalisado pela GST. Os ensaios foram realizados no comprimento de onda de 340 nm em leitora de microplacas multimodal (modelo Victor X3, Perkin Elmer, USA). 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 μ mol de CDNB/min/mg de proteína, à 25

°C e pH 7. O coeficiente de extinção molar (ϵ) utilizado para a formação do conjugado CDNB-GSH foi $9,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

3.5 Determinação da capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total foi determinada conforme AMADO et al. (2009). Este ensaio é baseado na capacidade total da amostra (enzimática e não enzimática) de capturar os radicais peroxil. Os radicais peroxil foram produzidos por termólise (37°C) do reagente 2'2'-azobis-2-metilpropilamida dihidroclorato (ABAP, 4mM; Sigma-Aldrich). As leituras do ensaio foram realizadas em leitora de microplaca multimodal (modelo Victor X3, Perkin Elmer, USA) nos comprimentos de onda de 485 nm para excitação e 535 nm para emissão). A geração de fluorescência total foi calculada pela integração da unidade de fluorescência (UF) durante o período de 30 minutos após ajustar os dados da UF para uma função obtida de uma reta polinomial de segunda ordem. A diferença relativa entre as áreas sob a reta de uma amostra com e sem ABAP foi considerada como medida da capacidade antioxidante total. Os resultados da capacidade antioxidante total são expressos como o inverso da área relativa.

3.6 Determinação da lipoperoxidação (LPO)

O conteúdo de lipídeos peroxidados foi determinado segundo o método FOX adaptado por MONSERRAT et al. (2003). Este ensaio é baseado na oxidação do Fe II por hidroperóxidos lipídicos da amostra, em pH ácido. O ferro oxidado forma, então, um complexo na presença do corante laranja de xilenol (Fe III-complexante).

Os tecidos foram homogeneizados em metanol 100% (resfriado), centrifugados (1000xg, 4°C , 10 min) e o sobrenadante foi utilizado para determinação da lipoperoxidação. As leituras do ensaio foram realizadas em leitora de microplaca multimodal (Victor X3, Perkin Elmer). O aumento na absorbância causado pela formação do conjugado Fe^{3+} -laranja de xilenol foi registrado a 550 nm após o tempo de incubação específico para cada extrato de tecido (determinado por padronizações prévias). Os resultados foram comparados ao hidroperóxido de cumeno (CHP), um hidroperóxido lipídico adicionado em concentração conhecida, e expressos em nmol CHP/g tecido úmido.

3.7 Determinação do arsênio e sua especiação nas amostras de água e As total no sedimento

A determinação de arsênio total e suas espécies químicas inorgânicas (arsenito e arsenato) na água foi baseada 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). Na geração de hidretos foi utilizada com taxa de fluxo de 1 mL/min para o redutor e taxa de fluxo da amostra de 8 mL/min, tendo o tetraborato de sódio como agente redutor das amostras (1% em 0,1 mol/L de NaOH). O arsênio total em solução foi determinado pela alteração do tampão citrato em 6.0 mol/L de HCl nas amostras com pH ajustado para 8. 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 amostras de sedimentos foram peneiradas para separação da fração inferior a 63 μm , que foi utilizada na determinação de As total. As amostras foram tratadas pelo método de digestão total (HNO_3), pré-reduzidas (KI) e a detecção foi realizada em espectrômetro de absorção atômica com geração de hidretos com um sistema VGA 77. As curvas analíticas para ambas as matrizes foram obtidas com padrões contendo entre 5-1000 $\mu\text{g/L}$ de arsênio.

3.8 Precipitação

Os dados de precipitação foram obtidos das estações meteorológicas automáticas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) nas cidades de Belém e Macapá, as mais próximas das três áreas de estudo.

3.9 Análise Estatística

Os dados bióticos e abióticos foram testados quanto a sua normalidade (teste de Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (teste de Levene), e quando algum destes parâmetros não foi obtido, foram matematicamente transformados ($\log x + 1$) (ZAR, 1999). Após esta etapa, foram analisados através do teste de ANOVA para amostras independentes comparando as variações dos parâmetros entres os locais em uma estação e a variação de cada local ao longo das quatro coletas. Os dados foram submetidos ao teste post hoc de Tukey para identificar onde residiam as diferenças, quando existentes. Adotou-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$) em todos os casos (ZAR, 1999).

4- RESULTADOS

4.1 Precipitação

Os valores de precipitação observados nas cidades de Belém e Macapá (figura 4) em Abril/2013 (período chuvoso 1) foram de 527 mm e 516,5 mm, respectivamente). Em agosto/2013 (período de Estiagem 1), a precipitação já apresentava uma redução ($p < 0,05$), sendo registrado valores de 245,5 mm em Belém e 159,3 mm em Macapá.

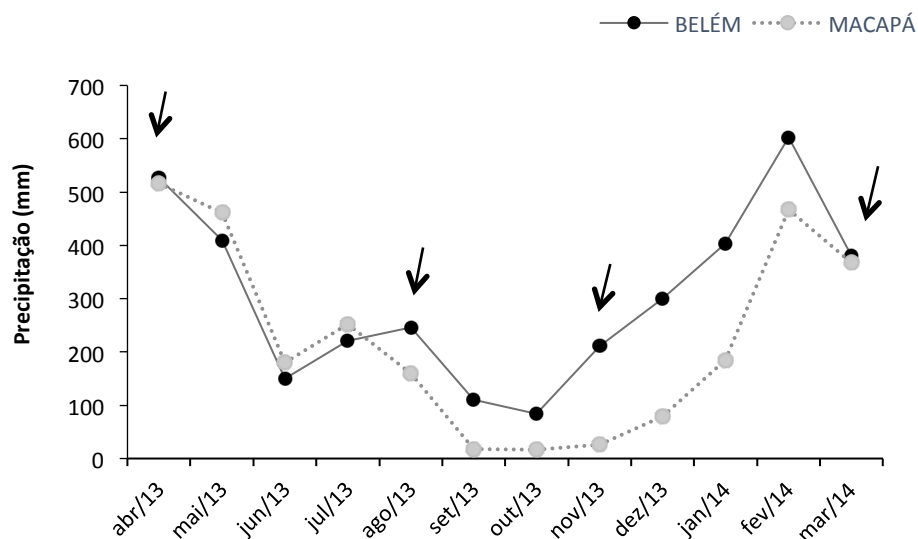


Figura 4: Chuva acumulada mensal de abril de 2013 a março de 2014 nas cidades de Macapá/AP e Belém/PA. Em destaque (seta) os meses de Abril/2013 (Chuvoso 1), Agosto/2013 (Estiagem 1), Novembro/2013 (Estiagem 2) e Março/2014 (Chuvoso 2) em que ocorreram as campanhas. Fonte: INMET, 2014.

Em novembro de 2013 (período de Estiagem 2), a precipitação em Macapá (26,3 mm) esteve mais reduzida em relação à agosto/2013 e em Belém (210,7 mm) continuou menor em relação ao período chuvoso ($p < 0,05$). Em Março/2014 (período chuvoso 2), os níveis de precipitação foram maiores nos dois locais ($p < 0,05$) em relação ao período menos chuvoso, sendo registrados os valores de 380 mm em Belém e 367 mm em Macapá.

4.2 Parâmetros físico-químicos

Os valores de temperatura, condutividade, concentração de oxigênio dissolvido registrados no momento das coletas são apresentados na tabela 1. A condutividade no Rio Amazonas variou entre 32 e 62,5 μS nos períodos amostrados. No Rio Beija-Flor a condutividade oscilou entre 29,1 e 38,7 μS . Enquanto que no Rio Campumpema este parâmetro variou entre 32,5 e 44,7 μS . A temperatura no Rio Amazonas variou entre 28,4 e 30,3 $^{\circ}\text{C}$ nos períodos em que foram registradas estas variáveis. No Rio Beija-Flor a temperatura oscilou entre 27,3 e 30,6 $^{\circ}\text{C}$, enquanto que no Rio Campumpema este parâmetro variou entre 27,7 e 30 $^{\circ}\text{C}$. A concentração de oxigênio dissolvido no Rio Amazonas variou entre 0,43 e 4,6 $^{\circ}\text{C}$ nos períodos com registro destas informações. No Rio Beija-Flor a concentração de oxigênio dissolvido oscilou entre 0,5 e 3,35 $^{\circ}\text{C}$ mg/L, enquanto que no Rio Campumpema este parâmetro variou entre 0,48 e 6,32 mg/L nos períodos amostrados.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos na água de três rios do estuário amazônico coletados em diferentes períodos pluviométricos. Cond.: Condutividade (μS); Temp.: Temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$); O₂: Concentração de oxigênio dissolvido (mg/L).

Período	Rio Campumpema			Rio Beija-Flor			Rio Amazonas		
	Cond.	Temp.	O ₂	Cond.	Temp.	O ₂	Cond.	Temp.	O ₂
Chuvoso 1	32,5	27,7	0,48	38,7	27,7	0,50	40,4	28,8	0,43
Estiagem 1	44,7	29,7	0,56	25,9	29,8	0,67	35,6	30,3	1,00
Estiagem 2	40,3	30,0	6,32	21,1	30,6	0,79	62,5	30,0	0,85
Chuvoso 2	40,0	29,0	5,80	29,1	27,3	3,35	32,5	28,4	4,60

4.3 Concentração de arsênio total e sua especiação nas amostras de água

As concentrações de arsênio total obtidas nos rios Amazonas (ambiente contaminado), Beija-Flor (ambiente intermediário) e Campumpema (ambiente referência) são apresentadas na tabela 2. Não foram detectadas concentrações de arsenito em nenhum dos ambientes durante o período de estudo. Deste modo, as concentrações de arsênio total apresentadas são formadas apenas pela concentração de arsenato, a espécie química predominante nas amostras.

Tabela 2: Concentração de arsênio total ($\mu\text{g As/L}$) na água de três rios do estuário amazônico coletados em diferentes períodos pluviométricos. Os dados são apresentados como a média \pm erro padrão, os valores mínimos e máximos ($n=5$).

Período	Rio Campumpema			Rio Beija-Flor			Rio Amazonas		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Chuvoso 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Estiagem 1	$0,3 \pm 0,15^{Aa}$	0,19	0,49	$0,9 \pm 0,05^{Ab}$	0,80	1,03	$1,3 \pm 0,03^{Ab}$	1,23	1,32
Estiagem 2	$0,7 \pm 0,04^{Aa}$	0,62	0,81	$2,0 \pm 0,08^{Bb}$	1,80	2,15	$1,2 \pm 0,06^{Ac}$	1,11	1,39
Chuvoso 2	$1,2 \pm 0,08^{Ba}$	1,00	1,5	$1,7 \pm 0,08^{Cb}$	1,38	1,85	$1,5 \pm 0,08^{Aab}$	1,27	1,7

ND: não detectado (inferior a $0,005 \mu\text{g As/L}$); Letras minúsculas diferentes: diferenças ($p < 0,05$) entre os locais no mesmo período (variação espacial); Letras maiúsculas diferentes: diferenças ($p < 0,05$) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados (variação temporal).

Ao contrário do esperado, os níveis de arsênio na água dos três rios estiveram abaixo do limite de detecção do método ($< 0,005 \mu\text{g/L}$) no período chuvoso 1 (Abril/2013).

No período de Estiagem 1 (agosto/2013), foram registrados maiores valores médios ($p < 0,001$) de arsênio total no rio Amazonas (ambiente contaminado; $1,3 \pm 0,03 \mu\text{g As/L}$) e no Rio Beija-Flor (ambiente intermediário; $0,9 \pm 0,05 \mu\text{g As/L}$) do que no Rio Campumpema (ambiente referência; $0,3 \pm 0,15 \mu\text{g As/L}$). No ambiente contaminado a concentração de As na água apresentou uma variação de 1,23 a $1,32 \mu\text{g As/L}$. No ambiente intermediário a concentração oscilou entre 0,8 e $1,3 \mu\text{g As/L}$. Enquanto que nas águas do ambiente referência houve uma variação de 0,19 a $0,49 \mu\text{g As/L}$ durante o período de Estiagem 1.

No período de Estiagem 2 (novembro/2013), as concentrações de As aumentaram significativamente ($p < 0,0001$) no Rio Beija-Flor ($2 \pm 0,08 \mu\text{g As/L}$) em relação ao período pluviométrico anterior, e foram maiores ($p < 0,0001$) do que no Rio Amazonas ($1,2 \pm 0,06 \mu\text{g As/L}$). As concentrações no ambiente referência continuaram reduzidas ($p < 0,001$) em relação aos ambientes contaminados, com valor médio de $0,7 \pm 0,04 \mu\text{g As/L}$. No ambiente contaminado a concentração de As na água apresentou uma variação de 1,11 a $1,39 \mu\text{g As/L}$. No ambiente intermediário a concentração de As oscilou entre 1,8 e $2,15 \mu\text{g As/L}$. Enquanto que nas águas do ambiente referência houve uma variação de 0,62 a $0,81 \mu\text{g As/L}$ durante o período de Estiagem 2.

No período chuvoso 2 as concentrações de As diminuíram ($p < 0,01$) no Rio Beija-Flor ($1,7 \pm 0,08 \mu\text{g As/L}$) em relação ao período de Estiagem 2, mas ainda foram maiores ($p < 0,0001$) do que as obtidas nos períodos chuvoso 1 e de Estiagem 1. Já no Rio Campumpema (ambiente referência) foi observado um aumento ($p < 0,0003$) da concentração de As total para $1,2 \pm 0,08 \mu\text{g As/L}$, sendo maior em relação aos três períodos anteriores. Esta concentração observada no ambiente referência continuou menor ($p < 0,005$) do que a observada nas águas do ambiente intermediário, mas foi semelhante ($p > 0,6$) à do ambiente contaminado ($1,5 \pm 0,08 \mu\text{g As/L}$). No ambiente contaminado a concentração de As na água apresentou uma variação de 1,27 a $1,7 \mu\text{g As/L}$. No ambiente intermediário a concentração de As oscilou entre 1,38 e $1,85 \mu\text{g As/L}$. Enquanto que nas águas do ambiente referência houve uma variação de 1,0 a $1,5 \mu\text{g As/L}$ durante o período chuvoso 2.

4.4 Concentração de arsênio total nos sedimentos

A concentração de arsênio total nos sedimentos foi analisada apenas no período chuvoso 2, e é apresentada na tabela 3. Este metaloide teve uma distribuição semelhante ($p > 0,1$) no sedimento dos três rios durante este período. No ambiente com maior histórico de contaminação a concentração de As no sedimento apresentou uma variação de 2,1 a $5,4 \text{ mg As/Kg}$, com média de $3,5 \pm 0,4 \text{ mg As/Kg}$. No ambiente intermediário a concentração de As oscilou entre 1,76 e $5,8 \text{ mg As/Kg}$, apresentando valor médio de $3,5 \pm 0,2$. Enquanto que no sedimento do ambiente referência houve uma variação de 1,6 a $3,4 \text{ mg As/Kg}$, com valor médio de $2,5 \pm 0,2 \text{ mg As/Kg}$.

Tabela 3: Concentração de arsênio total (mg As/Kg) no sedimento de três rios do estuário amazônico amostrados em março/2014 (período Chuvoso 2). Os dados são apresentados como a média \pm erro padrão, os valores mínimos e máximos ($n=10$).

Período	Rio Campumpema			Rio Beija-Flor			Rio Amazonas		
	Média	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.
Chuvoso 2	$2,5 \pm 0,2^a$	1,6	3,4	$3,5 \pm 0,2^a$	1,76	5,8	$3,5 \pm 0,4^a$	2,1	5,4

Letras minúsculas semelhantes: semelhanças ($p < 0,05$) na concentração de arsênio total entre os locais no mesmo período (variação espacial).

4.5 Biometria

No período chuvoso 1, os peixes do Rio Campumpema tiveram maior ($p < 0,05$) peso total (PT) e comprimento padrão (CP) médio em relação aos animais dos outros dois ambientes (Tabela 4). Nos períodos de Estiagem 1 e Estiagem 2 não houve variações ($p > 0,05$) no CP dos peixes dos três rios, mas o PT dos animais do Rio Campumpema ($p < 0,05$) foi maior do que o observado nos peixes do Rio Beija-Flor e Amazonas. O PT dos peixes do Rio Amazonas também foi menor ($p < 0,05$) do que o observado nos animais do Rio Beija-Flor durante os períodos de Estiagem 1 e 2. No período chuvoso 2 não houve diferenças ($p > 0,05$) no PT e CP dos peixes dos três rios. Não houve variação de PT e CP ($p > 0,05$) nos peixes dos três rios ao longo dos períodos de coleta.

Tabela 4: Valores médios de peso total (PT, em gramas) e comprimento padrão (CP, em centímetros) dos peixes da espécie *Propimelodus eigenmanni* amostrados no estuário amazônico em quatro períodos. Os dados são expressos como a média \pm erro padrão (n=12-41).

Período	Rio Campumpema		Rio Beija-Flor		Rio Amazonas	
	PT	CP	PT	CP	PT	CP
Chuvoso 1	36,8 \pm 4,1 ^{Aa}	14,9 \pm 0,6 ^{Aa}	23,2 \pm 1,3 ^{Ab}	13,8 \pm 0,2 ^{Aa}	15 \pm 1,1 ^{Ab}	10,9 \pm 0,5 ^{Aa}
Estiagem 1	38,8 \pm 3,5 ^{Aa}	15 \pm 1,2 ^{Aa}	25 \pm 0,8 ^{Ab}	14 \pm 0,4 ^{Aa}	14 \pm 0,7 ^{Ac}	11 \pm 0,5 ^{Aa}
Estiagem 2	27 \pm 1,8 ^{Aa}	13,8 \pm 0,41 ^{Aa}	17,9 \pm 1,3 ^{Ab}	11,9 \pm 0,3 ^{Aa}	15,9 \pm 0,9 ^{Ac}	11 \pm 0,3 ^{Aa}
Chuvoso 2	24 \pm 2,9 ^{Aa}	13,5 \pm 0,6 ^{Aa}	18,4 \pm 1,8 ^{Aa}	12,3 \pm 0,3 ^{Aa}	14,9 \pm 2 ^{Aa}	11,3 \pm 0,4 ^{Aa}

Letras minúsculas diferentes: diferenças ($p < 0,05$) entre os locais no mesmo período (variação espacial); Letras maiúsculas diferentes: diferenças ($p < 0,05$) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados (variação temporal).

No período chuvoso 1, os camarões do Rio Amazonas apresentaram CT e PT médio mais elevado ($p < 0,05$) que os indivíduos coletados nos Rios Campumpema e Mazagão (Tabela 5). No período de estiagem 1 e 2, os camarões do Rio Beija-Flor apresentaram maior PT e CT ($p < 0,05$) do que os coletados no Rio Campumpema. Os camarões do Rio Amazonas também apresentaram maior CT ($p < 0,05$) no período de Estiagem 1 e maior ($p < 0,05$) PT e CT no período de Estiagem 2 comparado ao observado nos animais do Rio Campumpema. No período chuvoso 2, não houve diferenças ($p > 0,05$) no PT e CT dos camarões dos três rios. Os valores de PT e CT do Rio Campumpema nos dois períodos de estiagem foram menores ($p > 0,05$) do que os observados nos dois períodos chuvosos. Os valores de CT e CP dos camarões do Rio Beija-Flor no período de Estiagem 1 foram maiores ($p > 0,05$) do que os observados nos outros três períodos. Os valores de PT dos camarões do Rio Amazonas

nos períodos de Estiagem 1 e Chuvoso 1 foram menores ($p > 0,05$) do que os observados nos dois períodos anteriores. Os dados são expressos como a média \pm erro padrão.

Tabela 5: Valores médios de peso total (PT, em gramas) e comprimento total (CT, em centímetros) do camarão *Macrobrachium amazonicum* amostrado em três rios do estuário amazônico em quatro períodos. Os dados são expressos como a média \pm erro padrão (n=53-101).

Período	Rio Campumpema		Rio Beija-Flor		Rio Amazonas	
	PT	CT	PT	CT	PT	CT
Chuvoso 1	3,6 \pm 0,09 ^{Aa}	7,6 \pm 0,07 ^{Aa}	4,9 \pm 0,3 ^{Aa}	8,4 \pm 0,2 ^{Aa}	7,3 \pm 0,4 ^{Ab}	9,5 \pm 0,3 ^{Ab}
Estiagem 1	1,7 \pm 0,03 ^{Ba}	6,3 \pm 0,9 ^{Ba}	4,5 \pm 0,2 ^{Ab}	8,4 \pm 0,1 ^{Ab}	8,2 \pm 0,2 ^{Aa}	8,4 \pm 0,1 ^{Ab}
Estiagem 2	1,9 \pm 0,1 ^{Ba}	6,02 \pm 0,1 ^{Ba}	6,6 \pm 0,1 ^{Bb}	20,6 \pm 0,2 ^{Bb}	4,2 \pm 0,1 ^{Bc}	17,9 \pm 0,2 ^{Bc}
Chuvoso 2	2,8 \pm 0,3 ^{Aa}	7,2 \pm 0,6 ^{Aa}	3,6 \pm 0,4 ^{Aa}	7,8 \pm 0,4 ^{Aa}	3,4 \pm 0,5 ^{Ba}	8,1 \pm 0,09 ^{Aa}

Letras minúsculas diferentes: diferenças ($p < 0,05$) entre os locais no mesmo período (variação espacial); Letras maiúsculas diferentes: diferenças ($p < 0,05$) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados (variação temporal).

4.6 Biomarcadores

4.6.1 *Propimelodus eigenmanni*

4.6.1.1 Fígado

A atividade da glutathione S-transferase (GST) no fígado de *Propimelodus eigenmanni* (Figura 5A) foi semelhante ($p > 0,9$) nos animais dos rios Amazonas (N=8), Beija-Flor (N=8) e Campumpema (N=8) durante o período chuvoso 1. Os peixes dos três rios também não apresentaram diferenças na capacidade antioxidante total (N=7-8; $p > 0,9$; figura 5C) e na lipoperoxidação (N=5-8; $p > 0,8$; figura 5B) do fígado durante este período.

No período de Estiagem 1, a atividade da GST (figura 5A) no fígado dos animais do Rio Beija-Flor (N=8) apresentou um aumento significativo em relação ao período anterior ($p < 0,0001$) e em relação aos Rios Amazonas (N=8; $p < 0,0001$) e Campumpema (N=8; $p < 0,0001$). Este incremento da atividade da GST não foi observado nos animais do Rio Amazonas e Campumpema. A capacidade antioxidante total no fígado dos peixes dos três rios (N=8; figura 5B) foi semelhante ao período anterior e não houve diferenças para este biomarcador entre os peixes dos três rios durante este período. A lipoperoxidação (Figura 5C) nos animais do rio Amazonas (N=5) foi maior ($p < 0,03$) do que nos peixes do Rio Beija-Flor (N=8; ambiente intermediário) e do Rio Campumpema (N=6).

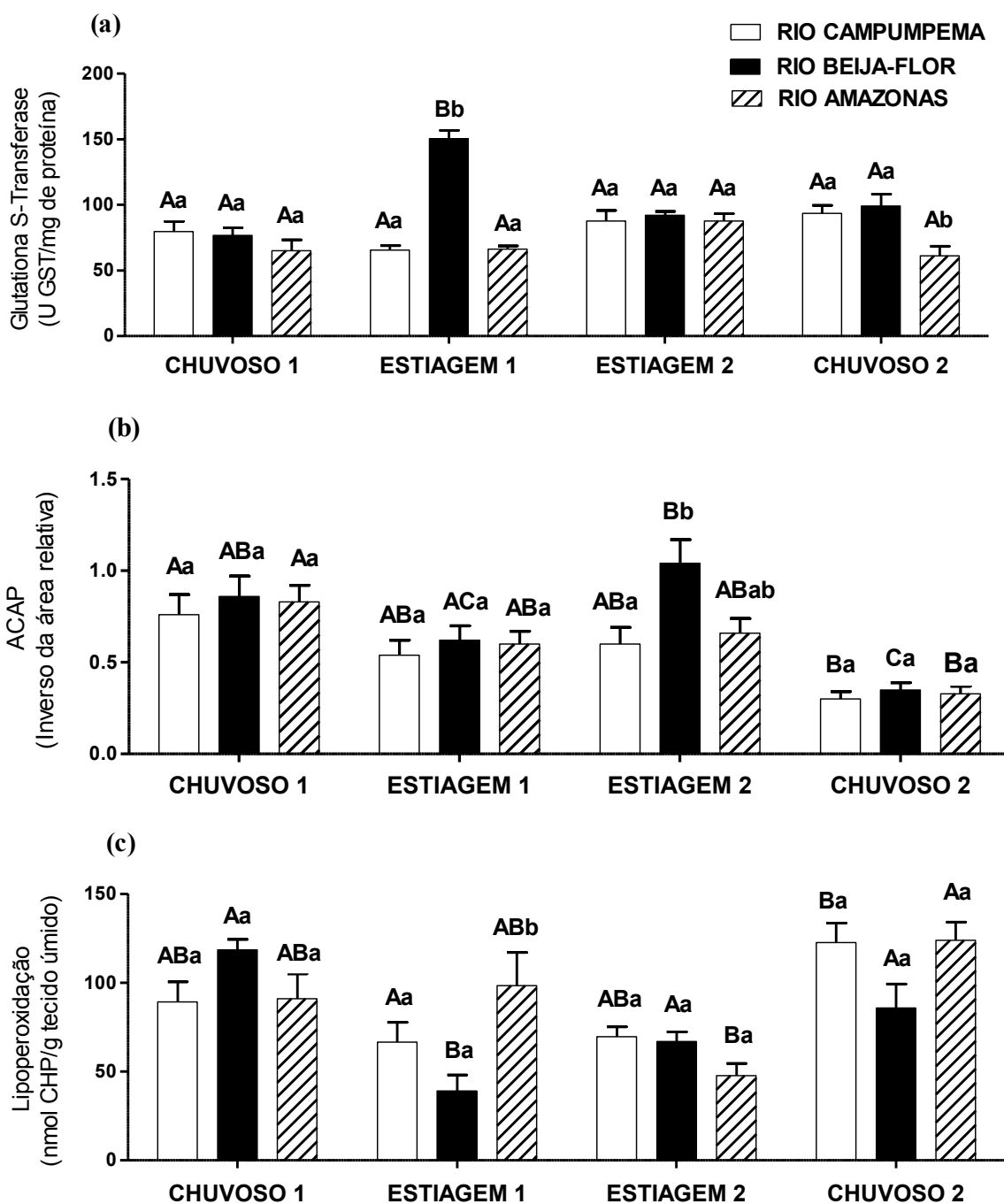


Figura 5: Biomarcadores no fígado de *P. eigenmanni* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. A: Atividade da enzima Glutathione S-transferase; B: conteúdo de lipídeos peroxidados; C: Capacidade antioxidante total. As 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 \pm erro padrão ($n=5-8$).

No período de Estiagem 2, a atividade da GST (figura 5A) nos animais do Rio Beija-Flor reduziu ($N=8$; $p < 0,0001$) até os níveis observados no período chuvoso 1, e não houve diferenças em relação aos animais dos Rios Amazonas ($N=8$; $p > 0,2$) e Campumpema ($N=8$; $p > 0,9$). Neste período, a capacidade antioxidante total (figura 5B) dos animais do Rio Beija-Flor ($N=8$; apresentou um incremento em relação à coleta anterior ($p < 0,03$) e aos animais do ambiente referência ($N=8$; $p < 0,02$). Não houve diferenças ($p > 0,8$) na lipoperoxidação no fígado dos peixes (figura 5C) em nenhum dos locais durante o período de Estiagem 2 (Rio Amazonas: $N=8$; Rio Beija-Flor: $N=7$; Rio Campumpema: $N=5$).

No período chuvoso 2 houve uma menor atividade da GST (figura 5A) no fígado dos animais do Rio Amazonas ($N=8$) em relação aos do Rio Beija-Flor ($N=8$; $p < 0,002$) e do Rio Campumpema ($N=8$; $p < 0,02$). A capacidade antioxidante total (figura 5B) dos peixes dos três rios reduziu significativamente ($p < 0,003$) em relação ao período chuvoso 1 (Rio Amazonas: $N=8$; Rio Beija-Flor: $N=8$; Rio Campumpema: $N=7$), e os animais do rio Beija-Flor também tiveram menor ($p < 0,001$) competência antioxidante em relação ao período de Estiagem 2 (coleta anterior). Não houve diferenças ($p > 0,3$) na lipoperoxidação no fígado dos peixes (figura 5C) em nenhum dos locais durante o período chuvoso 2 (Rio Amazonas: $N=8$; Rio Beija-Flor: $N=8$; Rio Campumpema: $N=8$). Os animais do rio Beija-Flor apresentaram maiores níveis ($p < 0,03$) de lipoperoxidação em relação ao período de Estiagem 1. Enquanto que os peixes do Rio Amazonas apresentaram maiores níveis de lipoperoxidação ($p < 0,0002$) em relação ao período de Estiagem 2.

4.6.1.2 Brânquias

A atividade da glutathione S-transferase (GST; figura 6A) e a capacidade antioxidante total (figura 6B) nas brânquias dos espécimes de *Propimelodus eigenmanni* coletados dos rios Amazonas ($N=8$), Beija-Flor ($N=8$) e Campumpema ($N=8$) foram semelhantes ($p > 0,9$) durante o período chuvoso 1. Também não foram observadas diferenças ($p > 0,5$) na lipoperoxidação (figura 6C) entre os animais dos três rios em estudo durante esse período (Rio Amazonas: $N=8$; Rio Beija-Flor: $N=8$; Rio Campumpema: $N=8$).

No período de Estiagem 1 (Agosto/13) houve um incremento significativo na atividade da GST (figura 6A) dos peixes amostrados nos Rios Campumpema ($N=8$; $p < 0,004$) e Beija-Flor ($N=7$; $p < 0,03$) em relação à coleta anterior. Apesar da capacidade antioxidante total não apresentar diferenças ($p > 0,9$) em relação ao período anterior (figura 6B; Rio Amazonas: $N=8$; Rio Beija-Flor: $N=8$; Rio Campumpema: $N=8$), os animais dos três rios

apresentaram menores ($p < 0,001$) níveis de lipoperoxidação (figura 6C; Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N=7; Rio Campumpema: N=8).

No período de Estiagem 2 a atividade da GST (figura 6A) nos peixes dos rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=8) apresentou outro aumento ($p < 0,0001$) em relação aos períodos anteriores (chuvoso 1 e de Estiagem 1). Os animais do Rio Amazonas também apresentaram um aumento (N=8; $p < 0,01$) na atividade da GST em relação ao período de Estiagem 1. Neste período, a capacidade antioxidante total (figura 6B) dos peixes dos três rios foi semelhante em relação às coletas anteriores ($p > 0,9$) e entre os animais dos três locais (Rio Amazonas: N=6; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=7; $p > 0,9$). Já a lipoperoxidação (figura 6C) nas brânquias dos peixes dos três rios apresentou um incremento significativo ($p < 0,001$) em relação aos menores valores observados em cada local no período de Estiagem 1 (Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=8).

No período chuvoso 2, a atividade da GST (figura 6A) nos animais dos Rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=8) retornou aos níveis iniciais observados no período chuvoso 1 ($p > 0,9$). Contudo, neste período, os peixes do Rio Amazonas (N=8) tiveram uma maior ($p < 0,0002$) atividade da GST em relação aos peixes dos Rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=8). Houve um aumento da capacidade antioxidante total (figura 6B) nos peixes dos Rios Amazonas (N=7; $p < 0,0004$) e Beija-Flor (N=7; $p < 0,02$) em relação às duas coletas no período de Estiagem (Agosto/13 e Novembro/13). Já os níveis de lipoperoxidação (figura 6C) nos animais dos três rios permaneceram semelhantes ($p > 0,1$) em relação ao período de Estiagem 2 (Rio Amazonas: N=7; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=8), sendo maiores do que os observados no período de Estiagem 1 ($p < 0,0002$) e no período chuvoso 1 ($p < 0,01$).

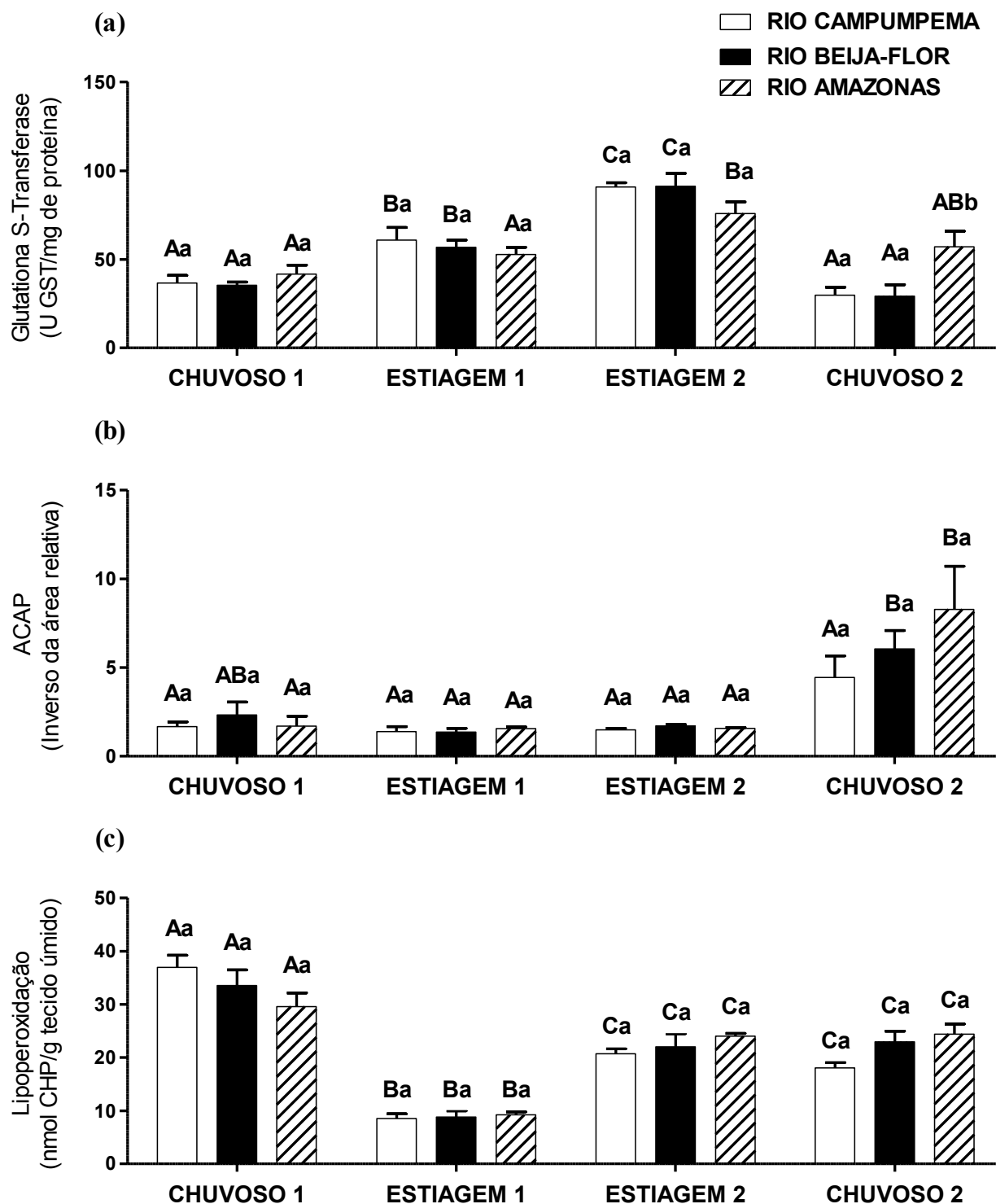


Figura 6: Biomarcadores nas brânquias de *P. eigenmanni* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três rios do estuário amazônico. A: Atividade da enzima Glutathione S-transferase; B: conteúdo de lipídeos peroxidados; C: Capacidade antioxidante total. As letras minúsculas diferentes representam 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 \pm erro padrão ($n=6-8$).

4.6.1.3 Músculo

A atividade da glutathione S-transferase (GST) (figura 7A), a capacidade antioxidante total (figura 7B) e a lipoperoxidação (figura 7C) no músculo de *Propimelodus eigenmanni* foram semelhantes ($p > 0,7$) nos espécimes dos rios Amazonas, Beija-Flor e Campumpema durante o período chuvoso 1 (Rio Amazonas: N=7-8; Rio Beija-Flor: N= 4-8; Rio Campumpema: N=4-8).

No período de Estiagem 1 (agosto/2013), os animais dos três rios apresentaram uma atividade da GST (figura 7A) e capacidade antioxidante total (figura 7B) do músculo semelhantes às observadas em cada local no período chuvoso 1 ($p > 0,9$) e também comparando os três locais neste período ($p > 0,9$) (Rio Amazonas: N=4-8; Rio Beija-Flor: N=4-7; Rio Campumpema: N=6-8). Já a lipoperoxidação (figura 7C) apresentou uma redução significativa ($p < 0,01$) nos animais dos Rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=4) em relação ao período anterior, mas se manteve estável nos animais do Rio Amazonas ($p > 0,9$; N=8).

No período de Estiagem 2, a atividade da GST (figura 7A) no músculo dos peixes dos três locais se manteve nos níveis observados nos períodos anteriores ($p > 0,9$) (Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N= 8; Rio Campumpema: N= 8). Contudo, a capacidade antioxidante total (figura 7B) desse tecido aumentou significativamente ($p < 0,0002$) nos peixes dos Rios Campumpema (N= 7) e Beija-Flor (N= 7) durante esse período. A lipoperoxidação (figura 7C) continuou reduzida ($p < 0,02$) nos animais dos Rios Campumpema (N= 5) e Beija-Flor (N= 8) em relação ao período chuvoso 1.

No período chuvoso 2, atividade da GST (figura 7A) aumentou significativamente no músculo dos peixes dos Rios Amazonas (N= 8; $p < 0,0001$) e Campumpema (N= 8; $p < 0,001$) em relação ao período chuvoso 1. Esta atividade da GST no músculo dos peixes do Rio Amazonas também foi maior ($p < 0,003$) do que a observada nos peixes do Rio Beija-Flor (N= 7) durante este período. Enquanto que a capacidade antioxidante total (figura 7B) dos animais dos Rios Campumpema (N= 7), Beija-Flor (N= 7) e Amazonas (N= 5) reduziu significativamente ($p < 0,0001$) em relação ao período 1. A lipoperoxidação no músculo dos peixes do Rio Campumpema (N= 8) apresentou um aumento ($p < 0,01$) em relação aos períodos de Estiagem 1 e de Estiagem 2. Os peixes do Rio Amazonas apresentaram maiores níveis de lipoperoxidação no músculo ($p < 0,0001$; N= 8) em relação ao período de Estiagem 1 e ao período Chuvoso 1.

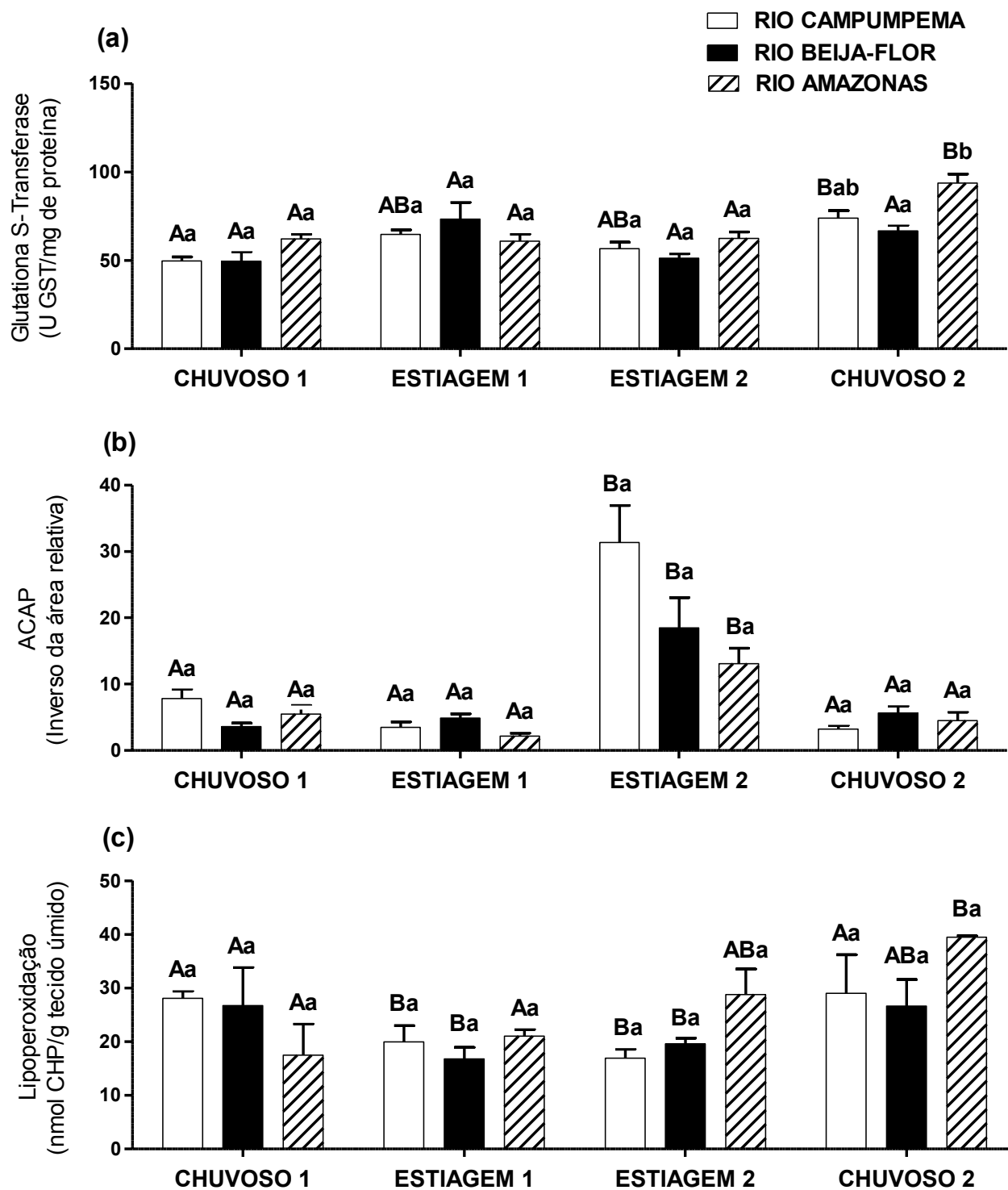


Figura 7: Biomarcadores no músculo de *P. eigenmanni* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. A: Atividade da enzima Glutathione S-transferase; B: conteúdo de lipídeos peroxidados; C: Capacidade antioxidante total. 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 \pm erro padrão (n=4-8).

.6.2 *Macrobrachium amazonicum*

4.6.2.1 Brânquias

A atividade da glutathione S-transferase (GST) (figura 8A) e a capacidade antioxidante total (figura 8B) nas brânquias de *Macrobrachium amazonicum* foram semelhantes ($p > 0,9$) nos animais dos três rios durante o período chuvoso 1 (Rio Amazonas: N=7-8; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=8). Já a lipoperoxidação (figura 8C) foi maior ($p < 0,0001$) nos camarões dos Rios Beija-Flor (N=8) e Campumpema (N=8) comparada à observada nos animais do Rio Amazonas (N=8).

No período de Estiagem 1, a atividade da GST (figura 8A) novamente foi semelhante ($p > 0,5$) nas brânquias dos camarões dos três rios (Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=8). Somente os animais do Rio Beija-Flor (N=8) apresentaram um incremento significativo ($p < 0,02$) da capacidade antioxidante total nas brânquias (figura 8B) em relação ao período anterior (Rio Amazonas: N=8; Rio Campumpema: N=8). A lipoperoxidação (figura 8C) apresentou uma redução ($p < 0,003$) significativa nas brânquias dos animais dos Rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=7) em relação ao período anterior.

No período de Estiagem 2, a atividade da GST (figura 8A) aumentou significativamente ($p < 0,0001$) apenas nas brânquias dos camarões do Rio Campumpema (N=8) em relação ao período de Estiagem 1. Os camarões dos Rios Beija-Flor (N=8) e Amazonas (N=6) tiveram uma maior capacidade antioxidante total (figura 8B) nas brânquias em relação aos do Rio Campumpema (N=7; $p < 0,001$). Os animais do Rio Amazonas também apresentaram um incremento significativo ($p < 0,001$) da capacidade antioxidante total nas brânquias em relação aos períodos anteriores. Quanto à lipoperoxidação (figura 8C), os animais dos três rios mantiveram níveis semelhantes ($p > 0,9$) aos obtidos no período de Estiagem 1 (Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=8).

No período chuvoso 2, a atividade da GST (figura 8A) aumentou significativamente ($p < 0,03$) apenas nas brânquias dos camarões do Rio Beija-Flor (N=8) em relação aos períodos Chuvoso 1 e Estiagem 1. A capacidade antioxidante total (figura 8B) dos camarões dos Rios Amazonas (N=7) e Beija-Flor (N=7) permaneceu elevada ($p < 0,01$) comparada à obtida no período chuvoso 1. A lipoperoxidação (figura 8C) nas brânquias dos animais do Rio Amazonas (N=7) também esteve elevada ($p < 0,02$) em relação ao período chuvoso 1. Nos animais dos Rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=8), a lipoperoxidação continuou reduzida em relação ao período chuvoso 1 ($p < 0,01$).

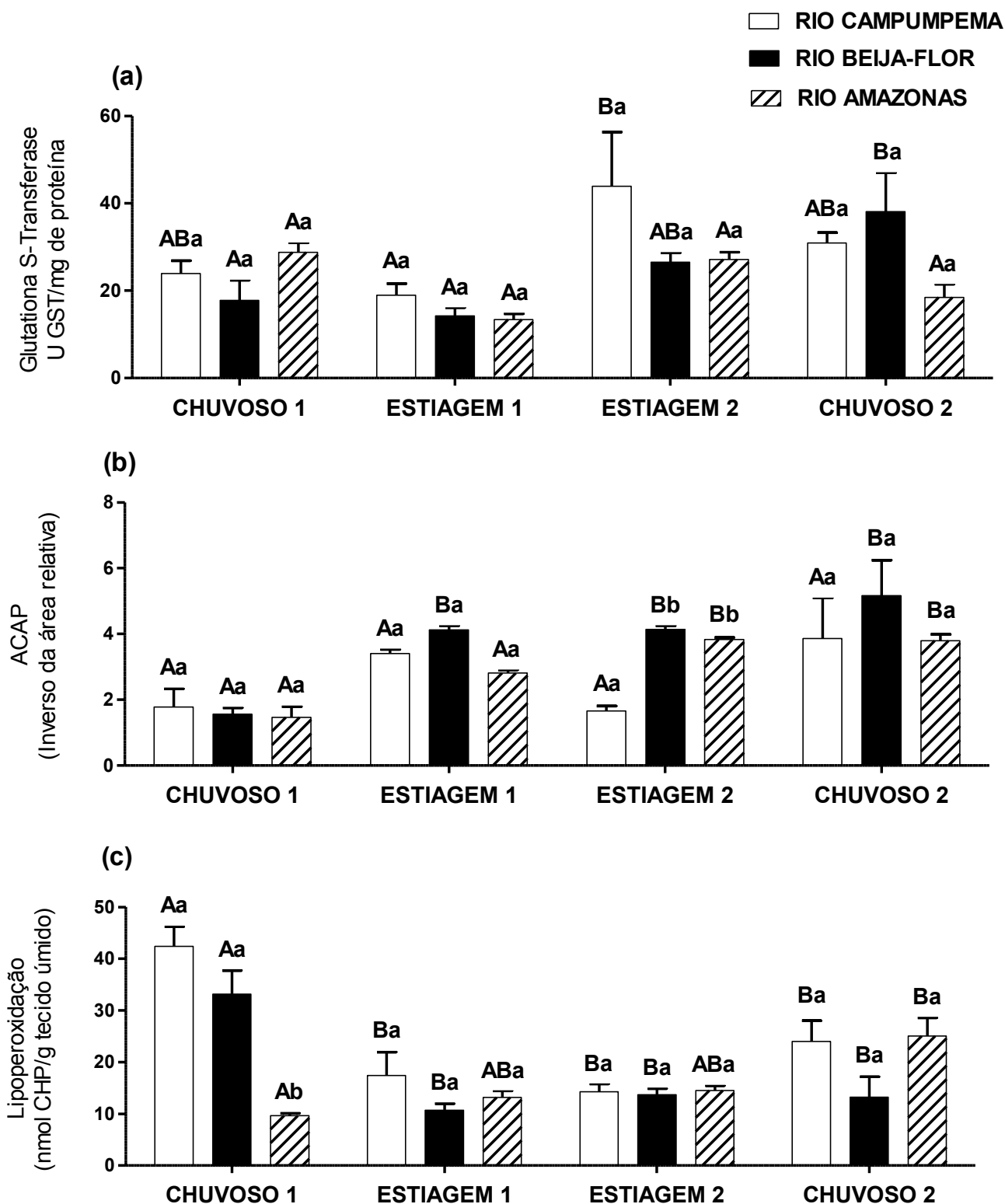


Figura 8: Biomarcadores nas brânquias de *M. amazonicum* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. As letras minúsculas diferentes representam diferenças ($p < 0,05$) entre os locais no mesmo período. A: Atividade da enzima Glutathione S-transferase; B: conteúdo de lipídeos peroxidados; C: Capacidade antioxidante total. As letras maiúsculas diferentes indicam diferenças ($p < 0,05$) no mesmo local ao longo dos períodos amostrados. Os dados são expressos como a média \pm erro padrão ($n=4-8$).

4.6.2.2 Músculo

A atividade da glutathione S-transferase (GST) (Figura 9A) e a lipoperoxidação (Figura 9C) analisadas no músculo de *Macrobrachium amazonicum* foram semelhantes ($p > 0,7$) nos animais dos três rios durante o período chuvoso 1 (Rio Amazonas: N=7-8; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=4-8). Neste período, os camarões do Rio Beija-Flor (N=4) apresentaram uma menor ($p < 0,006$) capacidade antioxidante total (Figura 9B) em relação aos coletados no Rio Amazonas (N=8).

No período de Estiagem 1, os camarões do Rio Campumpema (N=8) tiveram uma redução ($p < 0,01$) na atividade da GST no (Figura 9A) em relação ao período anterior. A capacidade antioxidante total (Figura 9B) reduziu significativamente ($p < 0,004$) nos animais do Rio Amazonas (N=4), sendo semelhante ($p > 0,9$) à obtida no músculo dos animais dos outros dois ambientes (Rio Beija-Flor: N=7; Rio Campumpema: N=6). A lipoperoxidação (Figura 9C), por sua vez, foi semelhante ($p > 0,8$) nos animais dos três rios amostrados durante este período (Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N=4; Rio Campumpema: N=8).

No período de Estiagem 2, os camarões do Rio Beija-Flor (N=8) apresentaram uma redução ($p < 0,009$) na atividade da GST no músculo (Figura 9A) em relação ao período chuvoso 1. Os animais do Rio Campumpema (N=8) continuaram com a atividade da GST no músculo reduzida ($p < 0,0001$) em relação ao período chuvoso 1. A capacidade antioxidante total (Figura 9B) dos camarões do Rio Amazonas (N=8) aumentou ($p < 0,04$) no período de Estiagem 2 em relação à coleta anterior, e foi semelhante ($p > 0,9$) à observada no período de Chuvoso 1. A lipoperoxidação (Figura 9C) foi semelhante no músculo dos camarões dos três rios em relação aos períodos anteriores ($p > 0,4$) e também comparando os animais dos três locais nesta coleta ($p > 0,9$) (Rio Amazonas: N=8; Rio Beija-Flor: N=8; Rio Campumpema: N=5).

No período chuvoso 2, os camarões do Rio Amazonas (N=8) apresentaram uma atividade da GST (Figura 9A) significativamente menor do que a observada nos períodos chuvoso 1 ($p < 0,002$) e de Estiagem 1 ($p < 0,0001$). Os camarões dos Rios Campumpema (N=8) e Beija-Flor (N=8) continuaram com a atividade da GST no músculo reduzida ($p < 0,0001$) em relação ao período chuvoso 1. A capacidade antioxidante total no músculo dos camarões do Rio Amazonas (N=5) apresentou uma redução ($p < 0,02$) em relação ao período chuvoso 1 e de Estiagem 2. A lipoperoxidação no músculo dos camarões do Rio Beija-Flor (N=8) apresentou uma redução ($p < 0,0007$) em relação ao período chuvoso 1 e de Estiagem 1.

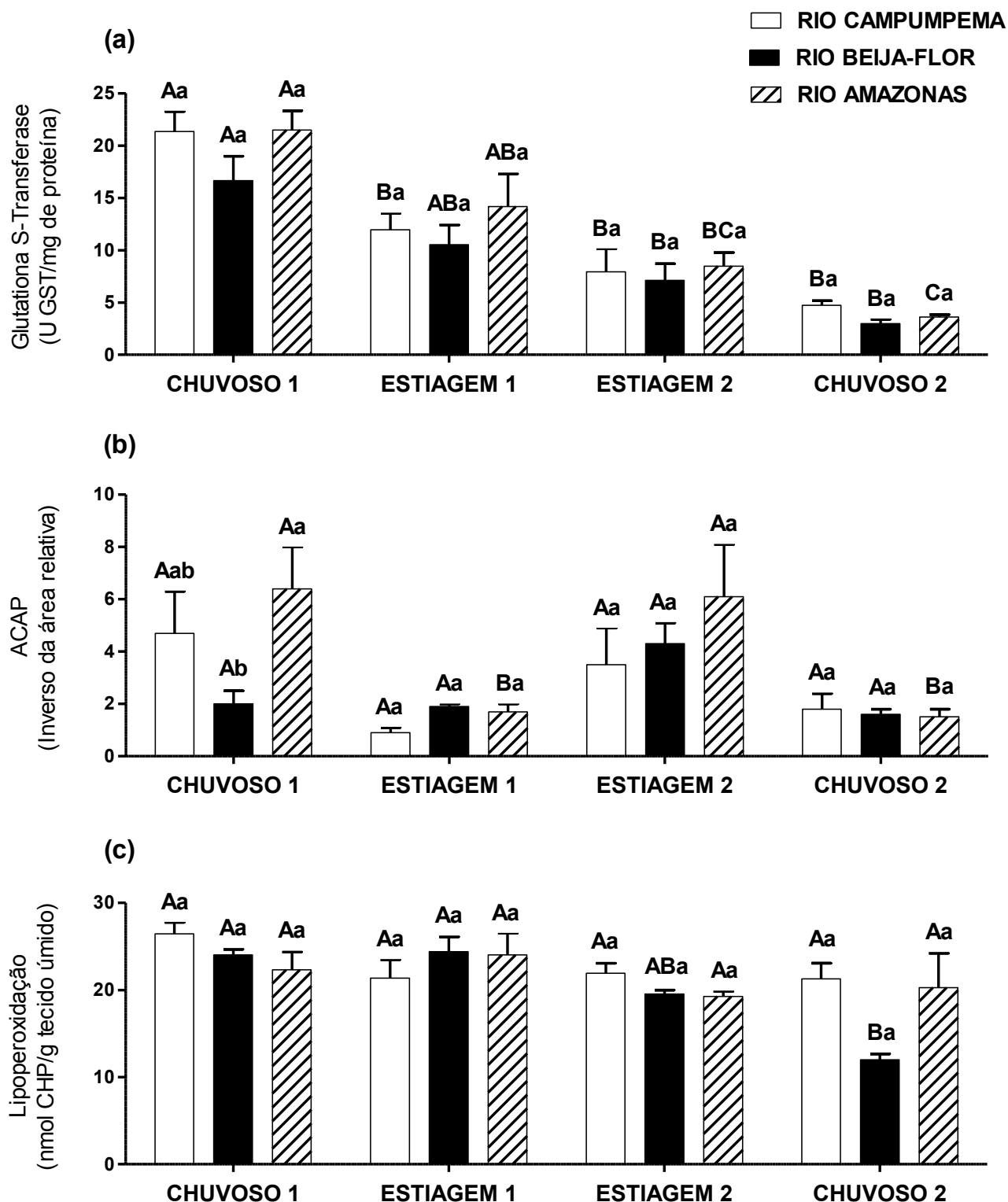


Figura 9: Biomarcadores no músculo de *M. amazonicum* coletados em diferentes períodos pluviométricos em três áreas com distintos históricos de contaminação no estuário amazônico. A: Atividade da enzima glutathione S-transferase; B: conteúdo de lipídeos peroxidados; C: Capacidade antioxidante total. 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 \pm erro padrão ($n=4-8$).

5- DISCUSSÃO

O armazenamento e beneficiamento do minério de manganês no Município de Santana (AP) tem sido caracterizado como uma possível fonte de contaminação de arsênio (As) na foz do Rio Amazonas (PEREIRA et al., 2009a; LIMA et al., 2007). No entanto, até então, os efeitos da exposição do As na saúde dos organismos aquáticos do estuário amazônico não haviam sido caracterizados, assim como suas espécies químicas presentes na água.

A análise de especiação do As apontou que o arsenato (As^{+5}) foi a espécie química presente nas águas amostradas e, logo, responsável pela concentração observada nos Rios Amazonas, Beija-Flor e Campumpema (Tabela 2). O As^{+5} realmente era esperado como a espécie química predominante em nossas amostras devido às características físico-químicas de Eh moderado e pH mais básico encontradas nas três áreas de estudo (FLORA, 2011). Embora não tenha sido possível a análise de pH em nosso estudo por dificuldades logísticas, a condutividade e temperatura apresentaram pequenas oscilações nos três rios ao longos dos períodos. Por outro lado, as concentrações de oxigênio dissolvido tiveram grandes variações nos três rios entre o período chuvoso 1 e chuvoso 2.

Como os corpos hídricos do estuário amazônico tem uma grande capacidade de diluição de poluentes (MOURA, 2007), também se esperava que as concentrações médias de As nos Rios Amazonas e Beija-Flor fossem inferiores a $10 \mu\text{g As/L}$, valores já observados por Lima et al. (2007). Porém, as concentrações médias observadas nos três ambientes durante os períodos de Estiagem 1, de Estiagem 2 e Chuvoso 2 estiveram acima de $0,14 \mu\text{g As/L}$, o valor máximo permitido para águas doces com atividade de pesca pela legislação em vigor (CONAMA, 2005). Deste modo, a presença de arsenato nas águas do estuário amazônico alerta para a necessidade do biomonitoramento, uma vez que esta espécie é capaz de afetar a capacidade de defesa dos organismos aquáticos contra as espécies reativas de oxigênio (ALLEN et al., 2004), induzindo processos patogênicos (FLORA, 2015), e pode de trazer risco potencial para as populações humanas que se alimentam de animais oriundos destes rios (SUÑER et al., 1999). O potencial de biotransformação do arsenato para arsenito também tem sido uma grande preocupação das pesquisas mais recentes, pois este processo aumenta sua toxicidade e o risco de exposição dos animais à condição de estresse oxidativo (SANTRA, 2015).

O Rio Campumpema (ambiente referência) apresentou menores concentrações médias de arsênio durante os períodos de Estiagem 1 e Estiagem 2 em relação aos pontos considerados com maior histórico de contaminação ($0,3$ e $0,7 \mu\text{g/L}$, respectivamente), corroborando nossa

hipótese de que a exposição dos animais ao arsênio é influenciada pelo gradiente espacial existente entre os três rios (em relação ao histórico de contaminação). Assim, podemos considerar que há uma dinâmica diferenciada na mobilização do arsênio entre os três rios, representada por elevados valores nos ambientes historicamente contaminados nos períodos de estiagem e pelo aumento da concentração nas águas e sedimentos do ambiente referência no período chuvoso 2. Deste modo, as concentrações de As no Rio Campumpema aumentariam durante o período chuvoso devido ao maior carreamento de compostos para esta área mais distante (PISANELLI et al., 2009; DOREA E BARBOSA, 2007).

As concentrações de As no Rio Beija-Flor aumentaram significativamente no período de Estiagem 2 e ainda foram maiores do que as observadas no Rio Amazonas e no ambiente referência. A diminuição da hidrodinâmica aumenta o tempo de residência das águas no estuário amazônico e provavelmente influenciou nossos resultados no Rio Beija-Flor pelo aprisionamento de maiores teores de As em relação ao período anterior. Como o ponto de coleta no Rio Beija-Flor se encontra em um área mais interna, no período de menor hidrodinâmica também é favorecida uma maior concentração de As em relação ao Rio Amazonas. Neste período também ocorre uma ampliação dos bancos lamosos, cuja formação e enriquecimento em sedimentos finos (silte e argila) e matéria orgânica é favorecida pela diminuição da hidrodinâmica (AVIZ et al., 2012). Estes sedimentos também podem complexar poluentes, e o aumento do seu tempo de residência no Rio Beija-Flor também pode ter contribuído para causar a diferença observada em relação ao rio Amazonas e o ambiente referência no período de Estiagem 2 (BEZERRA et al., 2009). Deste modo, mesmo no período chuvoso 2, quando há uma maior diluição do As, evidenciada pela semelhança nas concentrações de As total no sedimento (Tabela 3), ainda houve diferenças entre o conteúdo de As na água do Rio Beija-Flor em relação ao ambiente referência (Tabela 2). Este efeito de diluição das concentrações de As foram observados na foz do Rio Amazonas (LIMA et al., 2007) e em rios do triângulo mineiro (GONÇALVES et al., 2007). Porém, nossos resultados indicam maior estabilidade nos teores de arsênio encontrados no Rio Amazonas (1,11-1,7 $\mu\text{g As/L}$) comparados ao observados por Lima et al. (2007) no ano de 2002/2003 (0,65-10,39 $\mu\text{g As/L}$), o que pode ser resultado de uma maior capacidade de diluição e/ou contenção do As neste rio ao longo de uma década.

O registro de concentrações de As inferiores a 0,005 $\mu\text{g/L}$ nos três rios durante o período chuvoso 1 não era esperado, mesmo com o aumento da hidrodinâmica da região, uma vez que no período chuvoso 2 foram detectadas concentrações nos rios contaminados. Também consideramos que a intensificação do intemperismo químico e da lixiviação deveriam

aumentar a quantidade de arsênio dissolvido e carregado para a região do Rio Campumpema (RAVENSCROFT et al., 2009), resultando em valores diferentes dos observados.

FIGUEIREDO et al. (2007) apontam que as baixas concentrações de As nas águas do Rio Amazonas podem estar relacionadas a grande capacidade de adsorção deste metaloide aos minerais de argila e em óxidos-hidróxidos de ferro, alumínio e manganês. Contudo, é reconhecido a concentração de sedimentos em suspensão apresentam níveis semelhantes nos períodos de maior precipitação (GREGÓRIO E MENDES, 2008). Logo, não esperávamos a variação de nenhum fator capaz de alterar esta capacidade de adsorção no período chuvoso 2 e permitir a detecção de As na água dos três rios.

Os peixes do Rio Beija-Flor mostraram um incremento significativo na capacidade de detoxificação (atividade da glutathione S-transferase- GST) do fígado durante o período Estiagem 1 (Figura 5A). A GST é uma enzima com diversas isoformas que facilitam a eliminação de xenobióticos e hidroperóxidos lipídicos através da conjugação com a glutathione reduzida, facilitando sua eliminação (ŠETLÍKOVÁ E WIEGAND, 2009). Assim, estes peixes conseguiram manter os níveis de lipoperoxidação (Figura 5C) semelhantes aos animais do ambiente referência, e inclusive, menores do que os observados nos outros períodos (AMEUR et al., 2012).

Por outro lado, os peixes do Rio Amazonas não aumentaram a capacidade de detoxificação e a capacidade antioxidante total do fígado no período de Estiagem 1 (Figura 5). Como consequência, o aumento das concentrações de As estimulou a propagação da lipoperoxidação, que é uma reação em cadeia capaz de gerar muitas outras moléculas bioativas (HERMES-LIMA, 2004). A exposição de *P. eigenmanni* ao arsênio foi capaz de aumentar excessivamente a produção de espécies reativas de oxigênio, um efeito que tem sido correlacionado a indução da lipoperoxidação em diversas espécies de peixes (OLIVA et al., 2012; WAHEED et al. 2013; FLORA, 2015).

No período de Estiagem 2, os peixes do Rio Beija-flor diminuíram a capacidade de detoxificação no fígado e aumentaram a capacidade antioxidante total. Esta alternância de estratégias de contenção da lipoperoxidação foi observada em outras espécies de peixes e está relacionada com a eficácia na proteção celular (AKCHA et al., 2004). No caso de *P. eigenmanni*, o aumento da capacidade antioxidante frente aos maiores teores de arsênio teve sucesso e permitiu que não houvesse diferenças deste biomarcador em relação ao ambiente referência.

Conforme houve o aumento das concentrações de As (Tabela 2), os peixes dos três locais apresentaram estratégias semelhantes de contenção da lipoperoxidação nas brânquias ao

longo do período estudado (variação temporal dos biomarcadores de exposição; Figura 6A e B). Essas estratégias permitiram a ausência de diferenças deste biomarcador nas brânquias dos animais dos três rios ao longo de todo o período de estudo, mesmo quando houve diferenças nas concentrações de As. Por exemplo, no período de Estiagem 1, os níveis de lipoperoxidação nas brânquias dos peixes do rio Beija-Flor foram semelhantes aos do ambiente referência devido ao aumento da capacidade de detoxificação dos organismos de ambos os locais. Este resultado foi possível devido ao papel da GST na eliminação de compostos tóxicos, prevenindo a formação e/ou propagação de subprodutos oxidativos gerados pela maior exposição ao As (DEPONTE, 2013). No período de Estiagem 2, um novo aumento da atividade da GST foi verificado nas brânquias dos peixes do ambiente referência e acompanhado pelos peixes dos Rios Amazonas e Beija-Flor. Deste modo, os animais dos ambientes contaminados mostram a necessidade de uma resposta preventiva ao estresse oxidativo na forma de eliminação de substâncias tóxicas (REGOLI, 2012).

O aumento da capacidade antioxidante total nas brânquias dos peixes dos Rios Amazonas e Beija-Flor no período chuvoso 2 também teve sucesso na contenção da lipoperoxidação (Figura 6C). Considerando que o aumento dos níveis de chuva permitiria a maior lixiviação e carreamento de compostos vegetais das planícies de inundação (BARTHEM E FABRÉ, 2004), uma hipótese de mudança na dieta dos espécimes de *P. eigenmanni* em termos de composição e concentração (frutos e compostos vegetais) e a própria qualidade alimentar das presas (poliquetas, crustáceos e pequenos peixes) pode ser sustentada. Inclusive, um aumento da capacidade antioxidante total foi observado em poliquetas (*Namalycastis abiuma*) coletados no Estuário Guajarinó (Belém/PA) durante o período chuvoso, pois este organismo tem aumento nas taxas de alimentação quando estão associados a bancos lamosos ricos em compostos herbáceos (Amado et al., Não publicado; ROSA-FILHO E AVIZ, 2013).

Assim, o aumento natural das chuvas incrementa as concentrações de matéria orgânica carregada para o estuário. Ao ser consumida pelos organismos, leva ao aumento nas concentrações de antioxidantes não enzimáticos (carotenóides, vitaminas, polifenóis e flavonóides). Estas mudanças na composição de antioxidantes dos tecidos são conhecidas como dependentes do nível de ingestão de alimento (VIARENGO et al., 1991), e podem ser adquiridas por *P. eigenmanni* através dos consumidores primários e organismos detritívoros. Estes antioxidantes absorvidos tem grande capacidade de proteção celular contra as espécies

reativas de oxigênio (SOKOLOVA et al., 2012), e deste modo, a atividade da GST nos peixes destes rios contaminados não precisou ser induzida.

Apesar da alta capacidade antioxidante das brânquias no período chuvoso 2, os peixes do Rio Amazonas necessitaram de um aumento na atividade da GST para manter os níveis de lipoperoxidação semelhantes ao ambiente referência e ao outro ambiente contaminado. A exposição de organismos aquáticos a contaminantes normalmente cria uma resposta antioxidante adaptativa, prevenindo os componentes celulares de possíveis danos oxidativos (MONSERRAT et al., 2007). Diante de um maior contato com poluentes, pode-se inferir que houve a necessidade de indução da atividade da GST para aumentar a eliminação do arsênio e evitar a propagação dos subprodutos do metabolismo oxidativo (KIM E KANG, 2015).

Contudo, os níveis de lipoperoxidação nas brânquias dos peixes dos três rios no período chuvoso 1 foram os maiores observados em todo o estudo, mesmo com as baixas concentrações de As. Como não houve incremento da atividade da GST, a possibilidade de maior exposição a xenobióticos é pouco provável. Em muitos organismos de ambientes referência, a lipoperoxidação é influenciada por um aumento sazonal na taxa de alimentação, pois o aumento do metabolismo oxidativo eleva a probabilidade de contato dos organismos com EROs (FAVERNEY et al., 2010). Também são reconhecidas variações em biomarcadores de exposição devido ao tamanho dos animais (MONSERRAT et al., 2012), influenciadas por diferentes capacidade metabólicas e de acumulação de poluentes ao longo do ciclo de vida (COSTA et al., 2009; BARLETTA et al., 2012). Mas neste período não houve variação sazonal no tamanho e peso dos peixes, e apesar animais do Rio Campumpema terem maior peso total e comprimento total em relação aos coletados nos Rios Amazonas e Beija-Flor também não foram observadas variações entre os animais dos três rios. Como a capacidade antioxidante total das brânquias de *P. eigenmanni* não foi incrementada, não há indício de que um aumento na dieta em termos de antioxidantes naturais durante este período. Muito pouco é conhecido sobre os hábitos alimentares desta espécie, mas ela é reconhecida como generalista, com alta plasticidade e tem período de maior intensidade alimentar no período chuvoso (ZUANON E FERREIRA, 2008). É possível que tenha ocorrido uma preferência por organismos que absorvam ou reciclem compostos diferentes, com baixa concentração de antioxidantes naturais durante este período (VIDAL-LIÑÁN et al., 2010).

Os camarões dos ambientes contaminados também necessitaram de modificações dos biomarcadores de exposição nas brânquias para manter os níveis de lipoperoxidação

semelhantes aos animais do ambiente referência. Apesar das possíveis diferenças fisiológicas e bioquímicas, as brânquias de *P. eigenmanni* e *M. amazonicum* são o órgão de contato inicial com os contaminantes (ROCHA et al., 2009). Inclusive, a carpa comum (*Cyprinus carpio*) utiliza as brânquias como o principal órgão de defesa contra a toxicidade do arsênio (VENTURA-LIMA et al., 2009a). Assim, é extremamente essencial que ambos os organismos deste estudo apresentem este tipo de estratégia para diminuir a exposição ao As e garantir a proteção contra o estresse oxidativo (LAVANYA et al., 2011).

Esse tipo de flutuação sazonal em biomarcadores de poluição aquática pode ocorrer mesmo em organismos de ambientes referência e está associada a inúmeros fatores como o carreamento de metais naturais e poluentes de áreas próximas (KALNEJAIS et al., 2010), mudanças na composição e disponibilidade de alimentos (BOCCHETTI et al., 2008) e variações na hidrodinâmica da região (HACKENBERGER et al., 2015). Existe uma grande possibilidade de que o aumento nas taxas de alimentação dos camarões seja o responsável pela elevação da atividade da GST nas brânquias, uma vez que esta espécie aumenta a taxa de ingestão de alimentos conforme ocorre um aumento da densidade da presa (MACIEL, 2007), o que é favorecido na região durante os períodos chuvosos devido ao aumento da população de zooplâncton (FISHER, 1979; MARTINS et al., 2006).

Os peixes dos Rios Campumpema e Beija-Flor tiveram uma redução da lipoperoxidação no músculo nos períodos de Estiagem 1 e de Estiagem 2, mesmo com o aumento das concentrações de arsênio. Os peixes dos três rios apresentaram um aumento da capacidade antioxidante total no músculo no período de Estiagem 2 para conter o aumento da lipoperoxidação, evidenciado pela tendência de aumento deste biomarcador de efeito (LINDSTRÖM-SEPPÄ et al., 2006).

No período chuvoso 2, a atividade da GST no músculo dos peixes dos Rios Amazonas e Campumpema apresentou um aumento sazonal possivelmente influenciado pelo aumento da hidrodinâmica (HACKENBERGER et al., 2015). E inclusive os peixes do Rio Amazonas tiveram uma maior atividade desta enzima em relação aos animais do rio Beija-Flor. Este foi um resultado da tentativa de contenção da variação sazonal da lipoperoxidação no músculo destes animais e permitiu as semelhanças no conteúdo de lipídeos peroxidados entre os peixes dos três locais (DE LA TORRE et al., 2007).

No músculo dos camarões dos três rios ocorreu uma diminuição na atividade da GST conforme ocorreu houve o aumento temporal das concentrações de arsênio, sendo observados níveis muito baixos de atividade desta enzima nos três locais no período chuvoso 2. Este resultado é um indicativo de oxidação ou inibição da GST, um processo que é

intensificado pela exposição de organismos aquáticos ao As (GORINSTEIN et al., 2006; KADIRVEL et al., 2007).

A maior exposição dos camarões do Rio Amazonas ao As e outros compostos pode ter modulado a capacidade antioxidante total no músculo desses animais, causando uma redução no período de Estiagem 1 quando houve aumento da concentração de As e novamente no período chuvoso 2. Os efeitos acumulativos do aumento da concentração de arsênio podem ter sido responsáveis por este resultado, uma vez que o As é capaz de formar complexos com a GSH e outros antioxidantes celulares, diminuindo sua concentração e a capacidade de proteção celular (SHI et al., 2004).

Estes resultados indicam que os efeitos da maior exposição dos camarões e peixes dos Rios Amazonas e Beija-Flor ao As foram estimulados no período de Estiagem, e estiveram acompanhados por grandes diferenças nas concentrações de As com o ambiente referência. Deste modo, os organismos dos ambientes contaminados são mais expostos a essas substâncias dissolvidas e aumentam sua incorporação, resultando na exigência de uma maior competência antioxidante e resposta de detoxificação (ZHENG et al., 2012; BRINKMANN et al., 2013). Por outro lado, os organismos do Rio Campumpema são mais expostos a poluentes carregados pelo rio devido ao aumento do fluxo de água, que é causado pela chuva. Como consequência imediata do aumento da vazão nos rios se espera que haja uma diluição da poluição (GARCÍA-BARCINA et al., 2006). Porém, a ressuspensão de contaminantes adsorvidos aos sedimentos soterrados, a lixiviação de compostos de áreas próximas, e as flutuações naturais nas concentrações de metais de transição carregados pelos rios também podem ser fontes secundárias de poluentes para este rio (PISANELLI et al., 2009).

6- CONCLUSÃO

Os corpos d'água mais próximos a fonte de contaminação no município de Santana (Rio Beija-Flor e Rio Amazonas) apresentaram maiores teores de arsênio em relação ao ambiente mais distante (Rio Campumpema) durante o período seco, indicando que a maior exposição dos organismos aquáticos dessa área a este metalóide.

Nossos resultados indicam um comportamento dinâmico na concentração de arsênio no estuário amazônico, com variações observadas entre os três rios regidas pelo fluxo hidrodinâmico. O Rio Campumpema (ambiente referência) apresenta maior enriquecimento por arsênio no período chuvoso, provavelmente devido ao aumento nos processos de carregamento e ressuspensão de partículas. No Rio Beija-Flor (ambiente intermediário), as concentrações apresentam maior enriquecimento no período de estiagem 2, proporcionado pela menor hidrodinâmica e aumento do tempo de residência das águas nesta área. Enquanto que no Rio Amazonas houve maior estabilidade das concentrações de arsênio ao longo das coletas e forte indício de diminuição da contaminação frente aos estudos realizados anteriormente (Lima et al., 2007).

Pôde-se confirmar que os diversos alertas sobre a contaminação por arsênio na Foz do Rio Amazonas tem grande potencial de causar danos à saúde da biota do estuário amazônico. Os organismos dos ambientes contaminados precisam de modulações órgão-específicas na capacidade de detoxificação e antioxidante total para conter os efeitos tóxicos da exposição ao arsênio e, então, manter níveis de lipoperoxidação semelhantes aos animais do ambiente referência. Deste modo, nossos dados indicam que os animais ainda podem modular suas defesas antioxidantes e evitar danos oxidativos frente aos teores deste metaloide atualmente encontrados nos rios analisados.

Houve uma forte influência pluviométrica nos parâmetros de defesa antioxidante, provavelmente influenciados pelo aumento das taxas de alimentação de *P. eigenmanni* e *M. amazonicum*. A priori, a partir de análises em baixo nível de organização biológica, os peixes e camarões do estuário amazônico tem mostrado grande capacidade de proteção contra o estresse oxidativo induzido pelas variações das condições ambientais, naturais ou antropogênicas à que estão expostos.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKCHA, F.; LEDAY, G.; PFOHL-LESZKOWICZ, A. Measurement of DNA adducts and strand breaks in dab (*Limanda limanda*) collected in the field: effects of biotic (age, sex) and abiotic (sampling site and period) factors on the extent of DNA damage. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 552 (1-2), p. 197-207, 2004.
- ALLAN, I. J.; VRANA, B.; GREENWOOD, R. (2006). A “toolbox” for biological and chemical monitoring requirements for the European Union’s Water Framework Directive. **Talanta**, 69: 302–322.
- ALLEN, T.; SINGHAL, R.; RANA, S. V. S. (2004). Resistance to Oxidative Stress in a Freshwater Fish *Channa punctatus* After Exposure to Inorganic Arsenic. **Biological Trace Element Research**, 98: 63-72.
- AVIZ, D.; CARVALHO, I. L. R.; ROSA FILHO, J. S. (2012). Spatial and temporal changes in macrobenthic communities in the Amazon coastal zone (Guajará Estuary, Brazil) caused by discharge of urban effluents. **Scientia Marina**, 76: 381-390.
- AMADO, L. L.; LONGARAY GARCIA, M.; RAMOS, P. B.; FREITAS, R. F.; ZAFALON, B.; RIBAS FERREIRA, J. L. YUNES, J. S.; MONSERRAT, J. M. (2009). A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. **Science of the Total Environment**, 407: 2115-2123.
- AMANAJÁS, J. C.; BRAGA, C. C.; LIMA, F. J. L.; GUEDES, R. V. S. (2010). Aplicação da análise fatorial em componentes principais a dados de precipitação no Estado do Amapá. **Revista de Geografia**, 27 (1): 107-119.
- AMEUR, W. B.; LAPUENTE, J.; EL MEGDICHE, Y.; BARHOUMI, B.; TRABELSI, S.; CAMPS, L.; SERRET, J.; RAMOS-LÓPEZ, D.; GONZALEZ-LINARES, J.; DRISS, M. R.; BORRÀS, M. (2012). Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). **Marine Pollution Bulletin**, 642: 241-251.
- APOSHIAN, H. V.; ZAKHARYAN, R.A.; AVRAN, M.D.; SAMPAYO-REYES, A.; WOLLENBERG, M. L. (2004). 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**, 198: 319-326.
- BENNEMANN, S. T.; GALVES, W.; CAPRA, L. G. (2011). Food resources used by fishes and trophic structure of four stretches in Capivara reservoir (Paranapanema River). **Biota Neotropica**, 11 (1): Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1/en/abstract?article+bn01411012011>> Acesso em: 14 janeiro 2014.
- BESSE, J. P.; GEFFARD, O.; COQUERY, M. (2012). Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. **Trends in Analytical Chemistry**, 36: 113-127.

- BEYER, J.; PETERSEN, K.; SONGA, Y.; RUUS, A.; GRUNGA, M. (2013). Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: A discussion paper. **Marine Environmental Research**, 1-11.
- BEZERRA, P. S. S.; TAKIYAMA, L. R.; BEZERRA, C. W. B. (2009). Complexação de íons de metais por matéria orgânica dissolvida: modelagem e aplicação em sistemas reais. **Acta Amazônica**, 39 (3): 639 – 64.
- BOCCHETTI R, LAMBERTI CV, PISANELLI B, RAZZETTI E. M., MAGGI C, CATALANO B, SESTA G, MARTUCCIO G, GABELLINI M, REGOLI F. (2008). Seasonal variations of exposure biomarkers, oxidative stress responses and cell damage in the clams, *Tapes philippinarum*, and mussels, *Mytilus galloprovincialis*, from Adriatic Sea. **Marine Environmental Research**, 66 (1): 24-36.
- BOHRER, D.; BECKER, E. M.; NASCIMENTO, P. C.; DESSUY, M. B.; CARVALHO, L. M. (2005). Arsenic Species in Solutions for Parenteral Nutrition. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, 29 (1): 1-7.
- BOUSKILL, N. J.; HANDY, R. D.; FORD, T. E.; GALLOWAY, T. S. (2006). Differentiating copper and arsenic toxicity using biochemical biomarkers in *Asellus aquaticus* and *Dreissena polymorpha*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 65 (3): 342-349.
- BRINKMANN, M.; HUDJETZ, S.; KAMMANN, U.; HENNIG, U. M.; KUCKELKORN, J.; CHINORAKS, M.; COFALLA, C.; WISEMAN, S.; GIESY, J. P.; SCHÄFFER, A.; HECKER, M.; WÖLZ, J.; SCHÜTTRUMPF, 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 Toxicology**, 128-129: 13-24.
- BUCALOSSI D.; LEONZIO, C.; CASINI, S.; FOSSI, M. C.; MARSILI, L.; ANCORA, S.; WANG, W.; SCALI, M. (2006). Application of a suite of biomarkers in *Posidonia oceanica* (L.) delile to assess the ecotoxicological impact on the coastal environment. **Marine Environmental Research**, 62 (1): 327-331.
- BUNDSCHUH, J.; LITTER, M. I.; PARVEZ, F.; ROMÁN-ROSS, G.; NICOLLI, H.; JEAN, J. S.; LIU, C. W.; LÓPEZ, D.; ARMIENTA, M. A.; GUILHERME, L. R. G.; CUEVAS, A. G.; CORNEJO, L.; CUMBAL, L.; TOUJAGUEZ, R. (2012a). One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. **Science of the Total Environment**, 429: 2–35.
- BUNDSCHUH, J.; NATH, B.; BHATTACHARYA, P.; LIU, C. W.; ARMIENTA, M. A.; LÓPEZ, M. V. M.; LOPEZ, D. L.; JEAN, J. S.; CORNEJO L.; MACEDO, L. F. L.; TENUTA FILHO, A. (2012b). Arsenic in the human food chain: the Latin American perspective. **Science of the Total Environment**, 429: 92–106.
- BYLUNDA, J.; BROWNA, K. L.; MOVITZ, C.; DAHLGRENA, C.; KARLSSON, A. (2010). Intracellular generation of superoxide by the phagocyte NADPH oxidase: How, where, and what for? **Free Radical Biology & Medicine**, 49: 1834–1845.

- CAVALCANTE, D. V.; SILVA, B. B.; MARTINELLI-LEMONS, J. M. (2012). Biodiversity of decapod crustaceans in the estuarine floodplain around the city of Belém (Pará) in Brazilian Amazonia. **Zoologia**, 29 (3): 203–209.
- CHAKRABORTY, S.; RAY, M.; RAY, S. (2013). Cell to organ: Physiological, immunotoxic and oxidative stress responses of *Lamellidens marginalis* to inorganic arsenite. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 94: 153–163.
- COHEN, J. C. P.; SILVA DIAS, M. A. F.; NOBRE C. A. (1995). Environmental conditions associated with Amazonian squall lines: A case study. **Monthly Weather Review**, 123 (11): 3163-3174.
- CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE - CONAMA. **RESOLUÇÃO N° 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005**. Disponível em: <www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2015.
- CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE - CONAMA. **RESOLUÇÃO N° 420, DE 28 DE DEZEMBRO DE 2009**. Disponível em: www.mma.gov.br/port/conama/legi/abre.cfm?codlegi=620. Acesso em: 04 fev. 2015.
- CULIOLI, J. L.; FOUQUOIREA, A.; CALENDINIB, S.; MORIA, C.; ORSINIA, A. (2009). Trophic transfer of arsenic and antimony in a freshwater ecosystem: A field study. **Aquatic Toxicology**, 94: 286–293.
- DE LA TORRE, F. R.; SALIBIAN, A.; FERRARI, L. (2007). Assessment of the pollution impact on biomarkers of effect of a freshwater fish. **Chemosphere**, 68: 1582-1590.
- DEPONTE, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1830: 3217–3266.
- DOREA, J. G.; BARBOSA, A. C. (2007). Anthropogenic Impact of Mercury Accumulation in Fish from the Rio Madeira and Rio Negro Rivers (Amazonia). **Biological Trace Element Research**, 115: 243-254.
- ERCAL, N.; GURER-ORHAN, H.; AYKIN-BURNS, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress. Part I. Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 1: 529–539.
- FAVERNEY, C. R.; GUIBBOLINI-SABATIER, M. E.; FRANCOUR, P. (2010). An ecotoxicological approach with transplanted mussels (*Mytilus galloprovincialis*) for assessing the impact of tyre reefs immersed along the NW Mediterranean Sea. **Environmental Research**, 70: 87-94.
- FIGUEIREDO, B. R.; BORBA, R. B.; ANGÉLICA, R. S. (2007). Arsenic occurrence in Brazil and human exposure. **Environmental Geochemical Health**, 29: 109–118.
- FISHER, T. R. (1979). Plankton and primary production in aquatic systems of the central Amazon basin. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, 62: 31-38.
- FLORA, S. J. S. (2011). Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. **Free Radical Biology & Medicine**, 51: 257–281.

- FLORA, S. J. S. (2015). **Handbook of Arsenic Toxicology**. London: Academic Press, 752p.
- GARCÍA-BARCINA, J. M.; GONZÁLEZ-OREJA, J. A.; SOTA, A. (2006). Assessing the improvement of the Bilbao estuary water quality in response to pollution abatement measures. **Water Research**, 40: 951–960.
- GESTEL, C. A. M.; BRUMMELEN, T. C. (1996). Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. **Ecotoxicology**, 5: 217-225.
- GONCALVES, J. A. C.; LENA, J. C.; PAIVA, J. F.; NALINI JR, H. A.; PEREIRA, J. C. (2007). Arsenic in the groundwater of Ouro Preto (Brazil): its temporal behavior as influenced by the hydric regime and hydrogeology. **Environmental Geology**, 53: 785–793.
- GORINSTEIN, S.; ARANCIBIA-AVILAB, P.; MONCHEVAC, S.; TOLEDO, F.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, A.; GOSHEV, I.; NAMIESNIK, J. (2006). Changes in mussel *Mytilus galloprovincialis* protein profile as a reaction of water pollution. **Environment International**, 32: 95-100.
- GREGÓRIO, A. M. S.; MENDES, A. C. (2009). Characterization of sedimentary deposits at the confluence of two tributaries of the Pará River estuary (Guajará Bay, Amazon). **Continental Shelf Research**, 29: 609–618.
- GUPTA, D. K.; INOUHE, M.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; SANDALIO, L. M. (2012). Oxidative stress and arsenic toxicity: Role of NADPH oxidases. **Chemosphere**, 90: 1987–1996.
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Biological Chemistry**, 249: 7130-7139.
- HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. (1981). Assay for differentiation of glutathione S-transferases. **Methods in Enzymology**, 77: 398-405.
- HACKENBERGER, B. K.; VELKI, M.; LONCARIC, Z.; HACKENBERGER, D. K. (2015). Effect of diferente flow rates on biomarker responses in commom cap (*Cyprinus carpio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 112: 153-160.
- HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. (2007). **Biochemical Society Transactions**, 35 (5): 1147-1150.
- HATJE, V.; MACEDO, S. M.; JESUS, R. M.; COTRIM, G.; GARCIA, K. S.; QUEIROZ, A. F.; FERREIRA, S. L. C. (2010). Inorganic As speciation and bioavailability in estuarine sediments of Todos os Santos Bay, BA, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, 60: 2225–2232.
- HERMES-LIMA, M. (2004). 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.
- HONG, Y.; PIAO, F. Y.; ZHAO, Y. F.; LI, S.; WANG, Y. Y.; LIU, P. (2009). Subchronic exposure to arsenic decreased Sdha expression in the brain of mice. **Neurotoxicology**, 30: 538–543.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **CENSO 2010**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 02 março 2015.

JOMOVA, K.; JENISOVA, Z.; FESZTEROVA, M.; BAROS, S.; LISKA, J.; HUDECOVA, D.; RHODES, C. J.; VALKO, M. (2011). Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. **Journal of Applied Toxicology**, 31: 95–107.

ZUANON, J.; FERREIRA, E. (2008). Feeding ecology of fishes in the Brazilian Amazon: a naturalistic approach In: CYRINO, J. E. P.; BUREAU, D. P.; KAPOOR, B. G. **Feeding and Digestive Functions of Fishes**. CRC Press: Boca Raton. p. 1-35.

KALNEJAIS, L. H.; MARTIN, W. R.; BOTHNER, M. H. (2010). The release of dissolved nutrients and metals from coastal sediments due to resuspension. **Marine Chemistry**, 121: 224-235.

KADIRVEL R.; SUNDARAM K.; MANI, S.; SAMUEL S, ELANGO N, PANNEERSELVAM, C. (2007). Supplementation of ascorbic acid and alpha-tocopherol prevents arsenic-induced protein oxidation and DNA damage induced by arsenic in rats. **Human Exposition Toxicology**, 26: 939-46.

KIM, J. H.; KANG, J. C. (2015). The arsenic accumulation and its effect on oxidative stress responses in juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*, exposed to waterborne Arsenic (As³⁺). **Environmental Toxicology and Farmacology**, 39: 668-676.

KIMPARA, J. M.; RIBEIRO, F.; ROSA, T.; PRETO, T. B. L.; VALENTI, W. C. (2011). Limnology of *Macrobrachium amazonicum* grow-out ponds subject to high inflow of nutrient-rich water and different stocking and harvest management. **Aquaculture Research**, 42: 1289- 1297.

LAVANYA, S.; RAMESH, M.; KAVITHA, C.; MALARVIZHI, A. (2011). Hematological, biochemical and ionoregulatory responses of Indian major carp *Catla catla* during chronic sublethal exposure to inorganic arsenic. **Chemosphere**, 82: 977–985.

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

LI, Y. N.; XIB, M. M.; GUOB, Y.; HAIB, C. X.; YANGA, W. L.; QIN, X. J. (2014). NADPH oxidase-mitochondria axis-derived ROS mediate arsenite-induced HIF-1 α stabilization by inhibiting prolyl hydroxylases activity. **Toxicology Letters**, 224: 165– 174.

LINDSTRÖM-SEPPÄ, P.; ROY, S.; HUUSKONEN, S.; TOSSAVAINEN, K.; RITOLA, O.; MARIN, E. (1996). Biotransformation and glutathione homeostasis in rainbow trout exposed to chemical and physical stress. **Marine Environmental Research**, 42: 323-327.

LIMA, M. O.; FAIAL, K. R. F.; SILVA, E.; SANTOS, E. C. O.; ANGÉLICA, R. S.; MENDES, R. A.; CARNEIRO, B. S.; SÁ, L. L. C.; JESUS, I. M. (2007). Avaliação de arsênio total, de elementos traços e bacteriológica em águas de consumo na comunidade do Elesbão, município de Santana, Estado do Amapá, Brasil. **Cadernos de Saúde Coletiva**, 15 (4): 467–482.

- LUNDBERG, J. G.; PARISI, B. M. (2002). *Propimelodus*, new genus, and redescription of *Pimelodus eigenmanni*, a long recognized yet poorly-known South American catfish (Pimelodidae: Siluriformes). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, 152 (1): 75-88.
- LUSHCHAK, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, 101: 13–30.
- MACIEL, C. R. (2007). **Alimentação do camarão-da-Amazônia (*Macrobrachium Amazonicum*) durante a fase larval**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura Universidade Estadual Paulista. 122p.
- MACIEL, C. R.; VALENTI, W. C. (2009). Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review. **Nauplius**, 17 (2): 61–79.
- MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. (2003). Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In: MARKERT, B.A.; BREURE, A.M.; ZECHMEISTER, H.G. (Eds.) **Bioindicators & Biomonitoring: Principles, Concepts and Applications**. Oxford: Elsevier Science. 328p.
- MARKERT, B.; WÜNSCHMANN, S. (2011). Bioindicators and Biomonitoring: Use of Organisms to Observe the Influence of Chemicals on the Environment. SCHRÖDER, P.; COLLINS, C. D. (Eds.). **Organic Xenobiotics and Plants: From Mode of Action to Ecophysiology, Plant Ecophysiology 8**. Springer. 320 p.
- MARTINS, A. A. V.; COSTA, R. A. M.; PEREIRA, L. C. C. (2006). Space-time distribution of zooplankton community in an Amazonian artificial coastal lagoon in Bragança, Pará, Brazil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais**, 1 (3): 103-111.
- MONSERRAT, J. M.; GERACITANO, L. A.; PINHO, G. L. L.; VINAGRE, T. M.; FALEIROS, M.; ALCIATI, J. C.; BIANCHINI, A. (2003). Determination of lipid peroxides in invertebrates tissues using the Fe (III) xylenol orange complex formation. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 45: 177–183.
- 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. (2007). Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, 146 (1–2): 221-234.
- MONTEIRO, M. A. (2003). A ICOMI no Amapá: meio século de exploração mineral. **Novos Cadernos NAEA**, 6 (2): 113-168.
- MONTEIRO, M. A. (2005). Mineração Industrial na Amazônia e suas Implicações para o Desenvolvimento Regional. **Novos Cadernos NAEA**, 8 (1): 141-187.
- MORAES, B. C.; COSTA, J. M. N; COSTA, A. C. L.; COSTA, M. H. (2005). Variação espacial e temporal da precipitação no estado do Pará. **Acta amazônica**, 35: 207-214.
- MOURA, E. M. **Mapeamento do halo de dispersão formado por efluentes industriais lançados na baía do Guajará no trecho compreendido entre o bairro de Val-de-Cães e**

o distrito de Icoaraci. 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado em Geologia e Geoquímica) - Instituto de Geociências, Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

MUKHOPADHYAY, R.; BHATTACHARJEE, H.; ROSEN, B. P. (2013). Aquaglyceroporins: Generalized metalloid channels. **Biochimica et Biophysica Acta**, 113: 67-82.

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

NICHOLLS, P. (2012). Classical catalase: Ancient and modern. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 525: 95–101.

NITTROUER, C. A.; DEMASTER D. J. (1996). Oceanography of the Amazon continental shelf. **Continental Shelf Research**, 16: 553–573.

OBSERVATÓRIO SOCIAL. (2003). **Relatório geral de observação: A ICOMI no Amapá**. Disponível em: <www.iepa.ap.gov.br/arquivopdf/ftp_pdf/ReGeicomport.pdf>. Acesso em: 12 Dez. 2013.

OLIVA, M.; VICENTE, J. J.; GRAVATO, C.; GUILHERMINO, L.; GALINDO-RIAÑO, M. D. (2012). Oxidative stress biomarkers in Senegal sole, *Solea senegalensis*, to assess the impact of heavy metal pollution in a Huelva estuary (SW Spain): Seasonal and spatial variation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 75: 151–162.

PEREIRA, S. F. P.; OLIVEIRA, G. R. F.; OLIVEIRA, J. S.; SILVA, J. S.; SOUSA JUNIOR, P. M. (2009a). Determinação espectrofotométrica do arsênio em solo da cidade de Santana-AP usando o método do dietilditiocarbamato de prata (SDDC) modificado. **Acta Amazônica**, 39: 953-960.

PEREIRA, S. F. P.; SARAIVA, A. F.; ALENCAR, M. I. F.; RONAN, S. E.; ALENCAR, W. S.; OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, C. S.; MIRANDA, R. G. (2009b). Arsenic in the Hair of the Individuals in Santana-AP-Brazil: Significance of Residence Location. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 84: 368–372.

PETER, S. (2013). Understanding the adaptive response in vertebrates: The phenomenon of ease and ease response during post-stress acclimation. **General and Comparative Endocrinology**, 181: 59-64.

PISANELLI, B.; BENEDETTI, M.; FATTORINI, D.; REGOLI, F. (2009). 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**, 77 (11): 1551–1557.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H.; LIM, R. P. (2012). Bioaccumulation, biotransformation and trophic transfer of arsenic in the aquatic food chain. **Environmental Research**, 116: 118–135.

RAHMAN, M. A.; HASSLER, C. (2014). Is arsenic biotransformation a detoxification mechanism for microorganisms? **Aquatic Toxicology**, 146: 212–219.

RAVENSCROFT, P.; BRAMMER, H.; RICHARDS, K. (2009). **Arsenic pollution: a global synthesis**. Wiley-Blackwell: United Kingdom. 617 p.

- REGOLI, F. (2012). Chemical pollutants and the mechanisms of reactive oxygen species generation in aquatic organisms. In: ABELE, D.; VÁZQUEZ-MEDINA, J. P.; ZENTENO-SAVÍN, T. (Ed.) **Oxidative stress in aquatic ecosystems**. Blackwell Publishing Ltd., 548 p.
- REGOLI, F.; GIULIANI, M. E. (2014). Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. **Marine Environmental Research**, 93: 106-117.
- REISCHL, E.; DAFRE, A. L.; FRANCO, J. L.; WILHELM-FILHO, D. (2007). Distribution, adaptation and physiological meaning of thiols from vertebrate hemoglobins. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 146 (1–2): 22-53.
- RIDGWAY, J.; SHIMMIELD, G. (2002). Estuaries as repositories of historical contamination and their impact on shelf seas. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 55: 903-928.
- ROCHA, A. M.; FREITAS, D. P. S.; BURNS, M.; VIEIRA, J. P.; TORRE, F. R.; MONSERRAT, J. M. (2009). 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**, 150: 512–520.
- ROSA-FILHO, J. S.; AVIZ, D. (2013). Macrobenthic communities of an Amazonian estuary (Guajará Bay, Brazil): temporal and spatial changes. **Journal of Coastal Research**, 65: 123-128.
- ROSEN, B. P. (2002). Biochemistry of arsenic detoxification. **FEBS Letters**, 52: 86-92.
- SANDRINI, J. Z.; VENTURA LIMA, J.; REGOLI, F.; FATTORINI, D.; NOTTIC, A.; MARINSA, L. F.; MONSERRAT, J. M. (2008). Antioxidant responses in the Nereididae *Laeonereis acuta* (Annelida, Polychaeta) after cadmium exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 70: 115-120.
- SANTOS, E. C. O.; JESUS, I. M.; BRABO, E. D.; FAYAL, K. F.; SÁ FILHO, G. C.; LIMA, M. O.; MIRANDA, A. M.; M.; MASCARENHAS, A. S.; SÁ, LENA L. C.; SILVA, A. P.; CÂMARA, V. M. (2003). Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 6 (2): 171-185.
- SANTRA, A. (2015). Arsenic-Induced Liver Injury. In: FLORA, S. J. S. **Handbook of Arsenic Toxicology**, London: Academic Press, 752p.
- SCARPELLI, W. (2003). Arsênio do minério de manganês de Serra do Navio. **Novos Cadernos NAEA**, 6 (1): 101-133.
- SELVARAJ, V.; ARMISTEAD, M. Y.; COHENFORD, M.; MURRAY, E. (2013). Arsenic trioxide (As₂O₃) induces apoptosis and necrosis mediated cell death through mitochondrial membrane potential damage and elevated production of reactive oxygen species in PLHC-1 fish cell line. **Chemosphere**, 90: 1201–1209.
- ŠETLÍKOVÁ, I.; WIEGAND, C. (2009). Hepatic and branchial glutathione S-transferases of two fish species: Substrate specificity and biotransformation of microcystin-LR. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 149: 515–523.

SHAH, A. Q.; KAZI, T. G.; ARAIN, M. B.; BAIG, A. J.; AFRIDI, H. I.; KANDHRO, G. A.; KHAN, S.; JAMALI, M. K. (2009). Hazardous impact of arsenic on tissues of same fish species collected from two ecosystem. **Journal of Hazardous Materials**, 167: 511–515.

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

SHI, H.; SHI, X.; LIU, K. J. (2004). Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 255: 67–78.

SOKOLOVA, I. M.; SUKHOTIN, A. A.; LANNIG, G. (2012). Stress effects on metabolism and energy budgets in mollusks. In: ABELE, D.; VÁZQUEZ-MEDINA, J. P.; ZENTENO-SAVÍN, T. (Ed.) **Oxidative stress in aquatic ecosystems**. Blackwell Publishing Ltd., 548 p.

SUÑER, M. A.; DEVESA, V.; MUÑOZ, O.; LÓPEZ, F.; MONTORO, R.; ARIAS, A. M.; BLASCO, J. (1999). Total and inorganic arsenic in the fauna of the Guadalquivir estuary: environmental and human health Implications. **The Science of the Total Environment**, 242: 261–270.

THOMPSON, E. D.; BURWINKEL, K.; CHAVA, A. K.; NOTCH, E. G.; MAYER G. D. (2010). Activity of Phase I and Phase II enzymes of the benzo[a]pyrene transformation pathway in zebrafish (*Danio rerio*) following waterborne exposure to arsenite. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 152: 371–378.

TORRE-RUIZ, M. A.; SERRANO, L.; PETKOVA, M. I.; PUJOL-CARRION, N. (2012). Signalling Oxidative Stress in *Saccharomyces cerevisiae*. In: LUSHCHAK, V.; SEMCHYSHYN, H. M. (Ed.). **Oxidative Stress–Molecular Mechanisms and Biological Effects**. InTech: Croácia. 374 p.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 13: 57-149.

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

VENTURA-LIMA, J.; CASTRO, M. R.; COSTA, D.; FATTORINI, D.; REGOLI, F.; CARVALHO, L. M.; BOHER, D.; GERACITANO, L. A.; BARROS, D. M.; MARINS, L. F.; MONSERRAT, J. M. (2009b). Effects of arsenic (As) exposure on the antioxidant status of gills of the zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). **Comparative Biochemistry and Physiology part C, Toxicology & Pharmacology**, 149: 538-543.

VENTURA-LIMA, J.; BOGO, M. R.; MONSERRAT, J. M. (2011). Arsenic toxicity in mammals and aquatic animals: a comparative biochemical approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 74: 211-218.

VIARENGO, A. CANESI, L.; PERTICA, M.; LIVINGSTONE, D. R. (1991). Seasonal variations in the antioxidant defense systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 100: 187-190.

VIARENGO, A.; LOWE, D.; BOLOGNESI, C.; FABBRI, E.; KOEHLER, A. (2007). The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 146: 281–300.

VIDAL-LIÑÁN, L.; BELLAS, J.; CAMPILLO, J. A.; BEIRAS, R. (2010). Integrated use of antioxidant enzymes in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring pollution in highly productive coastal areas of Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, 78: 265–272.

WAHEED, A.; MALIKA, R. N.; JAHAN, S. (2013). Health risk from As contaminated fish consumption by population living around River Chenab, Pakistan Sidra. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 36: 579–587.

ZAR, J. H. (1999). **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall. 663p.

ZHANG, Z.; WANG, X.; CHENG, S.; SUN, L.; SON, Y. O.; YAO, H.; LI, W.; BUDHRAJA, A.; LI, L.; SHELTON, B. J.; TUCKER, T.; ARNOLD, S. M.; XIANGLIN SHI. (2011). Reactive oxygen species mediate arsenic induced cell transformation and tumorigenesis through Wnt/ β -catenin pathway in human colorectal adenocarcinoma DLD1 cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 256: 114–121.

ZHANG, W.; HUANGA, L.; WANG, W. X. (2012). Biotransformation and detoxification of inorganic arsenic in a marine juvenile fish *Terapon jarbua* after waterborne and dietborne exposure. **Journal of Hazardous Materials**, 221–222: 162–169.

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