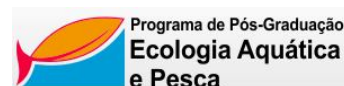




UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA

DANIELLE REGINA GOMES RIBEIRO

**Concentração de metais em distintos compartimentos ambientais e biomarcadores
bioquímicos em peixes residentes para avaliação da qualidade ambiental de região
do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil**

BELÉM-PA

2015

Concentração de metais em distintos compartimentos ambientais e biomarcadores bioquímicos em peixes residentes para avaliação da qualidade ambiental de região do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil

Danielle Regina Gomes Ribeiro

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

Orientadora: Profa. Dra. Lílían Lund Amado

Co-orientadora: Profa. Dra. Tatiana da Silva Pereira

BELÉM-PA

2015

Ribeiro, Danielle Regina Gomes,

Concentração de metais em distintos compartimentos ambientais e biomarcadores bioquímicos em peixes residentes para avaliação da qualidade ambiental de região do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil

Orientadora: Lílían Lund Amado

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Belém, 2015.

1. *Cichla melaniae*.
2. *Myloplus rubripinnis*.
3. Elementos traço.
4. Capacidade antioxidante.
5. Dano oxidativo

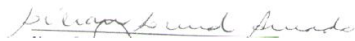
Danielle Regina Gomes Ribeiro

Concentração de metais em distintos compartimentos ambientais e biomarcadores bioquímicos em peixes residentes para avaliação da qualidade ambiental de região do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil

Dissertação apresentada 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.

Aprovada em: 10 / 03 / 2015.

Orientadora: _____



Profª Drª Lillian Lund Amado (Presidente da banca)
Professora/Pesquisadora – Universidade Federal do Pará - UFPA

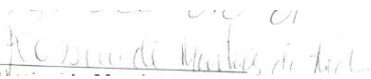
Banca examinadora



Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho (membro titular externo)
Professor/Pesquisador - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM



Prof. Dr. Luciano Fogaça de Assis Montag (membro titular interno)
Professor/Pesquisador - Universidade Federal do Pará – UFPA



Profª Drª Rossineide Martins da Rocha (membro titular interno)
Professora/Pesquisadora – Universidade Federal do Pará – UFPA

Prof. Dr. José Luis Fernandes Vieira (membro suplente)
Professor/Pesquisador – Universidade Federal do Pará – UFPA

Profª Drª Victoria Judith Isaac Nahum (membro suplente)
Professora/Pesquisadora – Universidade Federal do Pará – UFPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter concedido o prazer em realizar este trabalho e que lançou no mundo a biodiversidade do Xingu, e assim, pelo simples fato de fazer parte do ambiente possibilitou a divulgação científica do conhecimento.

Agradeço a FAO, MMA e FADESP pelo projeto.

Agradeço as grandes amigas do Xingu, porque sem eles jamais teríamos conseguido atingir o objetivo proposto.

Agradeço a minha grande orientadora, que por deveras vezes enxergou muito além do que nós e me confiou a tarefa árdua de desenvolver este trabalho.

Agradeço a minha família, que gentilmente me acariciou nos momentos de angústia e desespero: meu marido Godinho, que alegremente sempre me recebeu em seus braços; minha mãe ex-Gordinha, que com sábias palavras sempre me aquietou o coração; meu pai Magrinho, que sempre me apoiou e aos meus irmãos Desnaturados, pela admiração e carinho.

Agradeço grandemente e humildemente aos amigos que por diversas vezes lavaram minha louça, calcularam análises, fizeram mapas, me ouviram, riram comigo e assim foram simplesmente meus amigos.

Agradeço a banca por ter aceitado ao convite de compartilhar comigo a essa emoção que foi o Xingu e que está para sempre em mim.

E por fim, agradeço ao tempo por ter deixado eu terminar este belo trabalho.

RESUMO GERAL

O rio Xingu (Amazônia, Brasil), apresenta microambientes com características particulares e com numerosas espécies endêmicas. Tais espécies estão expostas aos diversos tipos de atividades antropogênicas que ocorrem ao longo do rio. Na região do município de São Félix do Xingu, situado no médio Xingu, a atividade antropogênica predominante é a extração mineral de cassiterita. As impurezas da cassiterita são retiradas por lixiviação podendo causar assoreamento dos córregos e rios. O processo de extração libera para o ambiente diversos metais e metaloides que tem o potencial de acumular nos distintos compartimentos ambientais (água, sedimento, solo e biota). Muitos destes elementos são capazes de induzir efeitos tóxicos nos organismos residentes, o que pode vir a comprometer a biodiversidade local. Os efeitos tóxicos primários de metais e metaloides envolvem alterações em baixos níveis de organização biológica (respostas bioquímicas, celulares ou fisiológica). Tais alterações podem ser usadas como biomarcadores, servindo como um aviso antecipado de efeitos que a longo prazo podem vir a atingir níveis de organização biológica superiores e com maior relevância ecológica. Em ecotoxicologia, os biomarcadores são aplicados em organismos biomonitores, residentes no local alterado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade ambiental de distintos pontos de uma região do médio Xingu através de parâmetros químicos e biológicos. Foram realizadas expedições em dois períodos pluviométricos (chuvoso – março e abril; e estiagem – junho e julho), com a coleta de amostras de água, sedimento e solo para as análises de metaloides e metais (As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni), em três áreas no rio Xingu (RX1, RX2 e RX3) com distintos históricos de contaminação, principalmente por atividades de mineração e pecuária. Além disso, foram coletados organismos biomonitores (*Cichla melaniae* – tucunaré e o *Myloplus rubripinnis* – pacu branco) para as análises de biomarcadores bioquímicos de exposição (capacidade antioxidante total - ACAP) e efeito (lipoperoxidação – LPO) em diferentes órgãos/tecidos (fígado, brânquias, cérebro e músculo), nas mesmas áreas citadas. A captura dos biomonitores foi realizada com o auxílio de anzol e ceva. O As na água, foi apontado como superior aos valores estabelecidos pelo CONAMA (águas de classe 2 com pesca) em todos os pontos avaliados e nas duas expedições realizadas. O Cr e o Ni no sedimento, foram mostrados em maiores concentrações no ponto RX2. O Cr no solo, está mais concentrado nas regiões de RX2 e RX3. O Pb e o Ni no solo, foram registrados em altos níveis no ponto RX2. Os dados de metais nos compartimentos ambientais sugerem uma forte relação com a atividade de garimpo. *Myloplus rubripinnis* da região RX2 apresentaram maiores níveis de defesas antioxidantes no fígado, cérebro e músculo do que os peixes da mesma espécie coletados nos outros pontos. Os animais desta mesma espécie se apresentaram mais suscetíveis a danos oxidativos no período estiagem. Tanto *Myloplus rubripinnis* quanto *Cichla melaniae* coletados nos pontos RX2 e RX3 apresentaram danos lipoperoxidativos em algum dos órgãos analisados. RX2 e RX3 são áreas com histórico de presença ou influência de garimpos principalmente visando a exploração de cassiterita e os resultados dos biomarcadores analisados indicam a presença de efeitos desta exposição às duas espécies estudadas, ainda que em baixos níveis de organização biológica.

Palavras-chave: *Cichla melaniae*, *Myloplus rubripinnis*, elementos traço, capacidade antioxidante, dano oxidativo

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

CAPÍTULO GERAL

Figura 1 – Mapa de localização dos pontos de coleta de água, sedimento, solo e organismos biomonitorios.	12
---	----

ARTIGO

Figuras

Figura 1 – Mapa de localização dos pontos de coleta de água, sedimento, solo e organismos biomonitorios.	22
Figura 2 - Variação pluviométrica de São Félix do Xingu no ano de 2014.....	26
Figura 3 – Análise de Componentes Principais (PCA) performada com os valores dos parâmetros físico-químicos.	32
Figura 4 – Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) no fígado de <i>C. melaniae</i> e <i>M. rubripinnis</i>	33
Figura 5 – Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) em brânquias de <i>C. melaniae</i> e <i>M. rubripinnis</i>	34
Figura 6 - Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) no cérebro de <i>C. melaniae</i> e <i>M. rubripinnis</i>	35
Figura 7 – Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) no músculo de <i>C. melaniae</i> e <i>M. rubripinnis</i>	36

Tabelas

Tabela 1 - Parâmetros abióticos registrados no período chuvoso.....	27
Tabela 2- Parâmetros abióticos registrados no período de estiagem..	27
Tabela 3 - Concentração total de elementos químicos na água no período chuvoso.....	28
Tabela 4 - Concentração total de elementos químicos na água no período de estiagem.	28
Tabela 5 – Concentração total de elementos químicos no sedimento, no período chuvoso.....	29
Tabela 6 – Concentração total de elementos químicos no solo, no período chuvoso.....	30
Tabela 7– Análise de Componentes Principais (PCA), elementos das variáveis abióticas e elementos químicos..	31

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
OBJETIVO GERAL	11
MATERIAL E MÉTODOS	11
ÁREA DE ESTUDO	11
OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS ABIÓTICAS	12
COLETA DOS BIOMONITORES	13
ANÁLISE DE METAIS NAS MATRIZES AMBIENTAIS	13
ANÁLISE DE BIOMARCADORES	14
Capacidade Antioxidante Contra Radicais Peroxil (ACAP)	14
Avaliação da Peroxidação Lipídica (LPO)	14
ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
ARTIGO: Concentração de metais em distintos compartimentos ambientais e biomarcadores bioquímicos em peixes residentes para avaliação da qualidade ambiental de região do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil	19
RESUMO	19
1. INTRODUÇÃO	20
2. MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1. Amostragem	23
2.1.1. Amostras abióticas	23
2.1.2. Coleta dos Biomonitorios	23
2.1.3. Análise de Metais nas Matrizes Ambientais	24
2.2. Análise de Biomarcadores	24
2.2.1. Capacidade Antioxidante Contra Radicais Peroxil (ACAP)	24
2.2.2. Avaliação da Peroxidação Lipídica (LPO)	25
2.3. Análise Estatística	25
3. RESULTADOS	26
3.1. Parâmetros abióticos em água	27
3.2. Metais na água	27
3.3. Metais no Sedimento	29

3.4. Metais no Solo	30
3.5. Análise de Componentes Principais	31
3.6. Análise de Biomarcadores.....	32
4. DISCUSSÃO	36
5. CONCLUSÃO.....	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

INTRODUÇÃO GERAL

A bacia do rio Xingu vem sofrendo impactos antrópicos crescentes nos últimos. O rio Xingu é um dos tributários da margem direita do rio Amazonas. Nasce na altura do paralelo 15° S, no estado do Mato Grosso, na área da Serra do Roncador, a uns 200 km de Cuiabá, e desemboca logo após Porto de Moz e Gurupá, no estuário do rio Amazonas, pouco ao norte do paralelo 2° S. Possui mais de 1.600 km de comprimento (Isaac et al., 2008). A precipitação anual, gira em torno de 1.680 mm, sendo que os meses mais chuvosos (cheia) vão de dezembro a maio e estiagem (seca) de junho a novembro, o excedente de água ocorre entre fevereiro e abril e a maior deficiência, em setembro (IDESP/SEPOF, 2011).

Assim como em outros corpos d'água, no rio Xingu as concentrações de contaminantes na água, no sedimento e no solo próximo as zonas de mineração aumentam a toxicidade nos organismos aquáticos e consequentemente aumento das EROs como resultado da tentativa de detoxificação, levando a danos em macromoléculas como lipídeos (lipoperoxidação), DNA (mutação) e proteínas (oxidação proteica; Zagatto & Bertoletti, 2006; Brabo, 2010; Halliwell, 2011).

Pequenas quantidades de EROs são neutralizadas pelo sistema de defesa antioxidante (enzimáticos e não-enzimáticos; Nordberg e Arnér, 2001). As enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), a glutathione redutase (GR), glutathione S-transferase (GST) e a tioredoxina redutase (Trx) servem como a linha primária de defesa contra os EROs (Michiels et al., 1994; Nordberg e Arnér, 2001).

Desta forma, o estudo das defesas antioxidantes e de danos oxidativos em sistemas biológicos aquáticos tem sido objeto de significativo interesse em estudos ecotoxicológicos, pois a quantificação do dano pode avaliar o efeito tóxico causado por poluentes (Valavanidis et al., 2006). Estudos têm mostrado que os indicadores biológicos ou biomarcadores fornecem dados quantitativos e qualitativos para estimar e/ou monitorar mudanças ocorridas no ambiente (Monserrat et al., 2003; 2008; Amado et al., 2006; 2009).

Sendo assim, biomarcadores são definidos como a resposta biológica a um agente químico que fornecem uma medida da exposição e/ou do efeito tóxico destes químicos (Depledge, 1994). Por este motivo, a análise de biomarcadores pode ser utilizada para prever o potencial efeito ou dano de um agente químico ambiental a

uma população, comunidades ou até mesmo ao ecossistema em questão (Depledge, 1989; 1994; Valavanidis et al., 2006).

Os peixes no ambiente aquático somado ao seu papel chave nas cadeias alimentares, funcionando como elos de ligação entre os menores e maiores níveis tróficos, faz com que a compreensão de efeitos tóxicos neste grupo de organismos tenha um alto significado ecológico (Van Der Oost et al., 2003). Por este motivo, peixes têm sido utilizados como organismos biomonitores para avaliar os efeitos dos contaminantes ambientais (Adams & Greeley, 2000; Rodrigues et al., 2010; Santos et al., 2013; Liu et al., 2014).

Neste estudo, *Myloplus rubripinnis* Müller & Troschel, 1844, e *Cichla melaniae* Kullander e Ferreira, 2006, pacu branco e tucunaré (endêmico), respectivamente, foram utilizados como organismos biomonitores. Ambas as espécies são consideradas importantes para o ambiente por se tratarem de organismos de níveis tróficos diferentes, visto que o pacu branco é frugívoro e o tucunaré é carnívoro, e considerados economicamente relevantes para a região, tanto para o consumo como para a pesca esportiva.

OBJETIVO GERAL

Analisar biomarcadores bioquímicos de exposição e efeito em cérebro, brânquias, fígado e músculo dos peixes *Cichla melaniae* e *Myloplus rubripinnis*, oriundos de diferentes pontos do rio Xingu, com distintos históricos de contaminação, em períodos chuvoso e de estiagem, do ano de 2014, em paralelo com a análise das concentrações de metais na água, sedimentos e solo.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

Duas expedições foram feitas neste estudo, uma de março a abril de 2014, considerado como período chuvoso e outra de junho a julho de 2014, considerado como período de estiagem.

Na região do médio rio Xingu (RX), foram selecionados 3 pontos de coleta: RX1 (S07°00'11,3'' W 052°25'06,7''); RX2 (S 06°49'42,8'' W 052°00'19,7''); e RX3 (S 06°33'56,7'' W 052°03'52,3''). Estes pontos foram selecionados de acordo com distintos históricos de contaminação: RX1 é uma região mais afastada de impactos

antrópicos próxima a reservas indígenas, mas com algumas fazendas de gado nas proximidades; RX2 é uma área com histórico de presença de garimpos principalmente visando a exploração de cassiterita; e RX3 recebe a influência dos rejeitos urbanos e do rio Fresco, afluente do rio Xingu com muitas mineradoras na sua extensão (Fig. 1).

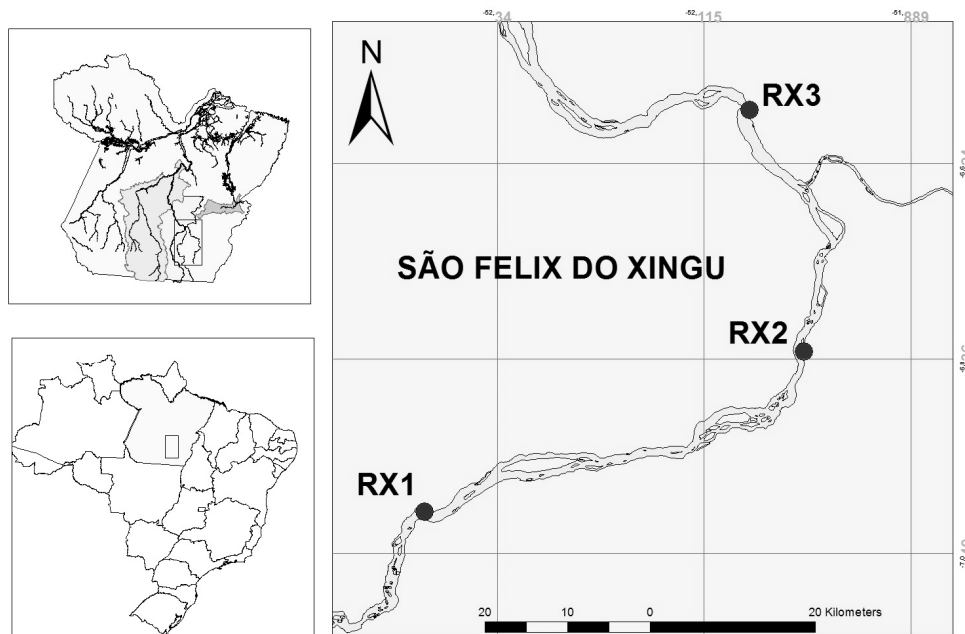


Figura 1 – Mapa de localização dos pontos de coleta de água, sedimento, solo e organismos biomonitores. RX1, RX2 e RX3. Mapa: Johnata Azevedo.

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS ABIÓTICAS

Para a determinação da contaminação inorgânica no ambiente (metais e metalóide), foram coletadas amostras de água, sedimento e solo em todos os pontos selecionados. A água foi amostrada em ambos os períodos enquanto que o solo e sedimento foram coletados apenas no período chuvoso.

Em cada uma das expedições foram coletadas 10 amostras de água, solo e sedimento por ponto selecionado. As amostras de água foram coletadas manualmente, mergulhadas a 30 cm da superfície e após a coleta foram congeladas. O solo foi coletado com auxílio de coletor manual tipo core, retirando-se 20 cm de perfil vertical. O sedimento foi coletado com auxílio de draga tipo van-veen manual. No momento da coleta, foram medidos os parâmetros abióticos (condutividade, pH e temperatura), com sonda portátil WPC35+-VALOX®, oxigênio dissolvido com medidor de oxigênio DO-5519-LT e transparência com disco de Secchi. Todas as medições obedeceram sempre ao mesmo horário, das 8:00h as 9:00h.

Em laboratório, os solos e sedimentos foram secos em estufa a 50 °C, para evaporação do excesso de água, posteriormente enviados ao Laboratório de Análises Químicas, da UFSM (Universidade Federal de Santa Maria) para análise das concentrações totais dos metais As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni.

COLETA DOS BIOMONITORES

Neste estudo, *Myloplus rubripinnis* Müller & Troschel, 1844, e *Cichla melaniae* Kullander e Ferreira, 2006, pacu branco e tucunaré, respectivamente, foram utilizados como organismos biomonitores. Ambas as espécies são consideradas importantes para o ambiente por se tratarem de organismos de níveis tróficos diferentes, visto que o pacu branco é frugívoro e o tucunaré é carnívoro, outro fator importante é que o *C. melaniae* é uma entre tantas outras espécies endêmicas da bacia do Xingu. Ambas as espécies são consideradas economicamente relevantes para a região, tanto para o consumo como para a pesca esportiva.

Em cada uma das expedições, foram capturados espécimes de *C. melaniae* e *M. rubripinnis* com autorização do IBAMA/MMA através da licença no. 1036741. Para a coleta de *C. melaniae* foi utilizada pesca com anzol tamanho 1 e isca viva (piaba) e artificial. A captura de *M. rubripinnis* foi realizada com a metodologia do uso da ceva. Logo após a captura, os animais foram crioanestesiados, mortos e transportados em gelo até a base local para a dissecação.

Os peixes foram individualmente pesados e medidos e, posteriormente, sobre uma base com gelo, extraiu-se o fígado, as brânquias, o cérebro e o músculo. Os órgãos/tecidos foram mantidos em nitrogênio líquido até o transporte para o Laboratório de Toxicologia (LATOX) na Universidade Federal do Pará (UFPA). Em laboratório os tecidos foram mantidos a - 80°C até o momento das dosagens.

ANÁLISE DE METAIS NAS MATRIZES AMBIENTAIS

As amostras foram processadas inicialmente por digestão ácida empregando a mistura oxidante $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ de acordo com o método de referência EPA3050B descrito pelo *Environmental Protection Agency* (EPA, EUA) (*Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils, Revision 2, 1996*). As amostras de água foram analisadas diretamente sem processamento ou diluição. Após a digestão total, as

amostras foram diluídas em água ultrapura (Milli-Q) e analisadas de acordo com as metodologias validadas para cada elemento.

As análises foram realizadas por espectrometria de absorção atômica empregando as técnicas de atomização em chama NOVAA 300 (Cr, Pb, Cd, Ni e Cu), forno de grafite Analytik Jena modelos Zenit 600 (Cr, Pb, Cd, Ni e Cu), geração de hidretos HS60 (As) e vapor frio de mercúrio (Hg). As concentrações dos elementos foram calculadas em $\mu\text{g/L}$ (ppb) para águas e mg/kg (ppm) para sedimentos e solos de acordo com as massas empregadas no processo de digestão inicial.

ANÁLISE DE BIOMARCADORES

Capacidade Antioxidante Contra Radicais Peroxil (ACAP)

Os tecidos/órgãos extraídos foram homogeneizados em solução tampão contendo Tris-HCl, EDTA e Cloreto de Magnésio, conforme descrito por White et al. (2003), na proporção de 1:4 (p:v). A seguir foram centrifugados por 20 min, a $10.000\times g$ à 4°C . O sobrenadante obtido foi utilizado para a dosagem da capacidade antioxidante total (ACAP) e determinação do conteúdo de proteínas totais por Kit comercial (Biureto, Doles).

A ACAP foi medida de acordo com o protocolo descrito por Amado et al. (2009).

Avaliação da Peroxidação Lipídica (LPO)

A peroxidação lipídica foi quantificada pelo método FOX modificado (Hermes-Lima et al., 1995; Monserrat et al., 2003).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram testados quanto a sua normalidade e a homogeneidade das variâncias, através dos testes de Shapiro-Wilks e Levene, respectivamente. Após, as médias dos diferentes grupos amostrados foram comparadas através de análise de variância de duas vias (Two Way-ANOVA). Caso sejam observadas diferenças significativas, os dados foram submetidos ao teste *a posteriori* de Tukey. Os dados que não cumpriram os pressupostos de normalidade e/ou homogeneidade das variâncias, foram matematicamente transformados e se persistido o não cumprimento dos

pressupostos foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis. O nível de significância adotado foi de 95% ($\alpha=0,05$). Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão (ZAR, 2010). Para reduzir a dimensionalidade de um conjunto grande de variáveis foi utilizada a Análise de Componentes Principais (PCA; Anderson, 2006), como uma forma de manter o máximo de variância dos dados, baseada nos Autovalores > 1 , performada, utilizando-se distâncias Euclidianas, em uma matriz de três variáveis (ambientais – chuvoso e estiagem; abióticas - pH, condutividade, temperatura, OD e transparência; e químicas - As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, S.M., Greeley, M.S., 2000. Ecotoxicological indicators of water quality: Using multi-response indicators to assess the health of aquatic ecosystems. *Water, Air, and Soil pollution*, 123, 103–115.
- Amado, L.L., Rosa, C.E., Leite, A.M., Moraes, L., Pires, W.V., Leães-Pinho, G.L., Martins, C.M.G., Robaldo, R.B., Nery, L.E.M., Monserrat, J.M., 2006. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and nonpolluted areas from the Patos Lagoon estuary (southern Brazil): evidences of genotoxic and immunological effects. *Mar. Pol. Bull.*, 52, 199-206.
- Amado, L. L., Longaray-Garcia, M., Ramos, P.B., Freitas, R.F., Zafalon, B., Ferreira, J.L.R., 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*, v. 407, 2115-2123.
- Anderson, M.J., 2006. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics.*, 62, 245-253.
- Brabo, E.S., 2010. Geoquímica do mercúrio na bacia do Rio Tapajós: do natural ao antropogênico. 1.ed. Ananindeua/PA: Editora IEC. 274 p.
- Depledge, M.H., 1989. The rational basis for detection of the early effects of marine pollutants using physiological indicators. *Ambio*, Vol. 18, 301-302.
- Depledge, M.H., Fossi, M.C., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). *Invertebrates. Ecotoxicology* 3, 161-172.
- Halliwell, B., 2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? *Trends Pharmacol Sci*, Vol. 32, No. 3, 125-130.
- Hermes- Lima, M., Willmore, W.G., Storey, K.B., 1995. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (II) xylenol orange complex formation. *Free Radical Biol. & Med*, 19, 271-280.

IDESP – Instituto de Desenvolvimento Econômico, Social e Ambiental do Pará. Estatística Municipal: Altamira. SEPOF - Secretaria Executiva de Estado de Planejamento, Orçamento e Finanças. Governo do Estado do Pará, 2011.

Kullander, S.O., Ferreira, E.J.G., 2006. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). Ichthyol. Explor. Freshwaters, Vol. 17, No. 4, 289-398., ISSN 0936-9902.

Liu, J., Lu, G., Wang, Y., Yan, Z., Yang, X., Ding, J., Jiang, Z., 2014. Bioconcentration, metabolism, and biomarker responses in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to roxithromycin. Chemosphere. v. 99, 102–108.

Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., Remacle, J., 1994. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. Free Radic. Biol. Med. 17, 235–248.

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) xylene orange complex formation. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45, 177–183.

Monserrat, J.M., Lima, J.V., Ferreira, J.L.R., Acosta, D., Garcia, M.L., Ramos, P.B., Moraes, T.B., Santos, L.C., Amado, L.L., 2008. Modulation of antioxidant and detoxification responses mediated by lipoic acid in the fish *Corydoras paleatus* (Callychthyidae). Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 148, 287-292.

Müller, J., Troschel, F. H., 1844. Synopsis generum et specierum familiae characinorum (Prodromus descriptions novorum generum et specierum). Archiv. Naturgesch., 10(1):81-99.

Nordberg, J., Arnér, E.S.J., 2001. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. Free Radical Biology & Medicine, v. 31, n.11, 1287-1312.

Rodrigues, A.P.C., Maciel, P.O., Pereira da Silva, L.C., Albuquerque, C.C., Inácio, A. F., 2010. Biomarkers for Mercury Exposure in Tropical Estuarine Fish. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 5, n. 1, 9-18. doi: 10.5132/jbse.2010.01.003.

Santos, D.M., Santos, G.S., Cestari, M.M., Ribeiro, C.A.O., Assis, H.C.S., Yamamoto, F., Guiloski, I.C., Marchi, M.R.R., Montone, R.C., 2013. Bioaccumulation of butyltins and liver damage in the demersal fish *Cathorops spixii* (Siluriformes, Ariidae). Environ Sci Pollut Res. DOI 10.1007/s11356-013-2280-y.

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol., 13, 57–149.

Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dessenakis, M., Scoullou, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety. Volume 64, Issue 2, 178–189.

Zagatto, P. A., Bertoletti, E., 2006. Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações. São Carlos: RiMa, 478 p., ISBN – 85-7656-090-9.

Zar, J.H., 2010. Biostatistical Analysis, 5th Edition. ISBN-13: 978-0321656865.

Capítulo único formatado de acordo com a revista científica **Aquatic Toxicology**, disponível em: <http://www.elsevier.com/journals/aquatic-toxicology/0166-445X/guide-for-authors>

ARTIGO: Concentração de metais em distintos compartimentos ambientais e biomarcadores bioquímicos em peixes residentes para avaliação da qualidade ambiental de região do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil

Danielle Regina Gomes Ribeiro¹, Leandro Machado de Carvalho², Tatiana da Silva Pereira³, LÍlian Lund Amado¹.

¹ Grupo de Pesquisa em Biomarcadores de Poluição Aquática na Amazônia - Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, CEP: 66.075-110, Belém, Pará, Brazil. E-mail: danielle_rgr@hotmail.com; lilian.amado@gmail.com;

² Departamento de Químicas, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, Caixa Postal 5051 CEP: 97105-970, Santa Maria – RS; E-mail: lemacarvalho@gmail.com

³ Laboratório de Ecologia – Campus Altamira, Universidade Federal do Pará, Av. Cel. José Porfírio 2515, São Sebastião, Altamira-Pa. CEP: 68372-040. E-mail: tatianasp@gmail.com.

E-mail correspondente: danielle_rgr@hotmail.com.

RESUMO

Este trabalho teve dois objetivos principais: (1) determinar os níveis de diferentes elementos (Cu, Pb, Cd, As, Cr e Hg), em suas concentrações totais na água, sedimento e solo em três distintos pontos amostrados na região do médio rio Xingu, Amazônia, Brasil e (2) avaliar respostas biológicas frente à essa potencial contaminação, através biomarcadores bioquímicos de exposição (capacidade antioxidante total - ACAP) e efeito (lipoperoxidação - LPO), em diferentes órgãos/tecidos (fígado, brânquias, cérebro, músculo) dos organismos biomonitores selecionados (*Cichla melaniae* e *Myloplus rubripinnis*). Tanto as amostras dos compartimentos ambientais quanto as biológicas foram coletadas em dois diferentes períodos do ano de 2014 (Expedição 1 – março e abril; período chuvoso e Expedição 2 – junho e julho; período de estiagem). O As na água, foi apontado como superior aos valores estabelecidos pelo CONAMA em todos os pontos avaliados e nas duas expedições realizadas. O Cr e o Ni no sedimento, foram mostrados em maiores concentrações nos pontos RX2. O Cr no solo, está mais concentrado nas regiões de RX2 e RX3. O Pb e o Ni no solo, foram registrados em altos níveis no ponto RX2. Os dados de metais nos compartimentos ambientais sugerem uma

forte relação com as áreas de garimpo. *Myloplus rubripinnis* coletados na região RX2 apresentaram maiores níveis de defesas antioxidantes no fígado, cérebro e músculo do que os peixes da mesma espécie coletados nos outros pontos. Os animais desta mesma espécie se apresentaram mais suscetíveis a danos oxidativos no período estiagem. Tanto *Myloplus rubripinnis* quanto *Cichla melaniae* coletados nos pontos RX2 e RX3 apresentaram danos lipoperoxidativos em algum dos órgãos analisados. RX2 e RX3 são áreas com histórico de presença ou influência de garimpos principalmente visando a exploração de cassiterita e os resultados dos biomarcadores analisados indicam a presença de efeitos desta exposição às duas espécies estudadas, ainda que em baixos níveis de organização biológica.

Palavras-chave: *Cichla melaniae*, *Myloplus rubripinnis*, elementos traço, capacidade antioxidante, dano oxidativo

1. INTRODUÇÃO

A Amazônia brasileira vem sendo impactada com numerosos projetos de desenvolvimento econômico e de uso da biodiversidade. Em paralelo, as agências de proteção ambiental não conseguem acompanhar esta corrida econômica, no sentido de garantir a preservação dos recursos naturais (Camargo et al., 2004). O município de São Félix do Xingu, localizado na região do médio Xingu, estado do Pará (Amazônia oriental), vem se destacando como uma região de crescente implantação de garimpos, principalmente para a extração de cassiterita, que visa a obtenção do estanho, mineral usado principalmente para a composição de latas que armazenam alimentos e de aparelho eletrônicos (Falcon, 1982).

A atividade garimpeira, a exemplo da extração de cassiterita, gera a liberação de vários metais para o meio aquático. Nos processos de lavra, metais presentes no ambiente (Alumínio, Cádmio, Chumbo, Cobre, Cromo, Ferro, Manganês, Mercúrio e Zinco) são desprendidos, concentrados e liberados junto aos rejeitos nos rios (Fortier et al., 2000; Artaxo et al., 2002; Tinôco et al., 2010), concentrando-se na água e sedimento. A persistência desses metais no ambiente é facilitada por apresentarem forma livre ou iônica, o que favorece sua biodisponibilidade e consequente bioacumulação nos tecidos dos organismos aquáticos. Dependendo da quantidade assimilada, diversos efeitos tóxicos podem ser desencadeados, o que a longo prazo pode vir a comprometer a

biodiversidade dos locais contaminados (Queiroz, 2006; Méndez-Fernández et al., 2014).

Os efeitos tóxicos primários sempre se fazem sentir em nível de biomoléculas. Desta forma, nas últimas décadas, a poluição no meio aquático, tem sido avaliada através das mudanças bioquímicas em moléculas chave (biomarcadores), avaliadas em organismos residentes nos locais poluídos, chamados biomonitores. Os biomarcadores são capazes de demonstrar os efeitos tóxicos dos poluentes de uma forma precoce, fornecendo dados quantitativos e qualitativos para estimar e/ou monitorar alterações ocorridas no ambiente antes que maiores níveis de organização biológica que são ecologicamente mais relevantes sejam atingidos (Depledge, 1989; 1994; Monserrat et al., 2003; 2008; Valavanidis et al., 2006; Amado et al., 2006; 2009).

Dentre os biomarcadores mais utilizados, estão os relacionados aos parâmetros de estresse oxidativo. Isso deve-se ao fato de que diversos poluentes alteram o metabolismo dos organismos expostos, favorecendo a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) em níveis acima do que as defesas antioxidantes naturais são capazes de neutralizar. O excesso de EROs, desta forma, gera danos oxidativos em biomoléculas essenciais para o funcionamento celular como lipídeos, DNA e proteínas. Uma vez oxidadas, tais moléculas passam a não desempenhar suas funções adequadamente, comprometendo o funcionamento normal do organismo (Valavanidis et al., 2006).

A imensa diversidade de peixes proporciona a estes organismos fazerem parte da cadeia alimentar em diferentes níveis tróficos, mantendo assim o equilíbrio entre as diferentes espécies no ambiente. Por este motivo, peixes têm sido utilizados como organismos biomonitores para avaliar os efeitos dos contaminantes ambientais através dos biomarcadores (Adams & Greeley, 2000).

O objetivo deste trabalho foi determinar os níveis de diferentes metais e metaloides (Cu, Pb, Cd, As, Cr e Hg), em suas concentrações totais na água, sedimento e solo de distintos pontos amostrados na região do médio rio Xingu, além de avaliar respostas biológicas frente à essa potencial contaminação, através biomarcadores bioquímicos de exposição (capacidade antioxidante total - ACAP) e efeito (lipoperoxidação - LPO), em diferentes órgãos/tecidos (fígado, brânquias, cérebro, músculo e sangue) dos organismos biomonitores selecionados (*Cichla melaniae* e *Myloplus rubripinnis*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Duas expedições foram feitas neste estudo, uma de março a abril de 2014, considerado como período chuvoso e outra de junho a julho de 2014, considerado como período de estiagem.

Na região do médio rio Xingu (RX), foram selecionados 3 pontos de coleta (Fig. 1): RX1 (S07°00'11,3'' W 052°25'06,7''); RX2 (S 06°49'42,8'' W 052°00'19,7'') e RX3 (S 06°33'56,7'' W 052°03'52,3''). Estes pontos foram selecionados de acordo com distintos históricos de contaminação: RX1 é uma região mais afastada de impactos antrópicos próxima a reservas indígenas, mas com algumas fazendas de gado nas proximidades; RX2 é uma área com histórico de presença de garimpos principalmente visando a exploração de cassiterita; e RX3 são localidades que recebem a influência dos rejeitos urbanos e do rio Fresco (local com intensa atividade mineradora), afluente do rio Xingu.

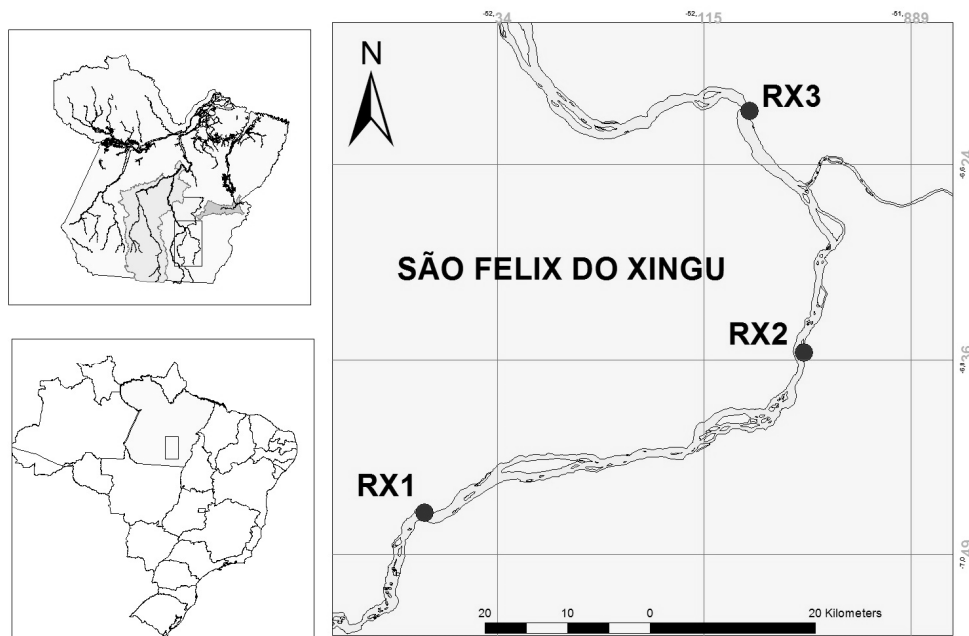


Figura 1 – Mapa de localização dos pontos de coleta de água, sedimento, solo e organismos biomonitoradores. RX1, RX2, e RX3. Mapa: Johnata Azevedo.

Para a determinação da contaminação inorgânica no ambiente (metais e metalóide), foram coletadas amostras de solo, água e sedimento em todos os pontos selecionados. Solo e sedimento foram coletados apenas no período chuvoso e a água foi amostrada nos dois períodos. Neste estudo, *Myloplus rubripinnis* Müller & Troschel, 1844, e

Cichla melaniae Kullander e Ferreira, 2006, pacu branco e tucunaré, respectivamente, foram utilizados como organismos biomonitorios. Ambas as espécies são consideradas importantes para o ambiente por se tratarem de organismos de níveis tróficos diferentes, visto que o pacu branco é frugívoro e o tucunaré é carnívoro. Outro fator importante é que o *C. melaniae* é uma espécie endêmica da bacia do Xingu. Ambas as espécies são consideradas economicamente relevantes para a região, tanto para o consumo como para a pesca esportiva.

2.1. Amostragem

2.1.1. Amostras abióticas

Em cada uma das expedições foram coletadas 10 amostras de água, sedimento e solo por ponto selecionado. As amostras de água foram coletadas manualmente, sendo mergulhadas a 30 cm da superfície e armazenadas em frascos de poliuretano devidamente identificados, após a coleta essas amostras foram congeladas. O solo foi coletado com auxílio de coletor manual tipo core, retirando-se 20 cm de perfil vertical, e armazenado em sacos plásticos. O sedimento foi coletado com auxílio de draga tipo van-veen manual e acondicionado em sacos plásticos. No momento da coleta, foram medidos os parâmetros abióticos (condutividade, pH, temperatura, transparência e oxigênio dissolvido). Os parâmetros condutividade, pH e temperatura foram medidos com sonda portátil WPC35+-VALOX®; o oxigênio dissolvido foi verificado com medidor de oxigênio DO-5519-LT e a transparência com disco de Secchi. Todas as medições obedeceram sempre ao mesmo horário, das 8:00h as 9:00h.

Em laboratório, os solos e sedimentos foram transferidos para sacos de papel identificados e secos em estufa a 50 °C, para evaporação do excesso de água. O solo e sedimento coletados foram enviados ao Laboratório de Análises Químicas, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As amostras de água, sedimento e solo foram analisadas para as concentrações totais dos elementos As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni.

2.1.2. Coleta dos Biomonitorios

Em cada uma das expedições, foram coletados espécimes de *C. melaniae* e *M. rubripinnis* com autorização do IBAMA/MMA através da licença no. 1036741. Para a coleta de *C. melaniae* foi utilizada pesca com anzol tamanho 1 e isca viva (piaba) e artificial. A captura de *M. rubripinnis* foi realizada com a metodologia do uso da ceva, utilizada tradicionalmente por pescadores locais, para atrair os peixes frugívoros. A ceva consiste no uso do milho, soja, macaxeira ou castanha do Pará, fermentada em

água e colocada em um saco de fibra em um ponto no rio. Deixa-se por um ou dois dias depois volta-se ao local para pescar os peixes que foram atraídos. Logo após a captura, os animais foram crioanestesiados, mortos e transportados sob gelo até a base local para a dissecação.

Os peixes foram individualmente pesados e medidos e, posteriormente, sobre uma base com gelo, extraiu-se o fígado, as brânquias, o cérebro e o músculo. Os órgãos/tecidos foram acondicionados em microtubos estéreis de 2,0 mL, identificados e mantidos em nitrogênio líquido até o transporte para o Laboratório de Toxicologia (LATOX) na Universidade Federal do Pará (UFPA). Em laboratório os tecidos foram mantidos a -80°C até o momento das análises.

2.1.3. Análise de Metais nas Matrizes Ambientais

As amostras foram processadas inicialmente por digestão ácida empregando a mistura oxidante $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ de acordo com o método de referência EPA3050B descrito pelo *Environmental Protection Agency* (EPA, EUA) (*Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils, Revision 2, 1996*). As amostras de água foram analisadas diretamente sem processamento ou diluição. Após a digestão total, as amostras foram diluídas em água ultrapura (Milli-Q) e analisadas de acordo com as metodologias validadas para cada elemento.

As análises foram realizadas por espectrometria de absorção atômica empregando as técnicas de atomização em chama NOVAA 300 (Cr, Pb, Cd, Ni e Cu), forno de grafite Analytik Jena modelos Zenit 600 (Cr, Pb, Cd, Ni e Cu), geração de hidretos HS60 (As) e vapor frio de mercúrio (Hg). As concentrações dos elementos foram calculadas em $\mu\text{g/L}$ (ppb) para águas e mg/kg (ppm) para sedimentos e solos de acordo com as massas empregadas no processo de digestão inicial.

2.2. Análise de Biomarcadores

2.2.1. Capacidade Antioxidante Contra Radicais Peroxil (ACAP)

Os tecidos/órgãos extraídos foram homogeneizados em solução tampão contendo Tris-HCl, EDTA e Cloreto de Magnésio, conforme descrito por White et al. (2003), na proporção de 1:4 (p:v). A seguir foram centrifugados por 20 min, a $10.000 \times g$ à 4 °C. O sobrenadante obtido foi utilizado para a dosagem da capacidade antioxidante total (ACAP) e determinação do conteúdo de proteínas totais por Kit comercial (Biureto, Doles).

A ACAP foi medida de acordo com o protocolo descrito por Amado et al. (2009). Este protocolo baseia-se na detecção indireta de espécies reativas de oxigênio (EROs) por fluorimetria (ex/em: 485/520 nm), com o uso do 2',7' diclorofluorescina (H₂DCF-DA, Molecular Probes) como substrato e a geração de radicais peroxil pela decomposição térmica do 2,2'-azobis (ABAP, Sigma-Aldrich) a 37 °C. O ABAP produz radicais peroxil que são interceptados pelas defesas antioxidantes presentes na amostra, quanto maior a capacidade da amostra interceptar os radicais peroxil, menor a fluorescência. Após testes com diversas concentrações de proteínas, detectou-se que os melhores sinais de leitura e os melhores ajustes de curvas ao longo de 60 min de leitura foram com 0,75 mg de proteínas/mL para todos os tecidos de *C. melaniae* e de 0,5 mg de proteínas/mL para todos os tecidos de *M. rubripinnis*. A fluorescência total produzida foi calculada pela integração das unidades de fluorescência (UF) ao longo do tempo de leitura, depois de ajustar os dados de UF a uma função polinomial de segunda ordem. Os resultados foram expressos como a diferença de área de UF/ min na mesma amostra com e sem ABAP e relativizado pela área sem ABAP. O inverso da diferença de área relativa com e sem ABAP foi considerada como medida da capacidade antioxidante.

2.2.2. Avaliação da Peroxidação Lipídica (LPO)

A peroxidação lipídica foi quantificada pelo método FOX modificado (Hermes-Lima et al., 1995; Monserrat et al., 2003). Este método baseia-se na oxidação do Fe²⁺ a Fe³⁺ pelos hidroperóxidos da amostra em meio ácido na presença do laranja de xilenol (Sigma), um pigmento complexador de Fe (III). As amostras foram pesadas (aproximadamente 100 mg), homogeneizadas em metanol P.A., resfriado a 4°C, centrifugadas a 1000x g, durante 10min, a 4°C e retirado o sobrenadante para a análise dos lipídios peroxidados. Os resultados foram expressos em termos de hidroperóxidos de lipídios (como substâncias reativas ao FOX) em equivalentes de CHP/mg de tecido úmido.

2.3. Análise Estatística

Os dados foram testados quanto a sua normalidade e a homogeneidade das variâncias, através dos testes de Shapiro-Wilks e Levene, respectivamente. Após, as médias dos diferentes grupos amostrados foram comparadas através de análise de variância de duas vias (Two Way-ANOVA). Caso sejam observadas diferenças significativas, os dados foram submetidos ao teste *a posteriori* de Tukey. Os dados que não cumpriram os

pressupostos de normalidade e/ou homogeneidade das variâncias, foram matematicamente transformados e se persistido o não cumprimento dos pressupostos foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis. O nível de significância adotado foi de 95% ($\alpha=0,05$). Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão (ZAR, 2010). Para reduzir a dimensionalidade de um conjunto grande de variáveis foi utilizada a Análise de Componentes Principais (PCA; Anderson, 2006), como uma forma de manter o máximo de variância dos dados, baseada nos Autovalores > 1 , performada, utilizando-se distâncias Euclidianas, em uma matriz de três variáveis (ambientais – chuvoso e estiagem; abióticas - pH, condutividade, temperatura, OD e transparência; e químicas - As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni) relacionadas aos pontos amostrados.

3. RESULTADOS

As expedições foram realizadas em dois períodos com características pluviométricas distintas. A primeira foi realizada em um período que foi de intensas precipitações, ocasionando expansão do rio e alagamento de extensas áreas. A segunda expedição foi caracterizada pela redução das precipitações e diminuição da extensão do rio pela baixa do nível da água nas áreas alagadas. Abaixo está em destaque os períodos de coleta considerados como os períodos chuvoso e de estiagem (Fig. 2).

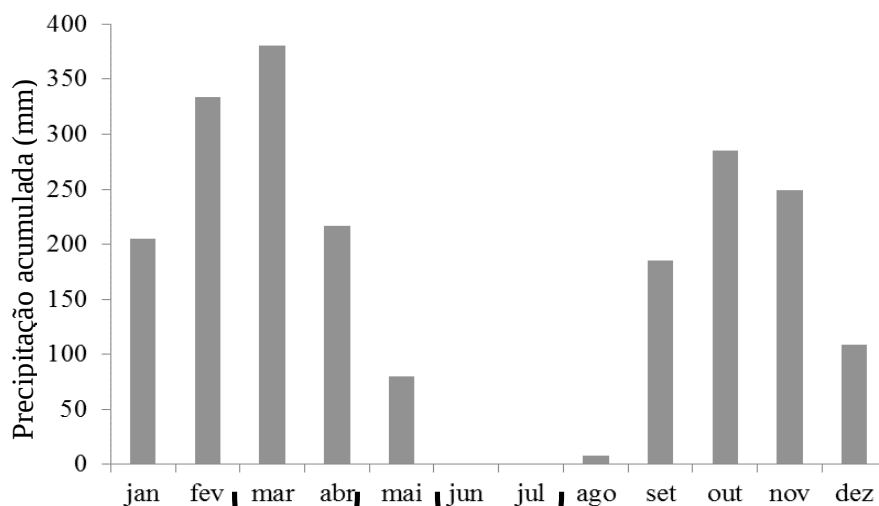


Figura 2 - Variação pluviométrica de São Félix do Xingu no ano de 2014. Dados INMET 2015, estações convencionais. Destaque para os períodos de coleta considerados como chuvoso (março-abril) e estiagem (junho-julho).

3.1. Parâmetros abióticos em água

A tabela 1 apresenta os valores dos parâmetros físico-químicos condutividade ($\mu\text{S/cm}$), pH, temperatura ($^{\circ}\text{C}$), transparência (cm) e oxigênio dissolvido (%) registrados no período chuvoso e a tabela 2 representa os mesmos parâmetros para o período de estiagem.

Tabela 1 - Parâmetros abióticos registrados no período chuvoso. Cond, condutividade ($\mu\text{S/cm}$); pH, potencial hidrogeniônico; Temp, temperatura ($^{\circ}\text{C}$); Transp, transparência (cm); e OD, oxigênio dissolvido (%). Dados de média $\pm$ erro padrão.

LOCAIS	CHUVOSO				
	Condut.	pH	Temp.	Transp.	OD
RX 1	16,00 $\pm$ 2,2	6,74 $\pm$ 0,07	27,85 $\pm$ 0,35	127,00 $\pm$ 3,00	20,60 $\pm$ 0,20
RX 2	20,01 $\pm$ 2,02	6,64 $\pm$ 0,11	27,80 $\pm$ 0,25	126,06 $\pm$ 4,89	17,42 $\pm$ 1,72
RX 3	23,39 $\pm$ 3,37	6,74 $\pm$ 0,13	28,60 $\pm$ 0,53	116,07 $\pm$ 7,86	18,00 $\pm$ 0,91

Tabela 2- Parâmetros abióticos registrados no período de estiagem. Cond, condutividade ($\mu\text{S/cm}$); pH, potencial hidrogeniônico; Temp, temperatura ($^{\circ}\text{C}$); Transp, transparência (cm); e OD, oxigênio dissolvido (%). Dados de média $\pm$ erro padrão.

LOCAIS	ESTIAGEM				
	Condut.	pH	Temp.	Transp.	OD
RX 1	11,18 $\pm$ 0,63	7,36 $\pm$ 0,04	29,10 $\pm$ 0,30	130,00 $\pm$ 7,85	18,38 $\pm$ 0,27
RX 2	18,52 $\pm$ 4,86	7,27 $\pm$ 0,17	28,62 $\pm$ 0,34	97,00 $\pm$ 20,78	18,24 $\pm$ 1,42
RX 3	28,12 $\pm$ 5,73	7,67 $\pm$ 0,14	28,60 $\pm$ 0,41	72,25 $\pm$ 16,87	19,07 $\pm$ 0,52

3.2. Metais na água

O elemento As foi registrado em concentrações superiores ao limite estabelecido pelo órgão ambiental (CONAMA; resolução 357, de 17/03/2005, para águas doces de classe 2) nos dois períodos em todos os pontos amostrados. Os valores de Cu, Cr, Pb e Ni mostraram-se abaixo dos limites estabelecidos pelo CONAMA no período chuvoso, sendo que os valores de Ni no chuvoso ficaram abaixo do limite de detecção do método (ND; não detectado). O mesmo ocorreu para algumas amostras de Pb e Hg no período estiagem.

O As e o Cd, não mostraram diferenças significativas para os locais e períodos ($p > 0,05$). O Cu foi significativamente maior no RX3, no chuvoso em relação ao período de estiagem. Para o Cr, houve diferença estatística significativa entre os períodos, pois os valores de todos os pontos do período chuvoso foram maiores em relação ao período de estiagem. O Pb, Hg foram mais expressivos no período chuvoso, enquanto que o Ni na

estiagem, sendo que o Hg no RX3, no chuvoso mostrou-se acima dos valores de referência.

A tabela 4, mostra as variações de metais na água no período de estiagem. O As foi maior em todos os pontos, principalmente no RX2. Os metais Cd, Cu e Cr, foram mostrados abaixo dos valores limites estabelecidos pelo CONAMA, sendo o Pb e Hg abaixo do limite de detecção do método, não detectado (ND) e por último, o Ni em muitas amostras foi quantificado abaixo do limite do método e em outras amostras não chegou próximo aos valores limites.

Tabela 3 - Concentração total de elementos químicos na água no período chuvoso. Concentração do As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni (todos em µg/L) nas águas do rio Xingu no período chuvoso. Dados de min-máx, média ± erro padrão, n=10.

CHUVOSO								
		As	Cd	Cu	Cr	Pb	Hg	Ni
RX1	MIN-MÁX	ND-0,67	ND-0,39	ND-0,92	0,63-1,38	ND-0,25	ND-0,91	ND
	Média±EP	0,30±0,07	0,02±0,02	0,3±0,07	0,93±0,05	0,03±0,01	0,17±0,07	ND
RX2	MIN-MÁX	ND-0,68	ND-1,0	ND-0,87	0,58-2,98	ND-0,11	ND-0,94	ND
	Média±EP	0,26±0,07	0,08±0,05	0,28±0,05	1,05±0,11	0,005±0,005	0,09±0,06	ND
RX3	MIN-MÁX	ND-0,86	ND-0,31	ND-0,51	0,56-1,35	ND-0,27	ND	ND
	Média±EP	0,32±0,07	0,03±0,02	0,30±0,02	0,96±0,05	0,01±0,01	ND	ND
CONAMA		0,14	1,00	9,00	50,00	10,00	0,20	25,00

Legenda: MIN-MÁX= mínimo-máximo, EP=erro padrão, ND=não detectado.

Tabela 4 - Concentração total de elementos químicos na água no período de estiagem. Concentração total do As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni (todos em µg/L) nas águas do rio Xingu no período de estiagem. Dados de min-máx. n=10.

ESTIAGEM								
		As	Cd	Cu	Cr	Pb	Hg	Ni
RX1	MIN-MÁX	ND-0,60	ND-0,49	ND-1,34	ND-0,47	ND	ND	ND-2,87
	Média±EP	0,23±0,05	0,05±0,02	0,16±0,07	0,05±0,02	ND	ND	0,35±0,20
RX2	MIN-MÁX	ND-1,16	ND-0,34	ND-0,45	ND-0,43	ND	ND	ND
	Média±EP	0,42±0,08	0,03±0,02	0,14±0,03	0,14±0,04	ND	ND	ND
RX3	MIN-MÁX	ND-0,70	ND-0,28	ND-1,43	ND-0,17	ND	ND	ND-1,97
	Média±EP	0,02±0,05	0,06±0,02	0,17±0,07	0,02±0,01	ND	ND	0,10±0,10
CONAMA		0,14	1,00	9,00	50,00	10,00	0,20	25,00

Legenda: MIN-MÁX= mínimo-máximo, EP=erro padrão, ND=não detectado.

Comparando-se os dois períodos percebemos que os valores de As foram levemente superiores, no período chuvoso, em quase todos os pontos, com exceção de RX2 que foi maior no período de estiagem. Apenas no RX1 os valores máximos de Cd foram

maiores no período estiagem, para os demais pontos foi levemente maior no período chuvoso. Os valores máximos de Cu foram levemente maiores no período chuvoso, no ponto RX2, enquanto que para RX1 e RX3 foram maiores na estiagem. Todos os valores de Cr foram maiores em todos os pontos no período chuvoso. Os metais Pb e Hg foram maiores no período chuvoso, em todos os pontos e por fim, foi possível quantificar algumas amostras de Ni apenas no período estiagem.

3.3. Metais no Sedimento

A tabela 5 sumariza os valores de concentração registrados para os diferentes elementos analisados nos sedimentos coletados no período chuvoso.

Ao contrário do encontrado para as águas, as concentrações de As no sedimento de todos os pontos amostrados encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação do CONAMA (5,90 µg/g; resolução 344, de 25/03/2004, para sedimentos de nível I - limiar abaixo do qual prevê-se baixa probabilidade de efeitos adversos à biota). No entanto, as concentrações de Cr no ponto de RX2 (61,91 µg/g) está acima do que é estabelecido pelo CONAMA (37,30 µg/g). Os níveis de Pb e Ni estão dentro dos limites estabelecidos pelo órgão ambiental (18,00 µg/g e 35,00 µg/g, respectivamente) para a maioria dos pontos. A exceção é o Ni que foi registrado em níveis superiores aos limites estabelecidos pelo órgão ambiental no RX2 (21,0 µg/g). Os valores de Hg foram abaixo do limite detectado pelo método (ND=não detectado). O As nos pontos RX1 e RX2, apresentaram valores significativamente mais elevados ($p < 0,05$) em relação a RX3. O Cr, Cu, Pb e Ni foi significativamente maior no RX2 ($p > 0,05$).

Tabela 5 – Concentração total de elementos químicos no sedimento, no período chuvoso. Concentração total As, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni (todos em µg/g) nos sedimentos do rio Xingu e rio Fresco no período chuvoso. Dados de média $\pm$ erro padrão, n=10.

		As	Cu	Cr	Pb	Ni
RX1	MIN-MÁX	ND-1,91	0,47-1,44	ND-10,69	ND-7,09	ND-2,71
	Média $\pm$ EP	0,80 $\pm$ 0,2*	0,82 $\pm$ 0,20	9,31 $\pm$ 1,00	4,78 $\pm$ 0,5	1,74 $\pm$ 0,01
RX2	MIN-MÁX	0,77-1,54	4,61-15,69	32,10-76,12	9,85-42,82	ND-34,27
	Média $\pm$ EP	1,04 $\pm$ 0,10*	11,85 $\pm$ 0,50*	61,91 $\pm$ 6,68*	26,61 $\pm$ 0,9*	21,0 $\pm$ 1,00*
RX3	MIN-MÁX	0,41-0,90	0,60-3,89	7,25-29,27	ND-10,29	ND-27,66
	Média $\pm$ EP	0,41 $\pm$ 0,07	1,95 $\pm$ 0,34	12,58 $\pm$ 2,04	7,49 $\pm$ 0,56	12,71 $\pm$ 3,13
CONAMA		5,90	35,70	37,30	35,00	18,00

Legenda: MIN-MÁX= mínimo-máximo, EP=erro padrão, ND=não detectado. * representa diferenças estatísticas significativas.

O ponto de RX2 foi o que mostrou valor superior ao estabelecido pelo CONAMA para o metal Cr e Ni e esta área é a que possui maior concentração de metais.

3.4. Metais no Solo

As amostras de solo analisadas (Tabela 6) não apresentaram níveis significativos para Hg e Cd, os valores medidos ficaram abaixo dos limites de quantificação do método (não detectado). As concentrações de As em todos os pontos amostrados encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação do CONAMA (15,00 µg/g). No entanto, a concentração de Cr nos pontos de RX2 e RX3 (339,89 µg/g e 188,00 µg/g, respectivamente) está acima do que é estabelecido pelo CONAMA, 75,00 µg/g. Entretanto, os níveis de Ni e Pb estão dentro dos valores de referência (30,00 µg/g e 72,00 µg/g, respectivamente), exceto pelo ponto de RX2 (40,36 µg/g e 106,80 µg/g, respectivamente). Não houve diferenças significativas para o As, no entanto, para o Cu e Cr os pontos de RX2 e RX3 foram significativamente maiores ($p > 0,05$) que RX1. Já para o Pb e Ni, RX2 foi significativamente maior que os demais pontos ($p = 0,01$, Pb e $p = 0,03$, Ni).

Tabela 6 – Concentração total de elementos químicos no solo, no período chuvoso. Concentração total do As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni (dados em µg/g). Dados de média ± erro padrão, n=10.

		As	Cu	Cr	Pb	Ni
RX1	MIN-MÁX	0,45-0,69	0,34-3,49	5,20-14,58	2,25-15,47	ND-5,48
	Média±EP	0,53 ± 0,05	1,75 ± 0,20	7,91 ± 0,86	7,92 ± 0,20	3,85 ± 0,30
RX2	MIN-MÁX	0,65-3,42	ND-19,11	252,41-470,38	ND-104,07	31,80-57,19
	Média±EP	1,53 ± 0,35*	12,52 ± 1,65*	339,89 ± 28,86*	106,80 ± 13,78*	40,36 ± 3,25*
RX3	MIN-MÁX	1,41-2,23	8,64-12,46	119,13-310,66	22,10-36,45	5,02-18,71
	Média±EP	0,54 ± 0,02	11,19 ± 0,32*	188,00 ± 21,17*	24,96 ± 1,46*	10,73 ± 1,20
CONAMA		15,00	60,00	75,00	72,00	30,00

Legenda: MIN-MÁX= mínimo-máximo, EP=erro padrão, ND=não detectado. * representa diferenças significativas.

As áreas de RX2 e RX3 são as que apresentaram valores muito superiores aos valores de referência. Sendo que RX2 mostra-se com concentração mais elevada em relação a todos os metais analisados.

A análise conjunta das concentrações dos elementos analisados na água, sedimento e solo sugere que a região mais contaminada está concentrada no ponto de RX2,

principalmente no que diz respeito às altas concentrações observadas para As na água e Cr no sedimento e solo.

3.5. Análise de Componentes Principais

Na PCA, todos os elementos aparecem na PC 1 e respondem a 49,6% da variação. A PC 1 pode ser melhor descrita para o pH, Temperatura, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni, enquanto que a PC 2 pode ser melhor descrita para o As, Cd e Ni (Tabela 7).

Tabela 7– Análise de Componentes Principais (PCA), elementos das variáveis abióticas e elementos químicos. A PCA é baseada nos Autovalores > 1, Os fatores descrevem 66% da variação total.

Variáveis	PC 1 (49,6%)	PC 2 (16,4%)
Condutividade	0.017	0.195
pH	0.388	0.049
Temperatura	0.343	0.096
Transparência	-0.243	-0.265
OD	-0.083	0.113
As	-0.118	0.575
Cd	0.070	-0.586
Cu	-0.375	-0.110
Cr	-0.395	-0.024
Pb	-0.379	0.034
Hg	-0.337	-0.215
Ni	0.305	-0.365

Os dois primeiros componentes da ordenação das variáveis ambientais mostraram um autovalor excedendo 1.0 e explicaram 66% da variação (Fig. 3). O componente 1 explicou 49.6% do total da variação, em quanto que o componente 2 explicou 16,4%. Observou-se claramente a formação de dois grupos nos dois primeiros componentes principais, no qual o pH, Temp, Cond, As (associados a RX2), Ni e Cd (associados a RX3 e RX1, respectivamente) foram fortemente influenciados pela estiagem, no lado esquerdo do gráfico. Contudo, o OD, Pb, Cr, Cu (associados a RX3 e RX1) e Hg e Transp (fortemente associados a RX2) foram mais fortemente associados ao período chuvoso, no lado direito do gráfico.

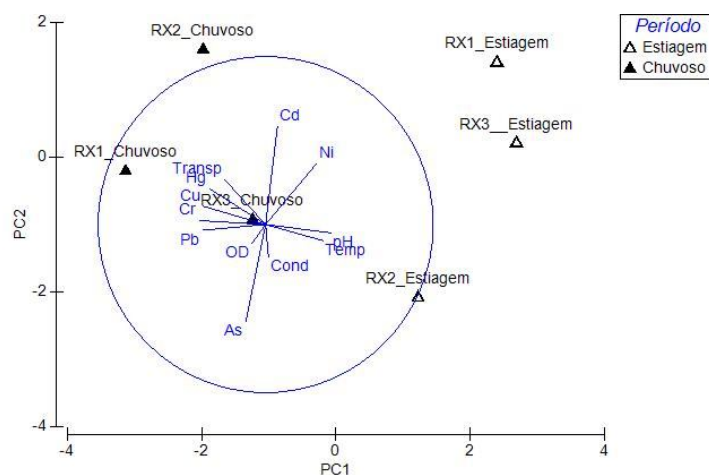
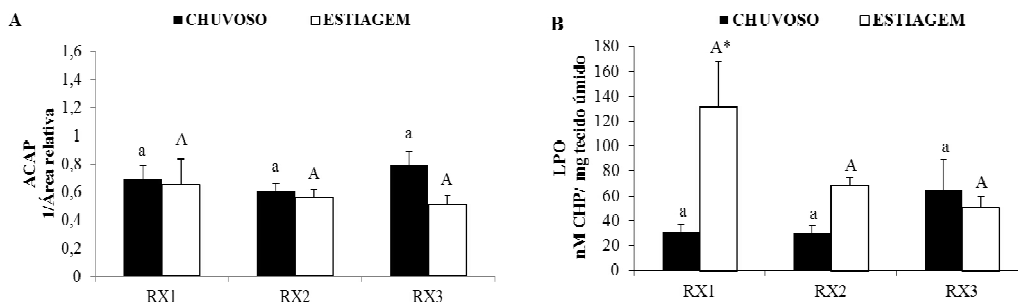


Figura 3 – Análise de Componentes principais (PCA) performada com os valores dos parâmetros físico-químicos: Cond (condutividade; $\mu\text{S}/\text{cm}$), pH, Temp (temperatura; $^{\circ}\text{C}$), Transp (transparência; cm) e OD (%), associados aos elementos As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg e Ni (todos em ppb), registrados no período chuvoso e de estiagem para todos os pontos amostrados.

3.6. Análise de Biomarcadores

A capacidade antioxidante total no fígado dos tucunarés (*C. melaniae*) foi constante, não havendo diferenças nem entre animais de diferentes pontos nem os animais coletados em diferentes períodos (Figura 4A). Os teores de lipídeos peroxidados também não foram diferentes entre os animais dos distintos pontos nem na expedição 1, nem na expedição 2. Os animais coletados RX1 apresentaram teores de lipídeos peroxidados superiores no estiagem em relação ao chuvoso (Figura 4B).



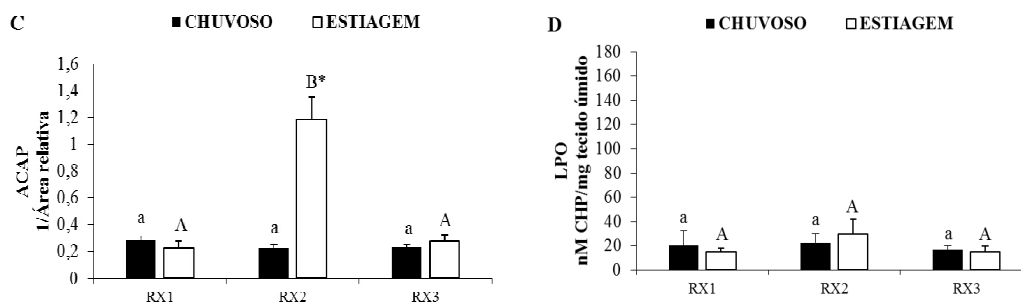


Figura 4 – Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) no fígado de *C. melaniae* e *M. rubripinnis*. A) Capacidade antioxidante total em fígado de *C. melaniae*, n=7-8; B) Lipoperoxidação em fígado de *C. melaniae*, n=7-8; C) Capacidade antioxidante total em fígado de *Myloplus rubripinnis*, n=4-10; D) Lipoperoxidação em fígado de *Myloplus rubripinnis*, n=4-10. Dados expressos como média $\pm$ erros padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no chuvoso. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no estiagem. O asterísco indica diferença estatística entre as expedições para um mesmo ponto.

No fígado dos pacus coletados (*M. rubripinnis*), a capacidade antioxidante total também não variou entre os animais coletados nos distintos pontos na expedição chuvosa. Já na expedição menos chuvosa, registrou-se maior competência antioxidante nos fígados dos pacus de RX2 em relação aos demais pontos ($p=0,000136$). Os animais de RX2 coletados na expedição menos chuvosa também apresentaram maior capacidade antioxidante do que os animais do mesmo ponto coletados na expedição chuvosa (Figura 4C). Os níveis de lipídeos peroxidados permaneceram constantes em todos os pacus de todos os pontos nas duas expedições e sem diferenças significativas entre expedições (Figura 4D).

Em brânquias de *C. melaniae*, a capacidade antioxidante total foi diferente entre os animais dos 3 pontos amostrados no período chuvoso (Fig. 5A). Os tucunarés coletados no ponto RX3 foram os que apresentaram maior competência antioxidante nas brânquias, seguido dos animais de RX2. Os tucunarés de RX1 foram os que apresentaram menor capacidade antioxidante nas brânquias na menos chuvosa. nas brânquias dos animais de RX1. Na estação de estiagem não foi observada diferenças neste biomarcador entre os pontos. No entanto, foi possível registrar-se uma maior competência antioxidante nas brânquias nos animais do período de estiagem em relação ao chuvoso em cada um dos pontos amostrados. Não houve variação no conteúdo de LPO de em relação aos pontos e períodos amostrados (Fig. 5B).

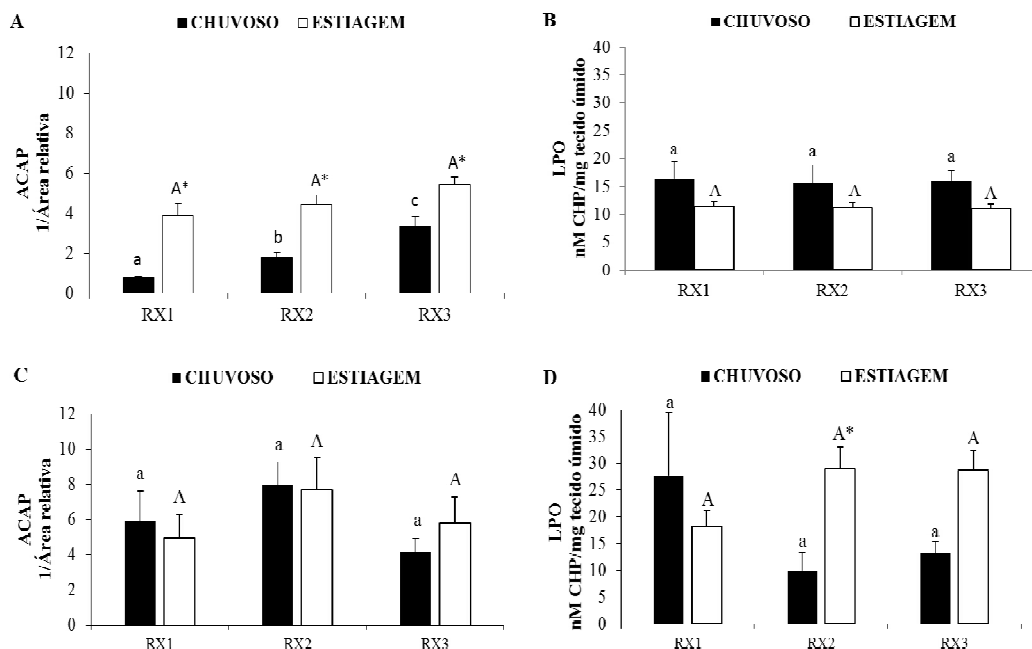


Figura 5 – Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) em brânquias de *C. melaniae* e *M. rubripinnis*. A) Capacidade antioxidante total em brânquias de *C. melaniae*, n=7-8; B) Lipoperoxidação em brânquias de *C. melaniae*; n=7-8; C) Capacidade antioxidante em brânquias de *M. rubripinnis*, n=4-10; D) Lipoperoxidação em brânquias de *M. rubripinnis*, n=4-10. Dados expressos como média $\pm$ erros padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no chuvoso. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no estiagem. O asterisco indica diferença estatística entre as expedições para um mesmo ponto.

A ACAP nas brânquias, não mostrou diferenças estatísticas significativas, para o *Myloplus rubripinnis*, entre os pontos de ambas as expedições e entre as expedições ($p > 0,05$; Fig. 5C). O LPO não foi estatisticamente diferente entre as expedições em ambas as expedições ($p > 0,05$; Fig. 5D), no entanto destacaram-se os pontos de RX2 e RX3 como estatisticamente diferentes entre os períodos ($p = 0,015$, RX2 e $p = 0,012$, RX3) e semelhantes entre si. Os pontos de RX2 e RX3 destacaram-se no período de estiagem.

A ACAP no cérebro aumentou gradualmente no período chuvoso onde RX1 é estatisticamente diferente de RX2, sendo o RX3 maior no período chuvoso ($p = 0,045$). Não houve diferença estatística significativa entre os pontos do período seco (Fig. 6A). O LPO foi maior no RX2 no período chuvoso, enquanto que RX2 e RX3 destacaram-se no período estiagem (Fig. 6B). Sendo o LPO maior no período estiagem.

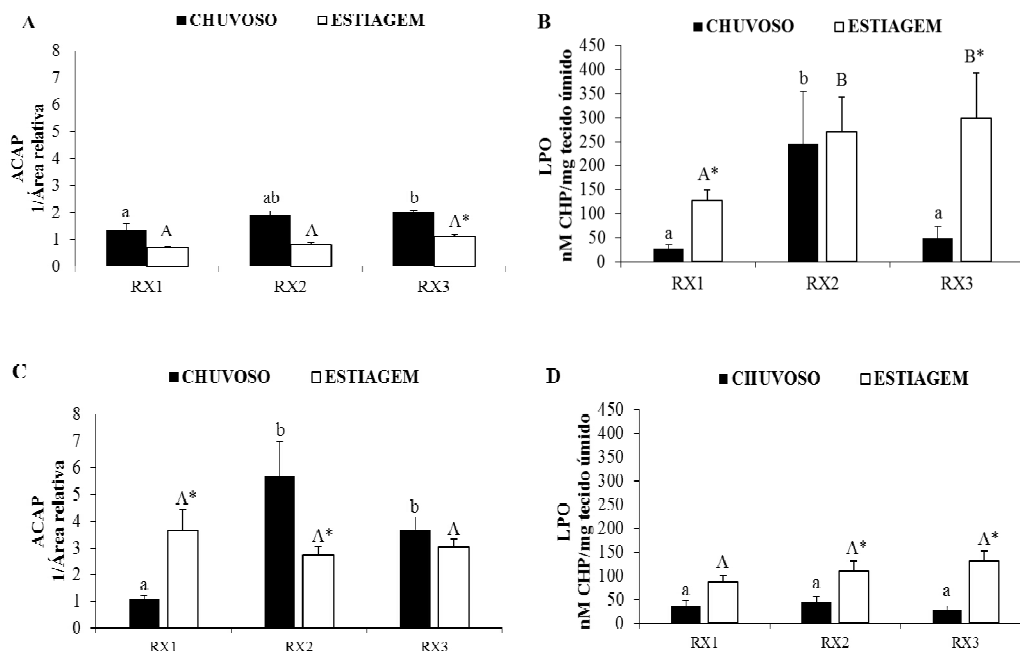


Figura 6 - Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) no cérebro de *C. melaniae* e *M. rubripinnis*. A) Capacidade antioxidante total no cérebro de *C. melaniae*, n=7-8; B) Lipoperoxidação no cérebro de *C. melaniae*; n=7-8; C) Capacidade antioxidante no cérebro de *M. rubripinnis*, n=4-10; D) Lipoperoxidação no cérebro de *M. rubripinnis*, n=4-10. Dados expressos como média $\pm$ erros padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no chuvoso. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no estiagem. O asterísco indica diferença estatística entre as expedições para um mesmo ponto.

ACAP mostrou-se diferente entre os períodos ($p > 0,05$), sendo maior no RX2 e RX3 ($p = 0,0035$, RX2 e $p = 0,0074$, RX3) do chuvoso e não se diferenciou nos pontos do estiagem, mas os pontos do RX2 e RX3 foram semelhantes entre as estações (Fig. 6C). O LPO não se diferenciou entre os pontos do mesmo período, mas se diferenciou entre os pontos de períodos diferente e entre os períodos, com exceção de RX1 no período estiagem que foi semelhante a ambos os períodos (Fig. 6D). O LPO foi maior no período estiagem.

A ACAP no músculo do *Cichla melaniae* não se diferenciou entre os pontos do mesmo período ($p > 0,05$), no entanto RX2 e RX3 se destacaram no período estiagem que foi o maior entre as estações (Fig. 7A). Já o LPO, para o músculo do *C. melaniae*, foi significativamente maior no RX1, no período chuvoso em que RX2 e RX3 não se diferenciaram neste período (Fig. 7B).

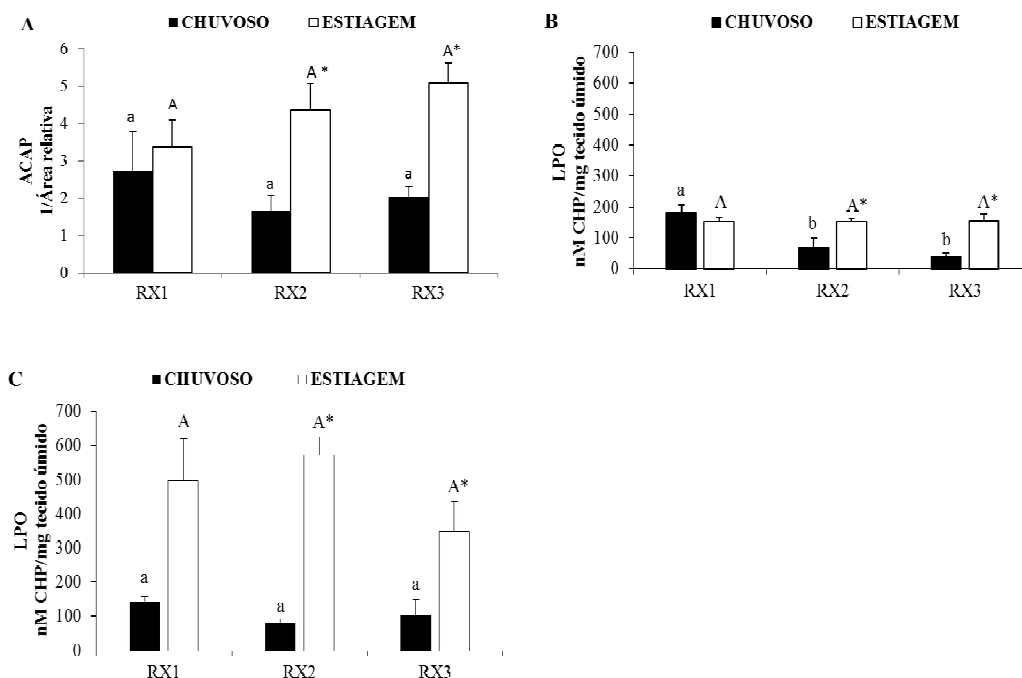


Figura 7 – Capacidade antioxidante total (ACAP) e lipoperoxidação (LPO) no músculo de *C. melaniae* e *M. rubripinnis*. A) ACAP de músculo de *Cichla melaniae*, dados de média $\pm$ erro padrão, teste Tukey. B) LPO de músculo de *Cichla melaniae*, dados de média $\pm$ erro padrão, teste Tukey. N = 7-8; C) LPO no músculo do *M. rubripinnis*, dados de média $\pm$ erro padrão, teste Tukey, n=4-10. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no chuvoso. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre pontos no estiagem. O asterisco indica diferença estatística entre as expedições para um mesmo ponto.

Não foi possível padronizar o ACAP para o músculo do *M. rubripinnis* sendo necessários mais testes com outras concentrações de proteínas para este tecido. O LPO *M. rubripinnis* foi significativamente maior no período estiagem ($p < 0,05$; Fig. 7C), sem variações entre os pontos de ambos os períodos.

4. DISCUSSÃO

O rio Xingu é um rio de corredeiras, com grande quantidade de rochas, possui águas claras e quentes. Sua temperatura varia ao longo do ano em torno de 27° C a 29° C. Apresenta, geralmente, dois períodos pluviométricos: Chuvoso e Estiagem. Segundo informações locais, no ano de 2014 o rio Xingu apresentou um aumento do volume extremo no período chuvoso, provocado pelas intensas chuvas. No período chuvoso o rio torna-se mais revoltado com chuvas de cabeceira, assoreamentos, grande volume hidrométrico e mobilização de elementos traço, possibilitando a persistência de alguns metais, pela presença de hidróxidos e sulfetos que participam da ciclagem hidrológica dos metais (Ramos et al., 2014; Duan et al., 2015). Na estação de estiagem, houve uma

redução dos volumes hidrométricos do rio e diminuições das precipitações, tornando o rio menos trafegável para organismos aquáticos.

As águas apresentam pH próximo à neutralidade (min 6,64 – chuvoso e máx 7,73 – estiagem) e condutividade baixa de 14,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no período chuvoso e 36,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no período de estiagem. Comparando-se o rio Xingu com outros rios amazônicos, observa-se que o mesmo possui um pH próximo ao do rio Amazonas (pH de 6,6) e rio Tapajós (pH de 6,5). Estes três rios diferem-se do rio Negro, que possui pH bastante ácido (pH de 4,5) devido ao elevado conteúdo de material orgânico solúvel (Santos et al., 1985). Em relação à condutividade, durante as coletas deste estudo o rio Xingu apresentou valores semelhantes ao rio Tapajós (14,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e Negro (17,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$) no período chuvoso (Duncan & Fernandes, 2010).

Em relação as concentrações de elementos traço encontrados na água, o registro mais relevante encontrado foram os teores de As acima dos valores limites estabelecidos pelo órgão ambiental em todos os pontos selecionados, considerando-se a legislação para águas de classe 2, com atividade de pesca. Em contraste aos valores de As na água, este metaloide no sedimento e no solo, foi encontrado em valores muito baixos. Os resultados obtidos podem estar relacionados à geoquímica local, principalmente pela presença de rochas. Sabe-se que o As é encontrado em solos e rochas e este fator associado ao processo de mineração libera grandes quantidades de As no ambiente, o que justifica a presença deste metaloide no compartimento aquífero (Magalhães & Filho, 2008; Casentini & Pettine, 2010; Flora, 2015; Tamoto et al., 2015). Outro fator importante para este elemento é que em valores de pH de 6,5 a 8,5, valores estes encontrados nas águas do rio Xingu, o As tem maior potencial de encontrar-se dissolvido nas águas e, portanto, mais biodisponível (WHO, 2000; Kumar et al., 2004; Rahman, et al., 2014). Os valores de As encontrados na água do rio Xingu e seus afluentes, apesar de acima dos valores do CONAMA, são considerados pela WHO (referência máxima 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ para água potável) e USEPA (referência máxima de 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ para água potável) como valores baixos (geralmente encontrados entre 0,1-0,8 $\mu\text{g}/\text{L}$, para água naturais; Seyler e Martin, 1991; Aiuppa et al., 2003). No entanto, o aumento da concentração de As nos rios está relacionado a combinação de fatores naturais (pH, temperatura, condutividade e precipitação) às atividades antropogênicas (Shen, 1973; WHO, 2000; Casentini & Pettine, 2010; Ramos et al., 2014; Duan et al., 2015; Tamoto et al., 2015). A presença de mineradoras, fazendas, urbanização, indústrias e atividade agrícola, contribuem para contaminação da água. Estes fatores são

apontados em estudos onde a água dos rios foi contaminada, por serem fontes antropogênicas de liberação de metais (Félix et al., 2015). Berg et al., (2001), encontraram valores de As em águas naturais do Vietnã que variaram de 1-3050 µg/L, e correlacionaram estes resultados à presença de indústrias. Nickson et al., (2005) também encontraram valores de As muito acima dos limites (906 µg/L), em rios do Paquistão. Ambos estudos chamam a atenção para os perigos que envolvem a ingestão do As, pois este metal é carcinogênico e quando ingerido parte dele pode ser acumulado produzindo efeitos deletérios como implicações gastrointestinais, cardíacas, vasculares e no sistema nervoso central (Shen, 1973; Flora, 2015).

O presente estudo indica uma relação dos elementos Cr e Ni encontrados no sedimento e no solo com as atividades mineradoras, quando comparado aos pontos amostrados e as suas concentrações na água. Isto pode ser atribuído a um forte gradiente redox devido à presença de altos teores de matéria orgânica no sedimento, associada à baixa difusão de oxigênio no fundo do rio. Estes fatores aumentam a capacidade de retenção de íons metálicos presentes no sedimento (Föstner, 1995; Pereira, 2007). O gradiente redox possibilitou ao Cr e ao Ni estar presente em menores concentrações na água e maiores concentrações no sedimento e no solo, indicando que o Cr e o Ni liberados na água são logo atraídos para o sedimento (Magalhães & Filho, 2008; Peng et al., 2009; Casentini & Pettine, 2010; Tamoto et al., 2015). As concentrações de metais como o Cr ligadas às áreas com atividade mineradora impactam por produzirem drenagens ácidas e erosão (Salomons, 1995). A erosão dos rios carrega grandes quantidades de Cr e Ni para os sedimentos (Galán et al., 2003; Amorosi, 2012).

No solo, os elementos encontrados em maiores teores foram Cr, Pb e Ni nas áreas de mineração e urbanizadas. Semelhante ao encontrado neste estudo, os estudos de Song et al. (2015) confirmam que a atividade mineradora está relacionada aos valores de Al (0,813 nM), Cu (0,638 nM) e Cr (0,604 nM) no solo, em uma região da China.

Parâmetros físico-químicos como pH, temperatura e condutividade são fatores que estão diretamente relacionados ao período de estiagem e ambos os fatores (parâmetros físico-químicos e precipitação) interferem na disponibilidade dos metais Ni e Cd no meio (Magalhães & Filho, 2008), enquanto que os demais fatores OD e transparência estão mais relacionados ao período chuvoso e assim distribuição e concentração dos metais Pb, Cr, Cu e Hg nos pontos amostrados. Daí a importância de se avaliar os parâmetros correlacionando-os a precipitação e distribuição de metais em estudos ambientais através das análises de componentes principais (Berntssen et al., 2003).

Os resultados da PCA mostraram que a maioria dos metais esteve mais associada ao período chuvoso nos pontos amostrados, o que pode contribuir de uma maneira direta na resposta dos biomarcadores de exposição e de efeito neste período. Ambientes que possuem maior concentração de metais podem causar maior dano e elevar a atividade antioxidante dos organismos aquáticos (Wang et al, 2015). De forma similar, o trabalho de Yao et al. (2014), que avaliaram as concentrações de diversos metais, dentre eles o Cd, em dois rios na China em diferentes estações do ano, relacionaram os altos valores de Cd ($3,0 \mu\text{g/L}$) à estação seca e assim a maiores riscos tóxicos neste período. Além do que, os fatores abióticos têm uma grande influência na concentração de determinados metais nos diversos compartimentos ambientais por afetar diretamente sua especiação química (Hylander et al., 2000).

A simples presença de elevadas concentrações de contaminantes no ambiente, não significa, de maneira direta, efeitos tóxicos aos organismos residentes (Van der Oost et al., 2003). Diversos fatores ambientais determinam a biodisponibilidade de um elemento químico, o que torna difícil concluir, a partir apenas de dados químicos, o risco que tais elementos oferecem à vida aquática. Desta forma, associado às análises químicas é útil termos medidas de respostas biológicas de organismos que vivem em ambientes contaminados. Estas respostas biológicas, geralmente avaliadas em baixos níveis de organização biológica, são chamadas de biomarcadores. Com o potencial de detectar efeitos precoces, os biomarcadores podem fornecer informações tanto em termos de exposição à contaminantes como a capacidade antioxidante total (biomarcadores de exposição) como também detectar os primeiros efeitos tóxicos como os processos lipoperoxidativos (biomarcadores de efeito).

A capacidade antioxidante refere-se ao sistema de defesa antioxidante que envolve moléculas pequenas (ex. GSH), moléculas queladoras de metais (ex. metalotioneínas) e enzimas (ex. GST, GR, Catalase, SOD). Tais moléculas têm como função inibir, sequestrar, capturar, interagir e modificar as moléculas oxidantes, principalmente espécies reativas de oxigênio (EROs; H_2O_2 , $\text{OH}^\cdot$, $\text{O}_2^\cdot$; Halliwell & Gutteridge, 2006; Lushchak, 2011). As moléculas oxidantes podem ser geradas em excesso na presença de xenobióticos tanto por reações químicas (como reações de Fenton e Harber Weiss, no caso de metais transicionais) como por processos metabólicos que são intensificados na presença de poluentes (cadeia respiratória, via detoxificatória do citocromo p450; Finkel & Holbrook, 2000). Quando a geração das moléculas oxidantes ultrapassa capacidade

de defesa do sistema antioxidante, começam a surgir danos em moléculas biológicas importantes para o funcionamento celular, um exemplo é a peroxidação lipídica.

O fígado é o órgão de detoxificação dos vertebrados e, por isso, o órgão alvo de uma série de poluentes, além de ser um dos primeiros a responder à exposição aos xenobióticos (Qu et al., 2014ab). Sabe-se que mesmo em baixas concentrações metais são capazes de ativar o sistema de defesa antioxidante e danos oxidativos em diversos órgãos de peixes (Wang et al., 2015). A exemplo disto, pode-se citar os estudos de Kotsanis & Iliopoulou-Georgudaki (1999), que expuseram peixes a concentração de 0,0021 µg/g de arsênio e verificaram hiperplasia no fígado. No presente estudo foram encontrados valores próximos a 0,6 µg/g de As na água nos pontos RX1 e RX2 nos dois períodos, concentrações bem superiores às descritas no experimento citado. Isto nos permite inferir que é possível que exista relação entre a exposição aos metais e os danos lipoperoxidativos observados no fígado de *C. melaniae* e do *M. rubripinnis* e a ativação de defesas antioxidantes no fígado do *M. rubripinnis*. Waheed et al. (2013), encontrou uma forte correlação do As com danos oxidativos em 6 espécies de peixes no Paquistão. O As faz parte do conjunto de xenobióticos que tem o potencial de produzir EROs através do ciclo redox, levando a danos oxidativos como a LPO, inclusive no fígado dos peixes (Di Giulio et al., 1989). Shi et al., (2005) evidenciou em seus estudos a relação entre as EROs e aumento de conteúdo de LPO no fígado de *Carassius auratus*. Neste mesmo estudo os autores mostram que metais aumentam a LPO no fígado.

Associada à exposição ao As na água, existe a possibilidade de que a escassez alimentar que ocorre no período estiagem seja mais um fator que contribua com o aumento da lipoperoxidação neste período. Há diversos trabalhos que indicam que o período de estiagem é o período de menor alimentação dos peixes em termos de quantidade. É conhecido que peixes, neste período, podem mudar a sua dieta devido a diminuição da oferta de alimentos no ambiente (Abelha et al., 2001; Ballesteros et al., 2009). Quanto à associação da baixa ingestão alimentar à lipoperoxidação, estudos realizados por Morales et al. (2004) indicam que o jejum de 5 semanas em peixes induz aumento da lipoperoxidação no fígado havendo, paralelamente, o aumento da SOD, CAT e GPx que também fazem parte do sistema de defesa antioxidante (Lushchak, 2011).

As brânquias são o primeiro órgão de contato com o ambiente e desempenham um importante papel na regulação osmótica e iônica. Alterações neste órgão respondem direta ou indiretamente a fatores ambientais (Wood, 2001; Ventura-Lima, 2009; Pandey et al., 2008). Estudos têm reportado que a exposição a metais ativa a defesa antioxidante

e quando esta não consegue conter os métodos oxidativos gera processos lipoperoxidativos em brânquias resultando em hiperplasia e edema nas células branquiais (Moore et al., 2003; Abdel-Moneim, et al., 2012; Balakrishnan & Ross, 2014). Apesar de a capacidade antioxidante detectada nas brânquias de *C.melaniae* ter se mostrado mais elevada nos pontos RX2 e RX3, no período chuvoso, e mais elevada ainda em todos os pontos no período de estiagem a capacidade antioxidante conseguiu manter os processos lipoperoxidativos entre as estações pluviométricas diminuindo o risco de danos maiores nas células que poderiam interferir nas trocas iônicas, resultar em hipóxia e consequentemente problemas respiratórios (Yasser & Naser, 2011). Já nas brânquias do *M. rubripinnis*, foi observado um aumento da LPO, o que pode estar relacionado ao fato das defesas antioxidantes não terem sido suficientes para reverter/evitar o processo de lipoperoxidação pela a exposição aos metais.

Os padrões de acúmulo de metais na água mostram que determinados metais, dependendo do período sazonal, concentram-se nos diferentes ambientes e isto é refletido nos resultados de biomarcadores nas brânquias (Qu et al., 2014a; Yao et al., 2014). Além do período sazonal influenciar na disponibilidade dos metais no ambiente, peixes têm a capacidade de acumular mais facilmente Cu e Pb nas brânquias do que outros metais e este acúmulo gera o aumento de EROs e consequentemente lipoperoxidação. Kalay & Canli (2000) expuseram o peixe *Tilapia zilli* a concentração de 0,001 µg/L (1mg/L) de Cd, Cu, Pb e Zn por 10 dias e verificaram acúmulo destes metais no fígado, brânquias e cérebro. Estes valores são inferiores aos valores que obtivemos na água em ambos os períodos amostrados. Estudos *in vivo* mostram que metais aumentam o LPO em brânquias (Roméo & Gnassia-Barelli, 1997; Company et al. 2004; Wang et al., 2015). A peroxidação lipídica tem sido objeto de estudo em peixes, por identificar um processo de deterioração das brânquias e influenciar nas trocas osmóticas e iônicas (Ansari & Ansari, 2014). Muitas alterações inclusive morfológicas nas brânquias incluem na fusão da lamela secundária, formação de filamentos claviformes, vacuolização e necrose do epitélio filamentar, podendo ser causadas mesmo em baixas concentrações de metais no ambiente (Pandey et al., 2008). Em estudos histopatológicos de Gagné et al., (2008), foi evidenciado edema na lamela branquial pelo aumento da lipoperoxidação.

A peroxidação lipídica também pode atingir o cérebro dos organismos aquáticos alterando diversos processos fisiológicos como alimentação, captura de presa, reprodução e locomoção (Wood, 2011). Igualmente ao *M. rubripinnis*, o cérebro do *C.*

melaniae também apresentou maior dano oxidativo nos pontos relacionados a atividades antropogênicas e de mineração. Provavelmente o cérebro de ambas as espécies foi mais afetado, nestes pontos em relação ao RX1, pois a concentração de metais à que estavam expostos nestes locais, elevou o conteúdo de LPO e ativou o sistema de defesa antioxidante, já que é conhecido que metais apresentam afinidade aos lipídios cerebrais (Vieira et al., 2009). Suhendrayatna et al. (2002) analisaram as concentrações de As em fígado, cérebro, intestino, gônadas, brânquias, olhos e ossos do peixe *Tilapia mossambica* e concluíram que o fígado (2,5 µg/g) e principalmente o cérebro (61,8 µg/g) entre todos os tecidos e órgãos analisados, foram os que concentraram maior quantidade de As. O fato destes achados estarem relacionados com o cérebro dos animais serve de alerta para a possibilidade de ocorrência de danos neurodegenerativos que podem vir a influenciar em muitos fatores relacionados à sobrevivência dos organismos no ambiente, como a capacidade natatória, reprodutiva e de captura de alimentos (Baatrup, 1991; Berntssen et al., 2003; Vieira et al., 2009; Miei et al., 2011).

Estudos sobre as implicações da qualidade nutricional do músculo do peixe, revelam que este órgão possui altos níveis de proteínas e lipídeos polinsaturados que são propensos a danos oxidativos (Pedrajas et al., 1995). A capacidade antioxidante do músculo dos peixes está diretamente relacionada aos níveis proteicos. Diversos metais (Hg, Cd, As, Pb) possuem alta afinidade por lipídeos que são constituintes do músculo e assim facilmente acumulados neste tecido. Esta afirmativa condiz com os achados dos estudos de Ploetz et al. (2007) para os metais Pb, Cu, Cd e Zn. Estes autores verificaram que a concentração de Pb foi significativamente maior no músculo do que no fígado. Além do estudo citado, há os resultados de Visnjic-Jeftic et al. (2010), que analisaram diferentes metais (Al, As, Cd, Cu, B, Ba, Fe, Mg, Sr, Zn, Li, Co, Cr, Mn, Mo, Ni e Pb) no peixe *Pontic shad* em diferentes tecidos (brânquias, fígado e músculo) e verificaram maiores concentrações de As (7,73 µg/g) no músculo em relação aos demais tecidos (6,38 µg/g, fígado e 1,6 µg/g, brânquias). Estes estudos fornecem informações úteis para que se possa inferir que a presença dos metais Pb e As nos compartimentos ambientais nas áreas de RX2 e RX3 têm relação às alterações de ACAP e LPO observadas (Pedrajas et al., 1995). A junção dos contaminantes da água com os xenobióticos lançados pelas fazendas, pode ter ativado as defesas assim como provocado a lipoperoxidação.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a atividade mineradora eleva os níveis de metais nos compartimentos ambientais. No entanto, o As na água está mais relacionado a geomorfologia local do que a atividade mineradora em si, diferentemente dos metais Cr e Ni no sedimento e dos elementos Pb e Ni no solo que estão fortemente relacionados a mineração. A exposição aos metais além de haver ativado o sistema de defesa antioxidante tanto do *Myloplus rubripinnis* quanto do *C. melaniae* nos órgãos analisados, principalmente na área com atividade de garimpo, contribuiu para torná-los mais susceptíveis a danos lipoperoxidativos no período de estiagem, apesar de em muitas situações a capacidade antioxidante haver conseguido minimizar os efeitos da exposição. Os resultados dos biomarcadores analisados indicam a presença de efeitos desta exposição às duas espécies estudadas, ainda que em baixos níveis de organização biológica. Os resultados provenientes deste estudo podem ser empregados como instrumento de avaliação da qualidade do ambiente em áreas expostas a contaminação por xenobióticos de maneira a detectar impactos sobre a biodiversidade, utilizados assim, como prova científica de alteração do ambiente. Pode servir ainda como instrumento regulador, subsidiando políticas públicas sobre o uso de metais em atividades antrópicas específicas como a extração mineral.

BEEEEMMMMM MELHOR!!!!!!

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Moneim, A.M, Al-Kahtani, M.A., Elmenshawy, O.M., 2012. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia, *Chemosphere*, 88: 1028- 1035.

Abelha, M.C.F., Agostinho, A.A., Goulart, E., 2001. Plasticidade trófica em peixes de água doce. *Acta Scientiarum* 23(2), 425-434.

Adams, S.M., Greeley, M.S., 2000. Ecotoxicological indicators of water quality: Using multi-response indicators to assess the health of aquatic ecosystems. *Water, Air, and Soil pollution*, 123, 103–115.

Aiuppa, A., Bonfanti, P., D'Alessandro, W., 2003. The chemistry of rainwater in the Mt. Etna area (Italy): natural and anthropogenic sources of major species. *J Atmosph Chem* 46, 89–102.

Amado, L.L., Rosa, C.E., Leite, A.M., Moraes, L., Pires, W.V., Leães-Pinho, G.L., Martins, C.M.G., Robaldo, R.B., Nery, L.E.M., Monserrat, J.M., 2006. Biomarkers in

croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and nonpolluted areas from the Patos Lagoon estuary (southern Brazil): evidences of genotoxic and immunological effects. *Mar. Pol. Bull.*, 52, 199-206.

Amado, L. L., Longaray-Garcia, M., Ramos, P.B., Freitas, R.F., Zafalon, B., Ferreira, J.L.R., 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*, v. 407, 2115-2123.

Amorosi, A., 2012. Chromium and nickel as indicators of source-to-sink sediment transfer in a Holocene alluvial and coastal system (Po Plain, Italy). *Volume 280*, 1 December 2012, 260–269.

Anderson, M.J., 2006. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics*, 62, 245–253.

Ansari, S., Ansari, B.A., 2014. Temporal variations of CAT, GSH, and LPO in gills and livers of zebrafish, *Danio rerio*, exposed to dimethoate. *Arch. Pol. Fish.* 22: 101-109. DOI 10.2478/aopf-2014-0009.

Artaxo, P., Martins, J.V., Yamasoe, M. A., Procópio, A. S., Pauliquevis, T. M., Andreae, M. O., Guyon, P., Gatti, L. V., Cordova Leal, A.M., 2002. Physical and chemical properties of aerosols in the wet and dry season in Rondônia, Amazonia. *J. Geophys. Res.*, 107 (D20): 49.1-49.14.

Balakrishnan, K., Ross, P.R., 2014. Impact of industrial pollutants on the histopathological alterations in the gill and liver of *Lates calcarifer* in uppanar estuary, near sipcot, cuddalore, south coast of India. *Int. J. Modn. Res. Revs.* Volume 2, Issue 6, 195-198.

Balesteros, T.M. Torres-Meija, M. Ramirez-Pinilha, P., 2009. How does influence the reproductive seasonality of tropical freshwater fish? A case study of a characin in tropical mountain river. *Neotropical Ichthyology*, 7(4), 693-700.

Baatrup, E., 1991. Structural and functional effects of heavy metals on the nervous system, including sense organs, of fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 100C, 253-257.

Berg, M., Tran, H.C., Nguyen, T.C., Pham, H.V., Schertenleib, R., Giger, R.W., 2001. Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat. *Environ Sci Technol*, 35, 2621–2626.

Berntseen, M.H., Aatland, A., Handy, R.D., 2003. Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquat. Toxicol.* 65, 55–72.

Camargo, M, Giarrizzo, T., Isaac, V.J., 2004. Review of the Geographic Distribution of Fish Fauna of the Xingu River Basin, Brazil. *Ecotropica* 10, 123–147.

Company, R., Serafim, A., Bebianno, M.J., Cosson, R., Shillito, B., Fiala-Médioni, A., 2004. Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*.

Marine Environmental Research, Volume 58, Issues 2–5, 377-381. doi:10.1016/j.marenvres.2004.03.083.

Casentini, B., Pettine, M., 2010. Effects of desferrioxamine-B on the release of arsenic from volcanic rocks. *Applied Geochemistry*, Volume 25, Issue 11, 1688-1698.

Depledge, M.H., 1989. The rational basis for detection of the early effects of marine pollutants using physiological indicators. *Ambio*, Vol. 18, 301-302.

Depledge, M.H., Fossi, M.C., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). *Invertebrates. Ecotoxicology* 3, 161-172.

Di Giulio, R.T., Washburn, P.C., Wenning, R.J., Winston, G.W., Jewell, C.S., 1989. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 1103–1123.

Duan, Y. Gan, Y. Wang, Y. Deng, Y. Guo, X. Donh, C., 2015. Temporal variation of groundwater level and arsenic concentration at Jiangnan Plain, central China. *Journal of Geochemical Exploration*, Volume 149, 106-119.

Duncan, W.P, Fernandes, M.N., 2010. Physicochemical characterization of the white, black, and clearwater rivers of the Amazon Basin and its implications on the distribution of freshwater stingrays (*Chondrichthyes*, *Potamotrygonidae*). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5(3), 454-464.

Falcon, L. M., 1982. The gravity recovery of cassiterite. *Journal of the South African Institute of Mining and Metallurgy.*, 112-117.

Félix, O. I., Csavina, J., Field, J., Rine, K.P., Sáez, A.E., Betterton, E.A., 2015. Use of lead isotopes to identify sources of metal and metalloid contaminants in atmospheric aerosol from mining operations. *Chemosphere*, Volume 122, 219-226.

Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408, 239–247.

Flora, S.J.S., 2015. Cap 1 - Arsenic: Chemistry, Occurrence, and Exposure. In: *Handbook of Arsenic Toxicology*, 1-49.

Fortier, G. M., Bard, N., Jansen, M., and Clay, K., 2000. Effects of tall fescue endophyte infection and population density on growth and reproduction in prairie voles. *J. Wildl. Manag.* 64, 122–128. doi: 10.2307/3802981.

Föstner, U., 1995. Land contamination by metals: global scope and magnitude of problem. In H. E. Allen, C. P. Huang, G. W. Bailey, & A. R. Bowers (Eds.), *Metal speciation and contamination of soil*. Lewis Publishers and CRC. 1-33.

Gagné, F.J., Auclair, P., Turcotte, M., Fournier, C., Gagnon, S., Sauve, C., Blaise., 2008. Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: impacts on immune system, oxidative stress and genotoxicity. *Aquat. Toxicol.*, 86, 333–340.

Galán, E., Gómez-Ariza, J.L., González, I., Fernández-Caliani, J.C., Morales, E., Giráldez, I., 2003. Heavy metal partitioning in river sediments severely polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt. *Applied Geochemistry*, Volume 18, Issue 3, 409-421.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2006. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th edn, Oxford University Press, Oxford.

Hylander, L.D., Pinto, F.N., Guimaraes, J.R.D., Meili, M., Oliveira, L.J., Silva, E.D.E., 2000. Fish mercury concentration in the Alto Pantanal, Brazil: influence of season and water parameters. *Sci Total Environ* 261: 9-20.

Hermes- Lima, M., Willmore, W.G., Storey, K.B., 1995. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (II) xylenol orange complex formation. *Free Radical Biol. & Med*, 19, 271-280.

Kalay, M., Canli, M., 2000. Elimination of Essential (Cu, Zn) and Non-Essential (Cd, Pb) Metals from Tissues of a Freshwater Fish *Tilapia zilli*. *Turk J Zool* 24, 429-436.

Kotsanis N., Iliopoulou-Georgudaki, J., 1999. Arsenic induced liver hyperplasia and kidney fibrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by microinjection technique: A sensitive animal bioassay for environmental metaltoxicity. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62, 169-178.

Kullander, S.O., Ferreira, E.J.G., 2006. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*, Vol. 17, No. 4, 289-398., ISSN 0936-9902.

Kumar, P.R., Chaudhari, S., Khilar, K.C., Mahajan, S.P., 2004. Removal of arsenic from water by electrocoagulation. *Chemosphere* 55, 1245–1252.

Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals, *Aquatic Toxicology*, Vol. 101, No. 1, 13-30.

Magalhães, P.D., Filho, A.S.F., 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.* 12 (3), 355-381.

Méndez-Fernández, L., De Jonge, M., Bervoets, L., 2014. Influences of sediment geochemistry on metal accumulation rates and toxicity in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*. *Aquatic Toxicology* 157, 109–119.

Mieiro, C.L., Pereira, M.E., Duarte, A.C., Pacheco, M. 2011. Brain as a critical target of mercury in environmentally exposed fish (*Dicentrarchus labrax*)—Bioaccumulation and oxidative stress profiles. *Aquatic Toxicology*, Volume 103, Issues 3–4, June 2011, Pages 233-240. doi:10.1016/j.aquatox.2011.03.006.

Montserrat, 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. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 45, 177–183.

Monserrat, J.M., Lima, J.V., Ferreira, J.L.R., Acosta, D., Garcia, M.L., Ramos, P.B., Moraes, T.B., Santos, L.C., Amado, L.L., 2008. Modulation of antioxidant and detoxification responses mediated by lipoic acid in the fish *Corydoras paleatus* (Callychthyidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 148, 287-292.

Morales et al., 2004. Amalia E. Morales, Amalia Pérez-Jiménez, M. Carmen Hidalgo, Emilia Abellán, Gabriel Cardenete. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, Volume 139, Issues 1–3, 153-161.

Moore, M.J., Mitrofanov, I.V., Valentini, S.S., Volkov, V.V., Kurbskiy, A.V., Zhimbey, E.N., Eglinton, L.B., Stegeman, J.J., 2003. Cytochrome P4501A expression, chemical contaminants and histopathology in roach, goby, and sturgeon and chemical contaminants in sediments from the Caspian Sea, Lake Balkhash and the Ily River Delta. *Kazakhstan. Mar. Pollut. Bull.* 46, 107–119.

Müller, J., Troschel, F. H., 1844. Synopsis generum et specierum familiae characinorum (Prodromus descriptions novorum generum et specierum). *Archiv. Naturgesch.*, 10(1), 81-99.

Nickson, R.T., McArthur, J.M., Shresthra, B., Kyaw-Myint, T.O., Lowry, D., 2005. Arsenic and other drinking water quality issues, Muzaffargarh District, Pakistan. *Appl. Geochem.* 20, 55–68.

Pandey, S., Parvez, S., Ansari, R.A., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., Ahmad, F., Raisuddin, S., 2008. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chemico-Biological Interactions*, Volume 174, Issue 3, Pages 183-192. doi:10.1016/j.cbi.2008.05.014.

Pedrajas, J. R., Peinado, J., López-Barea, J., 1995. Oxidative stress in fish exposed to model xenobiotics. Oxidatively modified forms of Cu,Zn-superoxide dismutase as potential biomarkers. *Chemico-Biological Interactions* 98, 267-282.

Peng, Z., Vidale, J. E., Wech, A. G., Nadeau, R. M., Creager, K.C., 2009. Remote triggering of tremor along the San Andreas Fault in central California, *J. Geophys. Res.*, 114, B00A06, doi:10.1029/2008JB006049.

Pereira, R.M.S., Andrades, N.E.D., Paulino, N., Sawaya, A.C.H.F., Eberlin, M.N., Marcucci, M.C., Favero, G.M., Novak, E.M., Bydlowski, S.P., 2007. Synthesis and Characterization of a Metal Complex Containing Naringin and Cu, and its Antioxidant, Antimicrobial, Antiinflammatory and Tumor Cell Cytotoxicity, 12, 1352-1366.

Ploetz, D. M., Fitts, B.E., Rice, T.M., 2007. Differential accumulation of heavy metals in muscles and liver of a marine fish (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla*, Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 78, 134-137.

Qu, R., Wang, X., Wang, Z., Wei, Z., Wang, L., 2014a. Metal accumulation and antioxidant defenses in the freshwater fish *Carassius auratus* in response to single and combined exposure to cadmium and hydroxylated multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials*, Volume 275, 89-98.

- Qu, R. Feng, M. Wang, X. Qin, L. Wang, C. Wang, Wang, L., 2014b. Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in liver of freshwater fish *Carassius auratus* following in vivo exposure to waterborne zinc under different pH values. *Aquatic Toxicology*. Volume 150, 9–16.
- Queiroz, L.P., Conceicao, A., Giulietti, A.M., 2006. Nordeste Semi-árido: caracterização geral e lista das fanerógamas. In: Giulietti, A.M. & Queiroz, L.P. (orgs.). Instituto do Milênio do Semi-árido: diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido brasileiro. Vol. 1. APNE, Recife. 15-364.
- Rahman, M.A. Hogan, B. Duncan, E. Doyle, C. Krassoi, R. Rahman, M.M. Naidu, R. Lim, R.P. Maher, W. Hassle, C., 2014. Toxicity of arsenic species to three freshwater organisms and biotransformation of inorganic arsenic by freshwater phytoplankton (*Chlorella* sp. CE-35). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 106, 126-135.
- Ramos, O.E.R., Rötting, T.S., French, M., Sracek, O., Bundschuh, J., Quintanilla, J., Bhattacharya, P., 2014. Geochemical processes controlling mobilization of arsenic and trace elements in shallow aquifers and surface waters in the Antequera and Poopó mining regions, Bolivian Altiplano. *Journal of Hydrology*, Volume 518, Part C, 421-433.
- Romeo, M., Gnassia-Barelli, M., 1997. Effect of heavy metals on lipid peroxidation in the Mediterranean clam *Ruditapes decussates*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 118, 33.
- Salomons, W., 1995. Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, predictions, prevention. *Journal of Geochemical Exploration*. Volume 52, Issues 1–2, 5–23.
- Santos, U.M., Bringel S.R.B., Ribeiro, M.N.G., Silva, M.N.O., 1985. Rios da Bacia Amazônica II. Os afluentes do rio Branco. *Acta Amazonica*, 15: 147-56.
- Seyler, P., Martin, J-M., 1991. Arsenic and selenium in a pristine river-estuarine system: the Krka, Yugoslavia. *Mar Chem*, 34:137–51.
- Shen, Y.S., 1973. Study of Arsenic Removal From Drinking Water. *Journal - American Water Works Association*. Volume, 65, Number 8. 543-548.
- Shi, H., Sui, Y., Wang, X., Luo, Y., Ji, L., 2005. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol. C—Toxicol. Pharmacol.*, 140, 115–121.
- Song, L., Jian, J., Tan, D., Xie, H., Luo, Z., Gao, B., 2015. Estimate of heavy metals in soil and streams using combined geochemistry and field spectroscopy in Wansheng mining area, Chongqing, China. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, Volume 34, 1-9.
- Suhendrayatna, Ohki, A., Nakajima, T., Maeda, S., 2002. Studies on the accumulation and transformation of arsenic in freshwater organisms II Accumulation and transformation of arsenic compounds by *Tilapia mossambica*. *Chemosphere*, 46(2):325 – 31.

Tamoto, S., Tabelin, C.B., Igarashi, T., Ito, M., Hiroyoshi, N., 2015. Short and long term release mechanisms of arsenic, selenium and boron from a tunnel-excavated sedimentary rock under in situ conditions. *Journal of Contaminant Hydrology*.

Tinôco, A.A.P., 2010. Avaliação de contaminação por mercúrio em Descoberto, MG, *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 15 (4), 305–314.

Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dessenakis, M., Scoullou, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 64, Issue 2, pages 178–189.

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13, 57–149.

Ventura-Lima, J., Fattorini, D., Regoli, F., Monserrat, J.M., 2009. Effects of different inorganic species in *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) tissues after short-time exposure: bioaccumulation, biotransformation and biological responses. *Environmental Pollution*, v. 157, 3479-3484.

Vieira, L.R., Gravato, C., Soares, A.M.V.M., Morgado, F., Guilhermino, L., 2009. Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Linking biomarkers to behavior. *Chemosphere*, Volume 76, Issue 10, Pages 1416-1427.

Višnjić-Jeftić, Ž., Jarić, I., Jovanović, L.J., Skorić, S., Smederevac-Lalić, M., Lenhardt, M., 2010. Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver, and gills of the Pontic shad (*Alosa immaculata* Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchemical Journal*, 95, 341-344.

Waheed, S., Malik, R.N., Jahan, S., 2013. Health risk from As contaminated fish consumption by population living around River Chenab, Pakistan. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Volume 36, Issue 2, 579-587.

Wang, B., Feng, L., Jiang, W.D., Wu, P., Kuang, S.Y., Jiang, J., Tang, L., Tang, W.N., Zhang, Y.A., Liu, Y., Zhou, X.Q., 2015. Copper-induced tight junction mRNA expression changes, apoptosis and antioxidant responses via NF- κ B, TOR and Nrf2 signaling molecules in the gills of fish: Preventive role of arginine. *Aquatic Toxicology*, Volume 158, 125-137.

White, C.C., Viernes, H., Krejsa, C.M., Botta, D., Kavanagh, T.J., 2003. Fluorescence-based microtiter plate assay for glutamate–cysteine ligase activity. *Anal. Biochem.*, 318 (2), 175–180.

WHO – World Health Organization. 2000. Chapter 1. Source and behaviour of arsenic in natural Waters. Pauline L Smedley and David G Kinniburgh. British Geological Survey, Wallingford, Oxon OX10 8BB, U.K.

Wood, C.M., 2011. Toxic responses of the gill. D.S. Schlenk, W.H. Benson (Eds.), *Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts*, vol. 1 Taylor and Francis, 1–89.

Yasser, A.Gh., Naser, M.D., 2011. Impact of pollutants on fish collected from different parts of Shatt Al-Arab River: a histopathological study. *Environ. Monit. Assess.* 181, 175–182.

Yao, Y., Lin, G., Xie, Y., Ma, P., Li, G., Meng, Q., 2014. Preformulation studies of myricetin: A natural antioxidant flavonoid. *Die Pharmazie*, 69, 19–26.

Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*, 5th Edition. 835p. ISBN-13: 978-0321656865.