



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA

VARIAÇÕES NA ESTRUTURA POPULACIONAL E BIOMARCADORES
HISTOLÓGICOS EM
Mugil curema (PISCES, MUGILIDAE) E *Haemulon aurolineatum* (PISCES,
HAEMULIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE IMPACTOS DO DERRAMAMENTO DE
ÓLEO EM PERNAMBUCO (BRASIL)

Raiane Nascimento de Jesus

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof.(a) Dr.(a) ROSÂNGELA
PAULA TEIXEIRA LESSA
Orientador

Recife,
Agosto/ 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

J58v de Jesus, Raiane
Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em *Mugil curema* (pisces, mugilidae) e *Haemulon aurolineatum* (pisces, haemulidae) para avaliação de impactos do derramamento de óleo em Pernambuco (Brasil) / Raiane de Jesus. - 2022.
97 f. : il.

Orientadora: Rosangela Paula Teixeira Lessa.
Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife, 2022.

1. Derramamento de óleo. 2. Biomarcadores. 3. Biomonitoramento. I. Lessa, Rosangela Paula Teixeira, orient. II. Título

CDD 639.3

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA

VARIAÇÕES NA ESTRUTURA POPULACIONAL E BIOMARCADORES
HISTOLÓGICOS EM
Mugil curema (PISCES, MUGILIDAE) E *Haemulon aurolineatum* (PISCES,
HAEMULIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE IMPACTOS DO DERRAMAMENTO DE
ÓLEO EM PERNAMBUCO (BRASIL)

Raiane Nascimento de Jesus

Dissertação julgada adequada para
obtenção do título de mestre em Recursos
Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e
aprovada em 29/08/2022 pela seguinte
Banca Examinadora.

Profa. Dra. Rosângela Paula Teixeira Lessa

Orientadora

Departamento de Pesca e Aquicultura-
Depaq/Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Raimunda Nonata Fortes Carvalho Neta

Membro externo

Departamento de Biologia
DBio/Universidade Estadual do
Maranhão

Profa. Dra. Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva

Membro interno

Departamento de Pesca e Aquicultura-
Depaq/Universidade Federal Rural de Pernambuco

Agradecimentos

Os meus agradecimentos vão primeiramente para Rosangela Lessa por seus ensinamentos e pelas correções, do mesmo modo que me forneceu orientações valiosas durante nossas conversas. A sua caminhada é inspiradora e é um grande privilégio poder aprender com você! Agradeço também a professora Raimunda Carvalho por sua preciosa contribuição durante o desenvolvimento dessa dissertação no tocante a patologias teciduais de peixes.

Também gostaria de agradecer o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela concessão de bolsa de pesquisa por meio do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP).

Gostaria de agradecer ao Laboratório de Histologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, através do professor Francisco de Assis, pela assistência com os procedimentos utilizados na dissertação, como também a Maria Edna Gomes por colaborar com minha aprendizagem quanto às técnicas histológicas e a Silvio Castillo pelos ensinamentos acerca das análises histopatológicas, obrigada pela atenção e aprecio sua amizade.

Agradeço de coração a todos que me acompanharam durante meu trabalho, seja do Laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas - DIMAR ou externos, principalmente a Francisco Santana, Amanda Araújo, Lorena Kostek, Mariana Rego e Geysel Carvalho.

Agradeço também aos colaboradores das cidades de Itapissuma, Ilha de Itamaracá e Goiana que me permitiram realizar a amostragem, ter informações sobre as pescarias e que dividiram um pouco das suas experiências valiosas com essa jovem pesquisadora, em especial a Sr. Amauri, Sr. Edízio, Sr. Fernando (Bruninho), Sr. Pedro (Bola), Sra. Zaninha e família, Sr. Arlan e Sr. Mizael.

Estou muito feliz por poder expressar os meus mais afetuosos agradecimentos à minha família e ao meu amado, por me inspirarem diariamente a me tornar uma pessoa melhor.

Meu verdadeiro reconhecimento a todos aqueles que trouxeram comentários e contribuíram para um melhor conhecimento sobre os efeitos do petróleo sobre os tecidos de peixes.

Obrigada também a todos que direta ou indiretamente participaram do desenvolvimento desta dissertação.

Resumo

As atividades de exploração, produção e transporte de petróleo e derivados ocorrem diariamente em todo o mundo, podendo levar à poluição ambiental e a acidentes contra a biota aquática. O 1º capítulo tem como objetivo revisar os impactos negativos da exposição aguda dos derramamentos de petróleo sobre biomarcadores histológicos: brânquias e fígados de peixes. Nas brânquias, houve predomínio de hiperplasias, hipertrofias, aneurismas, hiperemias, hemorragias, edemas, inflamações, descolamento do epitélio e fusão de lamelas. Já no tecido hepático, predominaram focos inflamatórios, parasitas, esteatoses, necroses e neoplasias. No Brasil, em especial na costa de Pernambuco, em agosto de 2019, foram encontradas grandes quantidades de petróleo bruto que afetou diversas espécies costeiras importantes para pesca. Dessa forma, o 2º capítulo objetivou investigar o *status* de saúde das populações de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* após esse acidente. Para isso noventa e sete peixes de ambas as espécies foram coletados em Itapissuma, Ilha de Itamaracá e Goiana entre outubro de 2020 a novembro de 2021 para posteriores análises histopatológicas e determinação dos índices somáticos. As análises histopatológicas demonstraram expressiva ocorrência de patologia no fígado e brânquia de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum*, os índices somáticos revelaram que os fígados de *Mugil curema* foram mais comprometidos, e que as brânquias de ambas as espécies estão com níveis de modificações teciduais normais a leves, e que não houve diferença ($p > 0,05$) para os fígados e brânquias de adultos e juvenis para as duas espécies dos locais estudados. Os dados obtidos indicam que a saúde dos peixes se encontra comprometida, assim as patologias que foram encontradas nos trabalhos de biomonitoramento revisados no 1º capítulo ratificam a ocorrência das patologias observadas nos fígados e brânquias de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* as quais estão possivelmente relacionadas a contaminação pelo óleo.

Palavras-chave: histopatologia; derramamento de óleo; biomonitoramento.

Abstract

The everyday exploration, extraction, and transportation of oil and its byproducts can cause severe harm to aquatic biota as well as environmental contamination. The first chapter, therefore, examines the detrimental effects of acute exposure to oil spills on histology indicators, such as fish gills and livers. The gills exhibited a predominance of hyperplasia, hypertrophy, aneurysms, hyperemia, hemorrhage, edema, inflammation, lamellar epithelium lifting, and fusing. While steatosis, necrosis, parasite presence, neoplasms, and inflammatory *foci* were the most common conditions in the liver tissue. In August 2019, large amounts of crude oil were discovered in Brazil, not least on the coast of Pernambuco, affecting several coastal species important for fishing. Thus, the second chapter sought to investigate the health of the *Mugil curema* and *Haemulon aurolineatum* populations following the accident. Between October 2020 and November 2021, 97 fish of both species were collected in Itapissuma, Ilha de Itamaracá, and Goiana for further histopathological analysis and determination of somatic indexes. The histopathological analyses revealed an expressive occurrence of pathologies in the livers and gills of *Mugil curema* and *Haemulon aurolineatum*, the somatic indexes revealed that the *Mugil curema*'s livers were more compromised, and the gills of both species had normal to slight tissue changes levels, and there was no difference ($p > 0.05$) between the livers and gills of adults and juveniles for the two species as per the studies. The data obtained indicate that the health of the fishes is compromised, so the pathologies discovered in the biomonitoring works reviewed in the first chapter confirm the occurrence of the pathologies observed in the livers and gills of *Mugil curema* and *Haemulon aurolineatum*, which are possibly related to oil contamination.

Keywords: Histopathology; oil spill; biomonitoring.

Lista de figuras

Capítulo 1

Figura 1: Níveis de integração biológica no estudo do efeito de alguns fatores ambientais, incluindo poluição. A extensão da complexidade aumenta à medida que se avança da esquerda para direita (adaptado de Heath, (2018)).....	14
Figura 2: Fluxograma do processo de obtenção de dados	17
Figura 3: Brânquias com patologias em peixes expostos a contaminação por petróleo.....	31
Figura 4: Fígados com patologias em peixes expostos a contaminação por petróleo	37
Figura 5: Fígados com patologias em peixes expostos a contaminação por petróleo	39

Capítulo 2

Figura 1: Área de estudo compreendendo os municípios de Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma afetada pelo derramamento de petróleo, em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil.	62
Figura 2: (A) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de <i>Mugil curema</i> fêmeas adultos e juvenis; (B) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de <i>Mugil curema</i> machos adultos e juvenis.....	65
Figura 3: Percentual de idade para ambos os sexos de <i>Mugil curema</i> , em Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma, em setembro de 2019, no litoral norte de Pernambuco, Brasil.	66
Figura 4: Fotomicrografias de brânquia de <i>Mugil curema</i> coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil. A. Uma fileira de lamelas secundárias com aneurismas completamente dilatadas (seta). B. Lamelas branquiais congestionadas (seta). C. Lamelas totalmente desorganizadas (seta). D. Epitélio lamelar fortemente descolados. E. Filamento branquial completa fusão de lamelas secundárias (seta). F. Presença de células necróticas em todo o filamento lamelar. Ampliação: 40 para A, B, C, D, E e F.	69
Figura 5: Fotomicrografia de fígado de <i>Mugil curema</i> coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil. A. Fígado mostrando presença de aglomerados de macrófagos (seta). B. Fígado com esteatose macrovesicular (seta). C. Atenuada área de fibrose (seta). D. Presença de hepatócitos com degeneração hidrópica (seta). E. Área necrótica (seta). F. Presença de sinusoides dilatados. Ampliação 40 para A, B, C, D, E, e F.....	70
Figura 6: Frequência de patologias em brânquias de <i>Mugil curema</i> por área de estudo.	71
Figura 7: Frequência de patologias encontradas em fígados de <i>Mugil curema</i> por área de estudo. ..	71
Figura 8: Percentual dos índices de alterações hepáticas para adultos e juvenis de <i>Mugil curema</i> coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma no litoral de Pernambuco, Brasil.	72
Figura 9: Percentual dos índices de alterações branquiais para adultos e juvenis de <i>Mugil curema</i> coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma, no litoral de Pernambuco, Brasil.	72
Figura 10: (A) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de <i>Haemulon aurolineatum</i> fêmeas adultas e juvenis; (B) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de <i>Haemulon aurolineatum</i> machos adultos e juvenis.	74
Figura 11: Frequência de idade para ambos os sexos de <i>Haemulon aurolineatum</i> em Goiana e Ilha de Itamaracá, em setembro de 2019 no litoral de Pernambuco, Brasil	75
Figura 12: Fotomicrografias de brânquia de <i>Haemulon aurolineatum</i> coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil. A. Congestionamento de um vaso (asterisco) complementado por lamelas completamente fusionadas (seta). B. Presença de levantamento do epitélio lamelar (seta). C. Lamelas totalmente desorganizadas (seta). D. Uma fileira de lamelas secundárias com aneurismas completamente dilatados (seta). Ampliação: 40 para A, B, C e D.	77

Figura 13: Fotomicrografia de fígado de <i>Haemulon aurolineatum</i> coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral norte de Pernambuco, Brasil. A. Fígado com microvesículas de gordura caracterizando degeneração lipídica (seta). B. Presença de aglomerados de macrófagos (seta). C. Presença de células com degenerações lipídicas (seta). D. Área necrótica (seta). Ampliação 40 para A, B, C e D.	77
Figura 14: Frequência de patologias encontradas em brânquias de <i>Haemulon aurolineatum</i> por área de estudo.	78
Figura 15: Frequência de patologias encontradas em fígados de <i>Haemulon aurolineatum</i> por área de estudo.	78
Figura 16: Percentual dos índices de alterações hepáticas para adultos e juvenis de <i>Haemulon aurolineatum</i> coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana e Ilha de Itamaracá no litoral de Pernambuco, Brasil.....	79
Figura 17: Percentual dos índices de alterações branquiais para adultos e juvenis de <i>Haemulon aurolineatum</i> coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana e Ilha de Itamaracá no litoral de Pernambuco, Brasil.....	79
Figura 18: Distribuição de frequência de comprimento zoológico (CZ) para ambos os sexos de <i>Mugil curema</i> e seus períodos maturacionais no período do derramamento de petróleo, em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil.	94
Figura 19: Frequência de comprimento total (CT) para ambos os sexos de <i>Haemulon aurolineatum</i> em Goiana e Ilha de Itamaracá, litoral norte de Pernambuco, e seus períodos maturacionais em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil.	95

Lista de tabelas

Capítulo 1

Tabela 1: Derramamentos de petróleo, ano de ocorrência, nome do vetor do derramamento, volume de petróleo vazado e fonte das ocorrências em nível global entre os anos de 1967 a 2021. 20

Tabela 2: Tabela de trabalhos analisados que inclui título do periódico, autor e ano, dados do derramamento, bioindicadores e biomarcadores avaliados. 25

Capítulo 2

Tabela 1: Derramamentos de petróleo, ano de ocorrência, nome do vetor do derramamento, volume de petróleo vazado e fonte das ocorrências em nível global entre os anos de 1967 a 2021.20

Tabela 2: Tabela de trabalhos analisados que inclui título do periódico, autor e ano, dados do derramamento, bioindicadores e biomarcadores avaliados.25

Sumário

Agradecimentos	4
Resumo	5
Abstract.....	6
Lista de figuras	7
Lista de tabelas	9
1- Introdução.....	10
1.1 Objetivos.....	11
AVALIAÇÃO DO IMPACTO DE DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO COM O USO DE BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS DE PEIXES.....	13
Resumo	13
Abstract.....	13
Introdução.....	14
Metodologia.....	16
Resultados e discussão.....	17
Derramamentos de petróleo	17
Alterações patológicas	26
Brânquias	26
Fígado	34
Conclusão	41
Referências bibliográficas	43
EFEITOS DE MÉDIO PRAZO EM BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS DE <i>Mugil curema</i> E <i>Haemulon aurolineatum</i> APÓS O DERRAMAMENTO DE ÓLEO DE 2019, NO LITORAL DE PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL	59
Resumo	59
Abstract.....	59
1- Introdução.....	60
2- Materiais e métodos	61
2.1.2 Identificação dos habitats ocupados por tamanho	62
2.2 Procedimentos histopatológicos.....	63
2.3 Tratamento estatístico dos dados	63
3. Resultados	65
3.1 <i>Mugil curema</i>	66
3.1.1 Distribuição espaço-temporal de <i>Mugil curema</i> no litoral norte de Pernambuco, Brasil	66
3.1.2 Índices histopatológicos.....	66

3.2	<i>Haemulon aurolineatum</i>	73
3.2.1	Distribuição espaço-temporal de <i>Haemulon aurolineatum</i> no litoral norte de Pernambuco, Brasil	73
3.2.2	Índices histopatológicos	75
4	Discussão	80
5	Conclusão	82
6	Referências bibliográficas	84
	Considerações Finais	90
	Referências	91
	Anexos	94

1- Introdução

O setor petrolífero está frequentemente envolvido em episódios de derramamentos de óleo, entre 2010 a 2019 quatro escapes acidentais, em média, por ano ocorreram por navios petroleiros (International Tanker Owners Pollution Federation Limited - ITOPF, 2014). Ainda, os derramamentos de petróleo ocorrem, em maioria, em áreas costeiras, de manguezais ou de estuários, causam efeitos negativos na fauna e flora desses ambientes (VAL et al., 2004; MATSUO e VAL, 2007; COUCEIRO et al., 2006; LOPES e PIEDADE, 2009). A exemplo disso, pode ser citado o vazamento de petróleo no litoral nordestino, em agosto de 2019, considerado o maior desastre do setor no Brasil (DANTAS et al., 2019). Esse derramamento contaminou cerca de 3.000 quilômetros de costa em onze estados brasileiros (ITOPF, 2014; IBAMA, 2019), incluindo no litoral de Pernambuco, os municípios de Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma.

Dentre as áreas atingidas, destacam-se os ecossistemas recifais e estuarinos, que possuem grande importância ecológica por abrigarem uma vasta biodiversidade (CASTRO, 1999; IPIECA, 1992; LOPES et al., 2007). Sendo assim, possuem relevantes funções ecológicas, tais como a alta produtividade biológica, sendo locais de reprodução e berçário (BERENGER, 2013), eles também são utilizados como áreas de pesca, onde habitam espécies de importância econômica (BENTO, 2005).

Os derramamentos de petróleo na água geram processos físico-químicos e biológicos que fazem suas moléculas se conectarem. Na primeira semana após o acidente, as moléculas menores e mais voláteis tendem a evaporar e, simultaneamente, iniciam-se a dissolução e a movimentação do óleo na coluna d'água, junto aos processos de emulsificação, decomposição, oxidação fotoquímica, sedimentação e absorção pela fauna (ITOPF, 2014). Os processos químicos, físicos e biológicos que ocorrem após um derramamento interferem no equilíbrio entre os ecossistemas costeiros e seus componentes bióticos (nutrientes) e abióticos (sedimentos) (COWEN et al., 2000), sendo considerados estressores da biota.

Dessa forma, para avaliar impactos ambientais, podem ser utilizados alguns táxons como indicadores biológicos, que são organismos que não morreram após as mudanças no ambiente em que transitam, os quais sofrem modificações fisiológicas, morfológicas e ecológicas (PRESTES e VINCENCI, 2019). Dentre os táxons, os peixes podem ser escolhidos por características como a ampla distribuição geográfica, a abrangência de habitats e a participação em diferentes posições na cadeia alimentar (JESUS e CARVALHO, 2008). Devido a tais características, esses táxons podem apontar as reais condições do ambiente estudado.

A forma de contato dos peixes com o petróleo se dá através da alimentação, das trocas gasosas, da ingestão de água e através da pele. Assim, os poluentes, quando absorvidos, podem ser armazenados nas brânquias e no fígado (HEATH, 2018). Esses órgãos podem ser utilizados para investigar biomarcadores de efeito, os que podem apresentar alterações moleculares, celulares e teciduais frente ao impacto que o ambiente sofreu (VAN DER OOST et al., 2003), até mesmo uma breve exposição a esses poluentes pode gerar distúrbios que, embora não letais, afetam as funções fisiológicas dos peixes (RAND, 1985; JOBLING, 1995; ARAÚJO et al., 2020), como a diminuição no crescimento e alteração na reprodução (CARLS et al., 1996; LISTER, 2008). Entretanto, é a forma como o petróleo está disponível no ambiente e a capacidade de acumulação do táxon que definem o grau de severidade (PINTO, 2013), que pode ser dimensionado com o auxílio da histopatologia, técnica utilizada para análise de biomarcadores em ambientes impactados por poluentes (HINTON et al., 2017).

Sendo assim, foram selecionados os peixes tainha (*Mugil curema* Valenciennes 1836) e a sapuruna (*Haemulon aurolineatum* Cuvier 1930), por serem espécies comuns no litoral de Pernambuco, especialmente em Itapissuma, Ilha de Itamaracá e Goiana (LESSA et al., 2006). Essas espécies transitam ao longo da vida entre os ambientes estuarinos e recifais que foram afetados, possuem alta longevidade e estavam presentes antes e após o derramamento de óleo (ARENA et al., 2007; MANOOCH e BARANS, 1982; SANTANA et al., 2009, 2018), além de estarem associadas aos bentos por causa da alimentação, sendo mais suscetíveis a contaminação direta por hidrocarbonetos de petróleo (PETERSON et al., 2003; FINGAS, 2012).

Além do mais, essas espécies, quando afetadas por poluentes, podem apresentar alterações histopatológicas e mudanças no crescimento, resultados de modificações bioquímicas e fisiológicas (HINTON e LAURÉN, 1990; HINTON et al., 2017). Portanto, investigar alterações histopatológicas nessas espécies através de marcadores biológicos permitirá analisar os impactos de diversos poluentes, incluindo hidrocarbonetos de petróleo (GABRIEL et al., 2007).

1.1 – Objetivos

Geral:

Avaliar os impactos da contaminação por petróleo nos tecidos de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* da área do derramamento de óleo de 2019 em Pernambuco.

Específicos:

- Identificar possíveis lesões histológicas em brânquias de *Mugil curema* e *Haemulon*

aurolineatum da área do derramamento de óleo de 2019 em Pernambuco.

- Identificar possíveis lesões histológicas em fígados de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* da área do derramamento de óleo de 2019 em Pernambuco.

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DE DERRAMAMENTO DE PETRÓLEO COM O USO DE BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS DE PEIXES

Resumo

As atividades de exploração, produção e transporte de petróleo e derivados ocorrem diariamente em todo o mundo, podendo levar à poluição ambiental e a acidentes contra a biota aquática. O presente trabalho revisa os impactos negativos da exposição aguda dos derramamentos de petróleo que ocorreram em diversos continentes sobre biomarcadores histológicos: brânquias e fígados de peixes. Nas brânquias, houve predomínio de alterações do tipo hiperplasias, hipertrofias, aneurismas, hiperemias, hemorragias, edemas, inflamações, descolamento do epitélio e fusão de lamelas. Já no tecido hepático, predominaram focos inflamatórios, parasitas, esteatoses, necroses e neoplasias. Peixes de locais contaminados apresentaram lesões difusas e mais severas do que peixes dos locais não contaminados. Contudo, uma causa e efeito direto entre os derramamentos de óleo e as respostas histopatológicas foram estabelecidos apenas em estudos que associaram outros parâmetros de avaliação.

Palavras-chave: biomarcadores de efeito, fígado, brânquias, histopatologias.

Abstract

The everyday exploration, extraction, and transportation of oil and its byproducts can cause severe harm to aquatic biota as well as environmental contamination. The current work therefore examines the detrimental effects of acute exposure to oil spills that occurred in different continents on histology indicators, such as fish gills and livers. The gills exhibited a predominance of alterations such as hyperplasia, hypertrophy, aneurysms, hyperemia, hemorrhage, edema, inflammation, lamellar epithelium lifting, and fusing. While steatosis, necrosis, parasite presence, neoplasms, and inflammatory *foci* were the most common conditions in the liver tissue. Fish from contaminated sites, attained by oil spills, showed diffuse and more severe lesions than fish from uncontaminated sites. However, a cause and effect between oil spills and histopathological responses was established only if association with other evaluation parameters can be done.

Key words: effect biomarkers, liver, gills, histopathologies.

Introdução

Os organismos mais complexos são compostos de uma coleção de células que funcionam coordenadas para realizar cada função (COOPER e HAUSMAN, 2007). Os conjuntos de células de mesma origem formam a unidade funcional denominado tecido, do qual há quatro categorias: o tecido conjuntivo, o tecido muscular, o tecido nervoso e o tecido epitelial, que formam os órgãos e as partes do corpo (GARTNER e HIATT, 2007).

Com a diferenciação evolutiva, as células dos peixes especializaram-se para atender as necessidades biológicas no ambiente aquático (OLSON, 2006; KOKUBO et al., 2010), por esse motivo, os tecidos dos peixes se diferenciam dos tecidos de outros vertebrados. Por exemplo, a pele do peixe difere da pele dos mamíferos por ser coberta por uma epiderme que pode possuir escamas, além de muco e carecerem de glândulas sudoríparas que são presentes nos mamíferos (SOUZA, 2003).

O conhecimento desses diferentes arranjos celulares só é possível através da histologia, que estuda as associações dos diferentes tipos de células na derivação dos órgãos e sistemas, tendo como objetivo não apenas esclarecer morfológicamente as estruturas do organismo, mas também estudar as funções do organismo a nível tecidual e esclarecer as funções fisiológicas do conjunto de células (AIRES et al., 2011; GARTNER e HIATT, 2007).

Anteriormente, os estudos histológicos estavam restritos à descrição dos tecidos, mas o avanço da anatomia patológica aprofundou a análise histológica como ferramenta para diagnosticar patologias. A histopatologia estuda como uma enfermidade afeta um tecido (MUSUMECI, 2014). Atualmente, a histopatologia vem sendo utilizada para diagnosticar impactos ambientais devido à sua localização no espectro de integração biológica descrita por Heath (2018) (Fig. 1), que possibilita ações específicas e o entendimento dos mecanismos que poderão ser comprometidos e também comprometer as funções dos níveis superiores da organização biológica.

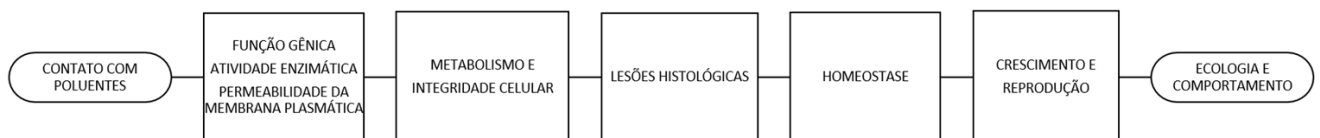


Figura 1: Níveis de integração biológica no estudo do efeito de alguns fatores ambientais, incluindo poluição. A extensão da complexidade aumenta à medida que se avança da esquerda para direita (adaptado de Heath, (2018)).

A utilização da histopatologia revela as alterações no conjunto de células de curto a médio prazo, dependendo de como o contaminante esteve disponível e também da capacidade

de bioacumular do organismo exposto. Além disso, apresenta clareza e agilidade de aplicabilidade (HINTON et al., 2017; TEH et al., 1997; JOHNSON et al., 1993).

A seleção das espécies a serem avaliadas deve considerar a taxonomia da espécie estudada, sua distribuição, se há abundância numérica com baixa variabilidade genética e ecológica, se o deslocamento espacial da espécie é reduzido e quão longo ou curto é o ciclo de vida (HELLAWELL, 1986). Assim sendo, as espécies que indicam mudanças biológicas ou ecológicas devem possuir particularidades cujas alterações serão avaliadas, como a intensidade das oscilações na abundância, morfologia, fisiologia, ou comportamento para serem indicadores do impacto de um contaminante (JOHNSON et al., 1993; CAIRNS e PRATT, 1993; MOURA et al., 2008).

A validação dos bioindicadores demanda cuidados em relação aos efeitos avaliados. Para validação ou proposição de uma substância química ou do produto do metabolismo ou de uma modificação biológica como biomarcador, é esperado que tais apresentem algumas características, como interação da substância química com o sistema biológico, ser de fácil execução, estar acessível à análise e existir o conhecimento da população não exposta ao contaminante alvo do estudo (AMORIM, 2003).

Os peixes reagem às transformações ambientais ocasionadas por substâncias tóxicas através de adaptações de suas funções metabólicas (MISHRA e MOHANTY, 2008); assim são representados como elementos-chave para avaliar o estado ecológico de corpos d'água (HERMOSO et al., 2010). Alguns aspectos biológicos presentes nos peixes os deixam à frente dos invertebrados quanto a sua utilização em estudos ecotoxicológicos, pois os peixes possuem sistemas nervosos, osmorregulatórios, imunológicos e endócrinos melhor desenvolvidos (FLORES-LOPES e THOMAZ, 2011)

Nos peixes ósseos, alguns tecidos são mais utilizados nos estudos patológicos por serem considerados órgãos-alvo ou tecidos-alvo, ou seja, órgãos ou tecidos onde os hormônios atuam ativamente e, conseqüentemente, tendem a acumular toxicidades (HEIER, et al. 2009; MARCOVECCHIO, 2004). A histopatologia, portanto, é uma das metodologias utilizadas para analisar biomarcadores. As alterações histológicas encontradas nos tecidos dos peixes se encaixam na categoria dos biomarcadores de efeito, pois através deles é possível determinar a resposta do organismo à exposição de estressores do meio ambiente como os de origem petroquímica (AMORIM, 2003).

O petróleo é o recurso predominante na matriz energética global, a hegemonia dessa fonte energética gera conseqüências negativas ao longo de todo o ciclo de vida dos peixes,

desde a extração, passando pelo transporte, armazenamento e refino até o consumo final (AZUAGA, 2000). Clarke & Hemphill (2002), Beyer et al. (2016) e Cruz & Krausmann (2008) investigaram diversos impactos ambientais causados por acidentes com petróleo em diferentes etapas produtivas. Esses eventos podem ocorrer com a biota aquática quando entra em contato com as substâncias presentes no petróleo e resultar em patologias teciduais focais e difusas com diferentes graus de severidade, como ratificado pelos estudos de Eriegha et al. (2019), Leite et al. (2015) e Hameed e Al-Azawi (2016). Logo, em condições ideais é possível identificar que as histopatologias observadas ocorreram em função da exposição ao petróleo.

Diante disso, alguns órgãos como brânquias e fígado podem ser escolhidos, pois podem apresentar alterações por causa das funções e interações que exercem com o ambiente, sendo também considerados órgãos-alvo, ou seja, órgãos metabolicamente ativos que podem funcionar como medidores da saúde de uma população (KROON et al., 2017; KALAY et al., 1999; ARELLANO et al., 2001; ROSETY-RODRÍGUEZ et al., 2002).

O presente trabalho teve como objetivo resumir informações disponíveis sobre brânquias e fígados de peixes submetidos em derramamentos de petróleo e demonstrar a importância desses biomarcadores histológicos como ferramentas para identificação de alterações histológicas atribuídas à exposição ao petróleo.

Metodologia

Uma pesquisa bibliográfica foi realizada com o objetivo de criar uma lista de derramamentos de petróleo e derivados, incluindo derramamentos médios e graves em oceano, zonas costeiras e rios. Os eventos de derramamento foram classificados por ano, localização e volume de óleo derramado.

Para esta revisão, o termo “óleo” refere-se ao petróleo bruto e seus derivados, classificados pela densidade, como petróleo bruto, bunker B e C, óleo combustível nº 6, IFO 180, IFO 380, óleo combustível nº 4, gasolina, diesel, gás de aviação e óleos combustíveis nº 1 e nº 2.

A partir da pesquisa bibliográfica elaborou-se uma tabela de citações com a exemplificação das patologias efetuada com bases de dados científicos, utilizando as palavras-chave “oil spill biomarker of effect”, no qual o termo *Oil Spill* foi substituído pelo nome do derramamento. O fluxograma (Fig. 2) serviu como critério na tomada de decisões para escolha dos artigos.

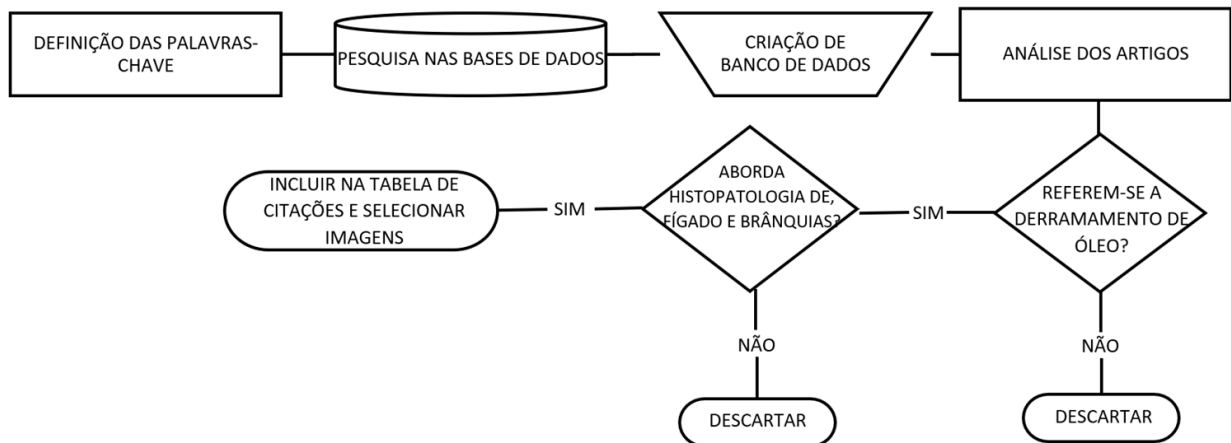


Figura 2: Fluxograma do processo de obtenção de dados. Fonte: Elaborado pelo autor.

Resultados e discussão

- Derramamentos de petróleo

O primeiro caso modernamente conhecido e estudado ocorreu em 1967, relativo ao encalhe do petroleiro *Torrey Canyon* em recifes próximos da costa da Inglaterra (WELLS, 2017). Desde então, acidentes como encalhe, naufrágio, falha durante operações de carga e descarga e abastecimento em terminais e áreas portuárias têm sido recorrentes (CEDRE, 2022).

Os danos à biota dos acidentes aumentam se associados à falta de preparação e ineficiência nas ações de combate nas primeiras 12 horas após o evento, pois o espalhamento e a emulsificação do óleo se intensificam (ITOPF, 2002; LOPES et al., 2006). Dados internacionais da Federação Internacional dos Proprietários de Navios Petroleiros no combate à Poluição (ITOPF, 2022) demonstram decréscimo dos incidentes, que na década de 1970 totalizaram 788 ocorrências envolvendo a liberação de petróleo no oceano, nos anos 1980 foram registrados 454 casos de vazamento, nos anos 1990 constam 358 casos, nos anos 2000 houve 181 derramamentos, enquanto na década de 2010 este número caiu para 63 derramamentos. Por fim, entre 2020 e 2021 foram registrados 10 derramamentos, dos quais 9 são catalogados como derramamentos grandes, ou seja, com mais de 7 toneladas derramadas nos oceanos (TABELA 1).

Ano	Local	Ocorrência	Toneladas vazadas	Fonte
1967	Inglaterra	Petroleiro <i>Torrey Canyon</i>	119 mil	ITOPF, 2022.
1972	Golfo de Oman	Petroleiro <i>Sea Star</i>	115 mil	ITOPF, 2022.
1973	Porto Rico	Petroleiro <i>Zoe Colocotroni</i>	5 mil	REDGWELL, 1992
1974	Chile	Petroleiro <i>Metula</i>	52 mil	SWARTZ e GALLARDO, 1976
1975	Portugal	Petroleiro <i>Jacob Maersk</i>	85 mil	CEDRE, 2022.
1978	França	Petroleiro <i>Amoco Cadiz</i>	223 mil	ITOPF, 2022.
1979	Turquia	Petroleiro <i>Independenta</i>	95 mil	ITOPF, 2022.
1979	Caribe	Petroleiro <i>Atlantic Empress</i>	287 mil	ITOPF, 2022.
1983	Africa do Sul	Petroleiro <i>Castillo de Bellver</i>	252 mil	ITOPF, 2022.
1988	Canadá	Petroleiro <i>Odyssey</i>	132 mil	ITOPF, 2022.
1989	Alasca, EUA	Petroleiro <i>Exxon Valdez</i>	37 mil	ITOPF, 2022.
1989	Espanha	Petroleiro <i>Khark 5</i>	70 mil	ITOPF, 2022.
1991	Angola	Petroleiro <i>ABT Summer</i>	260 mil	ITOPF, 2022.
1991	Itália	Petroleiro <i>Haven</i>	144 mil	ITOPF, 2022.
1991	Kwait	Guerra do Golfo	1,36 mi	CEDRE, 2022.
1996	UK	Petroleiro <i>Sea Empress</i>	72 mil	ITOPF, 2022.
1992	Espanha	Petroleiro <i>Aegean Sea</i>	74 mil	ITOPF, 2022.
1999	França	Petroleiro <i>Erika</i>	20 mil	CEDRE, 2022.
2000	Portugal	Graneleiro <i>Coral Bulker</i>	700	CEDRE, 2022.
2001	Dinamarca	<i>Tern/Baltic Carrier</i>	2700	CEDRE, 2022.
2002	Espanha	Petroleiro <i>Prestige</i>	63 mil	ITOPF, 2022.
2003	Paquistão	Petroleiro <i>Tasman Spirit</i>	27 mil	CEDRE, 2022.

2004	Brasil	Navio químico <i>Vicuña</i>	400	CEDRE, 2022.
2005	EUA	Derramamento causado pelo Furação Katrina	1 mi	PINE, 2006.
2006	Líbano	Usina de Jiyeh	30 mil	REMPEC, 2022.
2007	Coréia	Petroleiro <i>Hebei Spirit</i>	11 mil	ITOPF, 2022.
2007	Inglaterra	Navio Conteineiro <i>Napoli</i>	200 mil	CEDRE, 2022.
2008	Canal da Mancha, próximo a França	Graneleiro <i>Ice Prince</i>	423 123	CEDRE, 2022.
2009	Austrália	Plataforma de petróleo <i>Montara</i>	4800	CEDRE, 2022.
2009	Irlanda	Navio militar	500	
2010	EUA	Plataforma <i>Deepwater Horizon</i>	779 mil	CEDRE, 2022.
2010	Itália	CMA CGM <i>Strauss</i>	180	CEDRE, 2022.
2011	Nova Zelândia	Navio porta-contêineres <i>MV Rena</i>	350	CEDRE, 2022.
2012	Canadá	Oleoduto <i>Sundre</i>	420	
2013	China	Navio porta-contêineres CMA CGM <i>Florida</i>	650	CEDRE, 2022.
2013	Iêmen (Oceano Índico)	Navio porta-contêineres MOL <i>Comfort</i>	3 mil	CEDRE, 2022.
2014	Bangladesh	Navio-tanque <i>Southern Star 7</i>	730	CEDRE, 2022.
2014	França	Cargueiro <i>Luno</i>	120	CEDRE, 2022.
2015	França	Barcaça marítima <i>Nijptangh</i>	53	CEDRE, 2022.
2015	Bélgica	Flinterstar/ <i>Al Oraiq</i>	200	CEDRE, 2022.
2016	Taiwan	TS <i>Taipei</i>	102	CEDRE, 2022.
2017	Índia	Porto de <i>Ennore</i>	196	PRASAD et al., 2018.
2017	Grécia	Petroleiro <i>Agia Zoni II</i>	500	THOMAS et al.,

2018	China	Petroleiro <i>Sanchi</i>	300	2020 ITOPF, 2022.
2019	Brasil	Em investigação	200	REDDY et al., 2022.
2020	Ilhas Maurícias	Graneleiro MV <i>Wakashio</i>	1000	RAO et al., 2022.
2020	EUA	Oleoduto Colonial	168	FRACTRACKER ALLIANCE, 2021.
2021	Rússia	Vazamento de <i>Norislk</i>	2459	RAJENDRAN et al., 2021.
2021	Sri Lanka	Navio porta-contêineres X- <i>Press Pearl</i>	350	CEDRE, 2022.

Tabela 1: Derramamentos de petróleo, ano de ocorrência, nome do vetor do derramamento, volume de petróleo vazado e fonte das ocorrências em nível global entre os anos de 1967 a 2021.

A partir de 1991, o volume vazado foi menor do que nos anos anteriores, sendo adotadas medidas internacionais para prevenção e controle de vazamentos e acidentes (ITOPF, 2022), tais como a Convenção Internacional para Preparo, Resposta e Cooperação em Caso de Poluição por Óleo (OPCR-90), que no Brasil foi internalizada em meados de 1998, e que estabelece que as partes envolvidas no acidente se comprometam, conjunta ou individualmente, a tomar medidas adequadas em caso de poluição por óleo. Assim, o Anexo I da Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição Causada por Navios (MARPOL 73/78) é umas das principais convenções internacionais para prevenção da poluição do ambiente marinho (BRASIL, 1998).

Contudo, os acidentes, ainda que menos graves e mais raros comparados ao início da exploração do petróleo, ocorrem e necessitam receber atenção especial da comunidade científica em estudos que investiguem os diversos parâmetros físico-químicos e biológicos em diversas espécies para mensurar os efeitos aos organismos e aos ecossistemas de curto a longo prazo.

O petróleo, por sua vez, contribui fortemente para a poluição e a degradação dos ambientes marinhos e terrestres (MURPHY et al. 2016). Uma das formas que o petróleo pode contribuir para a deterioração do ambiente marinho é através de derramamentos agudos, caracterizados por um início súbito, de evolução rápida e curta duração, mas para o ambiente pode resultar em dezenas de anos para recuperação (LIMA, 2003).

Os derramamentos também podem ocorrer após explosões de poços de petróleo, ou por razões bélicas (JERNELOEV, 2010; MOSTAFAWI, 2001); acidentes envolvendo petroleiros ou outras embarcações não petroleiras (SAMMARCO et al., 2013) ou derramamentos de refinarias e oleodutos devido às forças da natureza, como o causado pelo Furacão Katrina nos EUA (PINE, 2006); todos podem igualmente resultar em contaminação de óleo em grande escala e efeitos sobre a biota aquática.

Assim sendo, os óleos em todas as suas densidades na biota aquática interferem na capacidade de voar, mergulhar, nadar ou flutuar (CRAWFORD et al., 2000; MAGER et al., 2014; GROSELL e PASPARAKIS, 2021); podem ser ingeridos durante a limpeza de animais que possuem penas e pelos, causando distúrbios endócrinos e, como consequência, efeitos reprodutivos (EPPELY e RUBEGA, 1990; CLIFTON, 2014). Já para os répteis, como as tartarugas marinhas, os anfíbios e os peixes, a ingestão e a absorção são as principais vias diretas de contato (PETERSON et al., 2003; BRAUNER et al., 1999). As consequências desse contato

para os peixes podem resultar em distúrbios endócrinos e, portanto, afetar na reprodução. Estudos apontam histopatologias, alterações no índice gonadossomático e modificações nos níveis de hormônios esteroides para peixes (SUMPTER, 1995; BLAZER, 2002).

Vale salientar que sem intervenção antrópica na contenção do espalhamento do óleo muitos dos animais, em particular os peixes, morrem (HELM et al. 2015). Assim, refutando-se especulações da plausibilidade da fuga dos animais após a entrada de um xenobiótico no seu habitat.

Os peixes, portanto, são amplamente impactados após um evento agudo como um derramamento de petróleo. Estudos totalizando 11 artigos investigaram patologias em órgãos de peixes provenientes de derramamentos de petróleo nacionais e internacionais (TABELA 2).

Outros impactos não relacionados a derramamentos de petróleo têm consequências detectáveis nos biomarcadores eleitos no presente estudo, como a poluição ambiental (p.ex. por organoclorados ou esgotamento industrial) (JULIO et al., 2022), sendo crucial considerar a complexidade da distinção de seus efeitos na biota.

Título do periódico	Autor (ano de publicação)	Dados do acidente	Bioindicadores	Biomarcadores
Cell and tissue biomarkers in mussel, and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003)	Marigómez et al. (2006)	Navio Prestige, Galizia, Espanha, novembro de 2002.	<i>Merluccius merluccius</i> <i>Engraulis encrasicolus</i>	Fígado
Ecotoxicity of sediments contaminated by the oil spill associated with the tanker “Prestige” using juveniles of the fish <i>Sparus aurata</i>	Morales-Caselles et al. (2006)	Navio Prestige, Galizia, Espanha, novembro de 2002.	<i>Sparus auratus</i>	Brânquias Fígado
The impact of an oil spill on organs of bream <i>Abramis brama</i> in the Po River	Giari et al. (2012)	Rio Po, Lombardia, Itália, fevereiro de 2010.	<i>Abramis brama</i>	Pele Brânquias Fígado Rim Intestino
Chemical and histological comparisons between Brevoortia sp. (menhaden) collected in fall 2010 from Barataria Bay, LA and Delaware Bay, NJ following the DeepWater Horizon (DWH) oil spill	Bentivegna et al. (2015)	Baía de Barataria, sonda petrolífera DeepWater Horizon (DWH), abril de 2010, Golfo do México, nos Estados Unidos.	Menhaden sp. (gênero: Brevoortia)	Brânquias, Tronco renal Pele Estômago
Histopathology as an approach to	Boeger et al. (2003)	Refinaria Getúlio Vargas,	<i>Astyanax</i> sp. <i>Corydoras paleatus</i>	Fígado Brânquias

evaluate the effect of an oil spill on fishes of the Arroio Saldanha and Rio Iguaçu (Brazil)		Araucária, Paraná, Brasil. Bacia do arroio Saldanha, (2000)		
Histopathology of <i>Pleuronectes platessa</i> L. from Aber Wrac'h and Aber Benoit, Brittany, France: long-term effects of the Amoco Cadiz crude oil spill. Histopathological survey of potential biomarkers for the assessment of contaminant related biological effects in species of fish and shellfish collected from Kuwait Bay, Arabian Gulf. Biomarkers responses in fish (<i>Atherinella brasiliensis</i>) of Paranaguá bay, southern Brazil, for assessment of pollutant effects An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish <i>Cathorops spixii</i> after the Vicuña	Haensly et al. (1982)	Amoco Cadiz, França. Março de 1978	<i>Pleuronectes platessa</i>	Brânquias Fígado
	Stentiford et al. (2014)	Guerra do Golfo, Kuwait. (Análise a longo prazo)	<i>Synaptura orientalis</i> <i>Pseudorhombus arsius</i>	Fígado
	Oliveira-Ribeiro et al. (2013)	Vicunã, bacia do Paranaguá, Brasil, 2004.	<i>Atherinella brasiliensis</i>	Fígado Brânquias Rim
	Katsumiti et al. (2009)	Vicunã, Brasil (2004)	<i>Cathorops spixii</i>	Fígado Brânquias

Oil Spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil				
Evaluating the genotoxic damage and hepatic tissue alterations in demersal fish species: a case study in the Ligurian Sea (NW-Mediterranean)	Pietrapiana et al. (2002)	Derramamento Haven, Itália (1991)	<i>Lepidorhombus boscii</i>	Fígado
Biomarkers of hydrocarbon exposure and sublethal effects in embiotocid fishes from a natural petroleum seep in the Santa Barbara Channel.	Spies, et al (1996)	Vazamento plataforma de petróleo, Santa Bárbara, Califórnia, EUA, em 1969.	Família Embiotocidae	Brânquias Fígado

Tabela 2: Tabela de trabalhos analisados que inclui título do periódico, autor e ano, dados do derramamento, bioindicadores e biomarcadores avaliados.

- Alterações patológicas

As doses de contaminantes no ambiente aquático geralmente não são letais aos organismos que habitam no local impactado. Para conhecer as causas da letargia de um organismo é necessário conhecer os efeitos subletais que não resultam na morte do organismo, mas modificam a homeostase. Diante disso, conhecer os efeitos subletais dos contaminantes, como as alterações patológicas nos tecidos dos peixes, é de considerável interesse, pois podem indicar futuras mudanças nas funções dos órgãos, como a osmorregulação e o metabolismo de hormônios sexuais, possibilitando que modificações na dinâmica de um grupo de organismos em um ecossistema aconteçam, podendo desequilibrar a teia trófica, a reprodução e o metabolismo (BERTI et al., 2009; LOPES e PIEDADE, 2009; LISTER et al., 2008; MATSUO et al., 2006).

Diversos contaminantes adentram o ambiente aquático, deixando-o exposto às atividades químicas. Esses contaminantes podem ser originários de atividades antrópicas ou de maneira natural e são chamados de **xenobióticos** (ATASHGAHI et al., 2018). Os principais xenobióticos que afetam o ambiente aquático são metais pesados, defensivos agrícolas, inseticidas, produtos de limpeza, plásticos, fármacos, petróleo e seus derivados (SINGH et al., 2017; LELLIS et al., 2019; JULIO et al., 2022).

Diante do exposto, serão apresentadas modificações patológicas provenientes de eventos agudos de derramamento de petróleo nos tecidos das brânquias e fígados de peixes teleósteos marinhos e dulcícolas.

Brânquias

As brânquias possuem formato de V se cortadas transversalmente e subdividem-se em lamelas primárias e secundárias, sendo sustentadas pelo arco branquial (KARDONG, 2016). As lamelas primárias são revestidas por um epitélio pavimentoso com função de provocar micro turbulências para o aumento da superfície respiratória, ou proteger o órgão de estressores ambientais, como alterações no pH e temperatura da água. Abaixo desse epitélio estão os seios sanguíneos lamelares que constituem a barreira responsável pelas trocas gasosas, enquanto a presença de células de cloro em toda região do filamento branquial está envolvida no transporte iônico nas brânquias (PISAM, 1981; LAURENT e DUNEL, 1980; WILSON e LAURENT, 2002; PERRY; 1997).

A morfologia e estrutura das brânquias são semelhantes nas espécies de peixes. O sangue e a água correm em direções opostas, caracterizando o sistema de troca gasosa por contracorrente (WILSON e LAURENT, 2002), constituindo um mecanismo de ventilação em duas formas: interna ou externa. As brânquias internas são protegidas lateralmente por um opérculo resistente nos peixes teleósteos ou por um septo interbranquial para os peixes cartilagosos. Já as brânquias externas ocorrem em larvas de peixes pulmonados, algumas espécies da classe Actinopterygii e anfíbios (KARDONG, 2016).

As brânquias são escolhidas para os estudos histopatológicos por estarem em contato com o ambiente aquático e por atuarem na respiração, osmorregulação e excreção de substâncias tóxicas do organismo (POLEKSIĆ e MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, 1994). Além disso, considera que as substâncias tóxicas chegam aos órgãos parenquimatosos que não possuem acesso direto ao sistema digestório através do sangue que percorre nas brânquias (TERRA et al., 2008).

As brânquias possuem tecidos espessos para diminuir a velocidade de difusão nas trocas gasosas, ao mesmo tempo que possuem barreiras finas para ajudar nesse processo, possibilitando que haja uma redução na distância entre o sangue e o ambiente. A troca eficaz dos gases O₂ e o CO₂ durante a respiração somente ocorre se uma grande parte da superfície do órgão estiver disponível e para isso é necessário que os vasos sanguíneos, os vasos delgados e os capilares estejam desobstruídos (HEATH, 2018), quando expostas a hidrocarbonetos de petróleo podem ser incentivadas ou inibidas a absorver O₂, a depender da dose e do tempo dessa exposição (HEATH, 2018). Em eventos de concentrações de dose máxima letal, há uma inibição na absorção do O₂ em função de lesões no epitélio branquial. Inicialmente, há uma breve pressão feita pelas brânquias para captação do O₂, mas, ao passar algumas horas, a captação e o consumo de O₂ tendem a cair (THOMAS e RICE, 1979). Revela-se que essas alterações de resposta não trazem a condição homeostática de volta.

Alguns estressores ambientais, como os xenobióticos, iniciam efeitos no nível enzimático, chegando à alteração celular, por exemplo: a permeabilidade das membranas com mudanças no gasto de energia e na síntese de hormônios (ARAÚJO et al., 2018). Com alterações graves, pode ocorrer apoptose celular, gerando lesões histológicas, refletindo em mudanças na função do órgão. Por exemplo, hidrocarbonetos de petróleo causam necrose do epitélio branquial (DIGLESH, 2019); assim, esse fato acarreta na diminuição da permeabilidade da brânquia ao oxigênio, revelando-se que um efeito patológico gera respostas fisiológicas (HEATH, 2018).

Portanto, as brânquias podem apresentar histopatologias causadas pela entrada de xenobióticos na água e, dessa forma, estas alterações podem ser empregadas como indicador para o biomonitoramento (SCHWAIGER, 2001; VEIGA et al., 2002; MELETTI et al., 2003).

Em um evento agudo, como um derramamento de petróleo, as brânquias atuam como um biomarcador primário, pois as superfícies mantêm contato com o ambiente contaminado (BERNET et al., 1999; POLEKSIĆ e MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, 1994). As lesões histológicas nas brânquias podem ocorrer tanto como reação de proteção do organismo contra o xenobiótico, quanto o aparecimento de lesões irreversíveis que causam a morte de células de um tecido (KROGLUND et al. 2008).

Dessa forma, patologias podem ocorrer nos tecidos de peixes impactados por poluentes (SINDERMANN, 1979; SUSANI et al., 1986; TAKASHIMA e HIBIYA, 1995; BERNET et al., 1999), como vazamentos de sangue dos vasos sanguíneos, congestão de sangue em um órgão, dilatações dos vasos

sanguíneos arteriais, fluido tecidual dos capilares para o tecido, malformação ou mau funcionamento das estruturas celulares, mudanças na morfologia e arquitetura das células, entre outros. Bernet et al. (1999) menciona também alterações na forma e estrutura nuclear da cromatina, redução no número e volume das células, diminuição da quantidade de substâncias intercelulares, perda permanente da função celular, aumento do volume celular sem aumento do número de células.

A hiperplasia do epitélio branquial, em peixes, induzida por hidrocarbonetos de petróleo intensificou o parasitismo nas brânquias que foram predominantes em peixes submetidos a hidrocarbonetos de petróleo, além de que o aumento das lesões esteve diretamente ligado ao tempo de exposição ao poluente (KHAN e KICENIUK, 1988; SOLANGI e OVERSTREET, 1982; AGAMY, 2013). A expansão da hiperplasia com fusão lamelar acarretou na diminuição da superfície respiratória dos filamentos branquiais (JAHANBAKHSI e HEDAYATI, 2012) para diminuir a absorção dos contaminantes pelo sangue e aumentar a área epitelial para as trocas gasosas (ROBERTS, 2001; SAKURAGUI et al., 2003). Portanto, a hiperplasia epitelial é resultado do mecanismo de proteção do organismo contra substâncias tóxicas e estressores ambientais.

Morales-Caselles et al. (2006) ao analisarem as brânquias de douradas (*Sparus aurata*) associadas a sedimentos contaminados pelo derramamento de óleo do petroleiro “Prestige” (POS) encontraram alterações histomorfológicas, como hiperplasias e fusão das lamelas secundárias (Fig. 3A), essas lesões foram relacionadas às substâncias tóxicas presentes no óleo, pois continuam ativas mesmo após o processo lento de sedimentação (ITOPF, 2011).

Giari et al. (2012), ao analisarem a brema (*Abramis brama*) do rio Po na região da Lombardia-Itália, após um incidente com hidrocarbonetos de petróleo em um rio tributário, encontraram hiperplasias nas células mucosas e fusão das lamelas secundárias (Fig. 3B). Semelhante a brema, peixes silvestres da espécie *Boops boops* apresentaram sensibilidade a poluentes orgânicos persistentes (POP's), a poluentes semipersistentes como compostos organobromados (PBDE's) e hidrocarbonetos de petróleo, contaminantes emergentes como os filtros solares e a pesticidas (HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2017), indicando que espécies de hábito bentopelágico podem estar mais suscetíveis e serem consideradas espécies sentinelas, pois estão em contato com o bentos por meio da alimentação (PETERSON et al., 2003; FINGAS, 2012).

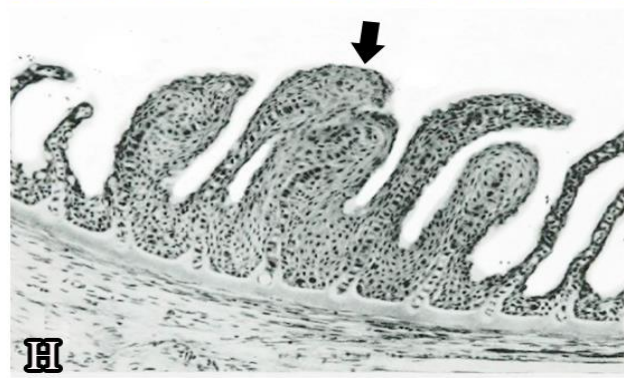
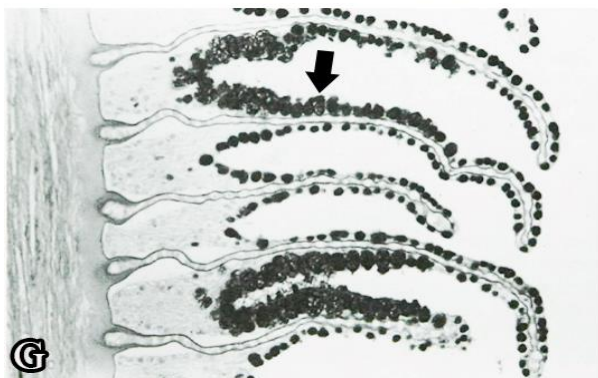
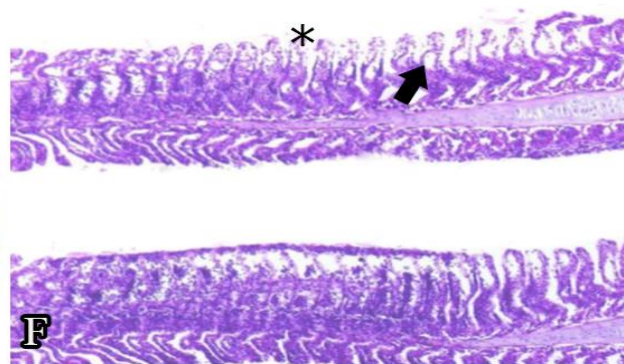
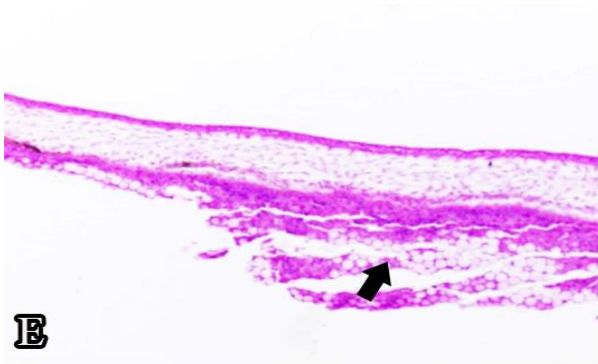
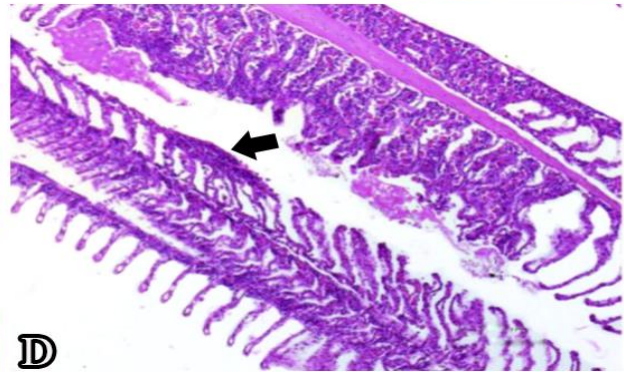
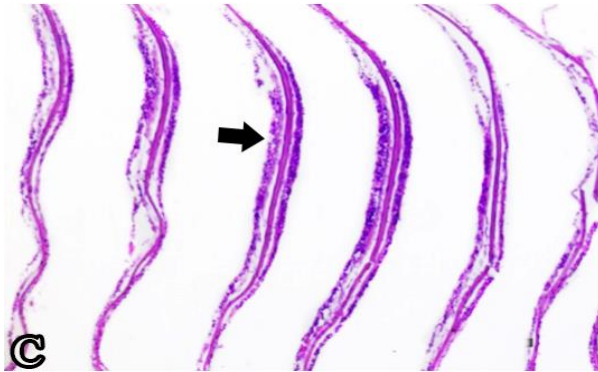
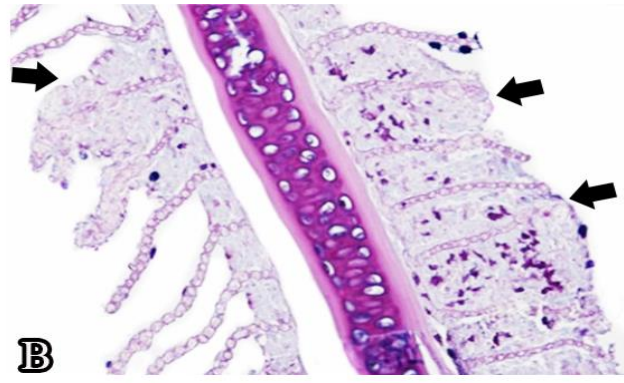
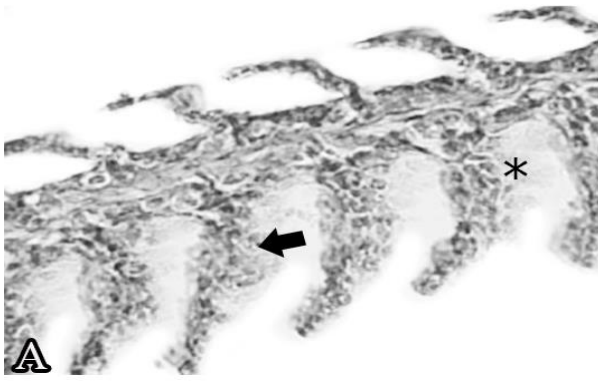
Após o grave acidente com a sonda petrolífera Deepwater Horizon (DWH) no Golfo do México, peixes do gênero *Brevoortia* foram analisados nas regiões das Baías de Baratária e Delaware. Foram encontradas múltiplas hiperplasias nos filamentos branquiais e fusão das lamelas secundárias para ambos os locais amostrados (Fig. 3C, 3D, 3E, 3F). Na baía de Baratária, 75% dos peixes coletados apresentaram hiperplasia epitelial ao longo dos rastros branquiais (BENTIVEGNA et al., 2015). Essas lesões foram associadas à exposição a hidrocarbonetos de petróleo e não a outros poluentes, pois foram encontradas

histopatologias semelhantes no killifish do Golfo (*Fundulus grandis*) coletadas no mesmo período que os juvenis de *Brevoortia* sp. Outro fato que confirma as histopatologias provocadas por hidrocarbonetos de petróleo para este estudo é que os peixes amostrados faziam parte da coorte do ano, ou seja, não tiveram tempo para mudarem de ambiente e se depararem com outros contaminantes que causassem a quantidade de danos teciduais encontrados (BENTIVEGNA et al., 2015).

Dessa forma, ao estudar os impactos que a solha europeia (*Pleuronectes platessa*) sofreu com o derramamento de óleo causado pelo navio petroleiro Amoco Cadiz ocorrido na costa da Bretanha- França, em 1978, Haensly et al. (1982) investigaram lesões histológicas em brânquias de *P. platessa* em dois estuários, apresentando variações entre os locais de amostragem. Algumas apresentaram hiperplasias lamelares pequenas (Fig. 3G), se limitando a três lamelas, em média, que não foram consideradas lesões patológicas quando comparadas à área total de superfície das brânquias, mas outros espécimes tinham grandes focos de lesões caracterizadas por hiperplasia epitelial extensa e fusão de lamelas (Fig. 3H).

A hipertrofia de células mucosas e de cloro foram encontradas em bioensaios (SOLANGI & OVERSTREET, 1982; HESNI et al., 2011). Os autores relatam que o aparecimento e a gravidade dessa lesão após um aumento no tempo de exposição até que as células alcancem o máximo do seu tamanho (AGAMY, 2013). A hipertrofia celular se caracteriza pelo aumento do tamanho do órgão, sem que haja proliferação celular, entretanto há um aumento no tamanho da célula a partir da proliferação da quantidade de organelas e proteínas no seu interior (BERNET et al., 1999).

A espécie *Chanos chanos*, exposta a óleo combustível pesado, apresentou hipertrofia das células branquiais. Essa patologia apresenta perigo quando afeta uma quantidade relevante da superfície branquial do organismo, pois lesões difusas ou até mesmo multifocais interferem na respiração. Por isso, uma exposição longa ou em altas concentrações corrobora para a sensibilização dos mecanismos respiratórios, assim, podendo afetar a saúde do organismo (HESNI et al., 2011; AGAMY, 2013).



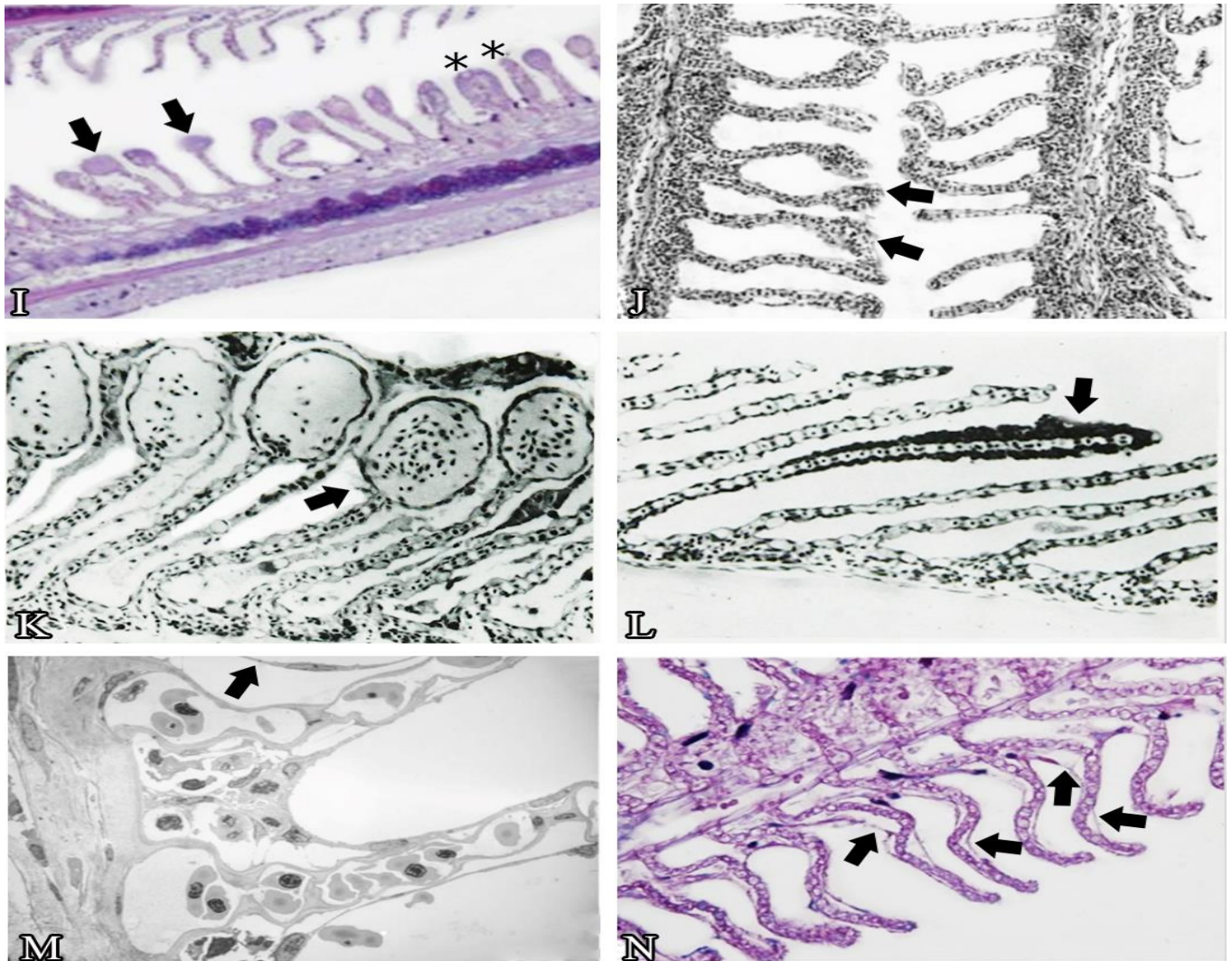


Figura 3: Brânquias com patologias em peixes expostos a contaminação por petróleo. A- Hiperplasia e hipertrofia (setas) da lamela secundária (asterisco) em *Sparus aurata* (H&E x25) (MORALES-CASELLES et al., 2006). B- Filamento branquial de *Abramis brama* exposto ao petróleo mostrando proliferação epitelial e fusão de lamelas secundárias (setas) (AB\PAS, 50µm) (GIARI et al., 2012). C- Epitélio braquial mostrando hiperplasia de peixes do gênero *Brevoortia* sp. na Baía de Barataria (H&E x20) (BENTIVEGNA et al., 2015). D- Lamelas secundárias mostrando extensa hiperplasia com fusão das lamelares secundárias (seta) e hemorragia (asterisco) em peixes do gênero *Brevoortia* sp. na Baía de Barataria (H&E x10) (BENTIVEGNA et al., 2015). E- Hiperplasia de células mucosas (seta) (H&E x40) (BENTIVEGNA et al., 2015). F- Brânquias com lamelas secundárias mostrando hiperplasia das células epiteliais (asterisco) e descolamento epitelial nas lamelares secundárias (seta) em peixes do gênero *Brevoortia* sp. na Baía de Barataria (H&E x10) (BENTIVEGNA et al., 2015). G- Hiperplasia de células mucosas e hipertrofia sobre superfície lamelar em *Pleuronectes platessa* (seta) (AB-PAS, x219) (HAENSLEY et al., 1982). H- Hiperplasia epitelial e fusão de lamelas em brânquias de *Pleuronectes platessa* (seta) (H&E, x175) (HAENSLEY et al., 1982). I- Uma fileira de lamelas secundárias com aneurismas em *Abramis brama*. Algumas lamelas secundárias são completamente dilatadas (asteriscos), outras apenas na ponta (setas) (AB\PAS, 100µm) (GIARI et al., 2012). J- Aneurisma em brânquias de *Cathorops spixii* (seta) (H&E) (KATSUMITI et al., 2009) K- Aneurismas nos capilares lamelar (seta) (H&E, x280) (HAENSLEY et al., 1982). L- Inflamação subepitelial em *Pleuronectes platessa* (seta) (H&E, X280) (HAENSLEY et al., 1982). M- Descolamento epitelial em *Abramis brama* (seta) (MET, 7.4µm) (GIARI et al., 2012). N- Lamelas secundárias apresentando edema e descolamento do epitélio em *Abramis brama* (setas) (AB\PAS, 20µm) (GIARI et al., 2012).

Ademais, Khan (2003) e Woodward et al. (1983) analisaram os efeitos patológicos nos tecidos de espécies de peixes-chatos e de truta (*Oncorhynchus clarkii clarkii*, a partir de óleo refinado e de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e PCBs, eles ponderaram que a hiperplasia e a hipertrofia do epitélio lamelar propiciam o aparecimento de fusões lamelares e aumento do tamanho das células de cloreto, além de estimular a produção de muco das células mucosas.

Distúrbios circulatórios, como aneurismas, hiperemias, hemorragias e edemas estão presentes em estudos com petróleo e derivados (AKAISHI et al., 2004; BRAND et al., 200; CASTRO et al., 2018; VAN DYK et al., 2009; GUSMÃO et al., 2012). Agamy (2013), ao testar o impacto do petróleo e dispersantes em brânquias de garoupas (*Epinephelus chlorostigma*), constatou que hemorragias se tornam graves nas brânquias desde o primeiro contato com o poluente, pois a interação resulta no rompimento das células dos capilares, levando a um acúmulo de células sanguíneas, como as hemácias, nas lamelas.

Focos hemorrágicos associados a hiperplasias foram observados em brânquias de peixes *Brevoortia* sp. da Baía de Baratária após o acidente BWH (FIGURA 5b), porém não foram detectadas as causas etiológicas para tal (BENTIVEGNA et al., 2015). Gusmão et al. (2012), após 5 dias de exposição a fração de petróleo diluído em água, observaram em larvas de peixe-rei (*Odontesthes argentinensis*) focos hemorrágicos vinculados à redução da cromatina no núcleo de células e se seguiram manifestando em lamelas secundárias com perda estrutural com o aumento das concentrações e o tempo de exposição ao poluente.

Por sua vez, Brand et al. (2001) identificaram aneurismas lamelares multifocais graves em juvenis de salmão (*Oncorhynchus gorbuscha*) em altas doses de óleo cru. Pode-se afirmar que esta patologia também está vinculada ao estresse que o petróleo causa nas células branquiais, pois esta patologia ocorre quando há estresse físico ou químico que propicia a ruptura de um vaso sanguíneo das células formadoras de capilares, o que pode evoluir para um cenário de trombose e fibrose e, logo em seguida, podem ser assimiladas pelo organismo (POPPE e FERGUSON, 2006).

Giari et al. (2012), 7 dias após o derramamento de petróleo no Rio Lambro, em 2012, na Itália, detectaram lamelas secundárias com aneurismas em bremas (*Abramis brama*) (Fig. 3I). Spins et al., (1996), em um estudo de longo-prazo, identificaram lesões vasculares crônicas em espécies de peixes pertencentes à família Embiotocidae, contaminadas pelo vazamento de petróleo do Canal de Santa Bárbara nos EUA. As lesões vasculares nas brânquias das espécies de embiotocídeos foram: trombose, inflamação dos vasos sanguíneos e aneurismas, essa última conectada a um epitélio escamoso e mucoso que apresentava hiperplasias junto a focos de trombose em vários estágios (SINS et al., 1996).

Para Giari et al. (2012), os aneurismas encontrados nas bremas do rio tributário do Lambro revelam que mesmo uma baixa concentração de hidrocarbonetos na água causa distúrbios circulatórios. Porém, a

depende da intensidade do acidente, as alterações histológicas ligadas a lesões vasculares continuam ocorrendo após 20 anos, como observado por Sins et al. (1996). Com isso, pode-se inferir que a severidade do acidente pode afetar diversas gerações de peixes ao longo do tempo, pois as substâncias que compõem o petróleo continuam diluídas em água e presentes no sedimento (STRAUGHAN, 1976; STUERMER et al., 1982).

Ao comparar brânquias de bagres-amarelos (*Cathorops spixii*) antes e após a explosão do petroleiro Vicunã (VOS) em 2004 (Fig. 3F), no Brasil, Katsumiti et al. (2009) encontraram aneurismas (Fig. 3J e 3K) e hiperplasias nos espécimes após o acidente, sendo estas as patologias mais frequentes. Hansly et al. (1992) detectaram lesões vasculares na solha (*Pleuronectes platessa*) de dois estuários afetados por um dos maiores volumes de óleo derramados na história da indústria petroleira. Dentre os distúrbios circulatórios encontrados, foram observadas hiperemias e hemorragias; em muitos casos as hiperemias foram descritas como lesões extensas e marcadas por material necrótico e fibroso (Fig. 3G).

Tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas ao efluente de uma refinaria de petróleo apresentaram distúrbios circulatórios, como hemorragia e fusão de lamelas acompanhadas de edemas (ONWUMERE & OLADIMEJI, 1990). Em estudos com peixes-rei submetidos a substâncias tóxicas contendo hidrocarbonetos de petróleo (*Odontesthes bonariensis* e *Odontesthes argentinensis*) notou-se o levantamento do epitélio branquial causado por edemas (ROMANO e CUEVA, 1988; GUSMÃO et al., 2012), o mesmo ocorreu em bremas (*Abramis brama*) potencialmente expostas a hidrocarbonetos de petróleo (Fig. 3M e 3N).

Dessa maneira, o edema lamelar ocorre quando um líquido se propaga para o exterior da célula, causando uma divisão entre a membrana basal e seu epitélio (ZENI, 2016). O edema é o espaço entre as duas camadas de epitélio lamelar, podendo ocasionar o levantamento do epitélio branquial. Portanto, os edemas são respostas agudas do contato com xenobióticos; o organismo pode se recuperar de um edema em poucos dias após o contato com o estressor químico, por outro lado, edemas podem ser notados acompanhados de outras patologias com severidade moderada (FERGUSON, 2006). Nesse contexto, o levantamento do epitélio lamelar pode provocar a redução da respiração, pois diminui a distância entre as lamelas e como consequência complica a difusão das trocas gasosas (REDDY e RAWAT, 2013).

Assume-se que algumas alterações são respostas aos efeitos nocivos de contaminantes, enquanto outras têm efeito protetivo do organismo, ou seja, adaptações do organismo para continuar funcionando mesmo que com complicações; os aneurismas, hiperemias, hemorragias e edemas são efeitos reativos e adaptativos do epitélio à exposição a xenobióticos, porém tanto as alterações responsivas quanto protetoras resultam na diminuição das trocas gasosas que ocorrem nas brânquias, e se as lesões se difundem as consequências se ampliam, ocorrendo o comprometimento das funções respiratórias, osmorregulatórias e excretoras (MALLAT, 1985).

Solhas (*Pleuronectes platessa L.*) do estuário de Aber Benoit apresentaram lesões extensas caracterizadas por inflamação subepitelial extrema (Fig. 3L) (HAENSLY et al., 1982). Distúrbios inflamatórios em brânquias também foram encontrados em percas expostas a hidrocarbonetos, mostrando que o sistema reticuloendotelial pode sinalizar estresse por petróleo, resultando em processos inflamatórios (SPINS et al., 1996). Portanto, a escolha das brânquias como biomarcador histológico é satisfatória, pois esse órgão multifuncional compreende uma grande superfície do corpo do animal e é sensível a substâncias químicas, como o petróleo, assim apresentando lesões histológicas ao contato com esse poluente (REDDY e RAWAT, 2013).

Fígado

O fígado metaboliza proteínas, lipídios e carboidratos, armazena glucose, além de participar da síntese de anticorpos, da bile e da renovação celular do sangue (MELO et al., 2004), sendo para isso necessário uma rede de células especializadas. Como nos mamíferos, o fígado nos teleósteos é encapsulado por tecido conjuntivo e irrigado por canais sinusoides (WOLF e WOLFE, 2005). Entre 10 a 15% da massa do fígado dos peixes é composta por sangue, recebendo cerca do dobro de sangue que é dirigido a outros órgãos (STEVENS, 1968). O fígado dos teleósteos se difere dos mamíferos, com o lóbulo hepático apresentando túbulos de células cercados por hepatócitos com a entrada do sangue, ocorrendo nos sinusoides a partir da veia porta e artéria hepática, assimilando nutrientes e removendo xenobióticos (HINTON et al., 2001; GINGERICH, 1982; HEATH, 2018).

O nível de oxigênio que é transportado para os hepatócitos é baixo, causando um processo mais longo para excreção de substâncias indesejadas pelo organismo (GINGERICH, 1982). Ainda, há uma relativa tolerância do fígado dos peixes a toxicidades se comparado ao fígado de mamíferos, pois as enzimas biotransformadoras possuem distribuição homogênea no tecido (FERGUSON, 1989; HINTON et al., 2001). No entanto, essa característica não abranda as consequências prejudiciais do tecido a rejeitos agudamente tóxicos, pois lesões severas causam danos funcionais e estruturais no fígado, diminuindo o bem-estar do organismo (STENTIFORD et al., 2003; DOMINGOS et al., 2009).

Alterações que influenciam as funções orgânicas e a morfologia podem ocorrer após a exposição a diversos poluentes ambientais. O fígado é um dos órgãos mais vulneráveis nos peixes, atuando especificamente no metabolismo, acumulação, transformação e excreção de contaminantes (GIARI et al., 2007; CENGIZ e ÜNLÜ 2006; MELO et al., 2004). O processo de biotransformação do xenobiótico gera alterações que podem resultar em histopatologias (SCHWAIGER et al., 1996), como em rins de trutas arco-íris (*Salmo gairdneri*), que apresentaram degeneração das células epiteliais tubulares e anormalidades na quantidade de mitocôndrias nos interiores das células após o processo de biotransformação do xenobiótico

administrado (FÖRLIN et al., 1986).

Assim, alterações enzimáticas e histológicas em fígados de *Anguilla anguilla* L. após exposição a petróleo confirmam que os processos bioquímicos geram lesões histológicas (PACHECO e SANTOS, 2001). Portanto, a exposição interna a um único xenobiótico (AMORIM, 2003) produz uma relação causal entre a exposição e as respostas biológicas, como as histopatologias (TEH et al., 1997). Esse biomarcador histopatológico é utilizado em vários estudos, desde avaliações nutricionais a monitoramento de contaminação ambiental por defensivos agrícolas, metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo (HONORATO et al., 2014; HENARES et al., 2008; UDOTONG, 2015; ESMAEILBEIGI et al., 2021). Algumas histopatologias como esteatose, congestão, dilatação de sinusoides, hipertrofia, degenerações e necroses foram descritas como as mais frequentes em fígados de peixes (WOLF et al., 2015).

Logo, o fígado apresenta vantagens para o monitoramento da qualidade da água e dos poluentes aquáticos (LANG et al., 2006), principalmente por causa do sistema circulatório através da veia porta, que transporta os nutrientes e outros produtos resultantes da digestão (KARDONG, 2016), tornando-se um dos órgãos mais impactados pelos poluentes da água, especialmente pelos que acessam o organismo por via oral (CAMARGO e MARTINEZ, 2007).

Acredita-se que as células fagocíticas sejam responsáveis por degradar células mortas, tecidos e substâncias desconhecidas assimiladas pelo organismo via sistema digestório (PACHECO E CARDOSO, 2012), sendo divididas em quatro tipo: os monócitos, os macrófagos, as células dendríticas e os neutrófilos (STRAUSS, 2010). Sendo assim, ele desempenha uma importante função biológica no sistema imunológico devido a células de defesa residentes, como linfócitos e células de Kupffer, envolvidas no processo de regeneração do tecido (GABAY e KUSHNER, 1999; TAKEISHI et al., 1999). Essas células foram identificadas em fígados de peixes coletados em áreas de derramamento de petróleo. A anchova (*Engraulis encrasicolus*) apresentou nematoides encapsulados por linfócitos (Fig. 4A) (MARIGÓMEZ et al., 2006), sendo eles os linfócitos, responsáveis por restringir o crescimento de microrganismos, como vírus, parasitas e protozoários (CHANG et al., 2011; PERRIGOUE et al., 2008). Também foram identificados macrófagos (AMs) em pescadas (*Merluccius merluccius*) (Fig. 4B), em solhas (*Pleuronectes platessa*) (Fig. 4C), em linguados (*Synaptura orientalis*) em bagres (*Cathorops spixii*) (Fig. 4D) (MARIGÓMEZ et al., 2006; HAENSLEY et al., 1982; STENTIFORD et al., 2014; KATSUMITTI et al., 2009) e focos de inflamação em linguados (*Pseudorhombus arsius*) (Fig. 4E) (STENTIFORD et al., 2014).

Os macrófagos participam do sistema imunológico inato, possuindo padrões moleculares de baixa especificidade associados a patógenos (PAMPs) com receptores que podem se ligar a diversos antígenos (JANEWAY et al., 2002). No entanto, os AMs podem estar relacionado ao estresse causado pela idade ou ciclo reprodutivo (VETHAAK e WESTER, 1993; AGIUS e ROBERTS, 2003), podendo também ser reação a compostos tóxicos como nas solhas (*Pleuronectes platessa*) que apresentaram uma maior densidade de

AMs no fígado do que as solhas do local de controle (HANSLEY et al., 1982), assim como linguados (*Platichthys flesus*) relacionados a altos níveis de poluição por hidrocarbonetos de petróleo apresentaram uma alta prevalência de AMs comparados aos espécimes do local de referência não contaminado (STENTIFORD et al., 2003).

Logo, a resposta inflamatória ocorre após moléculas orgânicas, bactérias ou protozoários adentrarem no organismo e a principal função da inflamação é eliminar todo e qualquer tipo de agressão. A presença de células fagocíticas mononucleadas como aglomerados de macrófagos e acúmulo de linfócitos indicam que o organismo está sob um processo inflamatório (APPELBERG, 2005). Nesse caso, a presença de micro-organismos pode ser um indicativo da susceptibilidade a um ambiente contaminado (CARRERAS-AUBETS et al., 2010), uma alta frequência desses organismos foi identificada por Marigómez et al. (2006) (Fig. 4F). Oliveira-Ribeiro et al. (2013) (Fig. 4G) e Stentiford et al. (2014) (Fig. 4H) estudaram impactos histopatológicos após derramamentos de petróleo simbolizando o ambiente patogênico, eles confirmaram que os microrganismos, como fungos e protozoários, podem ser marcadores da insalubridade aquática e indicativos de imunodepressão nos organismos (MARCOGLIESE, 2004). As esteatoses descrevem acúmulos atípicos de lipídios do tipo triglicerídeos dentro das células, incluindo os hepatócitos (KELLY, 1993). A esteatose aparece frequentemente no tecido hepático, pois o fígado é um órgão que metaboliza lipídeos ativamente (GINGERICH, 1982). Foi encontrada em fígados de bagres (*Cathorops spixii*), peixe-rei (*Atherinella brasiliensis*), linguados (*Pseudorhombus arsius* e *Synaptura orientalis*), douradas (*Sparus aurata*) e pescadas (*Merluccius merluccius*) (KATSUMITTI et al., 2009; OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013; STENTIFORD et al., 2014; MORALES-CASELLES et al., 2006; MARIGÓMEZ et al., 2006). Também, fígados de pescadas (*Merluccius merluccius*) (Fig. 5A) apresentaram esteatose (MARIGÓMEZ et al., 2006); os fígados da pescada (*Sparus aurata*), que apresentam até 12% de concentração lipídica e do robalo (*Dicentrarchus labrax*) contam com uma taxa de até 50%, consideradas quantidades gordurosas normais (MCLELLAND et al., 1995). No entanto, o histopatologista necessita conhecer a morfologia do fígado da espécie e possuir uma amostra robusta para assim reconhecer uma possível atipicidade que pode ser traduzida como uma patologia.

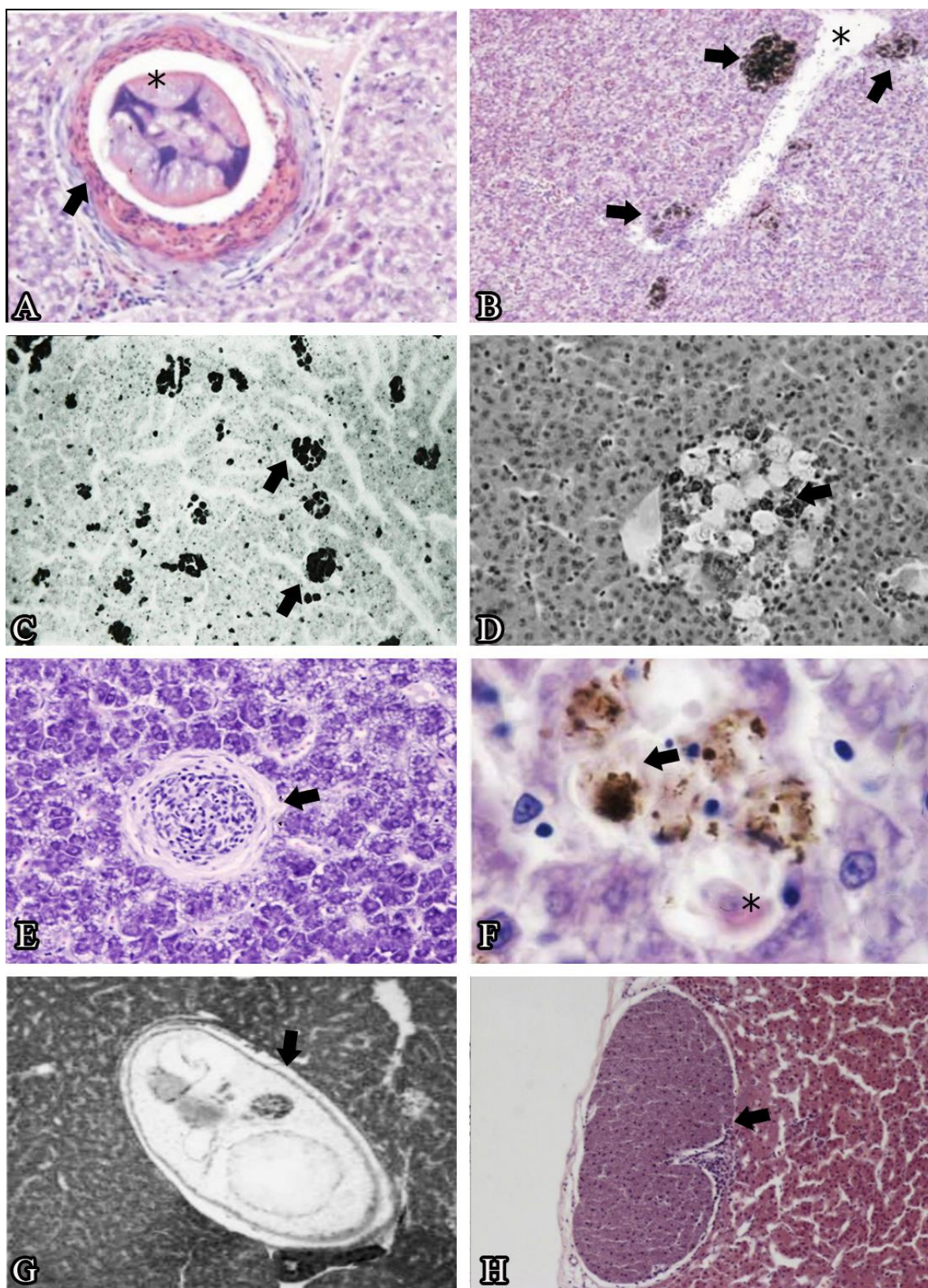


Figura 4: Fígados com patologias em peixes expostos a contaminação por petróleo. A- Parasita nematoide (asterisco) associados a infiltração leucocitária (seta) em *Engraulis encrasicolus* (H&E, 100 μ m) (MARIGÓMEZ et al., 2006). B- AMs (seta) em *Merluccius merluccius* em torno de um vaso sanguíneo (asterisco) (H&E, 150 μ m) (MARIGÓMEZ et al., 2006). C- AMs (seta) em *Pleuronectes platessa* (AB-PAS, x219) (HAENSLEY et al., 1982). D- AMs (seta) em *Cathorops spixii* (H&E) (KATSUMITTI et al., 2009). E- Inflamação granulomatosa (seta) em *Pseudorhombus arsius* (H&E, 100 μ m) (STENTIFORD et al., 2014). F- AMs (seta) associados a um protozoário em *Engraulis encrasicolus* (H&E, 20 μ m) (MARIGÓMEZ et al., 2006). G- Parasitas (seta) em *Atherinela brasiliensis* (H&E, 100 μ m) (OLIVEIRA RIBEIRO et al.,

2013). H- Cisto de um microsporídio em *Pseudorhombus arsius* (H&E, 200µm) (STENTIFORD et al., 2014).

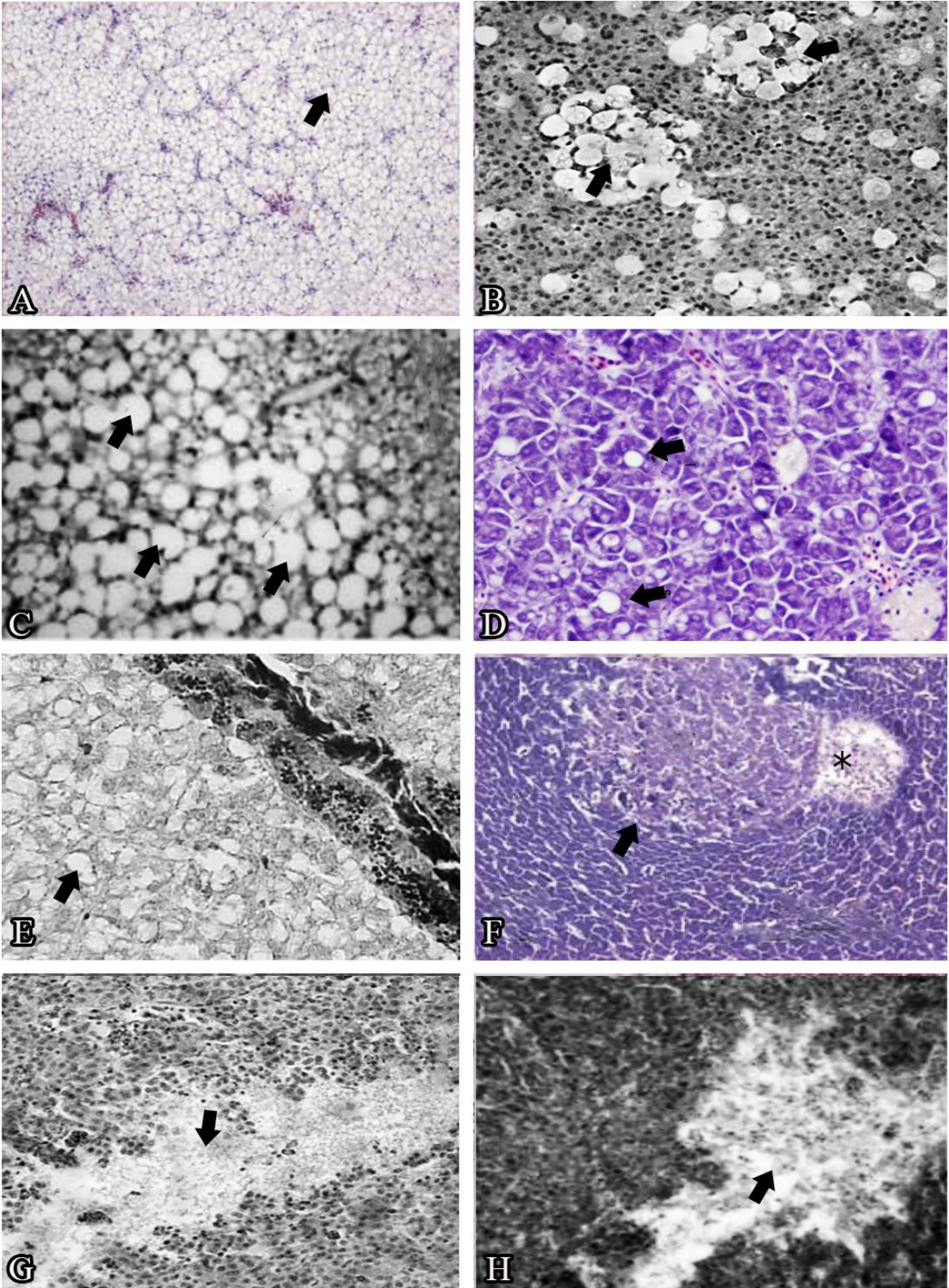
Dentre os causadores da esteatose estão os hidrocarbonetos de petróleo e as reações bioquímicas concomitantes; pescadas (*Sparus aurata*) (Fig. 5E) submetidas a sedimentos com hidrocarbonetos de petróleo dos locais contaminados pelo petroleiro Amoco Cadiz apresentaram vacúolos lipídicos anormais (MORALES-CASELLES et al., 2006).

Todavia, há vários causadores do acúmulo de gordura nos hepatócitos, eles podem ser substâncias tóxicas, mas também podem ocorrer devido à desnutrição proteica, problemas na respiração celular, época do ano, taxas altas de açúcares no sangue e concomitante excesso de gordura corporal, como o que ocorre em peixes cultivados devido à superalimentação rica em carboidratos (IDILMAN et al., 2016; PASTORINO et al., 2019; FERNANDES JUNIOR et al., 2016). Portanto, sugere-se uma padronização para auxiliar no diagnóstico desta patologia.

Os hepatócitos estão sujeitos a alterações degenerativas reversíveis, como as esteatoses (BERNET et al., 1999). Porém, quando a lesão é irreversível, os hepatócitos morrem por necrose ou apoptose (EVENSEN, 2006). A necrose é caracterizada pela diminuição do volume, fragmentação e dissolução do núcleo celular e há uma perda da integridade da membrana plasmática e organelas citoplasmáticas. O processo de necrose pode assumir padrões específicos: coagulativa, liquefativa, gangrenosa, caseosa, gordurosa e fibrinoide (KUMAR et al., 2016). Focos necróticos em anchovas (*Engraulis encrasicolus*) foram encontrados após uma infestação de nematoides acompanhados por uma resposta inflamatória (MARIGÓMEZ et al., 2006) (Fig. 5F), que é caracterizada pela supressão do conteúdo celular. A infiltração desse conteúdo possibilita a geração de reações inflamatórias que resultam no rompimento celular (KUMAR et al., 2016).

Necroses em bagres (*Cathorops spixii*) (Fig. 5G) (KATSUMITTI et al., 2009) e em peixes-rei (*Atherinella brasiliensis*) (Fig. 5H) (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013) ocorreram em espécimes coletados tanto no local de controle quanto no local contaminado antes e depois do derramamento. É definido na literatura que HPAs, PCBs e metais podem causar necrose (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2005; MIRANDA et al., 2008; MELA al., 2007). Assim, a prevalência de necrose observada em *C. spixii* e *A. brasiliensis* está vinculada a exposição contínua a vários poluentes, pois os locais de coleta no complexo estuarino do Paranaguá recebem um volume significativo de xenobióticos (SANTOS et al., 2006).

Sendo assim, *Lepidorhombus boscii* contaminados pelo derramamento do petroleiro Haven no mar Mediterrâneo apresentaram lesões difusas, incluindo necrose, enquanto outras espécies no mesmo estudo (*Merluccius merluccius* e *Mullus barbatus*) apresentaram lesões menos severas (PIETRAPIANA et al., 2002) (Fig. 5I e 5J). Necrose, como lesão irreversível, é o resultado de lesões isquêmicas e hipóxicas, ou seja, lesões que



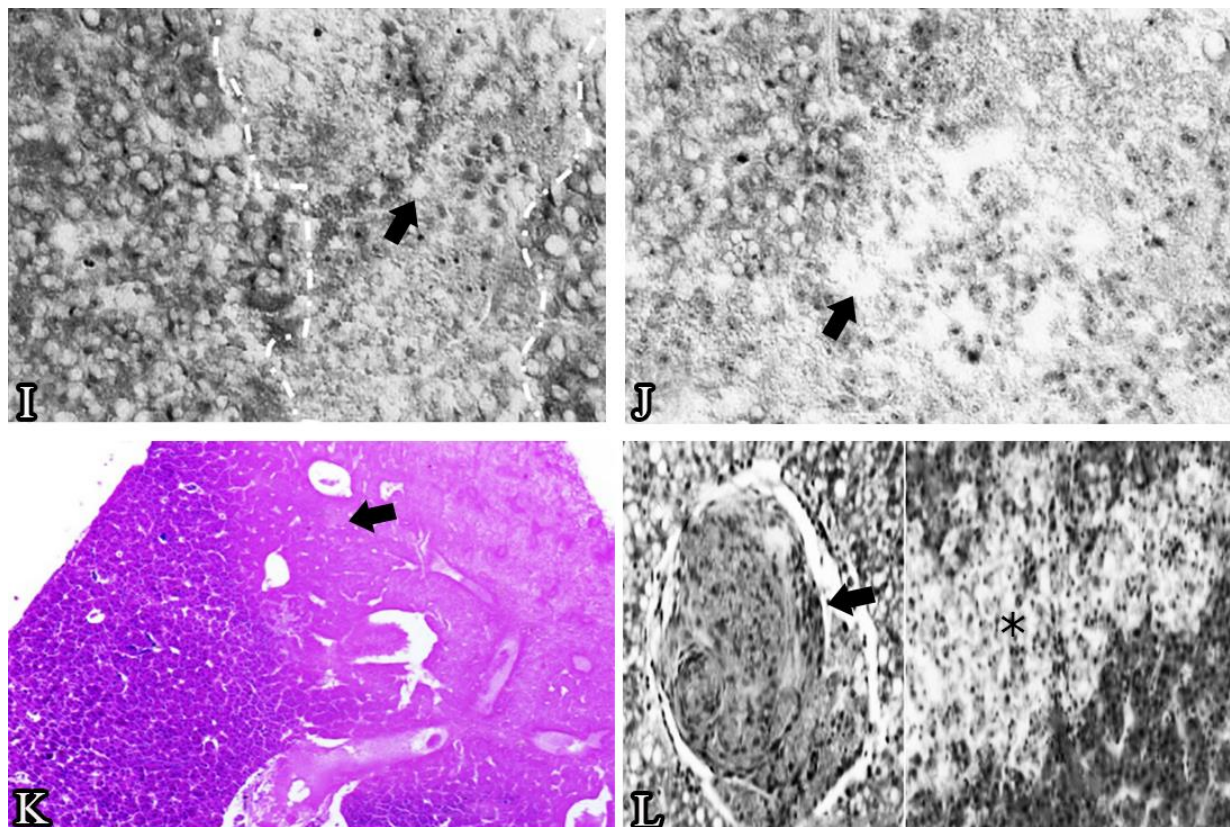


Figura 5: Fígados com patologias em peixes expostos a contaminação por petróleo. A- Alto teor de gordura (seta) em *Merluccius merluccius* (H&E, 150µm) (MARIGÓMEZ et al., 2006). B- Esteatose associados a AMs (setas) em *Cathorops spixii* (H&E) (KATSUMITTI et al., 2009). C- Esteatose (setas) em *Atherinella brasiliensis* (H&E, 100 µm) (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013). D- Esteatose (setas) em *Pseudorhombus arsius* (H&E, 50µm) (STENTIFORD et al., 2014). E- Esteatose (seta) em *Sparus aurata* (H&VOF, x25) (MORALES-CASELLES et al., 2006). F- Foco de necrose (seta) após perturbação de nematoides em *Engraulis encrasicolus* (H&E, 230µm) (MARIGÓMEZ et al., 2006). G- Necrose em *Cathorops spixii* (H&E) (KATSUMITTI et al., 2009). H- Grande área necrótica em *Atherinella brasiliensis* (H&E, 50 µm) (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013). I- Ampla área necrótica levemente invadida por células sanguíneas e rodeada por células saudáveis (seta) em *Lepidorhombus boscii* (H&E, x600) (PIETRAPIANA et al., 2002). J- Vaso sanguíneo rodeado por uma pequena área de células necróticas (seta) em *Lepidorhombus boscii* (H&E, x600) (PIETRAPIANA et al., 2002). K- Ampla área necrótica em peixes do gênero *Brevoortia* (H&E, 200µm) (BENTIVEGNA et al., 2015). L- Neoplasia não invasiva (seta) (H&E, 50µm) e neoplasia invasiva (asterisco) (H&E, 100µm) em *Atherinella brasiliensis* (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013).

diminuem o suprimento sanguíneo e o teor de oxigênio, gerando sofrimento tecidual, e pode ser uma resposta ao estresse oxidativo (KUMAR et al., 2016). Dessa forma, peixes associados aos bentos, por exemplo o *L. boscii*, podem estar sujeitos à contaminação direta do processo de sedimentação do óleo, não somente através do alimento, mas também pela pele, assim, contribuindo para que lesões mais intensas se manifestem (MYERS et al., 1998).

Continuamente, peixes do gênero *Brevoortia* sp., duramente contaminados pelo derramamento da DWH, apresentaram uma prevalência aumentada de alterações hepáticas envolvendo necrose (Fig. 5K). Em contrapartida, os peixes do gênero *Brevoortia* sp. dos locais de referência apresentaram reduzidas patologias para o mesmo tecido (BENTIVEGNA et al., 2015). Por isso, em peixes, as lesões específicas de degenerações e necroses estão comumente vinculadas a locais poluídos (STENTIFORD et al., 2003).

Apesar disso, Bentivegna et al., (2015) sugerem que o uso de experimentos laboratoriais utilizando enzimas como a CYP1A (WHITEHEAD et al., 2012), associados a pesquisa de campo, podem vincular as respostas histopatológicas à exposição ao petróleo.

Nesse caso, ainda que a necrose hepática e a esteatose sejam consideradas patologias mais severas (BERNET et al., 1999), o avanço delas está sujeito a exposição constante aos xenobióticos, porém, quando essa exposição cessa, as patologias também ficam suscetíveis a regredir (TEIXEIRA, 2020; OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013). Contudo, a exposição contínua a hidrocarbonetos de petróleo e outros xenobióticos pode causar neoplasias e, em oposição ao avanço de outras patologias, lesões neoplásicas progridem mesmo quando há a redução da exposição crônica ao contaminante (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013).

As neoplasias - benignas e malignas - se distinguem a partir do nível de diferenciação celular, taxa de crescimento, invasão local e metástase (ZACHARY e MCGAVIN, 2013). Todavia, a metástase para os peixes é um fenômeno incomum, pois suas células neoplásicas precisariam apresentar proteases ou glicoproteínas membranas que estão presentes nas células neoplásicas dos mamíferos. (MARTINEAU e FERGUSON, 2006). Essas alterações são frequentemente causadas por distúrbios endócrinos ou metabólicos, motivados por fatores ambientais ou poluição (HYBYIA, 1982), uma vez que o desenvolvimento de neoplasias em peixes é um processo que envolve vários fatores intrínsecos, sendo eles genéticos, restritos a algumas espécies, que aumentam com a idade e sexo, ou por fatores extrínsecos, como temperatura, estação e qualidade ambiental (GROFF, 2004).

Portanto, peixes-rei (*Atherinella brasiliensis*) (Fig. 5L) apresentaram neoplasia invasiva e não invasiva nos locais onde as atividades antrópicas são mais intensas independentemente da área que o derramamento de petróleo aconteceu. Apesar de análises fluorimétricas que determinaram qualitativamente e quantitativamente os níveis de HPA na bile, não foi possível afirmar que as neoplasias foram resultadas do derramamento de petróleo (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013). Faz-se necessário, porém, esclarecer que os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são denominados como "iniciadores" e "promotores" tumorais. Essa denominação concerne ao fato de que os HPAs são agentes mutagênicos, ou seja, que estimulam a mutação e divisão celular (MARTINEAU e FERGUSON, 2006). Isto posto, a manifestação de lesões neoplásicas invasivas e não invasivas em *A. brasiliensis* refletem os riscos e os agentes nocivos à saúde que estão presentes no Complexo Estuarino do Paranaguá-Brasil, com ênfase nos hidrocarbonetos de petróleo (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2013).

Conclusão

A partir dos dados acima e das análises realizadas, cinco conclusões principais foram retiradas. Nesse contexto, uma série de patologias e patógenos podem ser encontrados em espécies de peixes

capturados em locais contaminados; partes dos estudos sinalizaram que os derramamentos de petróleo foram os motivadores dos danos teciduais em brânquias e fígados, enquanto outros atribuíram as lesões histológicas a misturas de xenobióticos presentes no ambiente. Espécies associadas aos bentos foram amplamente utilizadas nos estudos agudos, principalmente por estarem constantemente sujeitas a baixas doses de hidrocarbonetos. Dessa forma, foi possível perceber que o biomonitoramento ambiental pode ser feito a partir da combinação de categorias de biomarcadores, assim, esclarecendo as relações entre os xenobióticos e as respostas biológicas. Logo, a capacidade dos peixes de sobreviver às lesões severas nos fígados sugere que eles podem ser valiosos modelos para estudar a toxicidade hepática subletal e a regeneração hepática. O presente estudo sugere prudência ao avaliar os biomarcadores histológicos após um evento agudo de derramamento de óleo, especialmente em uma região que já convive com agentes antrópicos deletérios. Assim, recomenda-se o estudo da estrutura da população, dos parasitas, do sedimento, da qualidade da água e de componentes de outros níveis de integração biológica.

Referências bibliográficas

- AARABI, S.; LONGAKER, M. T.; GURTNER, G. C. Hypertrophic scar formation following burns and trauma: new approaches to treatment. **PLoS medicine**, v.4, p.e234, 2007.
- AGAMY, E. Impact of laboratory exposure to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant on the gills of the juvenile brown spotted grouper (*Epinephelus chlorostigma*): a histopathological study. **Marine environmental research**, v.86, p.46-55, 2013.
- AGAMY, E. Sub chronic exposure to crude oil, dispersed oil and dispersant induces histopathological alterations in the gills of the juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v.92, p.180-190, 2013.
- AIRES, M. B.; SOARES, R. C.; SILVA, S. O.; TING, E. **Histologia Básica**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, CESAD. 2011. 14p.
- AKAISHI, F. M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; JAKOBI, S. C. G.; EIRAS-STOFELLA, D. R.; ST-JEAN, S. D.; COURTENAY, S. C.; LIMA, E. F.; WAGENER, A. L. R.; SCOFIELD, A. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v.46, p.244-253, 2004.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WILSON, J. W.; HUNT, T. **Biologia molecular da célula**. Porto Alegre: Artmed Editora LTDA, 2017. 1427p.
- AMORIM, L. C. A. Biomarkers for evaluating exposure to chemical agents present in the environment. **Revista brasileira de epidemiologia**, v.6, p.158-170, 2003.
- APPELBERG, R. Células Fagocíticas. In: AZEVEDO, C.; SUNKEL E. C. *Biologia Celular e molecular*. Lisboa, LIDEL, p. 487-498.
- ARELLANO, J. M.; ORTIZ, J. B.; CANALES, M. L. G.; SARASQUETE, C. Histopathological alterations and induction of cytochrome P450 1A in the liver and gills of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) exposed to 2,3,7,8- tetra chlorodibenzo-p-dioxin. **Journal of the Histochemical Society**, v.33, p.663-674, 2001.
- ATASHGAHI, S.; SÁNCHEZ-ANDREA, I.; HEIPIEPER, H. J.; MEER, J. R. V. D.; STAMS, A. J. M.; & SMIDT, H. Prospects for harnessing biocide resistance for bioremediation and detoxification. **Science**, v.360, p.743-746, 2018.
- AZUAGA, D. Danos ambientais causados por veículos leves no Brasil. 2000 168p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- BARRIENTOS-PARRA, J.; & SILVA, A. C. C. Os impactos dos avanços tecnológicos, a poluição marinha por petróleo e as repercussões no direito do mar. **Revista de informação legislativa: RIL**, v.54, p.35-157, 2017.

- BENTIVEGNA, C. S.; COOPER, K. R.; OLSON, G.; PENA, E. A.; MILLEMANN, D. R.; PORTIER, R. J. Chemical and histological comparisons between *Brevoortia* sp.(menhaden) collected in fall 2010 from Barataria Bay, LA and Delaware Bay, NJ following the DeepWater Horizon (DWH) oil spill. **Marine Environmental Research**, v.112, p.21-34, 2015.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURCKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Disease**, v.22, p.25-34, 1999.
- BERTI, A. P.; DUSMAN, E.; SOARES, L. C.; GRASSI, L. E. A. Efeitos da contaminação do ambiente aquático por óleos e agrotóxicos. **SaBios: Revista Saúde e Biologia**, v.4, p.45 -51, 2009.
- BEYER, J.; TRANNUM, H. C.; BAKKE, T.; HODSON, P. V.; & COLLIER, T. K. Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill: a review. **Marine pollution bulletin**, v.110 p.28-51, 2016.
- BLAZER, V. S. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.26, p.85-101, 2002.
- BOEGER, W. A.; GUIMARÃES, A. T. B.; ROMÃO, S.; OSTRENSKY, A.; ZAMBERLAN, E.; FALKIEWICZ, F. H. Histopathology as an approach to evaluate the effect of an oil spill on fishes of the Arroio Saldanha and Rio Iguacu (Brazil). In: **International Oil Spill Conference**. American Petroleum Institute, 2003. p. 955-961.
- BRASIL. Decreto nº 2.870, de 10 de dezembro de 1998. Aprova o texto da Convenção Internacional sobre Preparo, Resposta e Cooperação em Caso de Poluição por Óleo, 1990. **Presidência da República-Subchefia para Assuntos Jurídicos**, Brasília, DF, 11 dez. 1998.
- BRAUNBECK, T. Cytological alterations in fish hepatocytes following in vivo and in vitro sublethal exposure to xenobiotics - structural biomarkers of environmental contamination. In: SEGNER, H. *Fish Ecotoxicology*. Switzerland: Birkhauser Basel, 1998, p.61-140.
- BRAUNER, C. J.; BALLANTYNE, C. L.; VIJAYAN, M. M.; VAL, A. L. Crude oil exposure affects air-breathing frequency, blood phosphate levels and ion regulation in an air-breathing teleost fish, *Hoplosternum littorale*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v.123, p.127-134, 1999.
- CAIRNS, J.; PRATT, J. R. A history of biological monitoring using benthic macro invertebrates. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (Ed.). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. London: Chapman & Hall, 1993. p.10-27.
- CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical ichthyology**, v.5, p.327-336, 2007.
- CARRERAS-AUBETS, M., MONTERO, F. E., PADRÓS, F., CRESPO, S., & CARRASSÓN, M. Parasites and hystopathology of *Mullus barbatus* and *Citharus linguatula* (Pisces) from two sites in the NW Mediterranean with different degrees of pollution. **Scientia marina**, v.75, p.369-378, 2011.

CEDRE. Spills: database of spill incidents and threats in waters around the world. Disponível: <http://wwz.cedre.fr/en/Resources/Spills?year=default>. Acesso em: 29 abril 2022.

CENGIZ, E. I.; UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.21, p.246-253, 2006.

CHANG, Y. J.; KIM, H. Y.; ALBACKER, L. A.; BAUMGARTH, N.; MCKENZIE, A. N.; SMITH, D. E.; DEKRUYFF, R. H.; UMETSU, D. T. Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyperreactivity independently of adaptive immunity. **Nature Immunology**, v.12, 631–638, 2011.

CLARKE, K. C.; HEMPHILL, J. J. The Santa Barbara Oil Spill: A Retrospective. **Yearbook of the Association of Pacific Coast Geographers**, v.64, p.157–162, 2002.

COOPER, G. M.; HAUSMAN, R. E. **A Célula: Uma Abordagem Molecular**. Artmed Editora, 2016. 693p.

CRAWFORD, R. J. M.; DAVIS, S. A.; HARDING, R. T.; JACKSON, L. F.; LESHORO, T. M.; MEYER, M. A.; RANDALL, R. M.; UNDERHILL, L. G.; UPFOLD, L.; VAN DALSEN, A. P.; VAN DER MERWE, E.; WHITINGTON, P.A.; WILLAMS, A. J.; WOLFAARDT, A. C. Initial impact of the Treasure oil spill on seabirds off western South Africa. **South African Journal of Marine Science**, v.22, p.157-176, 2000.

CRUZ, A. M., & KRAUSMANN, E. Damage to offshore oil and gas facilities following hurricanes Katrina and Rita: An overview. **Journal of Loss Prevention in the Process Industries**, v.21, p.620-626, 2008.

DIANZANI, M. U. Biochemical aspects of fatty liver. In: Meeks, G. R.; Harrison, D. S.; Bull, R. J. **Hepatotoxicology**. CRC Press, 1991. p.327-400.

DIGHIESH, H.; ELDANASOURY, M.; KAMEL, S.; & SHARAF, S. Toxicity of Water Soluble Fractions of Petroleum Crude Oil and its Histopathological Alterations Effects on Red Tilapia Fish. *Catrina: The International Journal of Environmental Sciences*, v.18, p.25-31, 2019.

DOMINGOS F. X. V.; ASSIS, H. C. S.; SILVA, M. D.; DAMIAN, R. C.; ALMEIDA, A. I. M.; CESTARI, M. M.; RANDI, M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Anthropic impact evaluation of two brazilian estuaries trough biomarkers in fish. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, v.4, p.21-30, 2009.

EPPLEY, Z. A.; RUBEGA, M. A. Indirect effects of an oil spill: Reproductive failure in a population of south Polar skuas following the "Bahia Paraiso" oil spill in Antarctica. **Marine ecology progress series. Oldendorf**, v.67, p.1-6, 1990.

ERIEGHA, O. J., OMITOYIN, B. O., & AJANI, E. K. Water soluble fractions of crude oil deteriorates water quality parameters and alters histopathological components of juvenile *Clarias gariepinus*. **Animal Research International**, v.16, p.3308-3318, 2019.

ESMAEILBEIGI, M.; KALBASSI, M. R.; SEYEDI, J.; TAYEMEH, M. B.; MOGHADDAM, J. A. Intra and extracellular effects of benzo [α] pyrene on liver, gill and blood of Caspian White fish (*Rutilus frissi*

JESUS, R. N. Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em *Mugil curema...*

kutum): Cyto-genotoxicity and histopathology approach. **Marine Pollution Bulletin**, v.163, p.111942, 2021.

EVENSEN, Ø. Normal structure and function. In: FERGUSON, H. W. Systemic Pathology of Fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Ames (IA): Iowa State University Press; 2006. p.200-216.

FERNANDES-JUNIOR; A. C.; CARVALHO, P. L. P. F., PEZZATO, L. E., KOCH, J. F. A., TEIXEIRA, C. P., CINTRA, F. T.; DAMASCENO, F. M.; AMORIN, R. L.; PADOVANI, R. C.; BARROS, M. M. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. **Aquaculture**, v.456, p.83-93, 2016.

FINGAS, M. **The basics of oil spill cleanup**. Canadá: CRC Press, 2012. 286p.

FLORES-LOPES, F.I.; THOMAZ, A.T. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, p.179-188, 2011.

FÖRLIN, L.; HAUX, C.; KARLSSON-NORRGREN, L.; RUNN, P.; LARSSON, Å. Biotransformation enzyme activities and histopathology in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, treated with cadmium. **Aquatic Toxicology**, v.8, p.51-64, 1986.

FRACTRACKER ALLIANCE. Impacts of 2020 Colonial pipeline rupture continue to grow. Disponível em: <https://www.fractracker.org/2021/05/august-2020-colonial-pipeline-spill-in-north-carolina/#:~:text=Overview,originally%20reported%20nine%20months%20ago..> Acesso em: 29 abril 2022.

FREEMAN, W. H.; BRACEGIRDLE, B. **An advanced atlas of histology**. Heinemann, 1976. 159p.

GABAY, C; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **New England journal of medicine**, v.340, p.448-454, 1999.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Color textbook of histology**. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2007. 573p.

GIARI, L.; DEZFULI, B. S.; LANZONI, M.; CASTALDELLI, G. The impact of an oil spill on organs of bream *Abramis brama* in the Po River. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.77, p.18-27, 2012.

GIARI, L.; MANERA, M.; SIMONI, E.; DEZFULI, B. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. **Chemosphere**, v.67, p.1171-1181, 2007.

GROFF, J. M. Neoplasia in fishes. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**, v.7, p.705-756, 2004.

GROSELL, M.; PASPARAKIS, C. Physiological responses of fish to oil spills. **Annual review of marine science**, v.13, p.137-160, 2021.

GUIMARÃES, S.; MOURA, D.; SILVA, P. S. Manual de Farmacologia e Farmacoterapia: Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas. **5ª Edição. Porto Editora**, 2006.

GUSMÃO, E. P.; RODRIGUES, R. V.; MOREIRA, C. B.; ROMANO, L. A.; SAMPAIO, L. A.; MIRANDA-FILHO, K. C. Growth and histopathological effects of chronic exposition of marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae to petroleum water-soluble fraction (WSF). **Ambio**, v.41, p.456-466, 2012.

HAENSLY, W. E.; NEFF, J. M.; SHARP, J. R.; MORRIS, A. C.; BEDGOOD, M. F.; BOEM, P. D. Histopathology of *Pleuronectes platessa* L. from Aber Wrac'h and Aber Benoit, Brittany, France: long-term effects of the Amoco Cadiz crude oil spill. **Journal of Fish Diseases**, v.5, p.365-391, 1982.

HAMEED, A. M.; AL-AZAWI, A. J. Acute and chronic effects of water soluble fraction WSF of diesel fuel on common carp (*Cyprinus carpio* L. 1758). **Journal of International Environmental Application and Science**, v.11, p.331-345, 2016.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. CRC press, 2018. 384p.

HEIER, L. S.; LIEN, I. B.; STRØMSENG, A. E.; LJØNES, M.; ROSSELAND, B. O.; TOLLEFSEN, K. E.; SALBU, B. Speciation of lead, copper, zinc and antimony in water draining a shooting range—time dependant metal accumulation and biomarker responses in brown trout (*Salmo trutta* L.). **Science of the Total Environment**, v.407, p.4047-4055, 2009.

HELLAWELL, J. M. Biological indicators. In: HELLAWELL, J. M. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. Springer, Dordrecht, 1986. p. 45-77.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do Diquate na brânquia e no fígado do piaçu (*Leporinus macrocephalus*). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.17, 2007.

HENKEL, L. A., & ZICCARDI, M. H. Life and death: how should we respond to oiled wildlife? **Journal of Fish and Wildlife Management**, v.9, p.296-301, 2018.

HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A.; MONTERO, D.; CAMACHO, M.; GINÉS, R.; BOADA, L. D.; BORDÓN, B. R.; VALERÓN P. F.; ALMEIDA-GONZÁLEZ M.; ZUMBADO M.; HAROUN R.; LUZARDO, O. P. Comparative analysis of selected semi-persistent and emerging pollutants in wild-caught fish and aquaculture associated fish using Bogue (*Boops boops*) as sentinel species. **Science of the Total Environment**, v.581, p.199-208, 2017.

HERMOSO, V.; CLAVERO, M.; BLANCO-GARRIDO, F.; PRENDA, J. Assessing the ecological status in species-poor systems: a fish-based index for Mediterranean Rivers (Guadiana River, SW Spain). **Ecological Indicators**, v.10, p.1152-1161, 2010.

HESNI, M. A.; SAVARI, A.; SOHRAB, A. D.; MORTAZAVI, M. S. Gill histopathological changes in milkfish (*Chanos chanos*) exposed to acute toxicity of diesel oil. **World Applied Sciences Journal**, v.14, p.1487-1492, 2011.

- HIBYIA, T. **An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features**. Gustav Fischer Verlag, 1982. 147p.
- HINTON, D. E.; BAUMANN P. C.; GARDNER G. R.; HAWKINS W. E.; HENDRICKS J. D.; MURCHELANO R. A.; OKIHIRO M. S. Histopathologic biomarkers. In: HUGGETT R. J. Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. CRC Press, 2017. p.155–209.
- HINTON, D. E.; SEGNER, H.; BRAUNBECK, T. Toxic responses of the liver. In: SCHLENK, D.; BENSON, W. H. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. CRC Press, 2001. p.224-268
- HONORATO, C. A.; CRUZ, C. D.; CARNEIRO, D. J.; MACHADO, M. R.; NASCIMENTO, C. A.; SATURNINO, K. C. Histologia do fígado de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo silagem biológica de pescado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, p.64-68, 2014.
- IDILMAN, I. S.; OZDENIZ, I.; KARCAALTINCABA, M. Hepatic steatosis: etiology, patterns, and quantification. In: **Seminars in Ultrasound, CT and MRI**, v.37, p. 501-510, 2016.
- IMO. **International Maritime Organization. MARPOL. Consolidated Edition 2011**. London: IMO publication, 2011. 459p.
- ITOPF. Fate of marine oil spills: technical information paper. **ITOPF LTD**, Canterbury - UK, 2011. Disponível em: https://www.itopf.org/fileadmin/uploads/itopf/data/Documents/TIPS_TAPS_new/TIP_2_Fate_of_Marine_Oil_Spills.pdf. Acesso em: 01 maio 2022.
- ITOPF. Oil tanker spill statistic 2021. **ITOPF LTD**, London - UK, 2022. Disponível em: https://www.itopf.org/fileadmin/uploads/itopf/data/Documents/Company_Lit/Oil_Spill_Stats_2021.pdf. Acesso em: 29 abril 2022.
- JAHANBAKSHI, A; HEDAYATI, A. Gill histopathological changes in Great sturgeon after exposure to crude and water soluble fraction of diesel oil. **Comparative Clinical Pathology**, v.22, p.1083-1086, 2013.
- JANEWAY J.R.; CHARLES A.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annual review of immunology**, v.20, p.197-216, 2002.
- JERNELÖV, A. The threats from oil spills: now, then, and in the future. **Ambio**, v.39, p.353-366, 2010.
- JESUS, T.B.; CARVALHO, C.E.V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, p.680-693, 2008.
- JOHNSON, R. K.; WIEDERHOLM, T.; ROSENBERG, D. M. Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations, and species assemblages of benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (Ed.). Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. New York: Chapman and Hall, 1993. p. 195-233.

- KALAY M.; AY Ö.; CANLI M. Heavy Metal Concentrations in Fish Tissues from the Northeast Mediterranean Sea. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. v.3, p.673-681, 1999.
- KARDONG, K. V. **Vertebrados: anatomia comparada, função e evolução**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 2016. 816p.
- KATSUMI, M. A histopathologic classification of chemical-induced injury of the liver In: Meeks, G. R.; Harrison, D. S.; Bull, R. J. *Hepatotoxicology*. CRC Press, 1991. p.1-67.
- KATSUMITI, A.; DOMINGOS, F. X.; AZEVEDO, M.; SILVA, M. D.; DAMIAN, R. C.; ALMEIDA, M. I. M.; ASSIS, H. C. S.; CESTARI, M. M.; RANDI, M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; FREIRE, C. A. An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish *Cathorops spixii* after the Vicuña Oil Spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil. **Environmental monitoring and assessment**, v.152, p.209-222, 2009.
- KELLY, W. R. The liver and biliary system. **Pathology of domestic animals**, v.2, p.319-406, 1993.
- KHAN, R. A. Health of flatfish from localities in Placentia Bay, Newfoundland, contaminated with petroleum and PCBs. **Archives of Environmental Contamination and toxicology**, v.44, p.0485-0492, 2003.
- KOKUBO, N.; MATSUURA, M.; ONIMARU, K.; TIECKE, E.; KURAKU, S.; KURATANI, S.; TANAKA, M. Mechanisms of heart development in the Japanese lamprey, *Lethenteron japonicum*. **Evolution & Development**, v. 12, p. 34-44, 2010.
- KROGLUND, F.; ROSSELAND, B. O.; TEIEN, H. C.; SALBU, B.; KRISTENSEN, T.; FINSTAD, B. Water quality limits for Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) exposed to short term reductions in pH and increased aluminum simulating episodes. **Hydrology and Earth System Sciences**, v.12, p.491-507, 2008.
- KROON, F.; STRETEN, C.; & HARRIES, S. A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review. **PloS one**, v.2, e0174762, 2017.
- KUMAR, V.; ABBAS, K. A.; ASTER, C. J. Robbins & Cotran Patologia — Bases Patológicas das Doenças. 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016
- LANG, T.; WOSNIOK, W.; BARŠIENĖ, J.; BROEG, K.; KOPECKA, J.; PARKKONEN, J. Liver histopathology in Baltic flounder (*Platichthys flesus*) as indicator of biological effects of contaminants. **Marine pollution bulletin**, v.53, p.488-496, 2006.
- LAURENT, P; DUNEL, S. Morphology of gill epithelia in fish. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.238, p.R147-R159, 1980.
- LEITE, M. B. N. L.; CRUZ, A. L.; RODRIGUES, L. E. A.; YAMASHITA, S. R.; CARQUEIJA, C. R. G.; NASCIMENTO, I. A. Comparing the Toxicity of Water-Soluble Fractions of Biodiesel, Diesel and 5 % Biodiesel/Diesel Blend on *Oreochromis niloticus* Using Histological Biomarkers. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.95, p.574–581, 2015.

LELLIS, B.; FÁVARO-POLONIO, C. Z.; PAMPHILE, J. A.; POLONIO, J. C. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. **Biotechnology Research and Innovation**, v.3, p.275-290, 2019.

LIMA, C. A. F. Exploração de petróleo no mar: plano logístico para atendimento ao combate de derramamento de óleo no mar de um campo offshore de produção da Petrobrás no estado do Espírito Santo. 2003. 130p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LISTER, A.; NERO, V.; FARWELL, A.; DIXON, D. G.; VAN DER KRAAK, G. Reproductive and stress hormone levels in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. **Aquatic Toxicology**, v.87, p.170–177, 2008.

LOPES, A.; PIEDADE, M.T.F. Estabelecimento de *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchcock (Poaceae) em solo de várzea contaminado com petróleo de Urucu". **Acta Amazonica**, v.39, p.583-590, 2009.

LOPES, C. F.; MILANELLI, J. C. C.; POFFO, I. R. F. Ambientes costeiros contaminados por óleo: procedimentos de limpeza—Manual de Orientação. **São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente**, p.120, 2007.

MAGER, E. M.; ESBAUGH, A. J.; STIEGLITZ, J. D.; HOENIG, R.; BODINIER, C.; INCARDONA, J. P.; SCHOLZ, N. L.; BENETTI, D. D.; GROSELL, M. Acute embryonic or juvenile exposure to Deepwater Horizon crude oil impairs the swimming performance of mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*). **Environmental science & technology**, v.48, p.7053-7061, 2014.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, p. 630-648, 1985.

MARCOGLIESE, D. J. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theater. **EcoHealth**, v.1, p.151-164, 2004.

MARCOVECCHIO, J. E. The use of *Micropogonias furnieri* and *Mugil liza* as bioindicators of heavy metals pollution in La Plata river estuary, Argentina. **Science of the Total Environment**, v. 323, p. 219-226, 2004.

MARIGOMEZ, I.; SOTO, M.; CANCIO, I.; ORBEA, A.; GARMENDIA, L.; CAJARAVILLE, M. P. Cell and tissue biomarkers in mussel, and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). **Marine Pollution Bulletin**, v.53, p.287-304, 2006.

MARTINEAU, D.; FERGUSON H. W. Neoplasm in Pisces. In: FERGUSON H. W. Systemic Pathology of Fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Ames (IA): Iowa State University Press; 2006. p.321-335.

MATSUO, A. Y. O.; WOODIN, B. R.; REDDY, C. M.; VAL, A. L.; STEGEMAN, J. J. Humic substances and crude oil induce cytochrome P450 1A expression in the amazonian fish species *Colossoma macropomum* (Tambaqui). **Environmental Science & Technology**, v.40, p.2851-2858, 2006.

MCCLELLAND, G., WEBER, J. M., ZWINGELSTEIN, G., & BRICHON, G. Lipid composition of tissue and plasma in two Mediterranean fishes, the gilt-head sea bream (*Chrysophrys auratus*) and the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.52, p.161-170, 1995.

MELA, M.; RANDI, M. A. F.; VENTURA, D. F.; CARVALHO, C. E. V.; PELLETIER, E.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.68, p.426-435, 2007.

MELO, G. C. Efeitos subletais da ação do organofosforado Folidol® 600 no fígado do peixe de água doce Jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824): uma análise histopatológica. 2004. 117p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MIRANDA, A. L.; ROCHE, H.; RANDI, M. A. F.; MENEZES, M. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological, physiological, and immunological findings. **Environment International**, v.34, p.939-949, 2008.

MIRANDA, D.; RESTREPO, R. Los derramamientos de petróleo en ecosistemas tropicales—impactos, consecuencias y prevención. La experiencia de Colombia. In: International oil spill conference. **American Petroleum Institute**, p.571-575, 2005.

MISHRA, A. K.; MOHANTY, B. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.26, p.136-141, 2008.

MORALES-CASELLES, C.; JIMÉNEZ-TENORIO, N.; CANALES, M.; SARASQUETE, C.; DELVALLS, T. Á. Ecotoxicity of sediments contaminated by the oil spill associated with the tanker “Prestige” using juveniles of the fish *Sparus aurata*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.51, p.652-660, 2006.

MOSTAFAWI, N. How severely was the Persian Gulf affected by oil spills following the 1991 Gulf War? **Environmental Geology**, v.40, p.1185-1191, 2001.

MOURA, E.; SILVA, M.; QUEIROZ, J.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Indicadores biológicos de qualidade. In: QUEIROZ, J. F.; SILVA, M. S. G. M.; TRIVINHO-STRIXINO, S. (Ed.). Organismos bentônicos: biomonitoramento de qualidade de águas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. p. 26-34.

MUSUMECI, G. Past, present and future: overview on histology and histopathology. **Journal of Histology & Histopathology**, v.1, p.1-3, 2014.

MYERS, M. S.; JOHNSON, L. L.; OLSON, O. P.; STEHR, C. M.; HORNESS, B. H.; COLLIER, T. K.; MCCAIN, B. B. Toxicopathic hepatic lesions as biomarkers of chemical contaminant exposure and effects in marine bottomfish species from the Northeast and Pacific coasts, USA. **Marine Pollution Bulletin**, v.37, p.92–113, 1998.

NANTON, D.A.; LALL, S.P.; ROSS, N.W.; MCNIVEN, M.A. Effect of dietary lipid level on fatty acid oxidation and lipid composition in various tissues of haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.135, p.95–108, 2003.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. D.; KATSUMITI, A.; FRANÇA, P.; MASCHIO, J.; ZANDONÁ, E.; CESTARI, M. M.; VICARI, T.; ROCHE, H.; ASSIS, H. C. S.; FILIPAK NETO, F. Biomarkers responses in fish (*Atherinella brasiliensis*) of paranaguá bay, southern Brazil, for assessment of pollutant effects. **Brazilian Journal of Oceanography**, v.61, p.1-11, 2013.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZCHARDI, A.; ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**, v.74, p.53- 69, 2005.

OLIVEIRA-CARNIATTO, C. H., VIDOTTI, A. P., OLIVEIRA-BIANCHI, L. R., MELLO, J. M. Morfologia e evolução do coração nos vertebrados: uma revisão. **Arquivos do MUDI**, v.23, p.290-303, 2019.

OLSON, E. N. Gene regulatory networks in the evolution and development of the heart. **Science**, v.313, p.1922-1927, 2006.

ONWUMERE, B. G.; OLADIMEJI, A. A. Accumulation of metals and histopathology in *Oreochromis niloticus* exposed to treated NNPC Kaduna (Nigeria) petroleum refinery effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 19, p.123-134, 1990.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. Netter bases da histologia. Elsevier Brasil, 2008. 536p.

PACHECO, F. C. E CARDOSO, E. M. Imunidade inata e inflamação. In: AROSA, F. A.; CARDOSO, E. M. E PACHECO, F. C. Fundamentos de imunologia. Lisboa, LIDEL, p.57-102, 2012.

PACHECO, M; SANTOS, M. A. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.49, p.64-75, 2001.

PASTORINO, P.; PREARO, M.; PIZZUL, E.; BERTOLI, M.; FRANCESE, D. R.; MENCONI, V.; MUGETTI, D.; BOZZETTA, E.; VARELLO, K. Hepatic Steatosis in a Bullhead (*Cottus Gobio*) Population from a High-Mountain Lake (Carnic Alps): Adaptation to an Extreme Ecosystem? **Water**, v.11, p.2570, 2019.

PERRIGOUE, J. G.; MARSHALL, F. A.; ARTIS, D. On the hunt for helminths: innate immune cells in the recognition and response to helminth parasites. **Cellular microbiology**, v.10, p.1757-1764, 2008.

PERRY, S. F. The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. **Annual Review of Physiology**, v.59, p.325-347, 1997.

PETERSON, C. H.; RICE, S. D.; SHORT, J. W.; ESLER, D.; BODKIN, J. L.; BALLACHEY, B. E.; IRONS, D. B. Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. **Science**, v.302, p.2082-2086, 2003.

PIETRAPIANA, D.; MODENA, M.; GUIDETTI, P.; FALUGI, C.; VACCHI, M. Evaluating the genotoxic damage and hepatic tissue alterations in demersal fish species: a case study in the Ligurian Sea (NW-Mediterranean). **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p.238-243, 2002.

PINE, J. C. Hurricane Katrina and oil spills: Impact on coastal and ocean environments. **Oceanography**, v. 19, p.37-39, 2006.

PISAM, M. Membranous systems in the “chloride cell” of teleostean fish gill; their modifications in response to the salinity of the environment. **The Anatomical Record**, v.200, p.401-414, 1981.

POLEKSIĆ, V.; MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**, p.339-352, 1994.

POPPE T. T.; FERGUSON H. W. Cardiovascular System. In: FERGUSON H. W. Systemic Pathology of Fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Ames (IA): Iowa State University Press; 2006. p.140-167.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; MCFARLAND, W. N. **A vida dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu, 2008. 718p.

PRASAD, S. J.; NAIR, B.; RAHAMAN, H.; SHENOI, S. S. C.; VIJAYALAKSHMI, T. An assessment on oil spill trajectory prediction: Case study on oil spill off Ennore Port. **Journal of Earth System Science**, v.127, p.1-8, 2018.

RAJENDRAN, S., SADOONI, F. N., AL-KUWARI, H. A. S., OLEG, A., GOVIL, H., NASIR, S., & VETHAMONY, P. Monitoring oil spill in Norilsk, Russia using satellite data. **Scientific Reports**, v.11, p.1-20, 2021.

RAO, V. T.; SUNEEL, V.; ALEX, M. J.; GURUMOORTHY, K.; THOMAS, A. P. Assessment of MV Wakashio oil spill off Mauritius, Indian Ocean through satellite imagery: A case study. **Journal of Earth System Science**, v.131, p.1-12, 2022.

REMPEC. Derramamento de óleo da usina elétrica de Jiyeh em 2006. Disponível em: <https://www.rempec.org/en/our-work/pollution-preparedness-and-response/response/accident-map/2006-jiyeh-power-plant-oil-spill>. Acesso em: 30 abril 2022.

ROBERTS, R. J. The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. **Fish pathology**, v.3, p.55-132, 2001.

ROMANO, L. A.; CUEVA, F. Gill histological lesions related to toxic substances in *Odontesthes*

bonariensis (Cuv. y Val., 1835) (Pisces, Atherinidae). **Revista de la Asociacion de Ciencias Naturales del Litoral**, v.19, p.135–142, 1988.

ROSETY-RODRÍGUEZ, M.; ORDOÑEZ, F. J.; ROSETY, M.; ROSETY, J. M.; ROSETY, I.; RIBELLES, A.; CARRASCO, C. Morphohistochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.51, p.223-228, 2002.

SAKURAGUI, M. M.; SANCHES, J. R.; FERNANDES, M. N. Gill chloride cell proliferation and respiratory responses to hypoxia of the neotropical erythrinid fish *Hoplias malabaricus*. **Journal of Comparative Physiology B**, v.173, p.309-317, 2003.

SAMMARCO, P. W.; KOLIAN, S. R.; WARBY, R. A. F.; BOULDIN, J. L.; SUBRA, W. A.; PORTER, S. A. Distribution and concentrations of petroleum hydrocarbons associated with the BP/Deepwater Horizon Oil Spill, Gulf of Mexico. **Marine Pollution Bulletin**, v.73, p.129–143, 2013.

SANTOS, D. M.; BOSSINI, J. A. T.; PREUSSLER, K. H.; VASCONSELOS, E. C.; CARVALHO-NETO, F. S.; CARVALHO-FILHO, M. A. S. Avaliação de metais pesados na baía de Paranaguá, PR, Brasil, sob influência das atividades antrópicas. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v.1, p.157-160, 2006.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress Recovery**, v.6, p.75–86, 1997.

SEINEN, W.; HELDER, T.; VERNIJ, H.; PENNINKS, A.; LEEUWANGH, P. Shortterm toxicity of tri-n-butyltin chloride in rainbow trout, (*Salmo gairdneri* Richardson) yolk sac fry. **Science of The Total Environment**, v.19, p.155-166, 1981.

SINDERMANN, C. J. Pollution-associated diseases and abnormalities of fish and shellfish: a review. **Fishery bulletin**, v.76, p.717-749, 1979.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. F. Cutaneous wound healing. **New England journal of medicine**, v.341, p.738-746, 1999.

SINGH, N.; GUPTA, V. K.; KUMAR, A.; SHARMA, B. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems. **Frontiers in chemistry**, v.5, p.70, 2017.

SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. Histopathological changes in two estuarine fishes, *Menidia beryllina* (Cope) and *Trinectes maculatus* (Bloch and Schneider), exposed to crude oil and its water-soluble fractions. **Journal of Fish Diseases**, v.5, p.13-35, 1982.

SOUSA, E. Z.; JESUS, L. W.; MEIRELES, W. A.; BORELLA, M. I.; BIANCHI, P. K.; SALVADORI, M. L.; KFOURY-JÚNIOR, J. R. O desenvolvimento embrionário da Piapara, *Leporinus elongatus* (Pisces, Anostomidae), utilizando técnicas de histologia, microscopia eletrônica de varredura e imunológicas empregando marcadores ósseos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, p.92-98, 2014.

- SOUZA, M. L. R.; DOURADO, D. M.; MACHADO, S. D.; BUCCINI, D. F.; JARDIM, M. I. A.; MATIAS, R.; CORREIA, C.; FERREIRA, I. C. Analysis of the skin of three fish species: histology, morphometry and resistance tests. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1551-1559, 2003.
- SPIES, R. B.; STEGEMAN, J. J.; HINTON, D. E.; WOODIN, B.; SMOLOWITZ, R.; OKIHIRO, M.; SHEA, D. Biomarkers of hydrocarbon exposure and sublethal effects in embiotocid fishes from a natural petroleum seep in the Santa Barbara Channel. **Aquatic Toxicology**, v.34, p.195-219, 1996.
- SPIES, R. B.; STEGEMAN, J. J.; HINTON, D. E.; WOODIN, B.; SMOLOWITZ, R.; OKIHIRO, M.; SHEA, D. Biomarkers of hydrocarbon exposure and sublethal effects in embiotocid fishes from a natural petroleum seep in the Santa Barbara Channel. **Aquatic Toxicology**, v.34, p.195-219, 1996.
- STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P.; JONES, G.; GREEN, M.; FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**, v.55, p.137-159, 2003.
- STENTIFORD, G. D.; MASSOUD, M. S.; AL-MUDHHI, S.; AL-SARAWI, M. A.; AL-ENEZI, M.; LYONS, B. P. Histopathological survey of potential biomarkers for the assessment of contaminant related biological effects in species of fish and shellfish collected from Kuwait Bay, Arabian Gulf. **Marine environmental research**, v.98, p.60-67, 2014.
- STEVENS, E. D. The effect of exercise on the distribution of blood to various organs in rainbow trout. **Comparative biochemistry and physiology**, v.25, p.615-625, 1968.
- STRAUGHAN, D. Sublethal effects of natural chronic exposure to petroleum in the marine environment. **API Publ.**, n.4280, 1976.
- STRAUSS, R. R. Association of Some Metabolic Activities of Leukocytes with the Immune Response. In: ESCOBAR, M.R.; FRIEDMAN, H. Macrophages and Lymphocytes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer, Boston, MA, 1980. p.3-19.
- STUERMER, D. H.; SPIES, R. B.; DAVIS, P. H.; NG, D. J.; MORRIS, C. J.; NEAL, S. The hydrocarbons in the Isla Vista marine seep environment. **Marine Chemistry**, v.11, p.413-426, 1982.
- SUMPTER, J. P. Feminized responses in fish to environmental estrogens. **Toxicology letters**, v.82, p.737-742, 1995.
- SUSANI, L.; MEARNNS, A.; LONG, E. NOAA Quality Assurance Program Workshop on Marine Fish Histopathology. **CEAB Pacific Office, Seattle, WA**. 1986.
- SWARTZ, R. C.; GALLARDO, V. A. Subtidal survey of the Strait of Magellan in the vicinity of the Metula oil spill. United States, 1976. Disponível em: <https://www.osti.gov/biblio/6790795>. Acesso em: 30 abril 2022.
- TAKASHIMA F.; HIBIYA T. **An Atlas of Histology of Fish**. Tokyo: Gustav Fischer-Verlag, 1995.195p.
- TAKEISHI, T.; HIRANO, K.; KOBAYASHI, T.; HASEGAWA, G.; HATAKEYAMA, K.; NAITO, M.

- The role of Kupffer cells in liver regeneration. **Archives of histology and cytology**, v.62, p.413-422, 1999.
- TEH, S. J., ADAMS S. M.; HINTON D. E. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. **Aquatic Toxicology**, v.37, p.51–70, 1997.
- TEIXEIRA, D. A. Patologia geral. Teófilo Otoni: Epidemiologia e Serviços de Saúde, 2020. 61p.
- THE GUARDIAN. Derramamento de óleo no Chile: 40.000 litros de diesel derramados no mar da Patagônia. Disponível em: <https://www.theguardian.com/environment/2019/jul/29/chile-oil-spill-40000-litres-of-diesel-spilled-into-sea-off-patagonia>. Acesso em 29 abril 2022.
- THOMAS, G. E.; CAMERON, T. C.; CAMPO, P.; CLARK, D. R.; COULON, F.; GREGSON, B. H.; HEPBURN, L. J.; MCGENITY, T. J.; MILIOU, A.; WHITBY, C.; MCKEW, B. A. Bacterial community legacy effects following the Agia Zoni II oil-spill, Greece. **Frontiers in microbiology**, p.1706, 2020.
- THOMAS, R. E.; RICE, S. D. The effect of exposure temperatures on oxygen consumption and opercular breathing rates of pink salmon fry exposed to toluene, naphthalene, and water-soluble fractions of Cook Inlet crude oil and N° 2 fuel oil. **Marine pollution: functional responses**, p. 39-52, 1979.
- UDOTONG, J. I. R. Histopathological changes in liver and muscle of tilapia fish from QIRE exposed to concentrations of heavy metals. **International Journal of Biotechnology and Bioengineering**, v.9, p.659-662, 2015.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.13, p.57-149, 2003.
- VAN DYK, J. C.; MARCHAND, M. J.; PIETERSE, G. M.; BARNHOORN, I. E.; BORNMAN, M. S. Histological changes in the gills of *Clarias gariepinus* (Teleostei: Clariidae) from a polluted South African urban aquatic system. **African Journal of Aquatic Science**, v.34, p.283-291, 2009.
- WELLS, P. G. The iconic Torrey Canyon oil spill of 1967 - Marking its legacy. **Marine pollution bulletin**, v.115, p.1-2, 2017.
- WHITEHEAD, A., DUBANSKY, B., BODINIER, C., GARCIA, T.I., MILES, S., PILLEY, C., RAGHUNATHAN, V., ROACH, J.L., WALKER, N., WALTER, R.B., RICE, C.D., GALVEZ, F. Genomic and physiological footprint of the Deepwater Horizon oil spill on resident marsh fishes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.109, p 20298-20302, 2012.
- WILSON, J. M.; LAURENT, P. Fish gill morphology: inside out. **Journal of experimental Zoology**, v.293, p.192-213, 2002.
- WOLF, J.C.; WOLFE, M. J. A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. **Toxicologic pathology**, v.33, p.75-85, 2005.

JESUS, R. N. Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em *Mugil curema*...

WOODWARD, D. F.; RILEY, R. G.; SMITH, C. E. Accumulation, sublethal effects, and safe concentration of a refined oil as evaluated with cutthroat trout. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v.12, p.455-464, 1983.

ZACHARIAS, D. C.; GAMA, C. M.; FORNARO, A. Mysterious oil spill on Brazilian coast: Analysis and estimates. **Marine Pollution Bulletin**, v.165, p. 112125, 2021.

ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. Donald. **Pathologic Basis of Veterinary Disease-E-Book**. Elsevier Health Sciences, 2013, 1249p.

ZENI, T. O. O uso da histopatologia por microscopia de luz em estudos com peixes dulcícolas em condições ambientais controladas. 2016. 182p. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

2- Artigo Científico

Os resultados obtidos durante a pesquisa desta dissertação serão apresentados no artigo intitulado “Efeitos de médio prazo em biomarcadores histológicos de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* após o derramamento de óleo de 2019, no litoral de Pernambuco, nordeste do Brasil” (manuscrito).

Artigo científico a ser submetido à revista Marine Pollution Bulletin.
<https://www.sciencedirect.com/journal/marine-pollution-bulletin>

ISSN: 0025-326X

EFEITOS DE MÉDIO PRAZO EM BIOMARCADORES HISTOLÓGICOS DE *Mugil curema* E *Haemulon aurolineatum* APÓS O DERRAMAMENTO DE ÓLEO DE 2019, NO LITORAL DE PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL

Resumo

No Brasil, em especial na costa de Pernambuco, em agosto de 2019, foram encontradas grandes quantidades de petróleo bruto que afetou diversas espécies costeiras importantes para pesca. Dessa forma, o presente estudo investigou o *status* de saúde das populações de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* após esse acidente. Para isso noventa e sete peixes de ambas as espécies foram coletados em Itapissuma, Ilha de Itamaracá e Goiana entre outubro de 2020 a novembro de 2021 para posteriores análises histopatológicas e determinação dos índices somáticos. As análises histopatológicas demonstraram expressiva ocorrência de patologia no fígado e brânquia de *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum*, os índices somáticos revelaram que os fígados de *Mugil curema* foram mais comprometidos, e que as brânquias de ambas as espécies estão com níveis de modificações teciduais normais a leves, e que não houve diferença ($p > 0,05$) para os fígados e brânquias de adultos e juvenis para as duas espécies dos locais estudados. Os dados obtidos indicam que a saúde dos peixes se encontra comprometida.

Palavras-chave: biomonitoramento; biomarcadores; derramamento de óleo.

Abstract

In August 2019, large amounts of crude oil were discovered in Brazil, not least on the coast of Pernambuco, affecting several coastal species important for fishing. Thus, the current work sought to investigate the health of the *Mugil curema* and *Haemulon aurolineatum* populations following the accident. Between October 2020 and November 2021, 97 fish of both species were collected in Itapissuma, Ilha de Itamaracá, and Goiana for further histopathological analysis and determination of somatic indexes. The histopathological analyses revealed an expressive occurrence of pathologies in the livers and gills of *Mugil curema* and *Haemulon aurolineatum*, the somatic indexes revealed that the *Mugil curema*'s livers were more compromised, and the gills of both species had normal to slight tissue changes levels, and there was no difference ($p > 0.05$) between the livers and gills of adults and juveniles for the two species as per the studies. The data obtained indicate that the health of the fishes is compromised.

Keyword: biomonitoring; biomarkers; oil spill.

1- Introdução

Em 30 de agosto de 2019, manchas de petróleo cru chegaram na costa da região Nordeste, primeiramente nos estados de Pernambuco, Paraíba e Alagoas e, posteriormente, atingiram a região Sudeste, nos estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro, enquanto para o norte alcançaram até o Maranhão (ARAÚJO et al., 2020). Esse derramamento de petróleo atingiu a costa de Pernambuco em duas ondas que consistiram de *pellets* encalhados no início de setembro, e grandes manchas encalhadas no início de novembro (MAGALHAES et al., 2022). Cerca de 1500 toneladas métricas de petróleo bruto (misturado com detritos) foram recuperadas da costa deste estado.

Esse derramamento se inclui nos 5,86 milhões de toneladas de petróleo lançadas ao mar no mundo devido a acidentes entre 1970 a 2020, de acordo o Relatório da Federação Internacional de Poluição de Proprietários de Petroleiros (ITOPF, 2021). Nesse caso, o derramamento de petróleo de 2019 no Nordeste do Brasil é considerado o maior desastre ambiental em extensão do país, gerando entre 5.000 a 12.500 m³ de resíduos oleosos que abrangeram 4.000 km de costa, mais de mil localidades documentadas de 11 estados brasileiros e 55 unidades de conservação ambiental (DANTAS et al., 2019; BRASIL, 2020; ZACHARIAS et al., 2021). É esperado que nesse tipo de evento haja consequências ecológicas, sociais, econômicas e de saúde humana a curto, médio e longo prazo.

Dentre as áreas atingidas, destacam-se os ecossistemas recifais e estuarinos, que possuem relevantes funções ecológicas, como a alta produtividade biológica, por serem locais de reprodução e berçário (CASTRO, 1999; IPIECA, 1992; LOPES et al., 2007; BERENGER, 2013) e usados como locais de pesca, uma vez que possuem espécies de elevada importância econômica (BENTO, 2005). A perturbação sofrida atingiu uma área aproximada de 5500 km², equivalendo – em sentido figurado – a cerca de 800 mil campos de futebol, o que afetou centenas de espécies das águas costeiras brasileiras, assim como a oferta de serviços ecossistêmicos (MAGRIS e GIARRIZZO, 2020; MEIRELES et al., 2020).

Dentre as espécies que habitam esses ambientes, destacam-se a tainha (*Mugil curema* – Valenciennes, 1836) e a sapuruna (*Haemulon aurolineatum* – Cuvier, 1930), que têm alta produção pesqueira no litoral de Pernambuco, especialmente nas cidades de Itapissuma, Ilha de Itamaracá e Goiana (LESSA et al., 2006). Essas espécies possuem características adequadas para serem consideradas bioindicadores, pois, ao longo da vida, transitam entre os ambientes estuarinos e recifais, além de possuírem alta longevidade, o que as tornam relevantes para o presente estudo por estarem presentes na área antes e após o derramamento de óleo (ARENA et al., 2007; MANOOCH e BARANS, 1982; SANTANA et al., 2009, 2018).

Ademais, elas estão associadas ao bentos devido à alimentação, tornando-se mais suscetíveis à

contaminação direta por hidrocarbonetos de petróleo (PETERSON et al., 2003; FINGAS, 2012). Salienta-se que essas espécies são utilizadas como bioindicadoras da qualidade da água em outros estudos de biomonitoramento após derramamentos de petróleo e em locais com intensa exploração petrolífera (CORREA e VENABLES, 1985; NORBERG, 2015).

Para avaliar os impactos ambientais, os biomarcadores brânquias e fígados são amplamente utilizados em eventos relacionados ao petróleo e, usualmente, a histopatologia tem sido usada para investigação de impactos envolvendo derramamentos. A exemplo disso destacam-se os estudos do derramamento do navio *Amoco Cadiz* na França, em 1978, do *Prestige* na Espanha, em 2002, além de explosões, como na plataforma da *Deepwater Horizon*, no Golfo do México, em 2010 (MARIGÓMEZ et al., 2006; HAENSLEY et al., 1982; BENTIVEGNA et al., 2015; MORALES-CASELLES et al., 2006).

O presente estudo está inserido no contexto da avaliação dos efeitos de médio prazo do derramamento (de 2 anos) em espécies que ocupam diferentes nichos na área estudada *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum*, tendo-se, para isso, utilizado: 1) o conhecimento sobre a história de vida das espécies na área estudada (SANTANA DA SILVA, 2007; SANTANA, 2018; LIMA, 2004; REVIZEE, 2009) e 2) comparado com os padrões sobre biomarcadores histopatológicos (brânquias e fígados) em espécies relacionadas aos derramamentos apresentados no capítulo 1. Por fim, o presente estudo discute o *status* da saúde dessas espécies na área do derramamento de óleo de 2019 em Pernambuco considerando outras fontes passíveis de terem contribuído para as alterações identificadas.

2- Materiais e métodos

Um total de noventa e sete peixes das espécies *Mugil curema* e *Haemulon aurolineatum* foram capturados entre outubro de 2020 a novembro de 2021 nos municípios de Itapissuma, Ilha de Itamaracá e Goiana, situadas no litoral norte de Pernambuco (Figura 1). Os peixes coletados foram transportados em caixas térmicas, protegidos das variações de temperatura até o laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas (DIMAR) da Universidade

Federal Rural de Pernambuco, onde foram submetidos à biometria e dissecação. Amostragens e entrevistas foram realizadas de acordo com a legislação nacional vigente sob as licenças SISBIO/IBAMA 49663-1 e da Plataforma Brasil 255171.20.

2.1. Composição da amostra em comprimentos

Os comprimentos totais e zoológicos dos espécimes das duas espécies foram aferidos em cm e os sexos e o desenvolvimento gonadal (se jovens ou adultos) registrados para todos os indivíduos nas amostras

(BROWN-PETTERSON et al., 2011). Para separar jovens e adultos utilizou-se os tamanhos médios estimados de maturidade para as espécies por Santana da Silva (2007) para a tainha e por Lima (2004) e REVIZEE (2009) para a sapuruna.

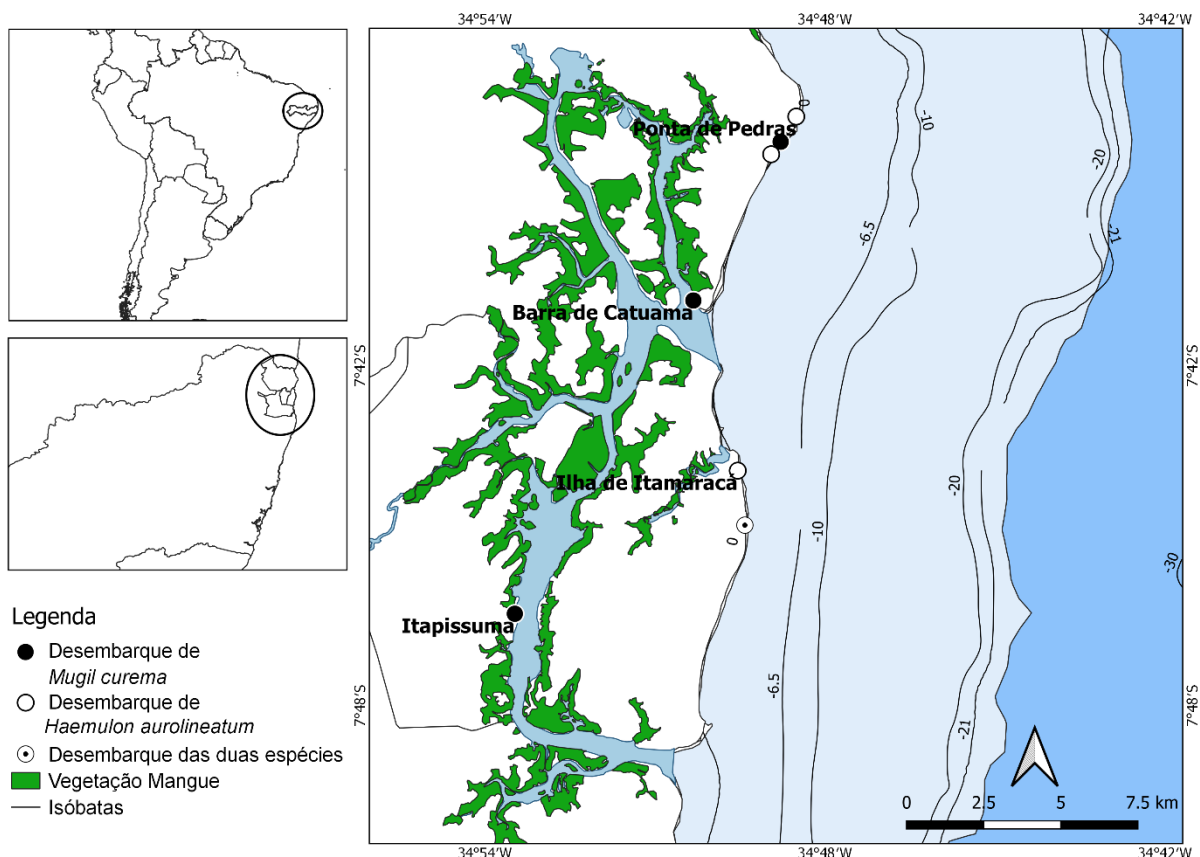


Figura 1: Área de estudo compreendendo os municípios de Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma afetada pelo derramamento de petróleo, em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil.

2.1.1 Estimativa das idades na amostra

As idades dos peixes na captura foram estimadas através da equação invertida de von Bertalanffy (SPARRE e VENEMA, 1997). As curvas de crescimento dos estudos de Santana et al. (2009) para *Mugil curema* foram: $L_{\infty} = 40,2$ cm, $K = 0,281$ e $t_0 = -0,459$ /ano e Lima (2004) para *Haemulon aurolineatum*: $L_{\infty} = 24,17$ cm, $K = 0,2336$ e $t_0 = -0,8552$ /ano foram utilizadas. De posse das idades na captura estimaram-se as idades absolutas dos indivíduos em 2019 ano do derramamento de óleo segundo Lima (2004), Santana da Silva (2007) e REVIZEE (2009, vols. 4 e 5).

2.1.2 Identificação dos habitats ocupados por tamanho

Para inferências sobre o habitat dos indivíduos capturados e seu uso, foram utilizados os estudos de

REVIZEE (2009, vols. 4 e 5), Santana et al. (2018) e Lima (2004), sendo aplicada uma abordagem complementar com entrevistas aos pescadores. Seguiu-se a definição do conhecimento ecológico tradicional (CEL) como fonte de informações biológicas (DREW, 2005). Assim, pode ser confeccionado um mapa mental a partir de imagens disponíveis no Google Earth, visando a identificação, espacialização, mensuração e reconhecimento dos locais de pesca e dos locais onde se encontram os espécimes das espécies estudadas na presente pesquisa.

1.2 Procedimentos histopatológicos

Para investigação morfológica, os fígados e brânquias foram fixados em formalina tamponada neutra à 10% durante 24 horas e posteriormente conservados em álcool 70%. As brânquias foram descalcificadas pelo método descrito por Tolosa et al. (2003). Além disso, foram desidratados em uma série de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Foram cortados em seções transversais de aproximadamente 5 μ m de espessura e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) de Harris. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico e as imagens de cada lâmina foram capturadas utilizando o Programa Image pro Plus® com especial atenção às lesões identificadas. Além disso, as alterações histopatológicas foram avaliadas semiquantitativamente usando um sistema de pontuação de Bernet et al. (1999). Para cada alteração observada foi atribuído um fator de importância de 1 (a alteração é reversível); 2 (a alteração é reversível se o estressor for neutralizado); 3 (a alteração é irreversível). Logo após, também foi concedido um valor de pontuação (a extensão da lesão em todo o tecido) atribuído a cada alteração, que assume os valores: 0 (não observado); 2 (ocorrência leve); 4 (ocorrência moderada) ou 6 (ocorrência grave). Dessa forma, o produto do valor de pontuação com o fator de importância para cada alteração fora calculado para todas as alterações identificadas no órgão examinado e, por fim, somados para obter um índice de órgãos por peixe (*Ifish*). Posteriormente todos os *Ifish* foram somados para obter um índice total de órgão (*Iorg*), *Ib* para brânquias e *If* para fígados.

O sistema de classificação com base em um esquema de pontuação de Zimmerli et al. (2007) foi usado para classificar os resultados do *Ifish* de acordo com a gravidade da resposta histológica: classe 1 (*Ifish* <10): estrutura normal com pequenas alterações histológicas, classe 2 (*Ifish* = 11-20): leves modificações no tecido, classe 3 (*Ifish* = 21-30): presença de modificações moderadas da arquitetura tecidual, classe 4 (*Ifish* = 31-40): presença de modificações acentuadas da arquitetura e morfologia do tecido, classe 5 (*Ifish* >40): alterações severas da arquitetura e morfologia dos tecidos.

2.3 Tratamento estatístico dos dados

A análise estatística dos resultados foi realizada usando o software PAST, versão 4.03. Os dados foram expressos como média \pm desvio-padrão. Todos os dados foram testados primeiramente para normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (teste de Levene) para atender demandas estatísticas. O Teste *t* de Student ou a análise de variância ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney ou de Kruskal-Wallis, dependendo da distribuição dos dados, foi usado para verificar as diferenças entre os valores dos índices de órgão de cada local de coleta como também para as fases de vida dos peixes. Em todos os casos o nível de significância estatística foi mantido em 5%.

3. Resultados

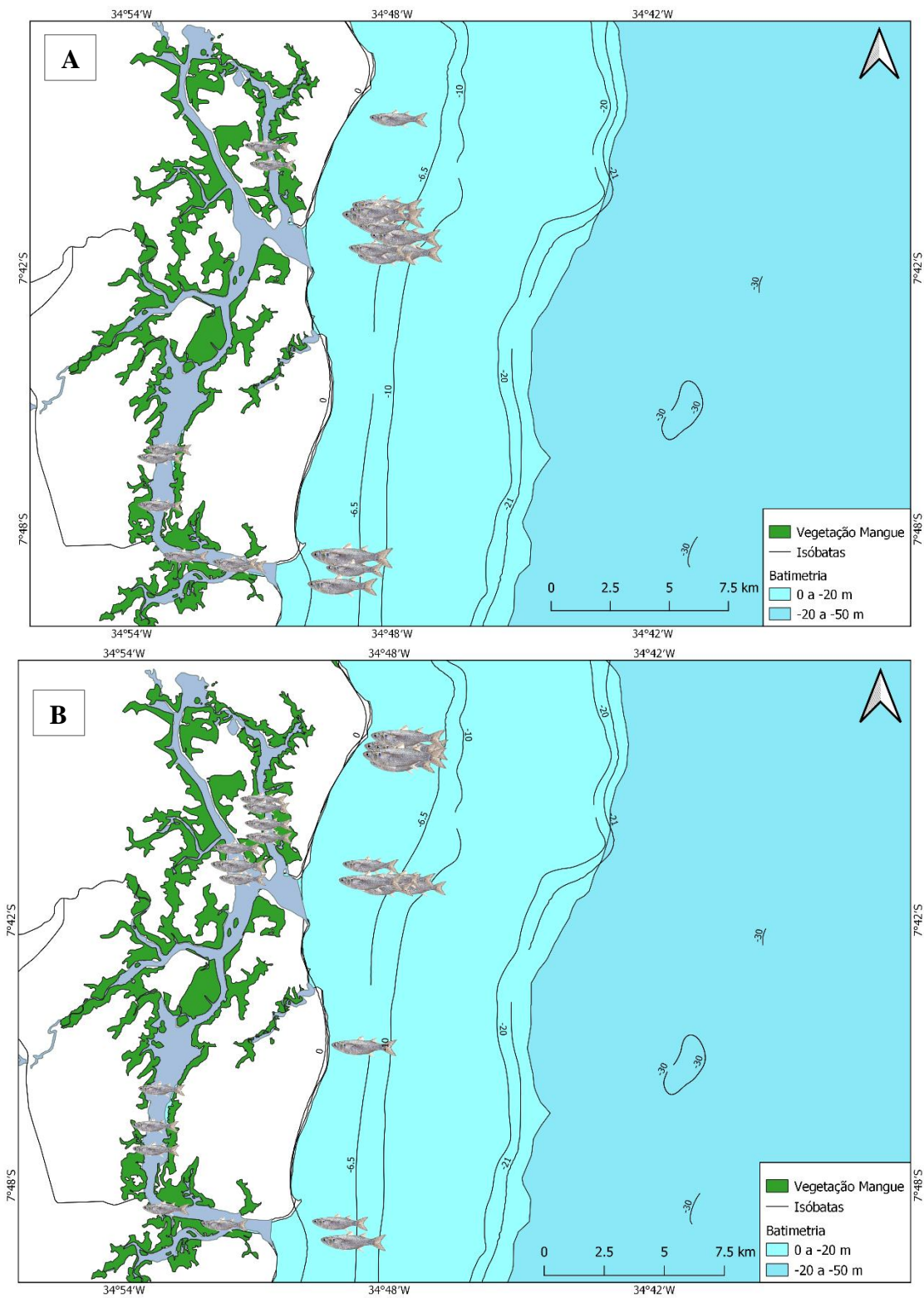


Figura 2: (A) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de *Mugil curema* fêmeas adultos e juvenis; (B) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de *Mugil curema* machos adultos e juvenis.

3.1 *Mugil curema*

3.1.1 Distribuição espaço-temporal de *Mugil curema* no litoral norte de Pernambuco, Brasil

Dentre os quarenta e sete peixes coletados entre outubro de 2020 a novembro de 2021, os peixes adultos representaram 58% da população amostral, sendo que os coletados em Goiana (45%), Ilha de Itamaracá (2%) e Itapissuma (11%) estavam no mar na época do derramamento de petróleo. Os peixes imaturos na época do derramamento representavam 42%. Conforme com o mapa mental descrito pelos pescadores colaboradores, foram obtidas informações da distribuição espaço-temporal das tainhas, assim, apontando os possíveis locais que se encontra essa espécie nas fases juvenil e adulta. 7 km da costa, enquanto tainhas jovens são encontradas em estuários e manguezais (Figura 2). Os comprimentos dos indivíduos no momento da captura encontram-se em Anexo (Figura 17).

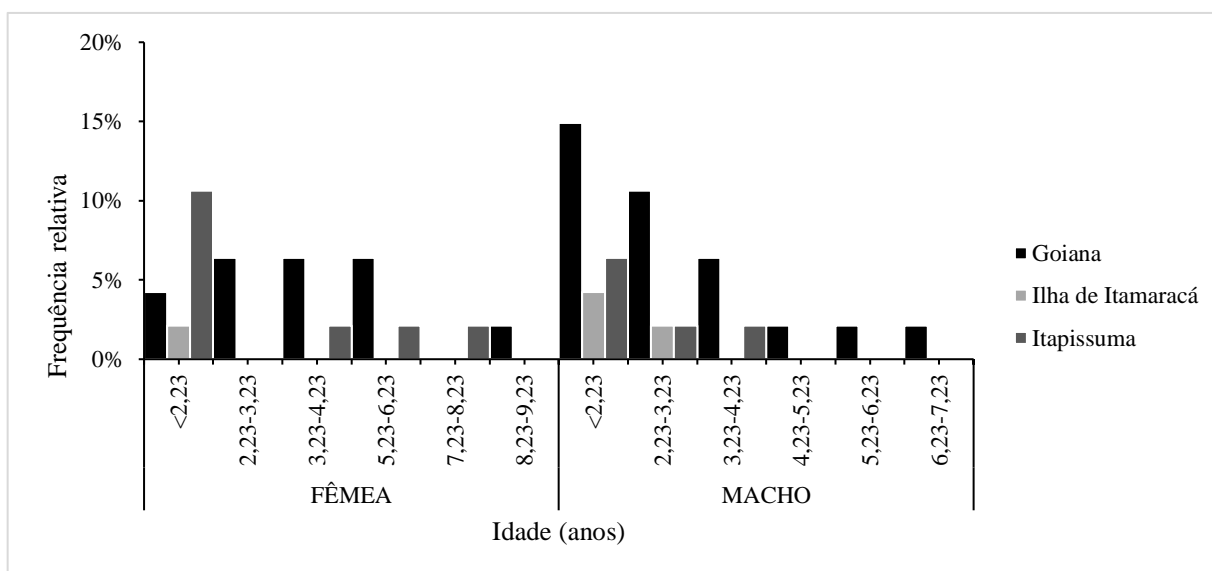


Figura 3: Percentual de idade para ambos os sexos de *Mugil curema*, em Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma, em setembro de 2019, no litoral norte de Pernambuco, Brasil.

3.1.2 Índices histopatológicos

Mugil curema apresentou um *Ib* de 376 e *If* de 1056 (Tabela1). As alterações encontradas nas brânquias foram aneurisma (Figura 4A), congestão dos vasos sanguíneos (Figura 4B), desorganização lamelar (Figura 4C), descolamento do epitélio (Figura 4D), fusão (Figura 4E) e necrose (Figura 4F), já no fígado ocorreu aglomerados de macrófagos (Figura 5A), degeneração lipídica (Figura 5B), moderada presença de fibrose (Figura 5C), degeneração hidrópica (Figura 5D) necrose (Figura 5E) e dilatação sinusoidal (Figura 5F). Descolamento do

epitélio e fusão lamelar foram as alterações mais frequentes observadas nas brânquias dos peixes adultos, enquanto desorganização lamelar foram as lesões mais frequentes em peixes juvenis; fusão lamelar foi encontrada em todos os locais estudados (Figura 6); degeneração lipídica, necrose e aglomerados de macrófagos ocorreram nos fígados de peixes de todos os locais; degeneração lipídica foi a lesão mais frequente nos fígados dos adultos e juvenis de todos os locais (Figura 7).

Padrão de reação	Brânquia		Fígado		Ib	If
	Lesões histopatológicas	w	Lesões histopatológicas	w		
Distúrbios circulatórios	Aneurisma	1				
	Congestão dos vasos sanguíneos	1				
Mudanças regressivas	Desorganização lamelar	1	Degeneração hidrópica	2		
	Fusão	1	Degeneração lipídica	2		
	Descolamento do epitélio	1	Fibrose	2		
	Necrose	3	Necrose	3		
Resposta inflamatória			Aglomerados de macrófagos	1		
					376	1056

Tabela 1: Ocorrência de lesões na brânquia e no fígado de *Mugil curema* depois do derramamento de petróleo em setembro de 2019 no litoral de Pernambuco, Brasil.

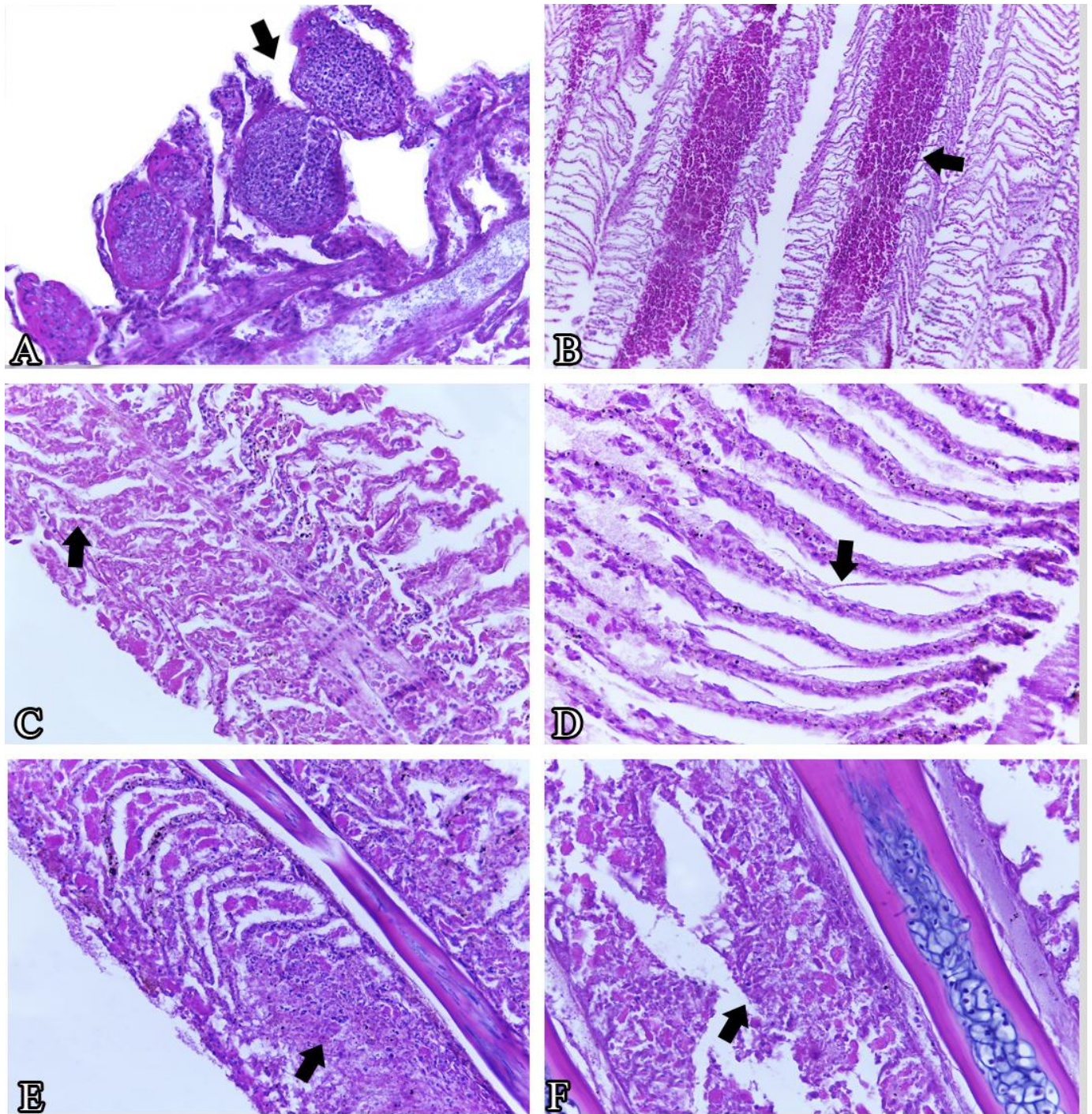


Figura 4: Fotomicrografias de brânquia de *Mugil curema* coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil. A. Uma fileira de lamelas secundárias com aneurismas completamente dilatadas (seta). B. Lamelas branquiais congestionadas (seta). C. Lamelas totalmente desorganizadas (seta). D. Epitélio lamelar fortemente descolados. E. Filamento branquial completa fusão de lamelas secundárias (seta). F. Presença de células necróticas em todo o filamento lamelar. Ampliação: 40 para A, B, C, D, E e F.

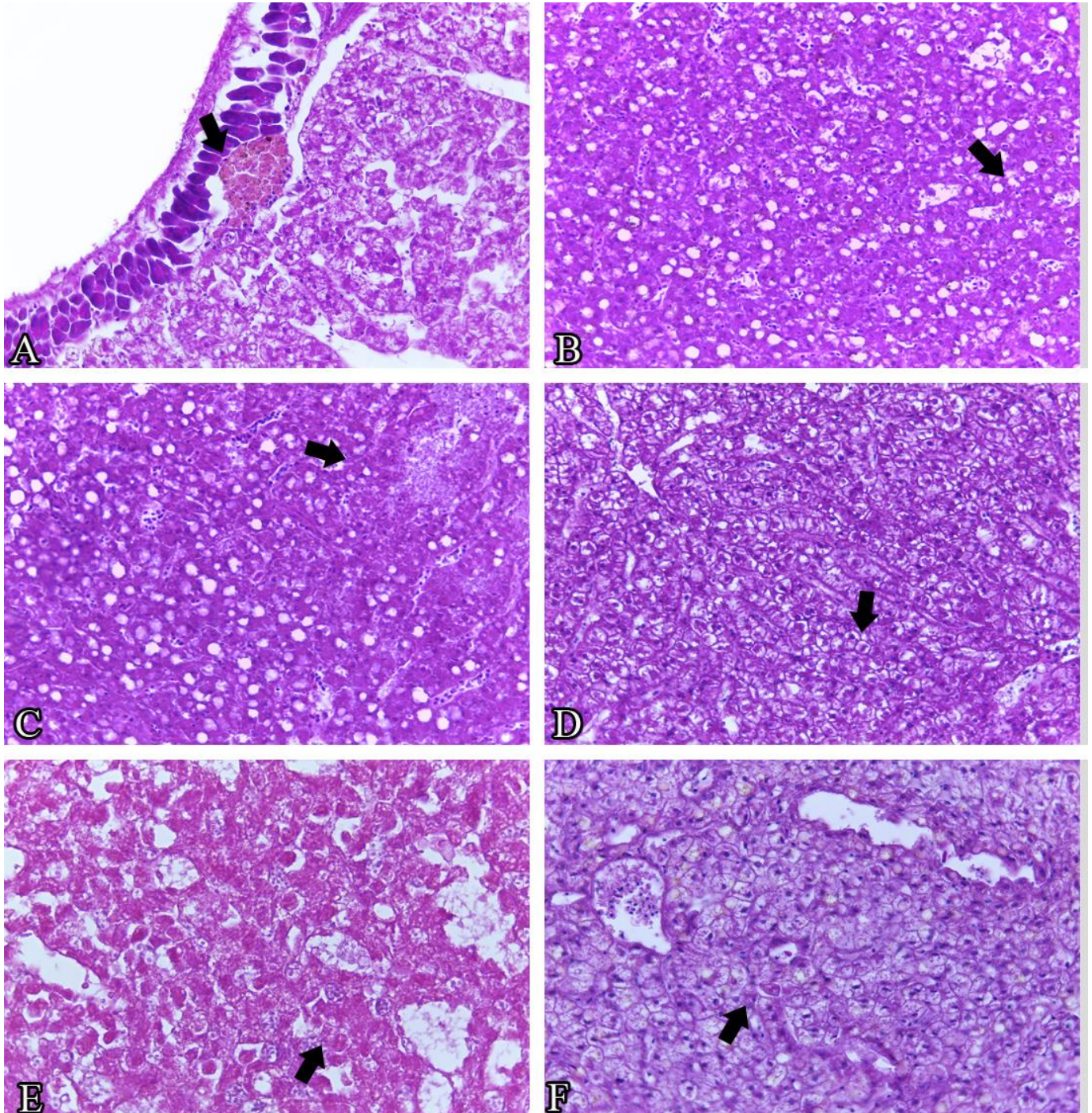


Figura 5: Fotomicrografia de fígado de *Mugil curema* coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil. A. Fígado mostrando presença de aglomerados de macrófagos (seta). B. Fígado com esteatose macrovesicular (seta). C. Atenuada área de fibrose (seta). D. Presença de hepatócitos com degeneração hidrópica (seta). E. Área necrótica (seta). F. Presença de sinusoides dilatados. Ampliação 40 para A, B, C, D, E, e F.

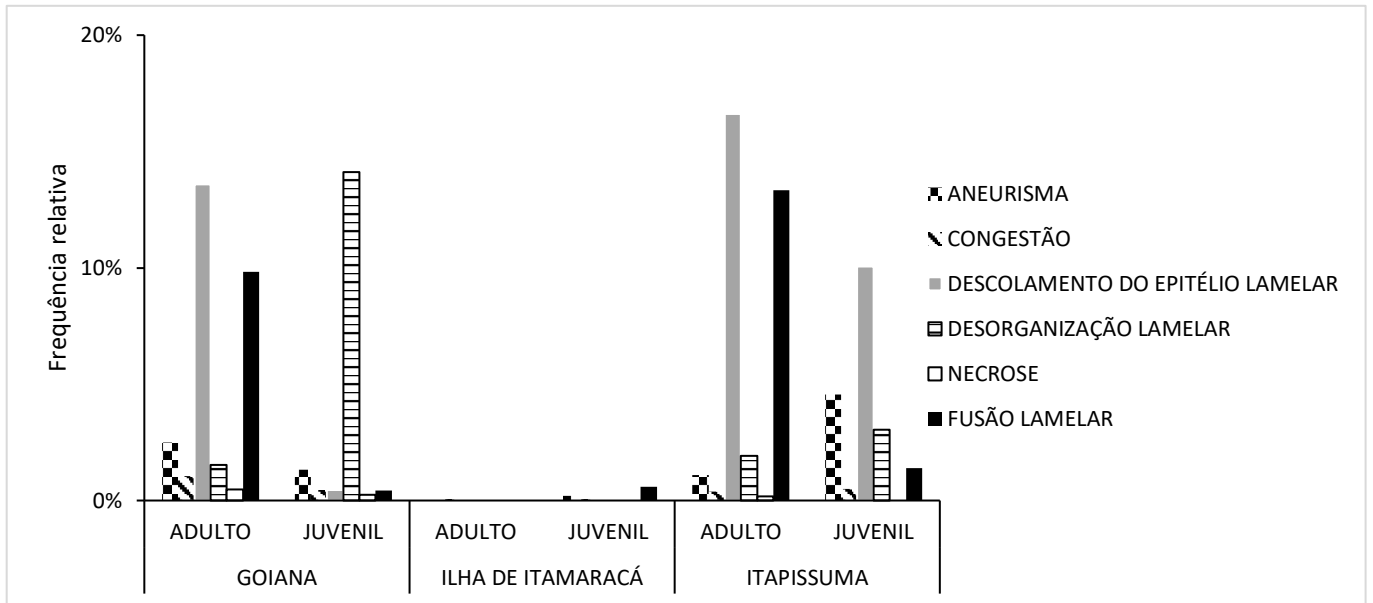


Figura 6: Frequência de patologias em brânquias de *Mugil curema* por área de estudo.

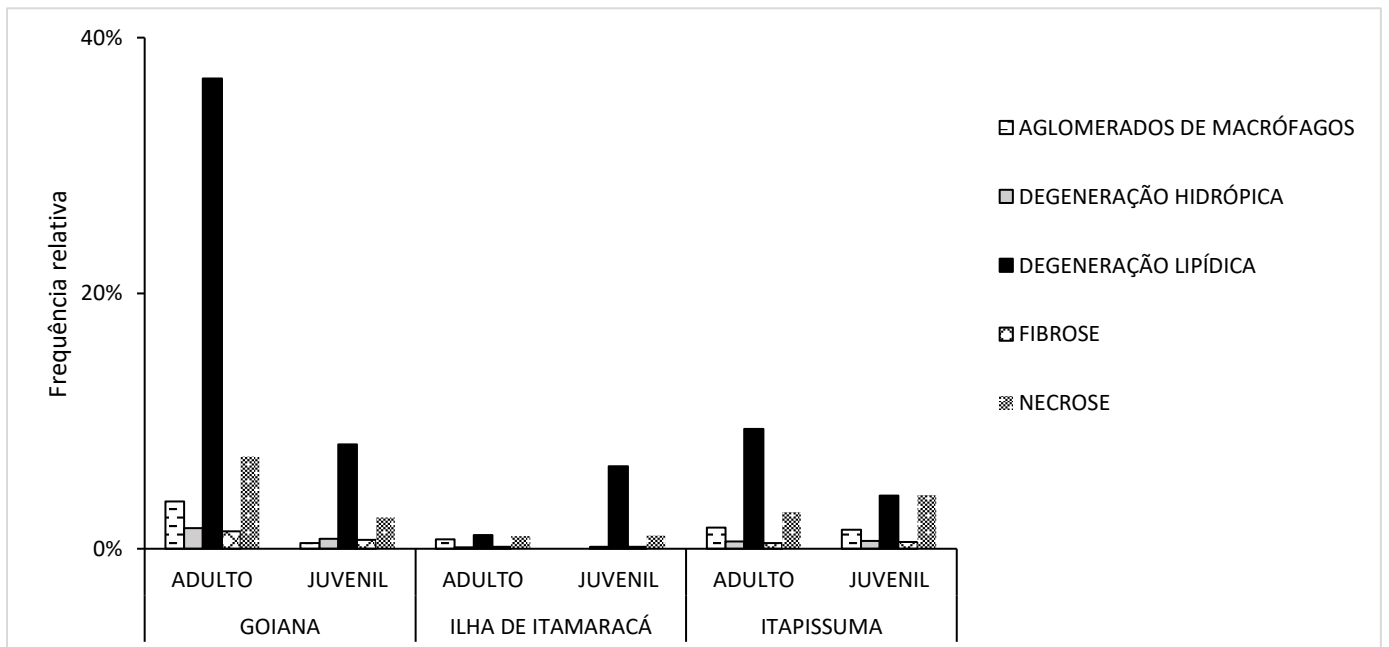


Figura 7: Frequência de patologias encontradas em fígados de *Mugil curema* por área de estudo.

A partir do *Ifish* verificou-se a presença de patologias em fígados de *Mugil curema* de todos os locais estudados. Fígados de peixes adultos capturados em Goiana apresentaram maior frequência no índice histológico acentuado, enquanto para juvenis o índice considerado moderado foi o que mais ocorreu. Em Ilha de Itamaracá, o índice de alteração severa foi encontrado em uma pequena parcela de peixes adultos, enquanto peixes juvenis foram

caracterizados por apresentarem índices moderados. Peixes adultos capturados em Itapissuma apresentaram índices acentuados, assim como os juvenis que se segmentaram em índices classificados em moderados a acentuados (Figura 8). O índice histológico considerado normal em brânquias de *Mugil curema* foi comum em juvenis e adultos de Goiana e Ilha de Itamaracá, à medida que o índice histológico de modificações moderadas foi mais frequente em adultos de Itapissuma (Figura 9). Posteriormente, o *Ifish* tanto das brânquias quanto dos fígados de adultos e juvenis constatou semelhança ($p>0,05$) para todos os locais estudados (Tabela 2).

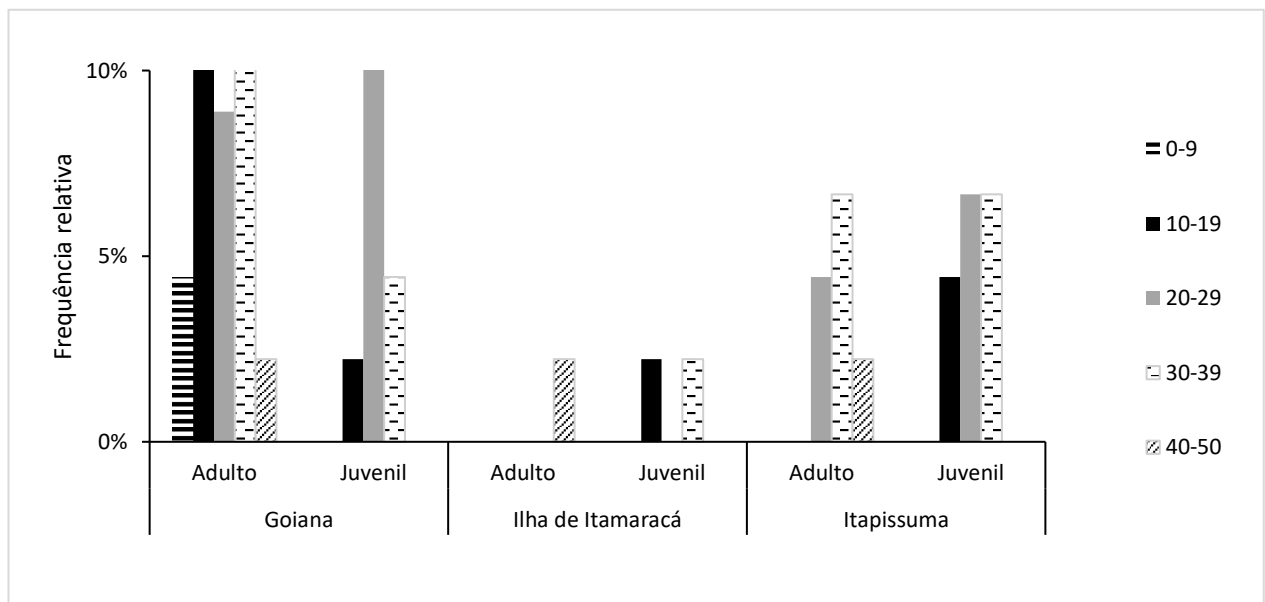


Figura 8: Percentual dos índices de alterações hepáticas para adultos e juvenis de *Mugil curema* coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma no litoral de Pernambuco, Brasil.

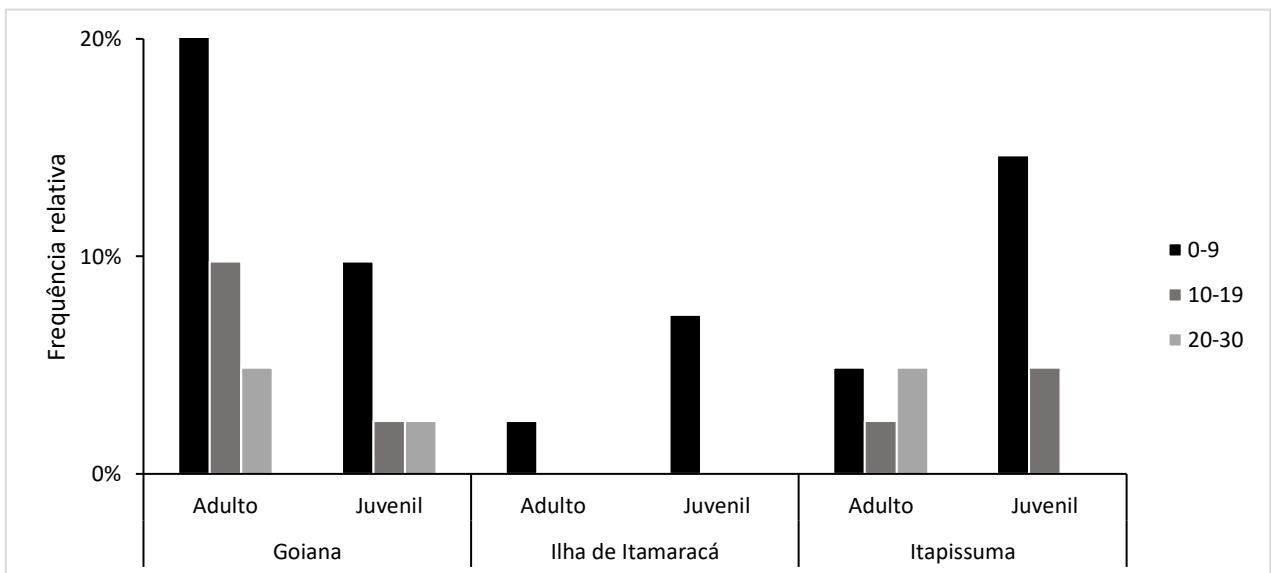


Figura 9: Percentual dos índices de alterações branquiais para adultos e juvenis de *Mugil curema* coletados no

local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana, Ilha de Itamaracá e Itapissuma, no litoral de Pernambuco, Brasil.

Estágio	Órgão	Goiana	Itapissuma	Ilha de Itamaracá	p>0,05
Adulto	Brânquia	9±8,2	14,8±11,2		0,23
	Fígado	24,8±11,6	28,9±10,2		0,41
Juvenil	Brânquia	7,5±3,5	7,5±3,5	3,3±2,3	0,15
	Fígado	23,8±6,5	26,3±7,6	23±15,6	0,18

Tabela 2: Média, desvio-padrão e nível de significância em 5% do índice de alteração branquial e hepática de adultos e juvenis de *Mugil curema* em Goiana, Itapissuma e Ilha de Itamaracá.

3.2 *Haemulon aurolineatum*

3.2.1 Distribuição espaço-temporal de *Haemulon aurolineatum* no litoral norte de Pernambuco, Brasil

Dentre os cinquenta *H. aurolineatum*, os adultos representaram 86% da população amostral, sendo que os coletados em Goiana (52%) e Ilha de Itamaracá (34%) estavam eram adultos. Enquanto os peixes juvenis representaram 14% (Figura 11). De acordo com o mapa mental descrito pelos pescadores colaboradores, foram obtidas informações da distribuição espaço-temporal das sapurunas, assim, apontando os possíveis locais que se encontra essa espécie nas fases juvenil e adulta. A partir dessas informações foi sabido que as sapurunas adultas são encontradas entre 15 a 25 km da costa a uma profundidade de até 30 metros, já as sapurunas jovens são encontradas próximas a bancos de areia e próximos aos estuários (Figura 10). Os comprimentos dos indivíduos no momento da captura encontram-se em Anexo (Figura 18).

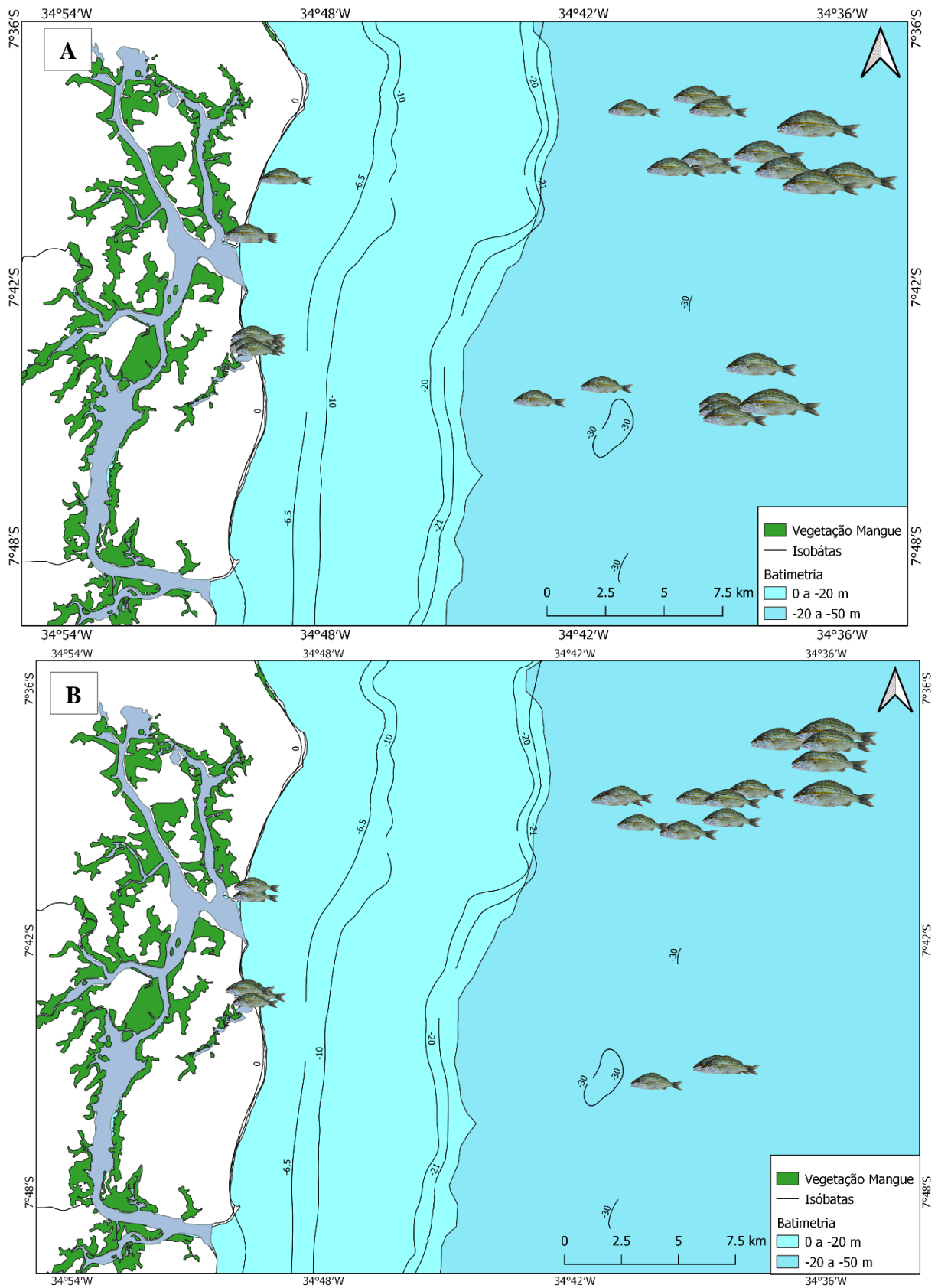


Figura 10: (A) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de *Haemulon aurolineatum* fêmeas adultas e juvenis; (B) Local de estudo com dados de batimetria e pontos de ocorrência de *Haemulon aurolineatum* machos adultos e juvenis.

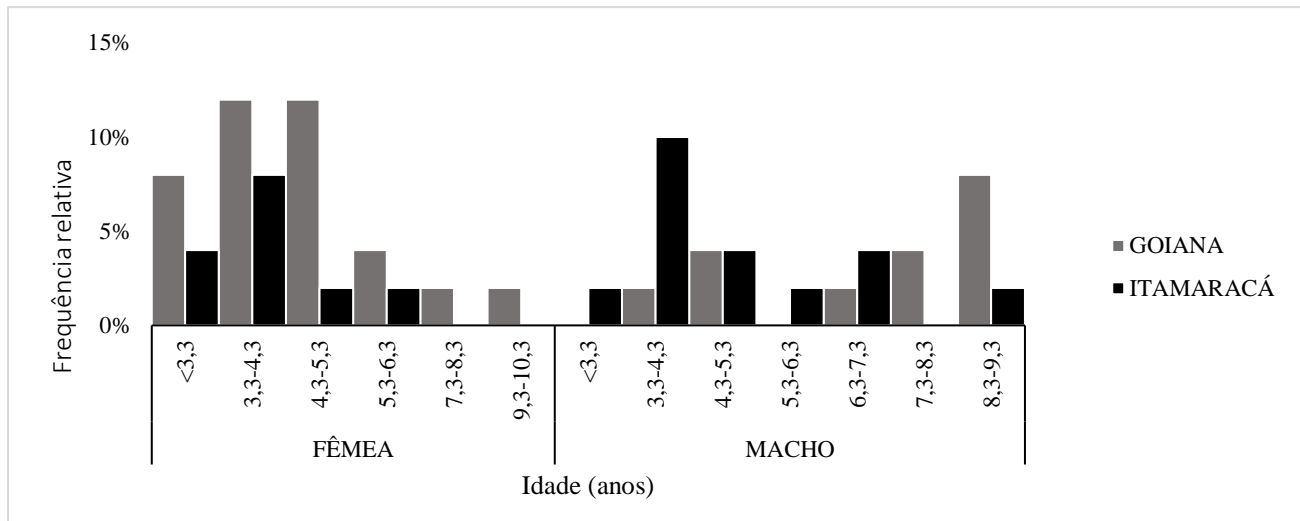


Figura 11: Frequência de idade para ambos os sexos de *Haemulon aurolineatum* em Goiana e Ilha de Itamaracá, em setembro de 2019 no litoral de Pernambuco, Brasil

3.2.2 Índices histopatológicos

Haemulon aurolineatum apresentou um *Ib* de 234 e *If* de 448 (Tabela 3). As alterações encontradas nas brânquias foram fusão e congestão (Figura 12A), descolamento do epitélio lamelar (Figura 12B), desorganização lamelar (Figura 12C) e aneurismas (Figura 12D); no fígado ocorreu degeneração lipídica microvesicular (Figura 13A), aglomerados de macrófagos (Figura 13B), degeneração hidrópica (Figura 13C) e abundantes áreas necróticas (Figura 13D). Fusão das lamelas foi a alteração mais frequente em peixes juvenis e adultos (Figura 14); a degeneração lipídica foi a lesão mais frequente no fígado dos juvenis e adultos de todos os locais (Figura 15).

Padrão de reação	Brânquia		Fígado		Ib	If
	Lesões histopatológicas	w	Lesões histopatológicas	w		
Distúrbios circulatórios	Aneurisma	1				
	Congestão dos vasos sanguíneos	1				
Mudanças regressivas	Desorganização lamelar	1	Degeneração hidrópica	2		
	Fusão	1	Degeneração lipídica	2		
	Descolamento do epitélio	1	Necrose	3		
Resposta inflamatória			Aglomerados de macrófagos	1		
					234	448

Tabela 3: Índice de lesões branquiais e hepáticas de *Haemulon aurolineatum* depois do derramamento de petróleo em setembro de 2019 no litoral de Pernambuco, Brasil.

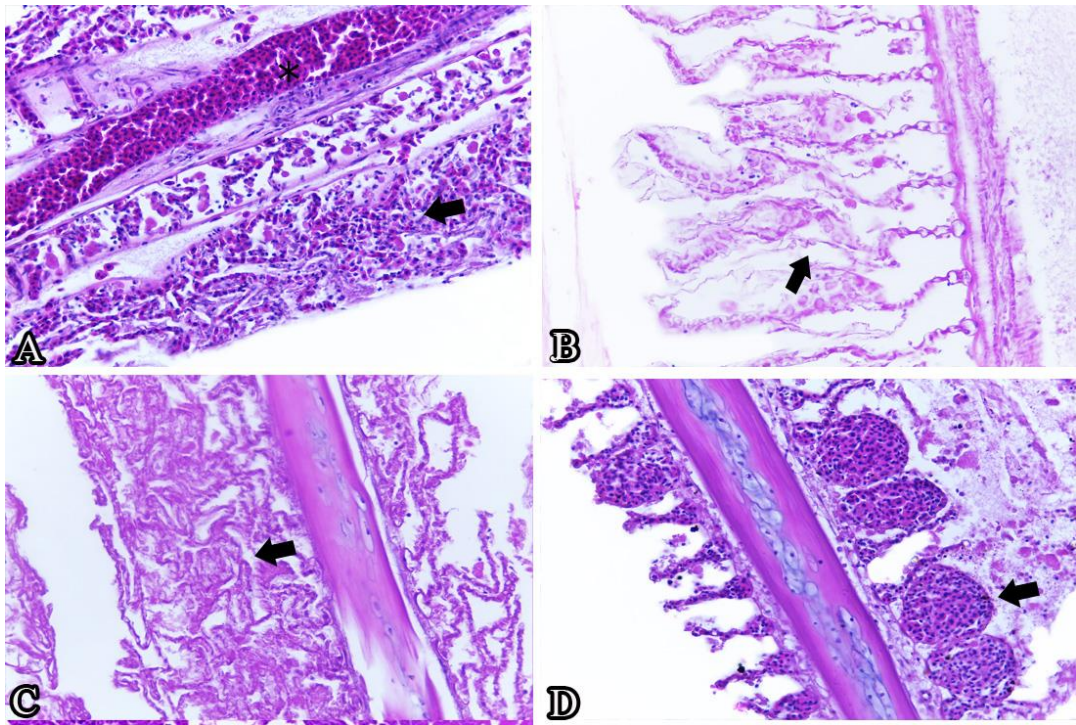


Figura 12: Fotomicrografias de brânquia de *Haemulon aurolineatum* coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil. A. Congestionamento de um vaso (asterisco) complementado por lamelas completamente fusionadas (seta). B. Presença de levantamento do epitélio lamelar (seta). C. Lamelas totalmente desorganizadas (seta). D. Uma fileira de lamelas secundárias com aneurismas completamente dilatados (seta). Ampliação: 40 para A, B, C e D.

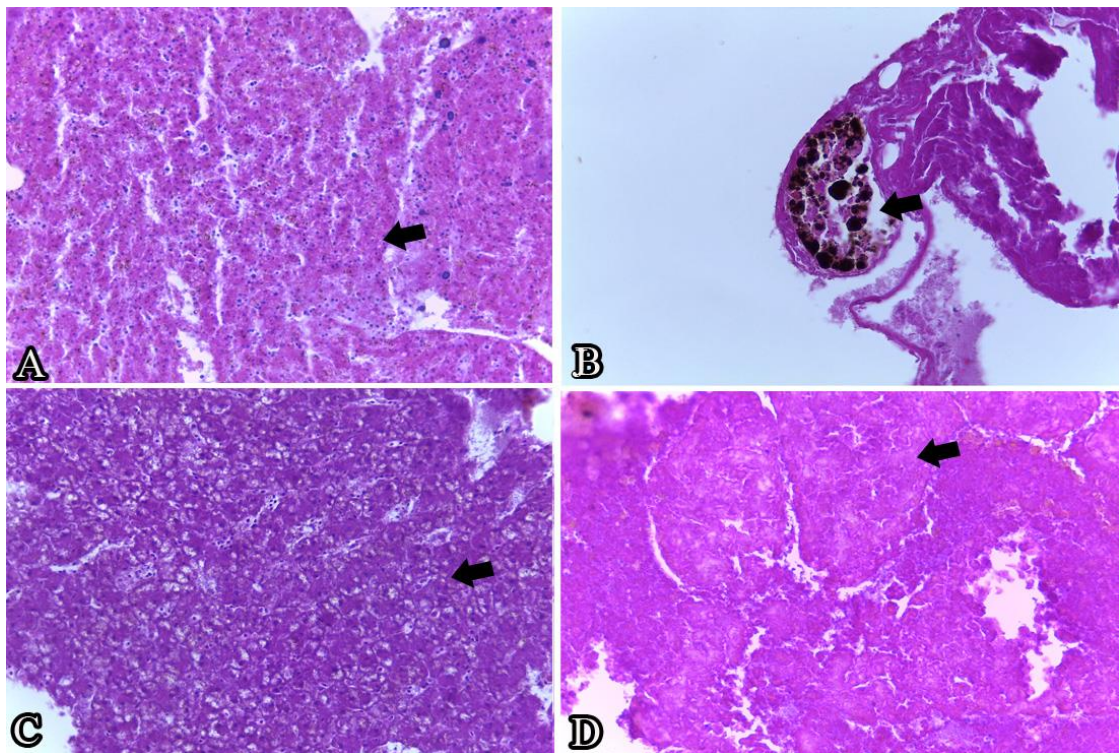


Figura 13: Fotomicrografia de fígado de *Haemulon aurolineatum* coletadas na área do derramamento ocorrido em setembro de 2019, no litoral norte de Pernambuco, Brasil. A. Fígado com microvesículas de gordura caracterizando degeneração lipídica (seta). B. Presença de aglomerados de macrófagos (seta). C. Presença de células com degenerações lipídicas (seta). D. Área necrótica (seta). Ampliação 40 para A, B, C e D.

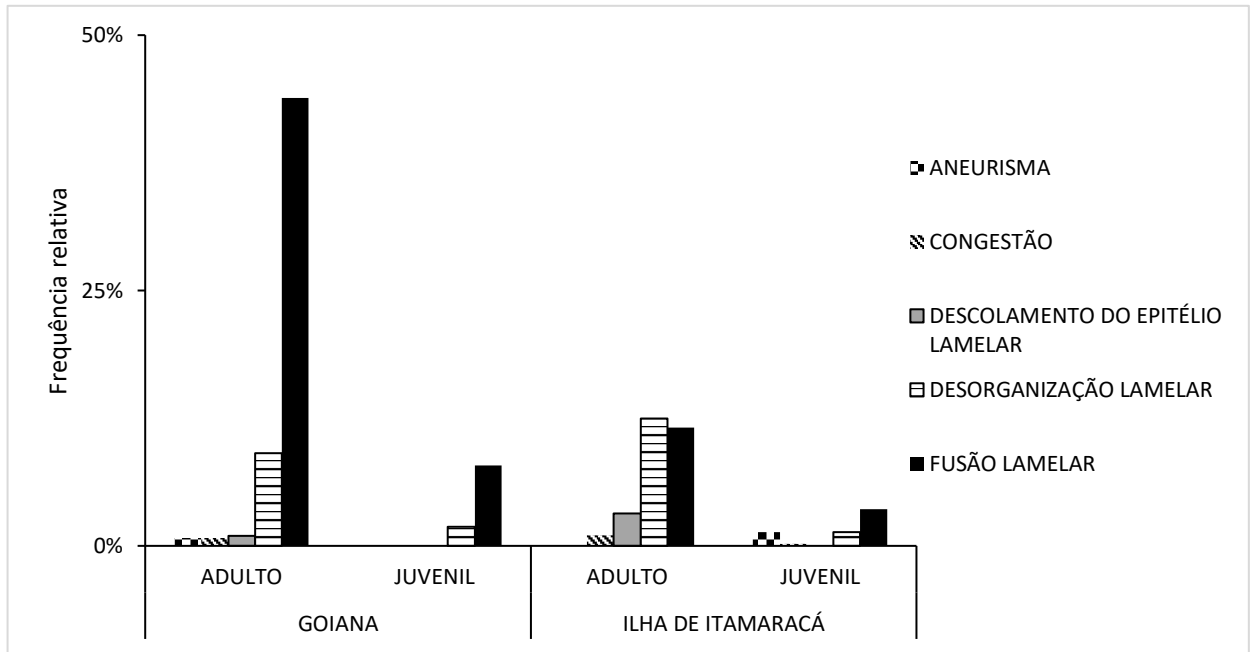


Figura 14: Frequência de patologias encontradas em brânquias de *Haemulon aurolineatum* por área de estudo.

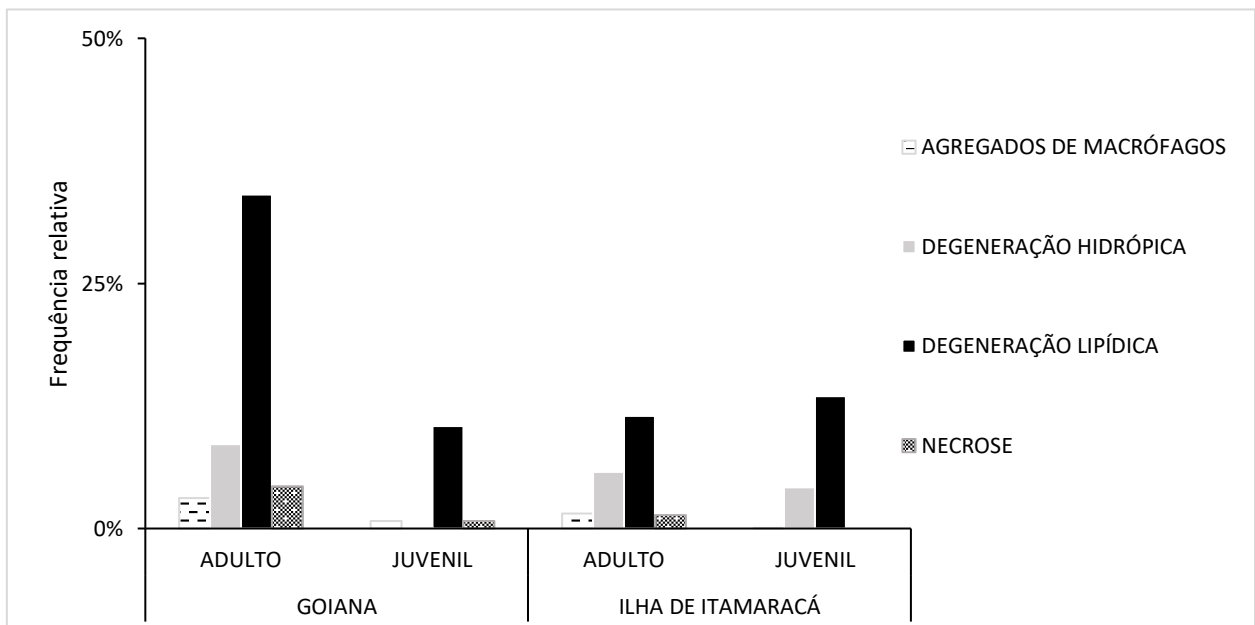


Figura 15: Frequência de patologias encontradas em fígados de *Haemulon aurolineatum* por área de estudo.

Os fígados de *H. aurolineatum* adultos coletados em Goiana apresentaram maior frequência nos índices de modificações normais e leves, enquanto foi observado maior ocorrência de índices de modificações leves nos fígados de peixes adultos de Ilha de Itamaracá, assim como os fígados dos peixes juvenis de ambos os locais possuíam modificações leves (Figura 16). As brânquias apresentaram maior frequência para o índice de modificações normais para todos os peixes de Goiana e Ilha de Itamaracá (Figura 17).

Logo após, O *Ifish* tanto das brânquias quanto dos fígados de adultos e juvenis constatou semelhança ($p > 0,05$) para todos os locais estudados (Tabela 4).

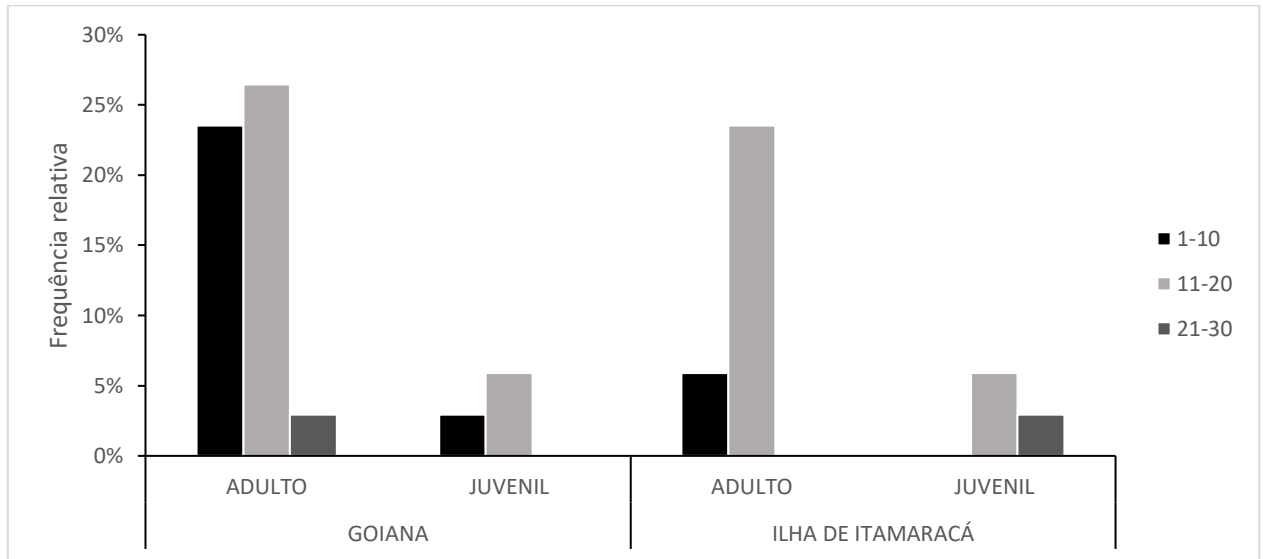


Figura 16: Percentual dos índices de alterações hepáticas para adultos e juvenis de *Haemulon aurolineatum* coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana e Ilha de Itamaracá no litoral de Pernambuco, Brasil.

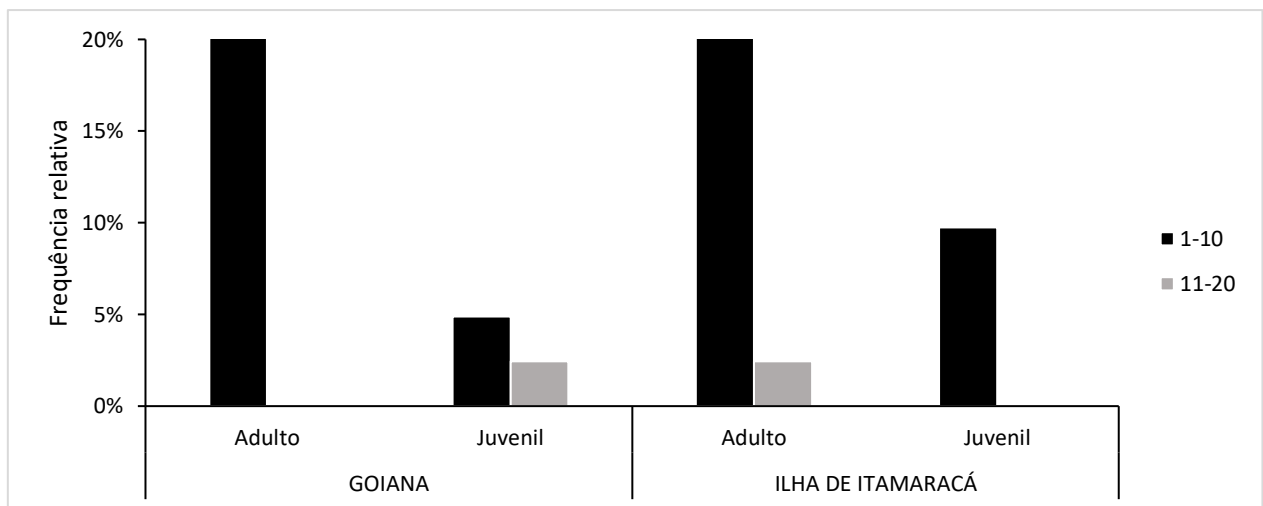


Figura 17: Percentual dos índices de alterações branquiais para adultos e juvenis de *Haemulon aurolineatum* coletados no local do derramamento de petróleo, ocorrido em setembro de 2019 em Goiana e Ilha de Itamaracá no litoral de Pernambuco, Brasil.

Estágio	Órgão	Goiana	Ilha de Itamaracá	p>0,05
Adulto	Brânquia	6,3±2,2	4,85±3,3	0,09
	Fígado	10,9±7,3	15±4,8	0,08
Juvenil	Brânquia	8±5,65	4,5±1,9	0,8
	Fígado	12,7±3,1	21,3±8,1	0,15

Tabela 4: Média, desvio-padrão e nível de significância a 5% do índice de alteração branquial e hepática de adultos e juvenis de *Haemulon aurolineatum* em Goiana e Ilha de Itamaracá.

4 Discussão

Os valores de índice somático para tainha foram associados ao hábito alimentar, pois mugilídeos são forrageadores (CARDONA, 2016) e, dessa forma, o petróleo pode ter entrado em contato com essa espécie através da ingestão das frações hidrossolúveis existentes no solo de seu habitat, uma vez que uma das características do petróleo derramado em 2019 foi a de ser mais denso do que a água marinha, formando assim flocos no substrato à medida que a profundidade diminuía. Assim, a maior densidade contribuiu para as menores taxas de evaporação dos compostos com maior volatilidade, os quais também possuem maior toxicidade para os organismos aquáticos (PALADINO, 2000).

A sapuruna apresentou índices somáticos menores do que os da tainha, o que pode estar associado ao fato de que a população amostral foi majoritariamente constituída de peixes adultos que possuem um padrão de distribuição mais afastado da plataforma adjacente aos estuários, assim, reduzindo o contato dessas populações adultas com as descargas de poluição advindas da zona urbana. Contudo, a sapuruna apresentou patologias relevantes para o estudo do *status* da saúde, possivelmente associadas ao contato direto com substâncias apolares, como o petróleo (MARTY et al., 2003).

Além disso, esse contato pode ser relacionado à via direta, já que essa espécie possui comportamento regular de migração noturna para forragear sobre o substrato de areia (ARENA et al., 2007) e habitam em áreas recifais, fatores estes que são intermediadores do petróleo para com o organismo, visto que solos arenosos são vias importantes de penetração do óleo, pois há maior presença de escavações criadas por endobentos, dessa forma, facilitando a fixação das frações de petróleo no sedimento (LOPES, 2007). Ademais, a arquitetura recifal também

possibilita a breve permanência do óleo entre suas divisões. Norberg (2015), ao investigar a partir de isótopos, verificou que a sapuruna foi afetada através da alimentação, durante o derramamento de petróleo após a explosão da plataforma *Deepwater Horizon*, no Golfo do México, ocorrido em 2010.

A alteração da arquitetura branquial da tainha e sapuruna devido à fusão, desorganização lamelar, aneurisma e necrose foi consistente com os dados obtidos por Oliveira-Ribeiro et al. (2005) e Akaishi et al. (2004) para poluentes orgânicos, assim como congestão dos vasos sanguíneos para Santos et al. (2022) e o descolamento do epitélio que é característico da intoxicação química (FERNANDES e MAZON, 2003), logo, as lesões branquiais observadas foram consideradas como o reflexo do gradiente de poluição do ecossistema habitado, pois essas lesões promovem alterações do comportamento respiratório e, conseqüentemente, podem resultar em suscetibilidade a outras condições patológicas (FERNANDES-CASTILHO et al., 2007). Além disso, brânquias revelam a qualidade da água, pois podem apresentar histopatologias causadas pela entrada de variados xenobióticos no ambiente (MELETTI et al., 2003). Ainda que as brânquias apresentem níveis leves de lesões, faz-se necessário o monitoramento das populações de tainha, pois a presença de morte celular nas brânquias desta espécie indica o contato com um ambiente contaminado a ponto de levar a lesões irreversíveis (KROGLUND et al. 2008; POLEKSIĆ e MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, 1994).

Diversas alterações hepáticas de ambas as espécies, incluindo áreas necróticas difusas, degenerações, ativações do sistema reticuloendotelial (RES) e distúrbios vasculares, podem indicar um gradiente de poluição. A necrose pode ser causada por metais (MELA et al., 2007), bifenilas policloradas (PCBs) (MIRANDA et al., 2008) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2005), assim a incidência de necrose e degenerações em tainha provavelmente resultou de exposições múltiplas e de variadas fontes poluidoras, bem como os hidrocarbonetos de petróleo, visto que em uma espécie de raia (*H. guttatus*) no ambiente costeiro que essa espécie está distribuída (Canal de Santa Cruz) já foram reportados níveis de Mercúrio (Hg⁺) acima dos limites sugeridos por órgãos sanitários em espécies de peixes bentônicos (JULIO et al., 2022).

Em contrapartida, a presença de necrose e degenerações lipídicas e hidrópicas em fígados de sapurunas é corroborada com os dados obtidos por Magalhães et al. (2022), que em seu estudo entre os meses de novembro a janeiro, após o derramamento de 2019, obteve espécimes advindos da pesca, conseqüentemente adultos, que compartilhavam o local de pesca

com os espécimes do presente estudo, que apresentaram valores de indeno[1,2,3-cd]pireno – um hidrocarboneto carcinogênico – acima do permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA.

Ademais, houve predominância dos hidrocarbonetos de petróleo com dois a quatro anéis aromáticos, além de que as amostras possuíam uma distribuição em forma de sino ao passar do tempo de coleta, significando que a bioacumulação ocorreu a partir de HPAs de origem petrogênica e não por interferência dos HPAs pirogênicos presentes nos estuários, já que houve um início súbito de evolução rápida e curta duração, característico de um evento agudo como o derramamento de petróleo (MAGALHÃES et al., 2022; LIMA, 2003). Portanto, patologias que apresentam o acúmulo anormal de triglicerídeos nos hepatócitos, o desequilíbrio iônico dos hepatócitos e fibroses são respostas características de peixes expostos a poluentes hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos de petróleo, fatos estes que também foram considerados em outros monitoramentos de acidentes com petróleo (MARTY et al., 2003; HAESLY et al., 1982).

Do mesmo modo, a presença de células do RES, como os macrófagos, está relacionada a uma resposta ao estresse químico (AGIUS e ROBERTS, 2003), além de estar altamente relacionada a ocorrência do contato de espécies costeiras com o petróleo (STENTIFORD et al., 2003), similarmente aos danos vasculares como dilatação dos sinusoides (AGAMY, 2012).

Fusão e descolamento do epitélio lamelar nas brânquias e degeneração lipídica nos fígados podem ocorrer frequentemente em peixes em todos os estágios de vida que foram expostos a poluentes orgânicos persistentes (POPs), como os hidrocarbonetos de petróleo (SAELE et al., 2013; CASTRO et al., 2014; JOHNSON et al., 2013).

Por conseguinte, ambas as espécies, por estarem na zona nerítica, e, devido a isso, exibirem baixa mobilidade, estão vulneráveis ao óleo, sobretudo, por apresentarem baixo fluxo de padrão migratório, assim podendo ter uma maior probabilidade de contato com as frações do petróleo, principalmente através da alimentação e pela associação aos recifes (IPIECA, 1992).

5 Conclusão

Os resultados sugerem que juvenis e adultos de ambas as espécies apresentaram índices de modificações histológicas semelhantes. As lesões encontradas nas brânquias indicam que os ambientes que esses organismos habitam estão contaminados. Além disso, os dados histopatológicos hepáticos revelaram os achados mais cumulativos e preocupantes para ambas as espécies que, de acordo com os padrões de distribuição delas, indica que a população

amostral de tainhas pode estar com a saúde em risco, corroborando com o fato de que quanto mais próximo os peixes que habitam em áreas que recebem o aporte de contaminantes advindos da dos corpos d'água, maior o dano ao órgão. Por outro lado, para sapuruna, os dados ratificam que o contato com o petróleo atestado por Magalhães et al. (2022) se manifestou em lesões histológicas no presente estudo de médio prazo. Por fim, destaca-se que os resultados histopatológicos antecedem possíveis modificações na dinâmica da população, como a reprodução e o crescimento.

6 Referências bibliográficas

- AGAMY, E. Histopathological liver alterations in juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*) exposed to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 75, p. 171-179, 2012.
- AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **J. Fish. Dis.**, p. 499–509, 2003.
- AKAISHI, F. M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; JAKOBI, S. C. G.; EIRAS-STOFELLA, D. R.; ST-JEAN, S. D.; COURTENAY, S. C.; LIMA, E. F.; WAGENER, A. L. R.; SCOFIELD, A. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v.46, p.244-253, 2004.
- ARAÚJO, M. E.; RAMALHO, C. W.; MELO, P. W. N. Artisanal fishers, consumers and the environment: immediate consequences of the oil spill in Pernambuco, Northeast Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, 2020.
- ARENA, P. T.; JORDAN, L. K. B.; SPIELER, R. E. Fish assemblages on sunken vessels and natural reefs in southeast Florida, USA. In: RELINI, G.; RYLAND, J. **Biodiversity in enclosed seas and artificial marine habitats**. Springer, Dordrecht, 2007. 157-171p.
- BENTIVEGNA, C. S.; COOPER, K. R.; OLSON, G.; PENA, E. A.; MILLEMANN, D. R.; PORTIER, R. J. Chemical and histological comparisons between *Brevoortia* sp.(menhaden) collected in fall 2010 from Barataria Bay, LA and Delaware Bay, NJ following the DeepWater Horizon (DWH) oil spill. **Marine Environmental Research**, v.112, p.21-34, 2015.
- BENTO, D. M. Análise Química da Degradação dos Hidrocarbonetos de Óleo Diesel no Estuário da Lagoa dos Patos. **Dissertação (Mestrado)**- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande/RS, 2005.
- BERENGER, J. N. Utilização de biomarcadores bioquímicos em *Genidens genidens* para avaliação do grau de contaminação por derivados de petróleo no estuário do rio macaé. **Dissertação (Mestrado)**- Universidade Federal do Rio de Janeiro- Rio de Janeiro, 2013.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURCKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Disease**, v.22, p.25-34, 1999.
- BRASIL. Manchas de óleo: litoral brasileiro. Ministério do Meio Ambiente: Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). 2020. Disponível em:

<http://ibama.gov.br/manchasdeoleo>. Acesso em: 23 março 2020.

BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem. Science**, p. 52-70, 2011.

CARDONA, L. Food and Feeding of Mugilidae, In: Biology, Ecology and Culture of Grey Mullet (Mugilidae). p. 165–195 2016.

CASTRO M.P.; DE MORALES F.R.; FUJIMOTO R.Y.; DA CRUZ C.; BELO M. Acute toxicity by water containing hexavalent or trivalent chromium in native Brazilian fish *Piaractus mesopotamicus*; anatomopathological alteration and morphology. **Bulletin of Environmental Toxicology**, p. 213–219, 2014.

CASTRO, C.B.E. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha: recifes de coral. **UFRJ**, Rio de Janeiro, 101p., 1999.

CORREA, M; VENABLES, B. J. Bioconcentration of naphthalene in tissues of the white mullet (*Mugil curema*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 4, p. 227-231, 1985.

COWEN, R. K.; LWIZA, K.M.M.; SPONAUGLE, S.; PARIS, C.B.; OLSON, D.B. Connectivity of marine populations: open or closed? **Science**, v. 287, n. 5454, p. 287 -857,

DANTAS, C.; OLIVEIRA, E.; MANZANO, F.; FIGUEIREDO, P. Óleo no Nordeste: veja a evolução das manchas e quando ocorreu o pico do desastre que completa 2 meses. **G1**, 2019.

Disponível em: <https://g1.globo.com/natureza/desastre-ambiental-petroleo-praias/noticia/2019/10/30/oleo-no-nordeste-veja-a-evolucao-das-manchas-e-quando-ocorreu-o-pico-do-desastre-que-completa2-meses.html>. Acesso em: 13 setembro de 2020.

DREW, J. A. Use of traditional ecological knowledge in marine conservation. **Conservation Biology**, v. 19, p. 1286-1293, 2005.

FERNANDES, M. N.; MAZON A. F. Environmental pollution and fish gill morphology. In: Fish Adaptations, A.L. Val and B.G. Kapoor (eds.). **Science Publishers Inc.**, Enfield, (NH), USA, p. 203-231, 2003.

FERNANDES-CASTILHO, M Behavior and Adaptation of Air-breathing Fishes. **In:** FERNANDES-CASTILHO, M.; FREITAS, E. G.; GIAGUINTO, P. C.; OLIVEIRA, C. P. F.; ALMEIDA-VAL, V. M.; VAL, A. L. Fish respiration and environment, CRC Press, p. 408, 2007.

FINGAS, M. **The basics of oil spill cleanup**. Canadá: CRC Press, 2012. 286p.

JESUS, R. N. Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em *Mugil curema*...

HAENSLY, W. E.; NEFF, J. M.; SHARP, J. R.; MORRIS, A. C.; BEDGOOD, M. F.; BOEM, P. D. Histopathology of *Pleuronectes platessa* L. from Aber Wrac'h and Aber Benoit, Brittany, France: long-term effects of the Amoco Cadiz crude oil spill. **Journal of Fish Diseases**, v.5, p.365-391, 1982.

INTERNATIONAL PETROLEUM INDUSTRY ENVIRONMENTAL CONSERVATION ASSOCIATION (IPIECA). Biological impacts of oil pollution: coral reefs. **In:** IPIECA report series, v. 3, Londres, 16 p., 1992.

ITOPF. Oil tanker spill statistic 2021. **ITOPF LTD**, London - UK, 2022. Disponível em: https://www.itopf.org/fileadmin/uploads/itopf/data/Documents/Company_Lit/Oil_Spill_Stats_2021.pdf. Acesso em: 29 abril 2022.

JOHNSON, L. L.; ANULACION, B. F.; ARKOOSH, M. R.; BURROWS, D. G.; DA SILVA, D. A.; DIETRICH, J. P.; YLITALO, G. M. Effects of legacy persistent organic pollutants (POPs) in fish—current and future challenges. **Fish physiology**, p. 53-140, 2013.

JULIO, T. G.; Moura, V. L.; Lacerda, L. D.; LESSA, R. Mercury concentrations in coastal Elasmobranchs (*Hypanus guttatus* and *Rhizoprionodon porosus*) and human exposure in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, 2022.

KROGLUND, F.; ROSSELAND, B. O.; TEIEN, H. C.; SALBU, B.; KRISTENSEN, T.; FINSTAD, B. Water quality limits for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) exposed to short term reductions in pH and increased aluminum simulating episodes. **Hydrology and Earth System Sciences**, v.12, p.491-507, 2008.

LESSA, R.; VIEIRA, A. C. S.; MONTEIRO, A.; SANTOS, J. S.; LIMA, M. M.; CUNHA, E. J.; SOUZA Jr, J. C. A.; BEZERRA, S.; TRAVASSOS, P. E. P. F.; OLIVEIRA, B. A. B. R. Diagnóstico da pesca no litoral do estado de Pernambuco. **In:** Isaac, V. J., Martins, A. S., Haimovici, M., Andriguetto Filho, J. M. (Eds.), A pesca marinha e estuarina do Brasil no início do século XXI: recursos, tecnologias, aspectos socioeconômicos e institucionais, Editora Universitária UFPA, Bélem - PA, p. 67–91, 2006.

LIMA, C. A. F. Exploração de petróleo no mar: plano logístico para atendimento ao combate de derramamento de óleo no mar de um campo offshore de produção da Petrobrás no estado do Espírito Santo. 2003. 130p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LIMA, M. M.; LESSA, R. P.; DUARTE-NETO, P. J. *Haemulon aurolineatum*. **In:** LESSA, R. P.; NÓBREGA, M. F.; BEZERRA-JUNIOR, J. L. Dinâmica de populações e avaliação de estoques dos recursos pesqueiros da região nordeste. Ministério do Meio Ambiente, Recife,

2004. p.142-150.

LOPES, C.F.; MILANELLI, J.C.C.; POFFO, I.R.F. Ambientes costeiros contaminados por óleo: procedimentos de limpeza – manual de orientação. São Paulo: **Secretaria de Estado do Meio Ambiente**, 120 p., 2007

MAGALHÃES, K. M.; CARREIRA, R. S.; ROSA FILHO, J. S.; ROCHA, P. P.; SANTANA, F. M.; YOGUI, G. T. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. **Marine Pollution Bulletin**, v. 175, p. 113334, 2022.

MAGRIS, R.A.; GIARRIZZO, T. Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, p. 110961, 2020.

MANOOCH, C. S.; BARANS, C. A. Distribution, abundance, and age and growth of the tomtate, *Haemulon aurolineatum*, along the southeastern United States coast. **South Carolina State Documents Depository**, v.80, 1982.

MARIGOMEZ, I.; SOTO, M.; CANCIO, I.; ORBEA, A.; GARMENDIA, L.; CAJARAVILLE, M. P. Cell and tissue biomarkers in mussel, and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). **Marine Pollution Bulletin**, v.53, p.287-304, 2006.

MARTY, G. D.; HOFFMANN, A.; OKIHIRO, M. S.; HEPLER, K.; HANES, D. Retrospective analyses: bile hydrocarbons and histopathology of demersal rockfish in Prince William sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. **Mar. Environ. Res.**, v. 56, p. 569-584, 2003

MEIRELES, A. J.; MELO, F. J. L.; QUEIROZ, L.; BRANDÃO, M. L.; TUPINAMBÁ, S. V.; SALES, V. C. 8º Vara Federal do Tribunal Regional Federal da 5º Região. Ação Civil Pública n.º 0801648-52.2020.4.05.8100. **Parecer Técnico-científico acerca dos Danos Socioambientais Provocados pelo Derramamento De Petróleo em 2019/2020 no Litoral Cearense. Defensoria Pública da União versus União Federal**. Fortaleza, 2020.

MELA, M.; RANDI, M. A. F.; VENTURA, D. F.; CARVALHO, C. E. V.; PELLETIER, E.; RIBEIRO, C. O. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 68(3), 426-435, 2007.

MIRANDA, A. L.; ROCHE, H.; RANDI, M. A. F.; MENEZES, M. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological, physiological, and immunological findings. **Environ. Int.**, v. 34, p. 939-949, 2008.

MORALES-CASELLES, C.; JIMÉNEZ-TENORIO, N.; CANALES, M.; SARASQUETE, C.; DELVALLS, T. Á. Ecotoxicity of sediments contaminated by the oil spill associated with the tanker “Prestige” using juveniles of the fish *Sparus aurata*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.51, p 652-660, 2006.

NORBERG, M.A. The Ecology of Tomtate, *Haemulon aurolineatum*, in the Northern Gulf of Mexico and Effects of the Deepwater Horizon Oil Spill. **Dissertação (Mestrado)**- University of South Alabama, 2015.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZCHARDI, A.; ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**, v.74, p.53-69, 2005.

PALADINO, E. Modelagem matemática e simulação numérica de trajetórias de derramamentos de petróleo no mar. **Dissertação (Mestrado em Engenharia)**, UFSC, 2000.

PETERSON, C. H.; RICE, S. D.; SHORT, J. W.; ESLER, D.; BODKIN, J. L.; BALLACHEY, B. E.; IRONS, D. B. Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. **Science**, v.302, p.2082-2086, 2003.

POLEKSIĆ, V.; MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**, p.339-352, 1994.

REVIZEE. **Dinâmica das frotas pesqueiras da Região Nordeste do Brasil**. Fortaleza: Martins & Cordeiro, 2009. 4v, 165p.

REVIZEE. **Dinâmica de populações e avaliação dos estoques dos recursos pesqueiros da Região Nordeste**. Fortaleza: Martins & Cordeiro, 2009. 5v, 303p.

SAELE Q.; NORDGREEN A.; OLSVIC P.A.; HJELLE J.; HARBOE T. Toxic effects of dietary hydrolysed lipids an in vivo study on fish larvae. **Brasilian Journal of Nutrition** , p. 1071–1081, 2013.

SANTANA DA SILVA, F. M. Biologie, pêche et dynamique de la population de Mulet Blanc (*Mugil curema*, Valenciennes, 1836) de Pernambuco, Brasil. **Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica)** Universidade da Bretagna Ocidental/Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2007.

SANTANA, F. M., MORIZE, E., LABONNE, M., LESSA, R., & CLAVIER, J. Connectivity between the marine coast and estuary for white mullet (*Mugil curema*) in northeastern Brazil revealed by otolith Sr:Ca ratio. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 2018.

SANTANA, F. M.; MORIZE, E.; CLAVIER, J.; LESSA, R. P. Otolith micro-and

JESUS, R. N. Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em *Mugil curema*...

macrostructure analysis to improve accuracy of growth parameter estimation for white mullet *Mugil curema*. **Aquatic Biology**, v. 7, p. 199-206, 2009.

SPARRE, P.; VENEMA, S. C. **Introdução à avaliação de mananciais de peixes tropicais**. Parte 1. Manual. FAO Documento Técnico de Pesca, v. 1, p. 440, 1997.

STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P.; JONES, G.; GREEN, M.; FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**, v.55, p.137-159, 2003.

TOLOSA, E. M. C. R.; JUNQUEIRA, C.; BEHMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. **Manual de Técnicas Para Histologia Normal e Patológica**. Editora Manole. 341p.

ZACHARIAS, D.C.; GAMA, C.M.; FORNARO, A. Mysterious oil spill on Brazilian coast: Analysis and estimates. **Marine Pollution Bulletin**, v. 165, p. 112125, 2021

ZIMMERLI, S.; BERNET, D.; BURKHARDT-HOLM, P.; SCHMIDT-POSTHAUS, H.; VONLANTHEN, P.; WAHLI, T.; SEGNER, H. Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. **Aquatic Sciences**, p. 11-25, 2007.

Considerações Finais

A partir dos estudos utilizados no Capítulo 1 notou-se que os derramamentos de petróleo são motivadores dos danos teciduais em brânquias e fígados e que espécies associadas ao bentos são consideradas bioindicadoras de eventos agudos com petróleo, por estarem constantemente sujeitas a baixas doses de hidrocarbonetos. Portanto foi possível concluir que para um biomonitoramento rigoroso utilizando biomarcadores histológicos faz-se necessário parcimônia, principalmente em uma região que há presença de um conjunto de substância tóxicas. Assim, pôde ser sugerido o estudo da estrutura da população, dos parasitas, do sedimento, da qualidade da água e de componentes de outros níveis de integração biológica.

Com base nas recomendações do primeiro capítulo, o qual indica a combinação de biomarcadores histológicos com outras particularidades da espécie ou do ambiente a serem estudados, foi utilizado no Capítulo 2 o estudo da história de vida das espécies a fim de esclarecer as relações entre o derramamento de petróleo de 2019 e as respostas biológicas encontradas através dos biomarcadores histológicos. Os resultados sugeriram que juvenis e adultos de ambas as espécies apresentaram índices de modificações histológicas semelhantes. E que as lesões encontradas nas brânquias indicam que os ambientes que esses organismos habitam estão contaminados. Além disso, os dados histopatológicos hepáticos revelaram observações preocupantes para ambas as espécies que, de acordo com os padrões de distribuição delas, indica que a população amostral de tainhas pode estar com a saúde em risco, corroborando com o fato de que quanto mais próximo os peixes que habitam em áreas contaminadas por diversos agentes deletérios, maior o dano ao órgão. Por outro lado, para sapuruna, os dados ratificaram que o contato com o petróleo se manifestou em lesões histológicas.

Logo, baseado nos dados obtidos em ambos os capítulos foi perceptível a capacidade dos peixes de sobreviver às lesões severas nos fígados, assim o presente estudo sugere que eles podem ser valiosos modelos para estudar a toxicidade hepática subletal e a regeneração hepática. Portanto, o presente estudo propõe a continuidade no biomonitoramento a longo prazo das populações das espécies estudadas, pois é sabido que as lesões histopatológicas antecedem possíveis modificações na dinâmica da população, como a reprodução e o crescimento, podendo gerar consequências à produção pesqueira desses estoques.

Referências

ARAÚJO, M. E.; RAMALHO, C. W.; MELO, P. W. N. Artisanal fishers, consumers and the environment: immediate consequences of the oil spill in Pernambuco, Northeast Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, 2020.

ARENA, P. T.; JORDAN, L. K. B.; SPIELER, R. E. Fish assemblages on sunken vessels and natural reefs in southeast Florida, USA. In: RELINI, G.; RYLAND, J. **Biodiversity in enclosed seas and artificial marine habitats**. Springer, Dordrecht, 2007. 157-171p.

BENTO, D. M. Análise Química da Degradação dos Hidrocarbonetos de Óleo Diesel no Estuário da Lagoa dos Patos – Rio Grande/RS. **Dissertação** (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica) UFRG, 2005.

BERENGER, J. N. Utilização de biomarcadores bioquímicos em *Genidens genidens* para avaliação do grau de contaminação por derivados de petróleo no estuário do rio macaé. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Ambientais e Conservação) UFRJ, 2013.

CARLS, M. G.; HOLLAND, L.; LARSEN, M., LUM, J. L.; MORTENSEN, D. G., WANG, S. Y.; WERTHEIMER, A. C. Growth, Feeding, and Survival of Pink Salmon Fry exposed to Food contaminated with crude Oil. **American Fish Society Symposium**, v. 18, p. 608-618, 1996.

CASTRO, C.B.E. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha: recifes de coral. **UFRJ**, Rio de Janeiro, 101p., 1999.

COUCEIRO, S. R. M.; FORSBERG, B. R.; HAMADA, N.; FERREIRA, R. L. The effects of an oil spill and discharge of domestic sewage on the insect fauna of cururu stream, Manaus, AM, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 35 -44, 2006.

COWEN, R. K.; LWIZA, K.M.M.; SPONAUGLE, S.; PARIS, C.B.; OLSON, D.B. Connectivity of marine populations: open or closed?. **Science**, v. 287, n. 5454, p. 287 -857, 2000.

DANTAS, C.; OLIVEIRA, E.; MANZANO, F.; FIGUEIREDO, P. Óleo no Nordeste: veja a evolução das manchas e quando ocorreu o pico do desastre que completa 2 meses. **G1**, 2019. Disponível em: <https://g1.globo.com/natureza/desastre-ambiental-petroleo-praias/noticia/2019/10/30/oleo-no-nordeste-veja-a-evolucao-das-manchas-e-quandooocorreu-o-pico-do-desastre-que-completa2-meses.ghtml>, acesso em: 13 de setembro de 2020.
FINGAS, M. **The basics of oil spill cleanup**. Canadá: CRC Press, 2012. 286p.

GABRIEL, U. U.; AMAKIRIAND, E. U.; EZERI, G. N. O. Hematologia e Patologia gill de *Clarias gariepinus* Exposto ao Óleo de Petróleo Refinado, Querosene em Condições Laboratoriais. **Jornal Avanço Animal e Veterinário**, v. 6, n. 3, p. 461-465, 2007.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. CRC press, 2018. 384p.

HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. Histopathologic Biomarkers. In: HUGGETT R. J.; KIMERLI, R. A.; MEHRLE Jr, P. M.; BERGMAN, H. L. Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton: Lewis Publishers,

cap. 4, p. 155 –196, 2017.

HINTON, D. E.; LAURÉN, D. J. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. **American Fisheries Society Symposium**, n. 8, p. 51- 66, 1990.

IBAMA. Áreas com localidades oleadas no Nordeste brasileiro. Brasília, 2019.

INTERNATIONAL PETROLEUM INDUSTRY ENVIRONMENTAL CONSERVATION ASSOCIATION (IPIECA). Biological impacts of oil pollution: coral reefs. **In: IPIECA report series**, v. 3, Londres, 16 p., 1992.

INTERNATIONAL TANKER OWNERS POLLUTION FEDERATION – ITOPF. TIP 02: fate of marine oil spills. 2014. **Disponível em:** [https:// www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-02-fate-of-marine-oil-spills/](https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-02-fate-of-marine-oil-spills/). Acessado em: 03 de setembro de 2020.

JOBLING, M. Environmental biology of fishes. London: **Chapman & Hall**, p. 455, 1995.

LESSA, R.; VIEIRA, A. C. S.; MONTEIRO, A.; SANTOS, J. S.; LIMA, M. M.; CUNHA, E. J.; SOUZA Jr, J. C. A.; BEZERRA, S.; TRAVASSOS, P. E. P. F.; OLIVEIRA, B. A. B. R. Diagnóstico da pesca no litoral do estado de Pernambuco. **In: Isaac, V. J., Martins, A. S., Haimovici, M., Andriquetto Filho, J. M. (Eds.), A pesca marinha e estuarina do Brasil no início do século XXI: recursos, tecnologias, aspectos socioeconômicos e institucionais**, Editora Universitária UFPA, Bélem - PA, p. 67–91, 2006.

LISTER, A.; NERO, V.; FARWELL, A.; DIXON, D. G.; VAN DER KRAAK, G. Reproductive and stress hormone levels in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. **Aquatic Toxicology**, v. 87, n. 3, p. 170–177, 2008.

LOPES, A.; PIEDADE, M.T.F. Estabelecimento de *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchcock (Poaceae) em solo de várzea contaminado com petróleo de Urucu". **Acta Amazonica**; 2009, v. 39, n. 3, p. 583-590, 2009.

LOPES, C.F.; MILANELLI, J.C.C.; POFFO, I.R.F. Ambientes costeiros contaminados por óleo: procedimentos de limpeza – manual de orientação. São Paulo: **Secretaria de Estado do Meio Ambiente**, 120 p., 2007.

MANOOCH, C. S.; BARANS, C. A. Distribution, abundance, and age and growth of the tomtate, *Haemulon aurolineatum*, along the southeastern United States coast. **South Carolina State Documents Depository**, v.80, 1982.

MATSUO, A. Y. O.; VAL A. L. Acclimation to humic substances prevents whole body sodium loss and stimulates branchial calcium uptake capacity in cardinal tetras *Paracheirodon axelrodi* (Schultz) subjected to extremely low pH. **Journal of Fish Biology**, v. 70, p. 989-1000, 2007.

PETERSON, C. H.; RICE, S. D.; SHORT, J. W.; ESLER, D.; BODKIN, J. L.; BALLACHEY, B. E.; IRONS, D. B. Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. **Science**, v.302, p.2082-2086, 2003

PINTO, E. D. C. P. Toxicidade de petróleo bruto sobre microcrustáceo *Daphnia similis* em

JESUS, R. N. Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em *Mugil curema*...

água de rio e água de produção de petróleo. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Ecologia) Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, 2013.

PRESTES, R. M., & VINCENCI, K. L. Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, p. 1473-1493, 2019.

RAND, G. M. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment. Washington: **Taylor & Francis**, 2 ed.1995.

SANTANA, F. M.; MORIZE, E.; CLAVIER, J.; LESSA, R. P. Otolith micro-and macrostructure analysis to improve accuracy of growth parameter estimation for white mullet *Mugil curema*. **Aquatic Biology**, v. 7, p. 199-206, 2009.

SANTANA, F. M.; MORIZE, E.; LABONNE, M.; LESSA, R.; CLAVIER, J. Connectivity between the marine coast and estuary for white mullet (*Mugil curema*) in northeastern Brazil revealed by otolith Sr:Ca ratio. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 2018.

VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. "Crude oil, copper and fish of the Amazon" **In: Behavior, physiology and toxicology interactions in fish**. VI International Congress on the Biology of Fish (SLOMAN, K.A.; WOOD, C.M.; MAC KINLAY, D., EDS.) v.1-6, 2004.

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

Anexos

Os comprimentos zoológicos das tainhas variaram de 12,5 a 36,5 cm no período do derramamento de petróleo, com tendência unimodal para indivíduos imaturos (estágio I) na classe de comprimento 15,5 cm e tendência multimodal para os indivíduos dos demais estágios maturacionais nas classes de comprimentos 25,5, 28,5 e 32,5 cm (Figura 17).

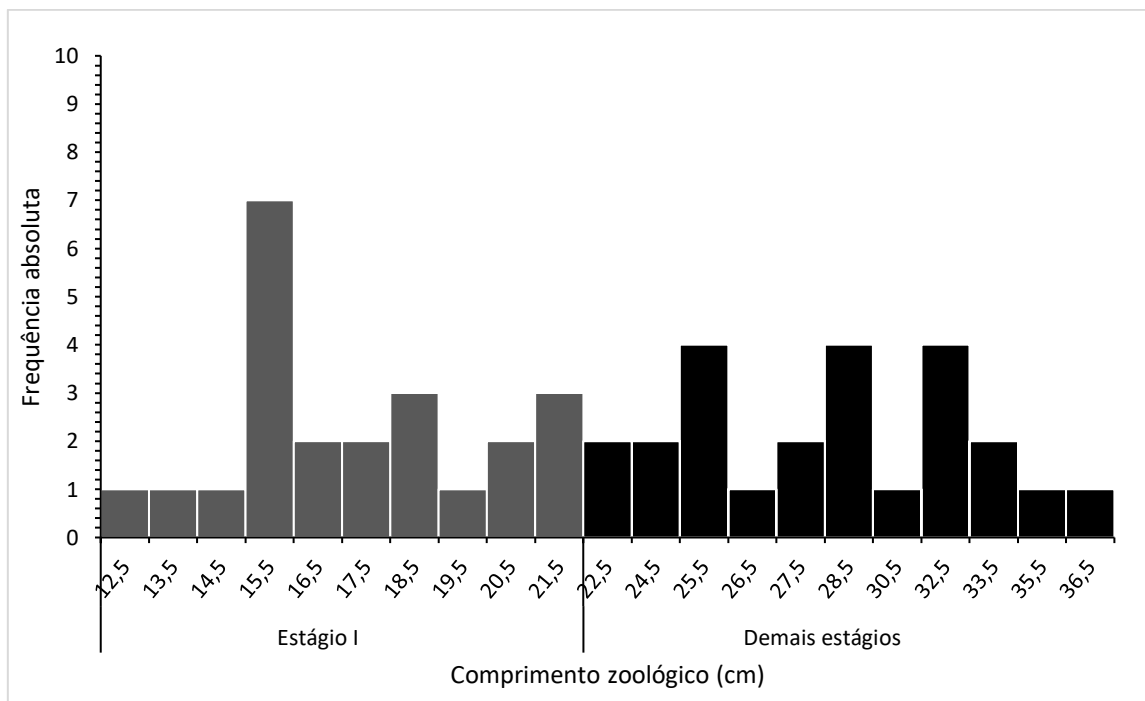


Figura 18: Distribuição de frequência de comprimento zoológico (CZ) para ambos os sexos de *Mugil curema* e seus períodos maturacionais no período do derramamento de petróleo, em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil.

Os comprimentos totais das sapurunas variaram de 13,5 cm a 21,5 cm no período do derramamento de petróleo, com tendência bimodal para indivíduos imaturos (estágio I) nas classes de comprimentos 13,5 cm e 14,5 cm e para os indivíduos dos demais estágios maturacionais nas classes de comprimentos de 15,5 cm, 16,5 cm e 17,5 cm (Figura 18).

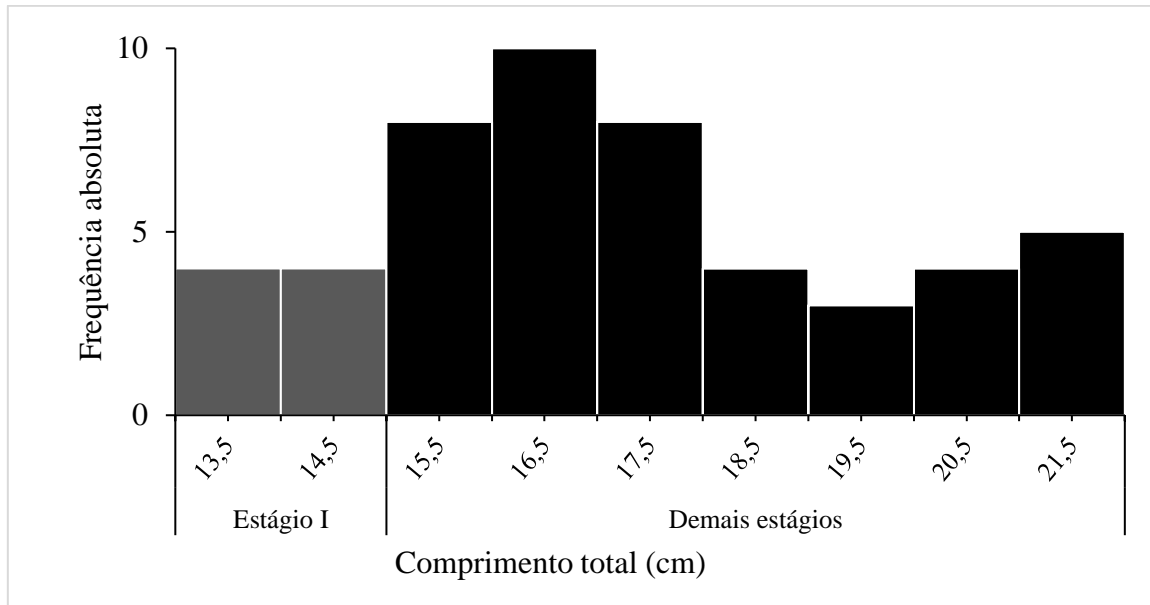


Figura 19: Frequência de comprimento total (CT) para ambos os sexos de *Haemulon aurolineatum* em Goiana e Ilha de Itamaracá, litoral norte de Pernambuco, e seus períodos maturacionais em setembro de 2019, no litoral de Pernambuco, Brasil.