



Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais



NATÁLIA EDUARDA DA SILVA

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NO CAMARÃO *Macrobrachium
amazonicum*: (Heller, 1862) AVALIAÇÃO EM UMA ÁREA DE PRESERVAÇÃO
AMBIENTAL NA AMAZÔNIA/BRASIL

MACAPÁ - AP

2022

NATÁLIA EDUARDA DA SILVA

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NO CAMARÃO *Macrobrachium amazonicum*:(Heller, 1862) AVALIAÇÃO EM UMA ÁREA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL NA AMAZÔNIA/BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) da Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Araújo da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Jefferson Romáryo Duarte da Luz

MACAPÁ - AP

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Mário das Graças Carvalho Lima Júnior – CRB-2 / 1451

S586 Silva, Natália Eduarda da.

Biomarcadores de estresse oxidativo no camarão *Macrobrachium amazonicum*: (Heller, 1862) avaliação em uma área de preservação ambiental na Amazônia/Brasil / Natália Eduarda da Silva; coorientador, Jefferson Romáryo Duarte da Luz; orientador, Gabriel Araújo da Silva. - 2022.

40f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Macapá, 2022.

1. Água - Poluição. 2. Camarões (Animal) – Regional. 3. Antioxidantes. I. Luz, Jefferson Romáryo Duarte da, coorientador. II. Silva, Gabriel Araújo da, orientador. III. Universidade Federal do Amapá. IV. Título.

CDD 23. ed. – 363.7394

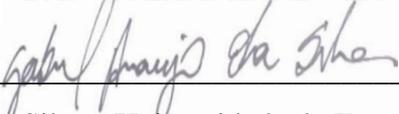
NATÁLIA EDUARDA DA SILVA

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NO CAMARÃO *Macrobrachium amazonicum*: AVALIAÇÃO EM UMA ÁREA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL NA AMAZÔNIA/BRASIL

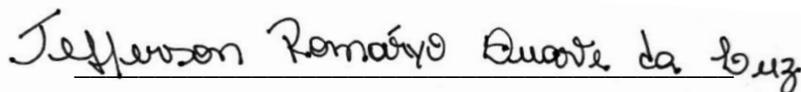
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) da Universidade Federal do Amapá, como requisito para à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Aprovada em 24 de agosto de 2022.

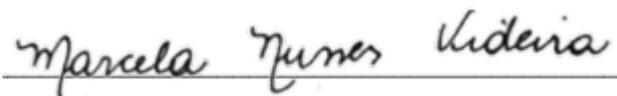
BANCA EXAMINADORA



Dr. Gabriel Araújo da Silva - Universidade do Estado do Amapá (UEAP)



Dr. Jefferson Romário Duarte da Luz - Universidade do Estado do Amapá (UEAP)

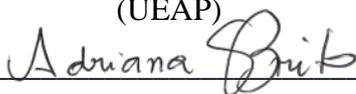


Dra. Marcela Nunes Videira - Universidade do Estado do Amapá (UEAP)



Dra. Maria Danielle Figueiredo Guimarães Hoshino – Universidade do Estado do Amapá

(UEAP)



Dra. Adriana da Silva Brito – Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me sustentado e concedendo saúde, sabedoria e paciência para seguir nessa jornada.

A minha família, em especial minha mãe Aldenici Santos, por todo carinho, apoio e incentivo, a minha irmã Natali Silva que sempre que possível ia me ajudar no laboratório.

Ao meu companheiro Felipe Silva, por todo amor, atenção e cuidado comigo, que não mediu esforços para me ajudar nas coletas.

Ao meu amigo Arllon Santos, por toda ajuda nas análises seu apoio e companheirismo foi essencial.

Aos meus colegas de trabalho, por todo incentivo e apoio.

Ao orientador dessa dissertação Dr. Gabriel Araújo da Silva, por me oportunizar em dá continuidade nos meus estudos, por cada ensinamento e paciência, fostes muito mais que um orientador, mas um amigo. Ao meu coorientador Dr. Jefferson Luz, pelas contribuições, disponibilidade, de fato você foi uma luz, espero levar essa amizade sempre.

A equipe do Laboratório de Química Orgânica e Bioquímica - LQOBq, da UEAP, ao técnico Daniel Alves, aos meus colegas de laboratório Zenilton, Mateus e Cristiano Rabelo.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciências Ambientais pelo aprendizado e aos companheiros de turma pela paciência e gargalhadas de desespero, em especial a Jimaine Guedes, Clézio Viegas e Murilo Camelo.

As professoras Dra. Marcela Nunes Videira, Dra. Maria Danielle Figueiredo Guimarães Hoshino e Dra. Adriana da Silva Brito membros da Banca Examinadora, por terem atendido ao convite para desempenhar este papel, dispondo de seu tempo e conhecimento para analisar este trabalho.

RESUMO

SILVA, N. E. **Biomarcadores de Estresse Oxidativo no Camarão *Macrobrachium Amazonicum*: Avaliação Em Uma Área De Preservação Ambiental Na Amazônia/Brasil.** 40 f. Dissertação – Departamento de Meio Ambiente e Desenvolvimento, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2022.

As atividades antrópicas geram uma quantidade significativa de poluentes que são lançados no meio ambiente, muitas vezes causando distúrbios ecológicos. Esses poluentes causam alterações biológicas em vários níveis: molecular, celular, tecidual, no organismo, em populações e nas comunidades. Dentre os xenobióticos presentes nos ecossistemas aquáticos, inúmeros compostos químicos e orgânicos possuem potencial oxidativo, amplificando os danos causados por espécies reativas de oxigênio. Desta forma, a quantificação de danos celulares e defesas antioxidantes pode ser utilizadas como biomarcador de contaminação aquática. O objetivo desta pesquisa foi utilizar o Camarão *Macrobrachium amazonicum* como espécie bioindicadora para verificar os danos oxidativos causados pela ação de xenobióticos em uma Área de Proteção Ambiental na Amazônia/Brasil. Dentre as análises avaliadas, destacam-se os parâmetros físico-químicos, como: pH, temperatura, sólidos totais, ferro e cobre na água, bem como os biomarcadores de estresse oxidativo não enzimáticos e enzimático: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (SRATs), glutathiona (GSH) e catalase (CAT) no homogenato de hepatopâncreas dos camarões coletados neste estudo. Os resultados indicam que os parâmetros de pH, temperatura, ferro e sólidos totais estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira vigente, mas os teores do metal cobre presente no rio Amazonas influenciaram a atividade de GSH e CAT no homogenato dos camarões. Concluímos que parâmetros de estresse oxidativo podem ser importantes ferramentas complementares no trabalho de monitoramento ambiental, juntamente com outros biomarcadores já estabelecidos, auxiliando no entendimento dos efeitos da contaminação em organismos aquáticos e fornecendo informações importantes sobre modulações das defesas celulares.

Palavras-chave: Poluentes aquáticos, Camarão-regional, Estresse Oxidativo, Parâmetros físico-químicos.

ABSTRACT

SILVA, N. E. **Oxidative Stress Biomarkers in *Macrobrachium amazonicum* Shrimp: Evaluation in an Environmental Preservation Area in the Amazon/Brazil.** 40 p. Master Thesis – Department of Environment and Development, Federal University of Amapá, Macapá, 2022.

Anthropogenic activities generate a significant amount of pollutants that are released into the environment, often causing ecological disturbances. These pollutants cause biological changes at several levels: molecular, cellular, tissue, organism, populations and communities. Among the xenobiotics present in aquatic ecosystems, numerous chemical and organic compounds have an oxidative potential, amplifying the damage caused by reactive oxygen species. In this way, quantification of cellular damage and antioxidant defenses can be used as biomarkers of aquatic contamination. The objective of this research was to use *Macrobrachium amazonicum* Shrimp as a bioindicator species to verify the oxidative damage caused by the action of xenobiotics in an Environmental Protection Area in the Amazon/Brazil. Among the analyzes evaluated, the physicochemical parameters stand out, such as: pH, temperature, total solids, iron and copper in the water, as well as the non-enzymatic and enzymatic oxidative stress biomarkers: Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARs), glutathione (GSH) and catalase (CAT) in the hepatopancreas homogenate of shrimps collected in this study. The results indicate that the parameters of pH, temperature, iron and total solids are within the standards established by the current Brazilian legislation, but the levels of copper metal present in the Amazon River influenced the activity of GSH and CAT in the shrimp homogenate. We conclude that oxidative stress parameters can be important complementary tools in environmental monitoring work, together with other biomarkers already established, helping to understand the effects of contamination on aquatic organisms and providing important information about modulations of cellular defenses.

Keywords: Aquatic pollutants, Regional-shrimp, Oxidative Stress, Physicochemical parameters.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	Área de Proteção Ambiental
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
CAT	Catalase
GSH	Glutathione
LPx	Peroxidação Lipídica
SRAT	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3 REFERÊNCIAS	13
BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NO CAMARÃO <i>MACROBRACHIUM AMAZONICUM</i> (Heller, 1862): AVALIAÇÃO EM UMA ÁREA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL NA AMAZÔNIA/BRASIL	14
Introdução	17
Material e Métodos	20
Pontos de Coleta	20
Análises de Água	20
Sólidos Totais	21
pH e Temperatura	21
Análise de Ferro (Fe) e Cobre (Cu)	21
Coleta, Análise Morfológica e Processamento do Homogenato do Hepatopâncreas dos Camarões	22
Determinação de Proteínas	23
Análises Estatísticas	23
Observações Morfológicas dos Camarões Coletados	26
Biomarcadores de Estresse Oxidativo	27
Discussão	28
Conclusão	31
Referências	31
ANEXO A	38
ANEXO B	39

1 INTRODUÇÃO GERAL

O oxigênio é uma molécula fundamental para organismos aeróbicos, usado tanto na produção de energia através da cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias de eucariontes, na membrana celular de muitas bactérias, quanto em numerosas vias metabólicas fundamentais. Ao mesmo tempo, seu consumo pode gerar substâncias tóxicas nos níveis intracelular e extracelular, criando assim o chamado "paradoxo do oxigênio", devido ao equilíbrio entre suas vantagens e desvantagens. Tais substâncias são produzidas pelo transporte de elétrons, reações enzimáticas, reações de auto-oxidação, ou mesmo pelo grupo heme de proteínas, sendo denominadas de espécies reativas de oxigênio (EROs).

Para lidar com esse paradoxo, a célula possui uma série de defesas capazes de evitar o efeito deletério que são ocasionados pelo excesso dessas EROs geradas pelo metabolismo aeróbico. Essas defesas são comumente chamadas de defesas antioxidantes e pode ser produzidas de forma endógena ou adquiridas através da dieta, contudo a formação excessiva de ROS e/ou a ineficiência de defesas antioxidantes pode gerar o estresse oxidativo, que ocorre através das mudanças na regulação redox, pelo metabolismo de citocromo P450.

As defesas antioxidantes endógenas podem ser não enzimáticas dentre elas estão as vitaminas C e E, carotenóides, flavonóides, pigmentos biliares, urato e o tripeptídeo glutathione (GSH), todos sequestradores de radicais. A GSH é composta por gama-glutamil-cisteinil-glicina, atuando contra a formação de radicais livres, homeostase do tiol, manutenção do equilíbrio redox da célula e defesa contra agentes eletrofílicos. As defesas antioxidantes enzimáticas também são de suma importância, entre as principais estão as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx).

As defesas antioxidantes podem ser induzidas por substâncias pró-oxidantes, a exemplo da presença de íons metálicos que pode gerar ciclos de reações oxidativas (Dumanovic et al. 2021), que também dependem do tempo e da intensidade da exposição. Ao mesmo tempo, a mudança nessas defesas também está relacionada a diferentes classes de xenobióticos, diferenças de sensibilidade entre espécies e a fatores ambientais e biológicos (Pizzino et al. 2017).

Os organismos aquáticos respondem às mudanças nas condições ambientais, sendo considerados bioindicadores eficientes da qualidade da água (Piassão et al. 2019). Devido à ação antrópica, que ocorre em ambientes aquáticos, as pesquisas tendem a adotar algumas espécies para análise de poluição, uma vez que, diversos organismos são sensíveis a alterações no ambiente devido às suas características biológicas (Santos et al. 2020). Portanto, as espécies que respondem positiva ou negativamente aos impactos ambientais são classificadas como bioindicadores.

O grupo de crustáceos, por suas características adaptativas, estratégias de forrageamento, ecologia e metabolismo, pode oferecer respostas interessantes (Figueiredo, 2016), considerando que esses são importantes membros dos ambientes aquáticos. Além disso,

são sensíveis aos efeitos nocivos de metais pesados e pesticidas, os quais afetam principalmente o crescimento, fertilização, comportamento, morfologia, caracteres e provocando outras alterações biológicas (Zhou et al. 2008), além de permitir a análise de contaminantes da água.

Atualmente, diversos grupos de organismos aquáticos são estudados como possíveis bioindicadores para avaliação de áreas contaminadas (Keshavarzifard; Vazirzadeh; Sharifinia, 2021), uma destas espécies é o camarão *Macrobrachium amazonicum* que pode ser adotada como bioindicador na verificação de danos oxidativos contra poluentes aquáticos (Figueiredo, 2016; Duarte et al. 2020), esta espécie tem forte exploração comercial, nos estados do Pará e Amapá, além disso existem poucos estudos utilizando esta espécie como bioindicadora (Figueiredo, 2016).

Os ecossistemas aquáticos são vulneráveis mesmo em unidades de conservação ambiental, principalmente devido ao transporte de contaminantes de atividades industriais e agrícolas insustentáveis no entorno de áreas protegidas (Santos, et al. 2020). Atualmente há o desenvolvimento de novos protocolos ecotoxicológicos com marcadores de estresse oxidativo essenciais para uma melhor compreensão de sua regulação e funcionamento, para que, posteriormente, possam ser incorporados em projetos de monitoramento ambiental juntamente com outros biomarcadores previamente estabelecidos. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi utilizar *M. amazonicum* como espécie bioindicadora para verificar os danos oxidativos causados pela ação de xenobióticos em uma Área de Proteção Ambiental na Amazônia/Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar *M. amazonicum* como espécie bioindicadora para verificar os danos oxidativos causados pela ação de xenobióticos em uma Área de Proteção Ambiental na Amazônia/Brasil.

2.2 Específicos

- Analisar os parâmetros físico-químicos da água
- Comparar os resultados da análise das amostras de água com a legislação ambiental específica (Resolução CONAMA nº357 de 2005)
- Realizar análises dos biomarcadores de Estresse Oxidativo: Catalase, Glutathione e Peroxidação Lipídica.

3 REFERÊNCIAS

Duarte-Restrepo E, Jaramillo-Colorado BE, Duarte-Jaramillo L. (2020) Effects of chlorpyrifos on the crustacean *Litopenaeus vannamei*. PLoS ONE 15 (4): 1–16. 0. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231310>.

Dumanovic J et al (2021) The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. Front. Plant Science (11) 1: 552969, <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>.

Figueiredo LG (2016) De. Biomarcadores De Estresse Oxidativo Em Crustáceos Decápodos De Diferentes Ambientes Do Estuário Da Baía De Marajó, Pará. Dissertação, Programa de Pós Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, UFPA, Belém-PA, p. 50. https://ppgeap.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2016/PPGEAP_Dissertac%cc%a7a%cc%83o_Lucas%20Gallat%20de%20Figueiredo_2016.pdf.

Keshavarzifard M, Vazirzadeh A, Sharifinia M (2021) Occurrence and characterization of microplastics in white shrimp, *Metapenaeus affinis*, living in a habitat highly affected by anthropogenic pressures, northwest Persian Gulf. Marine Pollution Bulletin 169, 112581. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112581>.

Piassão, JFG. et al. Análise da bioacumulação de metais e em crustáceos do gênero *Aegla* (Crustacea, Anomura). Perspectiva, Erechim (43) 161:111–122.

Pizzino et al (2017) Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. Oxidative Medicine and Cellular Longevity (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.

Santos SL et al. (2020). Evaluation of the water quality in a conservation unit in Central-West Brazil: metals concentrations and genotoxicity in situ. Chemosphere, [S.L.], v. 251, p. 126365, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126365>.

Zhou Q et al (2008) Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. Analytica Chimica Acta (606) 2: 135–150. DOI:10.1016/j.aca.2007.11.018.

**BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO NO CAMARÃO
MACROBRACHIUM AMAZONICUM (Heller, 1862): AVALIAÇÃO EM UMA
ÁREA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL NA AMAZÔNIA/BRASIL**

Artigo submetido ao periódico "Archives of Environmental Contamination and Toxicology"

Qualis A2 para Ciências Ambientais

**Biomarcadores de Estresse Oxidativo no Camarão *Macrobrachium amazonicum*
(Heller, 1862): Avaliação em uma Área de Preservação Ambiental na
Amazônia/Brasil**

Natália Eduarda da Silva^{1,2,3}, Arllon José dos Santos Dias^{1,2}, Darlan Coutinho dos Santos⁴,
Jefferson Romáryo Duarte da Luz², Gabriel Araujo-Silva^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal do Amapá, Rod. Josmar
Chaves Pinto, km 02 - Jardim Marco Zero, 68903-419, Macapá/AP, Brasil

²Laboratório de Química Orgânica e Bioquímica, Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Av.
Presidente Vargas, s/n, - Centro, 68900-070, Macapá/AP, Brasil

³Instituto Federal do Amapá (IFAP), Rodovia BR-210, Km 03 - Brasil Novo, 68909-398, Macapá/AP,
Brasil

⁴Colegiado de Ciências Naturais, Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Av. Presidente Vargas, s/n, -
Centro, 68900-070, Macapá/AP, Brasil

*Correspondência: gabriel.silva@ueap.edu.br; Telefone: +55 84 99660-9327.

Resumo

As atividades antrópicas geram uma quantidade significativa de poluentes que são lançados no meio ambiente, muitas vezes causando distúrbios ecológicos. Esses poluentes causam alterações biológicas em vários níveis: molecular, celular, tecidual, no organismo, em populações e nas comunidades. Dentre os xenobióticos presentes nos ecossistemas aquáticos, inúmeros compostos químicos e orgânicos possuem potencial oxidativo, amplificando os danos causados por espécies reativas de oxigênio. Desta forma, a quantificação de danos celulares e defesas antioxidantes podem ser utilizadas como biomarcadores de contaminação aquática. O objetivo desta pesquisa foi utilizar o Camarão *Macrobrachium amazonicum*, popularmente conhecidos como camarão-canela, camarão sossego, camarão-regional, camarão-da-amazônia, como espécie bioindicadora para verificar os danos oxidativos causados pela ação de xenobióticos em uma Área de Proteção Ambiental na Amazônia/Brasil. Dentre as análises avaliadas, destacam-se os parâmetros

físico-químicos, como: pH, temperatura, sólidos totais, ferro e cobre na água, bem como os biomarcadores de estresse oxidativo não enzimáticos e enzimático: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), glutathione (GSH) e catalase (CAT) no homogenato de hepatopâncreas dos camarões coletados neste estudo. Os resultados indicam que os parâmetros de pH, temperatura, ferro e sólidos totais estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira vigente, mas os teores do metal cobre presente no rio Amazonas influenciaram a atividade de GSH e CAT no homogenato dos camarões. Concluímos que parâmetros de estresse oxidativo podem ser importantes ferramentas complementares no trabalho de monitoramento ambiental, juntamente com outros biomarcadores já estabelecidos, auxiliando no entendimento dos efeitos da contaminação em organismos aquáticos e fornecendo informações importantes sobre modulações das defesas celulares.

Palavras-chave: Poluentes aquáticos, Camarão-regional, Estresse Oxidativo, Parâmetros físico-químicos.

Introdução

O oxigênio é uma molécula fundamental para organismos aeróbicos, usado tanto na produção de energia através da cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias de eucariotos, na membrana celular de muitas bactérias e em inúmeras vias metabólicas fundamentais. Ao mesmo tempo, seu consumo pode gerar substâncias tóxicas nos níveis intra e extracelular, criando assim o chamado “paradoxo do oxigênio”, devido ao equilíbrio entre suas vantagens e desvantagens. Essas substâncias tóxicas são geradas durante o transporte de elétrons, reações enzimáticas, reações de auto-oxidação, ou mesmo pelo grupo heme de proteínas, e são comumente chamadas de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o oxigênio singlete, o ânion superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila (Halliwell e Gutteridge, 2007), das quais são importantes espécies reativas de oxigênio com potencial de oxidar e danificar as organelas da célula (Hermes-Lima, 2004; Batista, 2010).

Para lidar com esse paradoxo, a célula possui uma série de defesas capazes de evitar o efeito deletério dessas EROs geradas pelo metabolismo aeróbio. Essas defesas são comumente chamadas de defesas antioxidantes e podem ser produzidas endogenamente ou adquiridas através da dieta, entretanto, a formação excessiva de EROs e/ou ineficiência das defesas antioxidantes podem gerar o que se denomina estresse oxidativo, que pode ocorrer devido à ação das EROs, xenobióticos, por meio de alterações na regulação redox celular, pelo metabolismo dos citocromos P450, ou ainda pela presença de íons metálicos livres, gerando ciclos de reações oxidativas (Dumanovic et al. 2021).

Entre as principais defesas antioxidantes não enzimáticas da célula estão as vitaminas C e E, carotenóides, flavonóides, pigmentos biliares, urato e o tripeptídeo glutathione (GSH), todos sequestradores de radicais. A GSH é composta por gama-glutamil-cisteinil-glicina, atuando contra a formação de radicais livres, homeostase do tiol, manutenção do equilíbrio redox da célula e defesa contra agentes eletrofílicos. Essa capacidade antioxidante se deve ao grupo tiol reativo (SH) de sua cisteína, que também pode ser encontrado em proteínas (PSH) ou em tióis de baixo peso molecular (NPSH) (Reischl et al. 2007).

As defesas antioxidantes enzimáticas também são de suma importância, entre as principais estão as enzimas superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do ânion-radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 , a catalase (CAT) que atua na decomposição de H_2O_2 a O_2 e H_2O e glutathione peroxidase (GPx), que atua sobre peróxidos em geral, com utilização de glutathione como cofator (Vasconcelos et al., 2007).

As defesas antioxidantes podem ser induzidas, bem como depletadas por substâncias pró-oxidantes, dependendo do tempo e da intensidade da exposição. Ao mesmo tempo, a mudança nessas defesas também está

relacionada a diferentes classes de xenobióticos, diferenças de sensibilidade entre espécies e a fatores ambientais e biológicos (Pizzino et al. 2017).

Existem alguns estágios para atingir o estresse oxidativo, sendo essas a reação de alarme, que dá as respostas iniciais ao estímulo, outra fase caracterizada pela resistência, onde ocorrem ajustes compensatórios para manter a atividade celular, e finalmente a exaustão, em que ocorrem distúrbios, que podem levar à morte (Oba; Mariano; Santos, 2009). Alguns fatores podem induzir as espécies aquáticas ao estresse oxidativo, tais como íons metálicos, agrotóxicos, desta forma pode-se dizer que esses organismos aquáticos atuam como indicadores de contaminantes presentes em lagos, rios e oceanos.

Os organismos aquáticos respondem às mudanças nas condições ambientais, sendo considerados bioindicadores eficientes da qualidade da água (Piassão et al. 2019). Devido à ação antrópica, que ocorre em ambientes aquáticos, as pesquisas tendem a adotar algumas espécies para análise de poluição, uma vez que, diversos organismos são sensíveis a alterações no ambiente devido as suas características biológicas (Santos et al. 2021). Portanto, as espécies que respondem positiva ou negativamente aos impactos ambientais são classificadas como bioindicadores.

Algumas características devem ser consideradas na escolha de um bioindicador ideal, que deve acumular altos níveis de poluentes, ser restrito a um local específico para melhor expor a poluição local, ser abundante no local, ter vida longa, oferecer um tecido adequado para pesquisas futuras, amostragem e fácil levantamento, tendo uma posição importante na cadeia alimentar, tendo uma boa relação dose-efeito. (Zhou et al. 2008). O grupo de crustáceos, por suas características adaptativas, estratégias de forrageamento, ecologia e metabolismo, pode oferecer respostas interessantes (Figueiredo, 2016), considerando que esses são importantes membros dos ambientes aquáticos.

Os crustáceos são sensíveis aos efeitos nocivos de metais pesados e pesticidas, afetando principalmente o crescimento, fertilização, comportamento, morfologia, caracteres e alterações biológicas (Zhou et al. 2008), além de permitir a análise de contaminantes da água. Em organismos expostos a metais pesados, há um aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS), como peróxido de hidrogênio, radical superóxido e o radical hidroxila (Siqueira et al. 2009), que podem aumentar a toxicidade nas células, causando estresse oxidativo, que pode ser analisado usando antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, além disso o pH é capaz de alterar a disponibilidade dos metais e esses causarem efeitos deletérios nos tecidos (Abdalla, 2015).

A contaminação por agrotóxicos também é capaz de fazer com que uma espécie aquática sofra danos oxidativos. Esses xenobióticos entram em ambientes aquáticos por lixiviação e escoamento de áreas agrícolas

e podem permanecer lá por meses ou até anos (Tudi et al. 2021). Além disso, eles podem desencadear a produção de espécies reativas de oxigênio por vários mecanismos bioquímicos, como interrupção do transporte de elétrons através da membrana celular, facilitação da reação de Fenton, inativação de enzimas antioxidantes e depleção de sequestradores de radicais livres (Uçkun et al. 2021).

Atualmente, diversos grupos de organismos aquáticos são estudados como possíveis bioindicadores para avaliação de áreas contaminadas (Keshavarzifard; Vazirzadeh; Sharifinia, 2021), uma destas espécies é o camarão *Macrobrachium amazonicum*, popularmente conhecidos como camarão-canela, camarão sossego, camarão-regional, camarão-da-amazônia (Dias e Silva, 2021) que pode ser adotada como bioindicador na verificação de danos oxidativos contra poluentes aquáticos (Figueiredo, 2016; Duarte et al. 2020), esta espécie tem forte exploração comercial, nos estados do Pará e Amapá, além disso existem poucos estudos utilizando esta espécie como bioindicadora (Figueiredo, 2016).

Os ecossistemas aquáticos são vulneráveis mesmo em unidades de conservação ambiental, principalmente devido ao transporte de contaminantes de atividades industriais e agrícolas insustentáveis no entorno de áreas protegidas (Santos, et al. 2020). Atualmente há o desenvolvimento de novos protocolos ecotoxicológicos com marcadores de estresse oxidativo essenciais para uma melhor compreensão de sua regulação e funcionamento, para que, posteriormente, possam ser incorporados em projetos de monitoramento ambiental juntamente com outros biomarcadores previamente estabelecidos.

As Áreas de Proteção Ambiental (APA) são áreas geralmente extensas, com certo grau de ocupação humana, dotadas de atributos abióticos, bióticos, estéticos ou culturais especialmente importantes para a qualidade de vida e bem-estar das populações humanas, e têm como objetivos de proteger a diversidade biológica, disciplinar o processo de ocupação e garantir a sustentabilidade do uso dos recursos naturais (Brasil, 2000). Além disso, a APA fica próximo ao Igarapé da Fortaleza, um local que sofre diversas degradações ambientais, derrubada de árvores para exploração da madeira, erosão do solo e contaminação provenientes da exploração mineral (Souza, 2005; Campos, 2019).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi utilizar *M. amazonicum* como espécie bioindicadora para verificar os danos oxidativos causados pela ação de xenobióticos em uma Área de Proteção Ambiental na Amazônia/Brasil.

Material e Métodos

Pontos de Coleta

Amostras de água e camarões foram coletadas em locais próximos, durante a estação chuvosa, em março/2022 ($0^{\circ}03'17,9\text{S}$ $51^{\circ}07'32,3\text{W}$), abril/2022 ($0^{\circ}03'18,8\text{S}$ $51^{\circ}07'34,7\text{W}$) e maio/2022 ($0,05526505\text{S}$ $51,12779665\text{W}$) na Área de Proteção Ambiental denominada “Fazendinha” no Estado do Amapá (AP)/Amazônia/Brasil (Fig.1), localizada entre os Distritos de “Fazendinha” no Município Macapá (AP) e “Fortaleza” no Município de Santana/AP, limitado ao sul pelo Rio Amazonas, ao norte pela Rodovia Juscelino Kubitschek, a leste pelo bairro da “Fazendinha” e uma propriedade privada, e a oeste pelo Igarapé da Fortaleza (Silva, 2009).

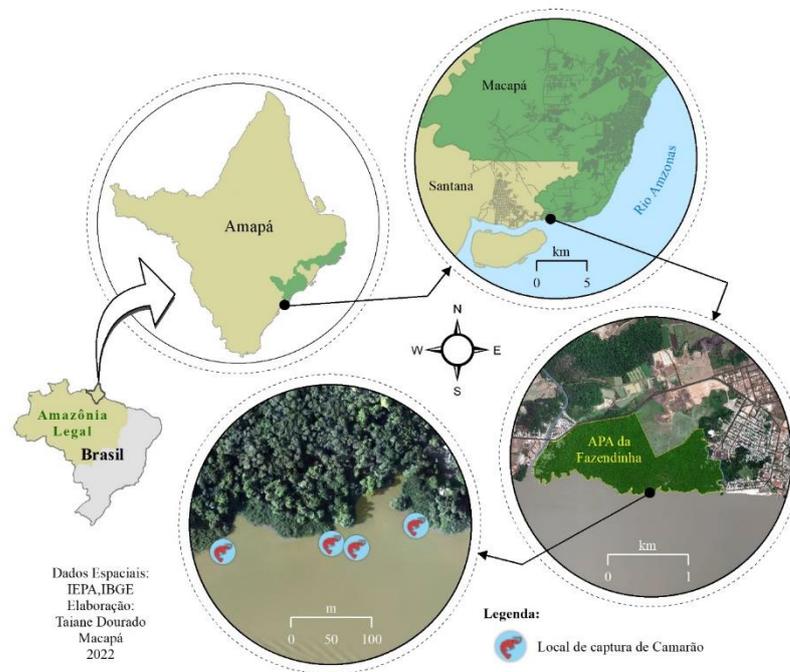


Fig. 1 Localização dos pontos de captação de água e captura de camarões na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil.

Análises de Água

As amostras de água foram coletadas em frascos de polietileno estéreis com capacidade de um litro. O procedimento de amostragem foi realizado na superfície da água. Para análise, baseou-se na Resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA/Brasil), que estabelece os índices mínimos e máximos de referência permitidos em rios classe II, conforme resolução.

Tabela. 1 Valores Máximos Permitidos (VMP) dos parâmetros físico-químicos da água pela Resolução CONAMA. Fonte: Resolução CONAMA 357/2005.

	Parâmetros	Unidade	Método	CONAMA/VMP
Físicos	Sólidos Totais	mg/L	Vaporização	1000 mg/L
	Temperatura	°C	Sonda Multiparâmetro	-
Químicos	pH	pH	Sonda Multiparâmetro	Entre 6 a 9
	Ferro	mg/L	Espectrofotômetro	0,300 mg/L
	Cobre	mg/L	Espectrofotômetro	0,009 mg/L

Sólidos Totais

Para análise de sólidos totais uma alíquota de 10 mL de água foi adicionada em cadinhos previamente pesados, que consistiu em triplicatas, as amostras foram mantidas em estufa de esterilização e secagem analógica (equipamento My Labor, SSA - 40 L, São Paulo, Brasil) por vinte e quatro horas a 105°C, após o tempo decorrido os cadinhos foram pesados e verificadas as diferenças entre os pesos inicial e final.

pH e Temperatura

As análises de pH e Temperatura da água nos pontos de coleta nos meses de março/2022, abril/2022 e maio/2022 foram realizadas pela Sonda Multiparâmetro da Hanna® (Hanna® Instruments, HI 9892, Eden Way, Inglaterra) de acordo com as orientações do fabricante.

Análise de Ferro (Fe) e Cobre (Cu)

Para a análise de ferro e cobre, a metodologia descrita por Teixeira et al. (2006) foi usada. Inicialmente foi preparada uma solução 1,10-fenantrolina (0,25 g de fenantrolina dissolvidos em 100 mL de etanol). Em seguida uma alíquota 25 mL de cada amostra de água foram misturados com 1 mL de solução de ácido ascórbico (1% (m/v), 5 mL de, 5 mL da solução de 1,10-fenantrolina e 5 mL de solução tampão pH 4,5 (ácido acético/acetato de sódio 1,0 mol L⁻¹). A absorbância foi verificada a 511 nm, para análise do ferro; e a 371 nm, para análise do cobre, em um espectrofotômetro UV-VIS (BEL Photonics – UV – M51, Monza (Milano), Itália). Para o branco foram utilizados os mesmos reagentes, sem adição de analitos.

Coleta, Análise Morfológica e Processamento do Homogenato do Hepatopâncreas dos Camarões

Os camarões foram selecionados de acordo com o peso (entre 5 e 8 gramas), sendo coletados com o equipamento de pesca “Matapi”, pois garante a redução do estresse de captura devido ao refúgio e alimentação disponível (Dergan, 2015). Os camarões coletados, ainda vivos, foram submetidos à análise de peso, comprimento total, comprimento abdominal e comprimento do cefalotórax. Em seguida, foram eutanasiados por hipotermia (banho de gelo) e dissecados em até 2 horas após a captura.

O hepatopâncreas foi selecionado devido à sua alta atividade metabólica (Wang, et al. 2012), devendo ser dissecado rapidamente. Após esse processo, foram preparados seis *pools* do homogenato, onde cada pool pesava um grama, peso adotado para a análise da atividade de biomarcadores de estresse oxidativo, sendo cada análise de cada pool realizada em triplicata, na coleta de março foram utilizados trinta e dois camarões, em abril trinta e em maio trinta e um.

O preparo dos pools consistiu na adição de tampão fosfato de potássio pH=7,4 (Mohanty; Samanta, 2016), sendo o hepatopâncreas macerado em almofariz e pistilo resfriados previamente. Após a separação, os pools foram centrifugados a 4.000 rpm por 10 minutos para separar as impurezas do tecido, esses pools foram denominados de homogenato bruto. As alíquotas foram utilizadas para analisar as atividades da Catalase (CAT), Glutaciona (GSH), Proteínas e determinar a Lipoperoxidação (LPx).

Todos os procedimentos experimentais foram autorizados de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-CPAFAP) nº 21157.001846/2018-91, e de acordo com o Sistema de Autorização e Informação sobre Biodiversidade - SISBIO, Número: 50376-2.

Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

A peroxidação lipídica foi avaliada através da determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (SRAT), com modificações (Yagi, 1982). Resumidamente, o homogenato do hepatopâncreas (1,0 mL) foi misturado com 1,0 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 15% e com ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,83%. Após aquecimento (1 h/100 °C), as amostras foram resfriadas por 20 min e centrifugadas (980 g/10 min). A concentração das SRAT foi obtida por determinação colorimétrica (absorbância a 535 nm, em espectrofotômetro BEL Photonics – UV – M51, Milano), Itália) e expressa em nmol/g.proteína.

Determinação do conteúdo de glutaciona reduzida

A concentração de GSH reduzida nos tecidos do hepatopâncreas foi analisada pela metodologia proposta por Beutler et al. (1963). 1 mL de TCA a 15% foi adicionado a 1 mL do sobrenadante do homogenato. Após centrifugação (4.000 rpm/10 min), 0,2 mL do sobrenadante foi misturado em 0,8 mL de tampão fosfato, pH 8,0. A GSH total foi medida misturando com 0,2 mL do reagente (10 mM de 5,5-ditio-bis-(ácido 2-nitrobenzóico) DTNB em 0,2 M de tampão fosfato, pH 8,0). A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-VIS 420 nm (BEL Photonics – UV – M51, Monza (Milão), Itália) e a concentração de GSH foi expressa em $\mu\text{mol/g}$.proteína.

Avaliação da atividade da catalase

A atividade de CAT no homogenato do hepatopâncreas foi determinada por espectrofotometria (Beutler, 1975). Resumidamente, as amostras diluídas foram misturadas com a mistura de reação (0,03% de H_2O_2 dissolvido em 1 M Tris/5 mM EDTA, pH 8,0) e a absorbância foi medida a 240 nm UV-VIS Spectrofotometer (BEL Photonics - UV - M51, Monza (Milano), Itália). A atividade enzimática foi expressa em U/g.proteína.

Determinação de Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada com o auxílio de um kit BIOCLIN, sendo um teste colorimétrico. Consiste na utilização do biureto, o aparecimento da cor se deve à formação de um composto de coordenação do íon cobre com dois átomos de N envolvidos nas ligações peptídicas, formando um complexo de cor violeta, proporcional ao teor de proteína no meio. Foram utilizados 50 μL de homogenato bruto e 1,0 mL de biureto, homogeneizados e após, houve uma espera de 10 minutos em repouso. A leitura da amostra e do padrão ocorreu em um comprimento de onda de 545 nm no Espectrofotômetro UV-VIS (BEL Photonics – UV – M51, Monza (Milano), Itália). A atividade enzimática foi normalizada pela quantidade de proteína total.

Análises Estatísticas

Parâmetros de qualidade da água, peso, comprimento total, comprimento abdominal, comprimento do cefalotórax e biomarcadores de estresse oxidativo foram todos testados para normalidade e homogeneidade de variância usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Análise de variância (ONE WAY - ANOVA) com correção de Greenhouse-Geisser e teste T Student usando o programa GraphPad® versão 6.0 foram realizadas para investigar quaisquer diferenças significativas dentro e entre os conjuntos de dados. O critério de significância foi estabelecido em $p < 0,05$. Se os pressupostos de normalidade e homogeneidade

da variância não fossem atendidos, então o teste não paramétrico de Friedman e Mann-Whitney U (também chamado de Wilcoxon Rank Sum Test) foram executados.

Resultados

Análise dos Parâmetros Físico-Químicos da Água

Não foram observadas diferenças significativas para pH ou temperatura da água coletada na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” entre os meses de março/2022, abril/2022 e maio/2022. Os resultados podem ser vistos na fig. 2A para pH e fig. 2B para temperatura.

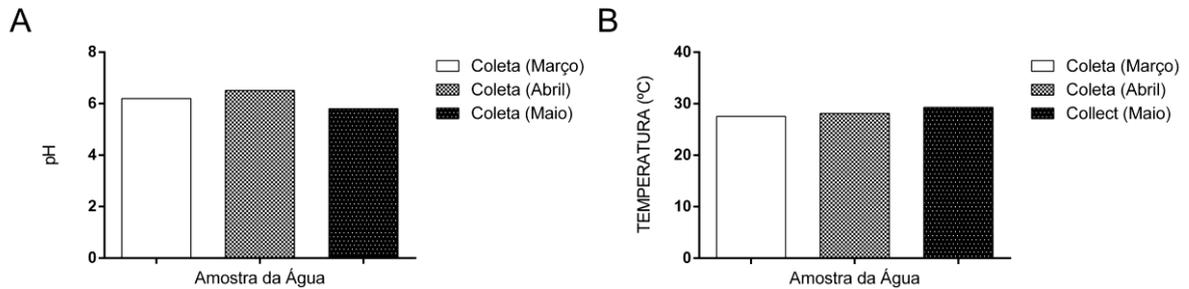


Fig. 2 Parâmetros de qualidade da água (pH [A] e Temperatura [B]) coletados em março, abril e maio de 2022 na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil.

Em relação à análise de ferro e cobre na água coletada representada por mg/L, os resultados mostram diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0059$) quando se comparam os valores de ferro entre os meses de março e maio (1ª e 3ª coleta) vistos na fig. 3A. Para o cobre também houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0389$) entre os meses de abril e maio (2ª e 3ª coleta) e também diferença estatisticamente

significativa ($p = 0,0011$) entre os meses de março e maio (1ª e 3ª coleta), estes resultados podem ser vistos na fig. 3B.

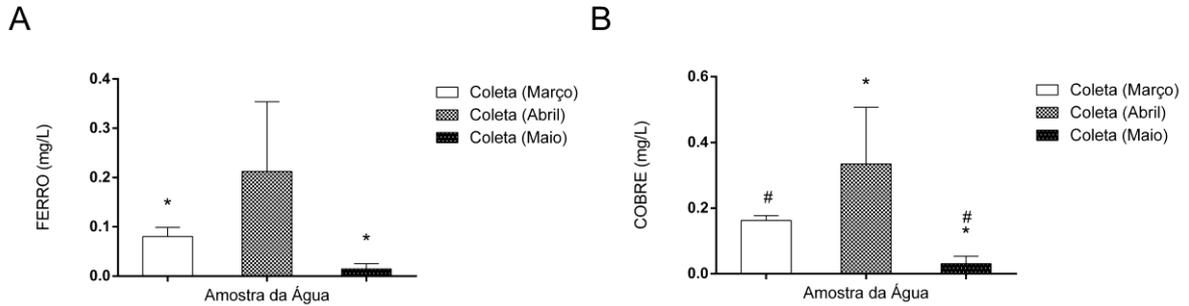


Fig. 3 Parâmetros de qualidade da água (Ferro [A] e Cobre [B] em mg/L) coletados em março, abril e maio de 2022 na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil. * significa diferença estatística entre as coletas de março e maio para ferro [A]. * significa diferença estatística entre as coletas de abril e maio para cobre e # significa diferença estatística entre as coletas de março e maio para cobre [B]. Para todas as análises, foi realizado o teste t de Student não pareado e $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Em relação à concentração de metais nas águas superficiais, verificamos que durante os três períodos, as análises de Fe ficaram dentro dos padrões estabelecidos pelas resoluções, enquanto para Cu os valores ficaram acima (Tabela 2).

Tabela. 2 Concentração de metais (médias e desvios padrão, em mg/L^{-1}) em amostras de água da Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil.

Metais	Meses			Referências	
	Coleta (Março)	Coleta (Abril)	Coleta (Maio)	CONAMA (2005)	WHO (2017)
Fe	0,0805 ± 0,018	0,2123 ± 0,1413	0,0144 ± 0,0111	0,300*	-
Cu	0,1621 ± 0,0152	0,3343 ± 0,1721	0,0308 ± 0,0226	0,009*	2,000**

*Valor máximo permitido pela legislação brasileira (Classe 2, Resolução 357/2005) do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005) e de acordo com a **Organização Mundial da Saúde (OMS, 2017).

Os valores médios acima dos limites estão destacados em negrito.

Os sólidos totais dissolvidos (STD) compreendem sais inorgânicos (principalmente cálcio, magnésio, potássio, sódio, bicarbonatos, cloretos e sulfatos) e pequenas quantidades de matéria orgânica dissolvida em água (OMS, 2017), os resultados das análises mostraram diferenças estatísticas entre todos os meses de coleta estudados com valor de $p = 0,0298$ (fig. 4).

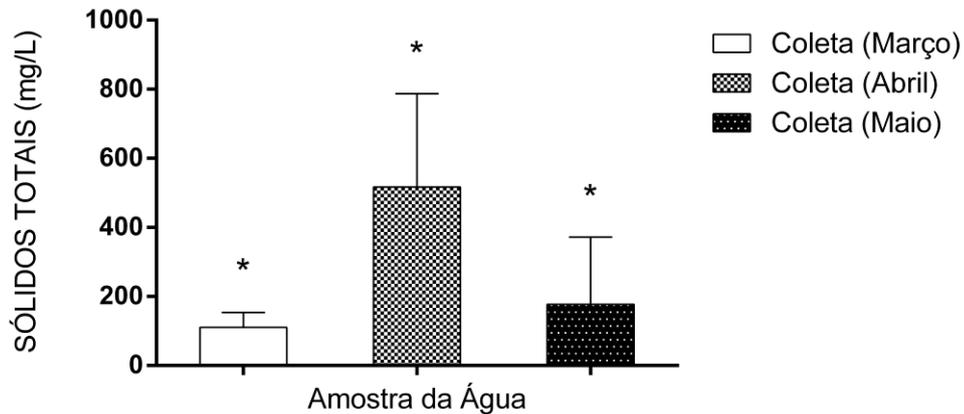


Fig. 4 Parâmetros de qualidade da água (Sólidos Totais) coletados em março, abril e maio de 2022 na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil. * significa diferença estatística entre as coletas de março, abril e maio para ONE WAY – ANOVA. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Observações Morfológicas dos Camarões Coletados

Com relação à análise morfológica dos camarões coletados na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil. Foram observados os pesos dos animais, comprimento total, comprimento abdominal e comprimento do cefalotórax. Para todos os parâmetros avaliados, não houve diferença estatisticamente significativa em relação aos três tempos de coleta deste estudo (março, abril e maio/2022), como pode ser observado na fig. 5.

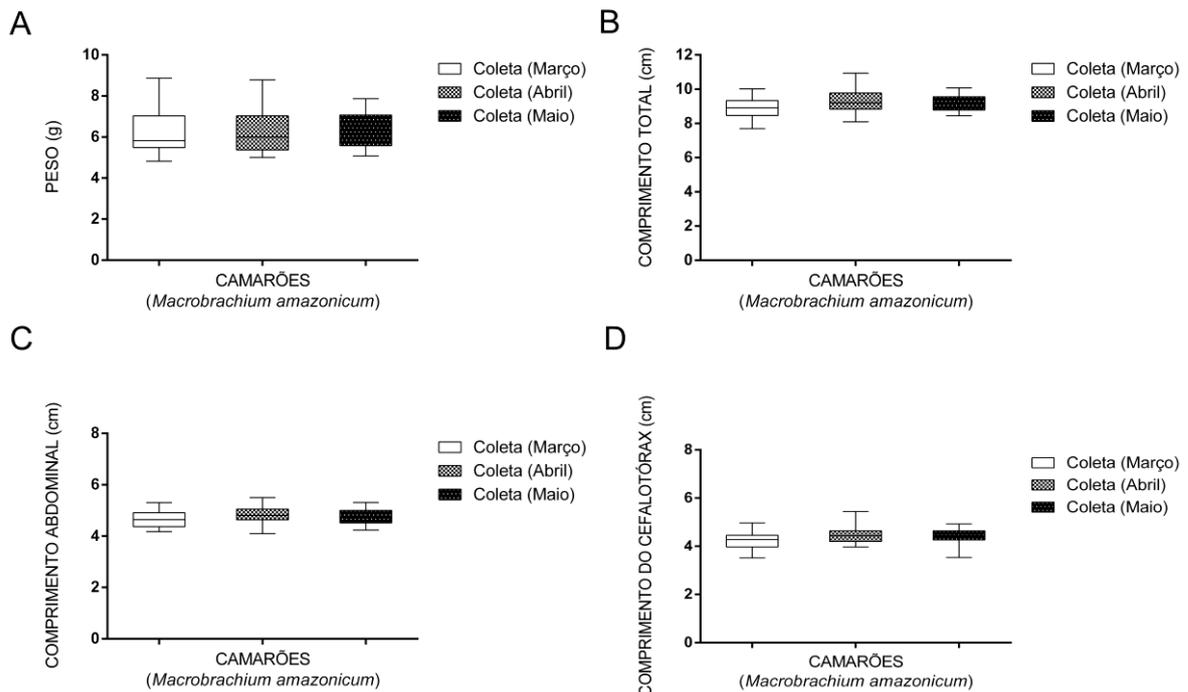


Fig. 5 Análises morfológicas dos camarões coletados em março, abril e maio de 2022 na Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil. Peso (A) Comprimento Total (B), Comprimento Abdominal (C) e Comprimento Cefalotórax (D).

Biomarcadores de Estresse Oxidativo

Para avaliar o potencial do camarão *M. amazonicum* de ser usado como bioindicador, foram investigados os parâmetros de estresse oxidativo avaliados os parâmetros de estresse oxidativo no homogenato do hepatopâncreas dos camarões nos três tempos de coleta utilizados neste estudo (fig. 6). Inicialmente, o dano celular no homogenato do hepatopâncreas dos animais foi estimado através do ensaio das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (SRAT), tendo o Malondialdeído (MDA) como um dos produtos finais da reação. Os resultados não demonstraram um aumento significativo nos níveis dos produtos finais da peroxidação lipídica no hepatopâncreas dos animais (fig. 6A).

Em relação ao teor de glutatona reduzida (GSH), foi observada diferença estatística significativa quando comparamos os três tempos de coleta com um valor de $p = 0,0015$ quando os dados são tratados de forma paramétrica e com um valor de $p = 0,0057$ quando os dados são tratados por testes não paramétricos (fig. 6B). Estes são, até agora, marcadores de estresse oxidativo não enzimáticos. Quando avaliamos enzimaticamente o estresse oxidativo, o resultado da catalase também mostra diferença estatisticamente significativa em relação às três coletas (março, abril e maio de 2022) realizadas neste estudo. Quando

comparamos os tempos de coleta por testes paramétricos, obtemos um valor de $p = 0,0091$ e se considerarmos os dados não paramétricos, obtemos um valor de $p = 0,0025$, como pode ser visto na fig. 6C.

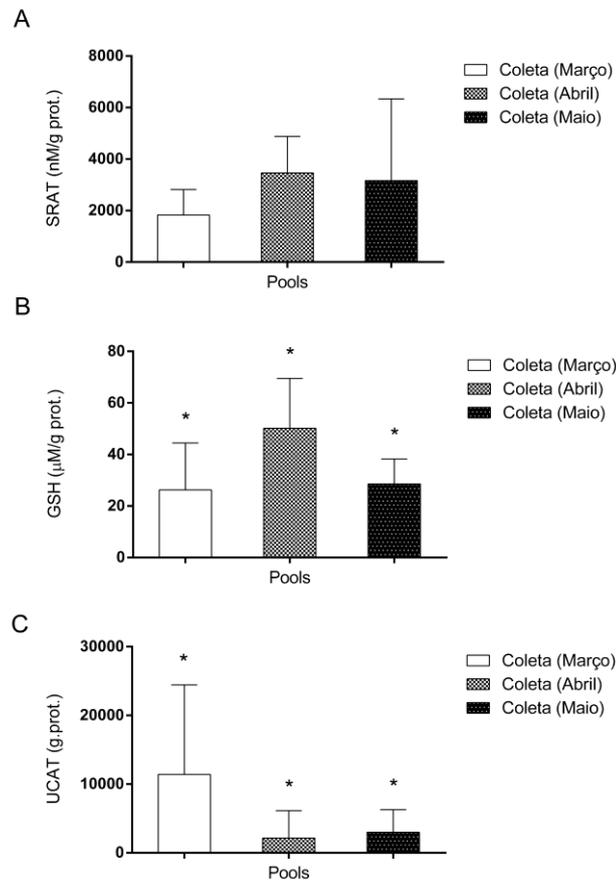


Fig. 6 Biomarcadores de estresse oxidativo (SRAT [A], GSH [B] e CAT [C]) no homogenato do hepatopâncreas dos camarões nos três momentos de coleta (março, abril e maio de 2022) na Área de Proteção Ambiental Fazendinha no município de Macapá -AP/Amazônia/Brasil. * diferença estatística média entre as coletas de março, abril e maio para ONE WAY – ANOVA e confirmada pelo teste não paramétrico de Friedman. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Discussão

A APA da fazendinha por estar próximo ao balneário da Fazendinha, que sofre ações antrópicas onde há aumento no risco de degradação da qualidade de balneabilidade em decorrência da crescente produção de resíduos sólidos e líquidos gerados pelos usuários e, conseqüentemente, lançados ao meio ambiente (Campos e Cunha, 2015), além disso por ser uma unidade de conservação é permitido a habitação de pessoas bem como a comercialização dos produtos oriundos da área.

Com relação aos parâmetros hídricos avaliados neste estudo, os resultados de pH e temperatura foram estatisticamente semelhantes ao longo das análises, considerando que foram realizadas no período chuvoso da região amazônica no Estado do Amapá, o mesmo ocorreu nas análises realizadas nos rios da Amazônia Maranhense (Braga, et al. 2022). O potencial hidrogeniônico da água variou de 5,8 a 6,5, sendo esses valores característicos do rio Amazonas em épocas de chuva, pois possui valores de pH mais ácidos, e esses resultados também são corroborados pelo estudo de Damasceno et al. (2015) que verificaram os índices de pH nas águas do rio Amazonas na orla da cidade de Macapá (AP) no período chuvoso, resultados também semelhantes em relação à temperatura da água (pH=6,00-6,31 e temperatura= 26°C e 27°C).

Os resultados relacionados a morfologia do camarão não apresentaram diferença estatística, o que já era esperado, em decorrência da utilização de camarões com pesos de 5 à 8 gramas, para utilizar uma quantidade menor de camarões nos preparos dos pools, e assim evitar o impacto com a retirada dessa espécie do seu habitat.

Para os sólidos totais, observamos uma diferença estatística entre os tempos de coleta, e esse dado é corroborado pelo fato de os rios amazônicos apresentarem altos teores de matéria orgânica em suas águas, o que ocorre devido a processos naturais que envolvem o bioma (Damasceno, et al. 2015), fator que pode justificar os valores obtidos neste estudo, mas vale ressaltar que os resultados encontrados estão abaixo dos valores estabelecidos pela legislação vigente CONAMA 357/2005.

Em relação aos metais pesados, como ferro e cobre, estes podem se acumular na vida aquática, entrar na cadeia alimentar e causar sérios danos à saúde humana onde a contaminação e exposição são significativas (Zaynab, 2022). Altas concentrações de metais de transição podem ser prejudiciais, pois podem reagir facilmente com peróxidos de hidrogênio, resultando na formação do radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) (Alves et al., 2010), este radical é o oxidante mais poderoso que reage com diversos moléculas biológicas (Frías-Espicueta, 2022; Gaetke e Chow, 2003), justificando mais uma vez a análise do dano oxidativo utilizando *M. amazonicum* como um possível bioindicador ecológico, pois reage facilmente com metais de transição, que podem ser derivados de rejeitos (Mohanty, Samanta, 2016), ou pela presença de poluentes derivados de agrotóxicos que podem ser facilmente eluídos na água (Velki et al. 2019).

Os resultados de ferro e cobre encontrados neste estudo mostram um aumento nas concentrações no mês de abril, e a alta presença de íons metálicos é considerada um fator de desequilíbrio em ambientes aquáticos, como citado acima, que pode ocorrer pela participação direta em reações de óxido-redução que produzem espécies reativas de oxigênio (EROs), sequestrando ou inativando moléculas que participam de sistemas de

defesa antioxidante (Lushchak, 2016), indicando que sua disparidade pode reduzir as atividades de antioxidantes enzimáticos de defesa endógena.

O aumento dos níveis de cobre no mês de abril pode estar associado a uma diminuição da atividade da enzima catalase no mesmo período de coleta, isso pode ocorrer porque o cobre tem a capacidade de se ligar à catalase, alterando sua estrutura secundária e, conseqüentemente, causando perda de atividade (Hao et al., 2015). O mesmo ocorreu em estudos com crustáceos do gênero *Aegla* (Piassão, 2019). Ressaltando que a catalase (CAT) é uma enzima em nível peroxissomal, capaz de transformar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formando água e oxigênio, sendo considerado um biomarcador precoce e confiável de contaminação (Borges et al. 2017).

Quando se avaliou o teor de glutatona reduzida, observou-se aumento nos meses de abril e maio, o contrário ocorreu com a CAT. A glutatona (GSH) é um tripeptídeo, que atua como cofator da família de enzimas da glutatona peroxidase (GPx), além de proteger contra o estresse oxidativo, com sua oxidação a dissulfeto de glutatona (GSSH) (Vasconcelos et al. 2007) atua na destoxificação de xenobióticos e espécies reativas de oxigênio (ROS).

Altos níveis de atividade de CAT podem estar relacionados ao estresse ambiental e ao esforço de biotransformação de poluentes (Oliveira, 2019). No entanto, o aumento da atividade de GSH pode estar relacionado à deficiência de CAT que pode ser compensada pela ativação das defesas antioxidantes medidas pela glutatona (Piassão, et al. 2019).

Já é conhecido e discutido neste estudo que os metais de transição (Fe, As, Hg e Cu) levam a um aumento de EROs como peróxidos de hidrogênio, radicais superóxido e hidroxila, que também podem causar peroxidação lipídica (Lushchak, 2011; Ferreira, 2011). A peroxidação lipídica é uma reação em cadeia de ácidos graxos poli-insaturados nas membranas celulares, gerando radicais livres que alteram a permeabilidade, fluidez e integridade das células (Mahattanatawee et al. 2006). As EROs são produzidas principalmente devido à redução incompleta de O_2 e podem causar peroxidação lipídica das membranas e danos diretos às biomoléculas, prejudicando assim os processos metabólicos celulares (Santana; Santos; Winkaler, 2020).

Sobre o estresse oxidativo, a avaliação da concentração de Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico (SRAT) reflete o dano oxidativo resultante da oxidação por peróxidos lipídicos em membranas biológicas (Halliwell; Gutteridge, 2007). Neste estudo não foi observado aumento significativo de SRAT, o mesmo ocorreu em pesquisa realizada com o crustáceo *Aegla singularis* (Borges, 2018), além disso, a atividade de

CAT e os níveis de SRAT foram correlacionados negativamente com a concentração de Cu na água (Piasão, 2019; Borges, 2022).

Assim, apesar da não alteração na peroxidação lipídica, as alterações nos teores de glutathiona, enzima catalase, cobre e sólidos totais observadas sugerem que o crustáceo *M. amazonicum* é um possível bioindicador ecotoxicológico, que pode ser utilizado para avaliar poluentes em áreas aquáticas. Entretanto, mais estudos são necessários para melhor correlacionar os níveis de metais de transição com o estresse oxidativo na espécie estudada e que a Área de Proteção Ambiental “Fazendinha” no município de Macapá-AP/Amazônia/Brasil está sofrendo danos oxidativos por poluentes externos, possivelmente por ação industrial.

Conclusão

Os resultados indicam que os parâmetros de pH, temperatura, Fe e sólidos totais estão dentro dos padrões estabelecidos pelo CONAMA 357/2005, mesmo no período chuvoso. As análises de Cu discordam da resolução, além disso, verifica-se que altas concentrações deste metal, sendo que a metodologia utilizada demonstra resultados mais favoráveis para análise de Cu, a concentração deste metal no rio Amazonas pode induzir a espécie *M. Amazonicum* a sofrer alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, como CAT e GSH. Os biomarcadores de CAT e SRAT são inversos, assim como a relação de CAT e GSH, desta forma a bioacumulação de Cu pode ter promovido um aumento na atividade de GSH, indicando que a presença deste metal promove algum nível de estresse oxidativo dessa espécie bioindicadora. Para futuras pesquisas, sugerimos realizar análises de metais em *M. Amazonicum* e promover correlações entre metais e biomarcadores.

Referências

Abdalla RP (2015). Efeito do alumínio e manganês, em pH ácido, nos parâmetros de estresse oxidativo em machos de *Astyanax altiparanae* (Characiformes: Characidae). Dissertação, Mestrado em Ciências - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, p.51 . <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41135/tde-19012016-094105/>.

Alves CQ, David JM, David JP et al (2010) Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Quí. Nova* 33 (10): 2202-2210. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>

Beutler E (1975) Red cell metabolism. A manual of biochemical methob. Grune & Stratton Inc., New York.

Beutler, E., Duron, O. & Kelly, B. M. (1963) *J. Lab. Clin. Med.* 61, 882-890.

Borges ACP, et al (2018) Characterization of oxidative stress biomarkers in a freshwater anomuran crab. *B. J. of Biology* 78(1): 61–67. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.04816>

Borges ACP. et al (2022) Presença de múltiplos metais e agricultura afetam biomarcadores de estresse oxidativo em caranguejos de água doce (*Aegla*). *Braz. J. Biol.* 82, e230147. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.230147>.

Braga FHR; Dutra MLS.; Lima NS.; Silva GM.; Miranda RCM.; Firmo WCA.; Moura ARL.; Monteiro AS.; Silva LCN; Silva DF; Silva MRC (2022) Study of the Influence of Physicochemical Parameters on the Water Quality Index (WQI) in the Maranhão Amazon, Brazil. *Water* 14, 1546. <https://doi.org/10.3390/w14101546>.

Brasil (2000) Lei nº 9.985/2000. Regula sobre Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza – SNUC. http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19985.htm

Brasil (2005) Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357/2012. Diretrizes gerais para avaliação de material dragado descartado em águas sob jurisdição brasileira (pp. 1–17).

CAMPOS JS; CUNHA HSA (2015). Análise comparativa de parâmetros de balneabilidade em Fazendinha, Macapá-AP. *Revista Biotá Amazonia* (5) 4: 110-118, 2015.

Campos MC (2019). Educação ambiental popular: possibilidade metodológica para problematização das questões socioambientais no igarapé da fortaleza/ap. Dissertação, o Programa de Pós-Graduação em Educação da Universidade Federal do Amapá (PPGED/UNIFAP), Macapá-AP, p. 140. <http://repositorio.unifap.br/jspui/handle/123456789/446>.

CONAMA. National Environmental Council. (2005). Resolução no 357/2005. Environmental Guidelines for Water Resources and Standards for the Release of Effluents (in Portuguese).

Costa BNS., Almeida, HP, Da Silva, BCP et al (2020) *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda) Used to Biomonitor Mercury Contamination in Rivers. *Arch Environ Contam Toxicol* (78): 245–253. <https://doi.org/10.1007/s00244-019-00683-0>

Damasceno, MCS; Ribeiro, HMC; Takiyama, LR; De Paula, MT (2015) Avaliação sazonal da qualidade das águas superficiais do Rio Amazonas na orla da cidade de Macapá, Amapá-Brasil. *Ambiente e Água* 10 (3): <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1606>

De Oliveira SJP et al (2021) Insetos como bioindicador de qualidade ambiental em ambientes aquáticos. *Revista Thema* 19 (2): 356–366. <https://doi.org/10.15536/thema.V19.2021.356-366.1737>

Dergan ALN (2015). Biomarcadores bioquímicos em duas espécies aquáticas amazônicas na avaliação da qualidade de ambientes com histórico de contaminação por arsênio. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática E Pesca, p. 1–59, 2015. https://ppgeap.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2015/PPGEAP_Disserta%C3%A7%C3%A3o_ANTONIO%20LEONILDO%20NASCIMENTO%20DERGAN.pdf . Acessado em 20.10.21

Dias AJS, Silva GA (2021) Tabela de Composição de Alimentos Amazônicos - Pescado. Curitiba: CRV.

Duarte-Restrepo E, Jaramillo-Colorado BE, Duarte-Jaramillo L. (2020) Effects of chlorpyrifos on the crustacean *Litopenaeus vannamei*. *PLoS ONE* 15 (4): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231310>

Dumanovic J et al (2021) The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. *Front. Plant Science* (11) 1: 552969, <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>.

Ferreira ALA (2011) Síndrome metabólica: atualização de critérios diagnósticos e impacto do estresse oxidativo na patogênese. *Rev Bras Clin Med* (1):54-61.

Ferreira JA (2016) Biomarcadores de Poluição em Camarões *Macrobrachium Amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) Oriundos De Região Amazônica com Histórico de Contaminação por Arsênio. Trabalho de Conclusão de Curso, Faculdade de Oceanografia do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará-UFPA Belém-PA, p.50. <https://bdm.ufpa.br:8443/jspui/handle/prefix/890>.

Figueiredo LG (2016). Biomarcadores De Estresse Oxidativo Em Crustáceos Decápodos De Diferentes Ambientes Do Estuário Da Baía De Marajó, Pará. Dissertação, Programa de Pós Graduação em Ecologia

Aquática e Pesca, UFPA, Belém-PA, p. 50.

https://ppgeap.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2016/PPGEAP_Dissertac%cc%a7a%cc%83o_Lucas%20Gallat%20de%20Figueiredo_2016.pdf

Frías-Espéricueta MG et al. (2022) Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: a review with special reference to shrimp and crabs. *Aquatic Toxicology* 242: 106024, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106024>.

Gaetke LM, Chow CK (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 189, 147–163. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8)

Halliwell B, Gutteridge JMC. (2007) *Free radicals in biology and medicine*. 4th Edition, Oxford University Press, New York.

Hao F, Jing M, Zhao X, Liu R (2015) Spectroscopy, calorimetry and molecular simulation on the interaction of catalase with copper ion. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*. 143: 100-106. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.01.003>

Hermes-Lima M (2004) Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Storey, K.B. (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. John Wiley & Sons, Hoboken, pp. 319-367. <https://doi.org/10.1002/047167558X.ch12>

Hong Y et al. (2020) Immune response to abamectin-induced oxidative stress in Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 188, 109889. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109889>

Keshavarzifard M, Vazirzadeh A, Sharifinia M (2021) Occurrence and characterization of microplastics in white shrimp, *Metapenaeus affinis*, living in a habitat highly affected by anthropogenic pressures, northwest Persian Gulf. *Marine Pollution Bulletin* 169, 112581. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112581>

Lushchak VI (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.* 101: 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>.

Lushchak VI (2016) Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach. *Fish Physiology and Biochemistry* 42 (2): 711–747.

Mahattanatawee K et al. (2006) Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (19): 7355–7363, 2006. DOI: 10.1021/jf060566s

Mohanty D, Samanta L (2016) Multivariate analysis of potential biomarkers of oxidative stress in *Notopterus notopterus* tissues from Mahanadi River as a function of concentration of heavy metals. *Chemosphere* 155: 28–38. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.04.035

Mukherjee A (2020). Experimental study of copper toxicity and some stress biomarkers in *Macrobrachium scabriculum* (Heller, 1862). *Journal Of Applied Aquaculture* 34 (2): 425-440. <http://dx.doi.org/10.1080/10454438.2020.1857319>.

Oba ET, Mariano W. Dos S, Santos LRB. (2009) Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, cap. 8, p. 226-247.*

Oliveira, SRS, Batista WS, Sousa, JBM., Noleto KS, Lima IMA, Andrade TSOM, Cardoso WS, Neta RNFC. (2019). Enzymatic and Histological Biomarkers in *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an Industrial Port on the North Coast of Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102, 802–810.

Piassão, JFG. et al. Análise da bioacumulação de metais e em crustáceos do gênero *Aegla* (Crustacea, Anomura). *Perspectiva, Erechim* (43) 161:111–122.

Pizzino et al (2017) Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.

Reischl E et al (2007) Distribution, adaptation and physiological meaning of thiols from vertebrate hemoglobins. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* (146) 1-2, <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.07.015>.

Santana T, Santos M, Winkale, EU (2020). Nanopartículas e peixes : atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante de tilápias (*Oreochromis niloticus*) expostas ao dióxido de titânio (TiO_2). *J Health Sci Inst.* 38 179–185. https://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/tainacan-items/34088/64449/01V38_n3_2020_p179a185.pdf.

Santos SL et al. (2020). Evaluation of the water quality in a conservation unit in Central-West Brazil: metals concentrations and genotoxicity in situ. *Chemosphere*, [S.L.], v. 251, p. 126365, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126365>.

Scandalios JG. (2005). Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res* 38 (7): 995– 1014. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2005000700003>

Silva OF (2009) Apropriação do espaço com o fator de urbanização na dinâmica das cidades modernas: o caso da APA da Fazendinha. *PRACS: Revista Eletrônica de Humanidade do curso de Ciências Sociais da UNIFAP* (2).

Siqueira AF et al (2009). Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. *Natureza on line* 7 (1): 37-42. [on line] <http://www.naturezaonline.com.br>

SOUZA, N J. *Desenvolvimento Econômico*. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2005.

Teixeira LSG et al (2006) Determinação espectrofotométrica simultânea de cobre e ferro em álcool etílico combustível com reagentes derivados da ferroína. *Quí Nova* (29) 4: 741–745, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400020>

Tudi M, Ruan HD, Wang L, Lyu, J; Sadler R; Connell D; Chu C; Phung D.T (2021) Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18(3), 1112; <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>

Uçkun M et al (2021) Acute toxicity of insecticide thiamethoxam to crayfish (*Astacus leptodactylus*): Alterations in oxidative stress markers, atpases and cholinesterase. *Acta Chimica Slovenica*, (63) 3: 521–531.

Vasconcelos SML et al (2007) Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: Main analytical methods for their determination. *Qui Nova* (30) 5: 1323–1338.

Velki M et al (2019) Pesticides diazinon and diuron increase glutathione levels and affect multixenobiotic resistance activity and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. *Environmental Sciences Europe* (31) 4: 1–18, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0186-0>.

Vidotto A et al (2013) Characterization of esterase patterns in hepatopancreas of three species of *Macrobrachium* (Palaemonidae). *Biochemical Systematics and Ecology* (47) 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.10.006>.

Vieira IM, Araujo MDA (2006) Aspectos da Socioeconomia dos Pescadores de Camarão da Ilha do Pará (PA) e Arquipélago do Bailique (AP). *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia* (19) 1. <https://doi.org/10.18764/>

Wang WN., Li, BS, Liu, JJ. et al (2012) A atividade de explosão respiratória e expressão de catalase em camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, durante exposição prolongada ao estresse de pH. *Ecotoxicology* 21, 1609-1616. DOI 10.1007/s10646-012-0937-9.

WHO (2017) Guidelines for drinking water quality: 4th edn. WHO.

Yagi K (1987) Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* (45) 2. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(87\)90071-5](https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90071-5).

Zaynab M, Al-Yahyai R, Ameen , Sharif Y, Ali L, Fatima M, Khan KA; Li S (2022). Health and environmental effects of heavy metals. *Journal Of King Saud University - Science* (34) 1: 101653. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101653>.

Zhou Q et al (2008) Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* (606) 2: 135–150. DOI:10.1016/j.aca.2007.11.018.

ANEXO A

**Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA-CPAFAP) Resultado de Solicitação de protocolo**

Número do protocolo: 012-
CEUA/CPAFAP Processo SEI:
21157.001846/2018-91

Data da entrada: 16/08/2018

Período do Projeto: Setembro de 2018 a Outubro de 2022.

Título do Projeto: Fauna parasitaria de peixes de interesse comercial em três municípios do estado do Amapá, Amazônia oriental

Prezado (a) pesquisador (a),
Em relação ao protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade a CEUA deliberou o seguinte:

- **APROVADO**, para o período solicitado e de acordo com a proposição douso de animais na metodologia apresentada no projeto.

- Por ocasião do término desse protocolo, **DEVERÁ SER APRESENTADORELATÓRIO** detalhado relacionado ao uso de animais no projeto desenvolvido.

Macapá, 27/09/2018

Atenciosamente,

Dr. Marcos Tavares
DiasPresidente da
CEUA

ANEXO B



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 50376-2	Data da Emissão: 13/11/2019 11:10:35	Data da Revalidação*: 01/07/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARCELA NUNES VIDEIRA	CPF: 843.147.532-34
Nome da Instituição: Universidade do Estado do Amapá	CNPJ: 08.186.277/0001-62

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
3	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas.
4	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos ou para realização de atividades integrantes do processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
5	Esta licença permanente NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
8	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
11	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
12	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso)
13	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0503760220191113

Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 50376-2	Data da Emissão: 13/11/2019 11:10:35	Data da Revalidação*: 01/07/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARCELA NUNES VIDEIRA	CPF: 843.147.532-34
Nome da Instituição: Universidade do Estado do Amapá	CNPJ: 08.186.277/0001-62

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
4	Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	Família	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Cichlidae
2	Gênero	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Cichlidae > Crenicichla
3	Gênero	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Cichlidae > Cichla
4	Gênero	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Cichlidae > Aequidens
5	Gênero	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Polycentridae > Mesonauta
6	Espécie	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Sciaenidae > Plagioscion > Squamosissimus
7	Espécie	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Cichlidae > Aequidens > Plagiozonatus
8	Espécie	Animalia > Chordata > Actinopterygii > Perciformes > Cichlidae > Satanoperca > Jurupari

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Universidade do Estado do Amapá	Outro

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0503760220191113

Página 2/3

