

Biomarcadores

Oral

## 90 - TOLERÂNCIA BIOLÓGICA, EFEITOS SUBLETAIS E BIOACUMULAÇÃO EM *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) EXPOSTOS AO METAL CÁDMIO

DUARTE, L. F. A., OSTANIK, P. A. G., PAÇO, M. S., FERREIRA, B. D., EVANGELISTA, M. V., MENDES, A. L. A., NOBRE, C. R., SEMMLER, M. G. M. C., MOREIRA, E. G., PEREIRA, C. D. S.

duarte.mepi@gmail.com, pedro\_pp250@hotmail.com, marina\_paco@yahoo.com.br, brudelfins2@hotmail.com, marcos.vinicius.56@hotmail.com, andre\_mendes5@yahoo.com.br, caio.biomar@gmail.com, mariliasemmler@uol.com.br, emoreira@ipen.br, camilo.seabra@unifesp.br

Palavras-chave: vermelho neutro; micronúcleo; cádmio; tolerância biológica; metal

### INTRODUÇÃO

Os contaminantes estimulam os organismos a gerarem respostas biológicas que são passíveis de identificação e quantificação. No entanto, as espécies podem se tornar mais tolerantes quando submetidas a um contaminante por determinado período, fruto de uma aclimatação fisiológica obtida durante a vida ou de seleção genética. Nos manguezais contaminados de Cubatão (SP), existem relevantes evidências que o caranguejo-uçá tenha desenvolvido uma maior resistência ao metal cádmio. Assim, o objetivo do estudo foi identificar se os espécimes de *U. cordatus* residentes deste manguezal são, de fato, mais tolerantes, por análise de bioacumulação e por meio das respostas de biomarcadores de efeito.

### METODOLOGIA

Noventa animais provenientes dos manguezais de Cubatão (CUB) e da Estação Ecológica da Juréia-Itatins (JUR: manguezal prístino) passaram por um período de aclimatação de duas semanas e, em seguida, foram expostos ao metal cádmio à 0,0025 mg/L (concentração nominal igual a metade do valor considerado seguro pela legislação CONAMA nº 357/2005) por 28 dias, totalizando 42 dias de experimento em laboratório. Quinze aquários foram utilizados (Divididos em três tratamentos: Controle [animais da Juréia expostos a água isenta de contaminantes], CUB e JUR), onde os espécimes ficaram totalmente submersos e contaram com aeração e alimentação constante (folhas verdes de *Rhizophora mangle*). Em intervalos de 7 dias, as águas dos aquários foram substituídas, os parâmetros físico-químicos obtidos e a geno e citotoxicidade (por meio da quantificação de células micronucleadas a cada mil analisadas [MN %] e a integridade da membrana lisossômica através do tempo de retenção do vermelho neutro em minutos [NRRT], respectivamente) da espécie analisadas. Antes (T-0) e após vinte oito dias de exposição ao metal (T-28), foram quantificadas as bioacumulações de cádmio em subamostras de gônadas, hemolinfa, hepatopâncreas, musculatura, brânquias e na carapaça dos animais dos três tratamentos, bem como nas amostras de água para a validação das concentrações reais testadas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações reais de cádmio ( $0,0022 \pm 0,00006$  mg/L) na água dos tratamentos JUR e CUB se aproximou da concentração nominal. Os parâmetros físico-químicos não variaram entre os tratamentos e estiveram dentro dos valores considerados como ótimos para a espécie. Em relação à genotoxicidade, os animais pertencentes ao grupo controle apresentaram uma média de 1,04 ( $\pm 1,05$  MN%) micronúcleos, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (JUR =  $8 \pm 5,45$  MN%; CUB =  $7,78 \pm 1,88$  MN%) em todas as leituras. Apenas na primeira semana (T-7), os valores médios de células micronucleadas diferiram significativamente entre CUB ( $7 \pm 1,58$  MN%) e JUR ( $17,33 \pm 3,78$  MN%).

Contudo, houve uma diminuição gradativa e significativa de MN‰ deste último tratamento logo após a primeira semana, pressupondo que talvez os indivíduos conseguiram acionar os mecanismos de reparo genético de forma mais eficaz. Já em relação à citotoxicidade, os animais pertencentes ao grupo controle apresentaram NRRT de 73,5 ( $\pm 8,18$  min.) e diferiram estatisticamente de JUR (47,14  $\pm$  13,97 min.) e CUB (39,16  $\pm$  8,98 min.) em todas as leituras realizadas. Foi registrado uma diferença estatística na segunda semana de leitura (T-14) entre os tratamentos (JUR = 51,66  $\pm$  13,22 min.; CUB = 39  $\pm$  7,74 min.). Neste caso, os animais provenientes de Cubatão apresentaram relativamente maiores danos citotóxicos em relação a Juréia desde o início do experimento, sem diferenças estatísticas entre as suas leituras. Os espécimes do tratamento JUR, por sua vez, se igualaram à citotoxicidade observada nos animais de CUB logo na primeira semana de exposição ao metal e não apresentaram nenhum tipo de recuperação significativa. No que se refere à bioacumulação, as brânquias foram o principal tecido para o acúmulo de cádmio, chegando a 443  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , seguido por hepatopâncreas (135  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), gônadas (31  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), carapaça (26  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), musculatura (6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e hemolinfa (4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). De forma geral, os animais do tratamento controle apresentaram baixas concentrações relativas nos tecidos, os espécimes de CUB apresentaram bioacumulações destacadas em quase todos os tecidos e o JUR apresentou uma bioacumulação mais representativa justamente no primeiro tecido de contato com o metal na água: as brânquias. Tal fato, pressupõe que, fisiologicamente, os caranguejos do manguezal mais conservado (JUR) encontraram dificuldades em alocar o cádmio para outros tecidos ou até eliminá-lo, uma vez que seus representantes apresentaram quase o dobro de bioacumulação (Soma total nos tecidos: CUB = 694  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e JUR = 1321  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

## CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que o cádmio promove danos subletais na espécie *U. cordatus* mesmo em baixas concentrações na água, em diferentes níveis de organização biológica e em tempos distintos após a exposição. A capacidade de tolerância e adaptação pode variar de acordo com o nível de organização analisado (genético e fisiológico). Reconhece-se que baseado nos resultados dos biomarcadores associados à bioacumulação, os animais residentes dos manguezais de Cubatão desenvolveram mecanismos de tolerância ao metal cádmio. Além disso, o estudo confirma a possibilidade de uso do caranguejo-uçá como bioindicador e espécie sentinela de monitoramentos ecotoxicológicos em regiões tropicais costeiras do Atlântico Sul.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESSA, D. M. S.; AMBROZEVICIUS, A. P. 2008. Poluição aquática e tratamento de esgotos, Cap. 04, 41-54p. In: OLIVEIRA, A. J. F. C.; PINHEIRO, M. A. A.; FONTES, R. F. C. (eds.). Panorama Ambiental da Baixada Santista. Universidade Estadual Paulista - Campus Experimental do Litoral Paulista, 1ª Edição, ISBN 978-85-61498-02-3, São Vicente (SP), 127p.
- AHEARN, G. A.; MANADAL, P. K.; MANDAL, A. 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. J. Comp. Physiol. B, New York, 174:439-452.
- AHMED, M. K.; PARVIN, E.; ARIF, M.; AKTER, M. S.; KHAN, M. S.; ISLAM, M. M. 2010. Measurements of genotoxic potential of cadmium in different tissues of fresh water climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch), using the comet assay. Environ. Toxicol. Pharmacol. 30:80-84.
- ALGHAZAL, M.; SUTIAKOVA, I.; KOVALKOVICOVA, N.; LEGATH, J.; FALIS, M.; PISTL, J. 2008. Induction of micronuclei in rat bone marrow after chronic exposure to lead acetate trihydrate. Toxicol. Ind Health. 30:587-593.

- AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C. 2013. Behavioral Ecotoxicology. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C.; RAINBOW, P. S. (ed.). Ecological Biomarkers. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- AMIARD-TRIQUET, C.; COSSU-LEGUILLE, C.; MOUNEYRAC, C. 2013. Biomarkers of defense, tolerance and ecological consequences. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (ed.). Ecological Biomarkers. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- ANDERSON, J. L.; DEPLEDGE, M. H. 1997. A survey of total mercury and methylmercury in edible fish and invertebrates from Azorean waters. *Marine Environmental Research*. 44(3):331-350.
- BELTRAME, M. O.; DE MARCO, S. G.; MARCOVECCHIO, J. E. 2011. The burrowing crab *Neohelice granulata* as potential bioindicator of heavy metals in estuarine systems of the Atlantic coast of Argentina. *Environ. Monit. Assess.* 172:379-389.
- BÉRARD, A.; BENNINGHOFF, C. 2001. Pollution-induced community tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms. *Chemosphere*. 45(4-5) 427-437.
- BERTIN, G.; AVERBECK, D. 2006. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*. 88:1549-1559.
- BLANCK, H.; WANGBERG, S. A.; MOLANDER, S. 1988. Pollution-induced community tolerance - A new ecotoxicological tool. In: CAIRNS-JR, J. & PRATT, J.R. (ed.). Functional testing of aquatic biota for estimating hazards of chemical. Philadelphia. PA: JR STP 988 American Society of Testing Material. 230p.
- BRASIL. 1965. Ministério do Meio Ambiente. Decreto nº 55.871. Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos que podem ser encontrados em pescados. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 26 mar. 1965.
- BRASIL. 1998. Ministério do Meio Ambiente. Portaria ANVISA nº 685. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 28 ago. 1998.
- BRASIL. 2004. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 5, de 21 de maio de 2004. *Diário Oficial da União - Seção 1*. Brasília, DF, 28 mai. 2004.
- BRASIL. 2005. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF.
- BRIGITTE, B. 2013. Sentinel Species. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C.; RAINBOW, P. S. (ed.). Ecological Biomarkers. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- BRUNER, A. G.; GULLISON, R. E.; RICE, R. E.; FONSECA, G. A. B. 2001. Effectiveness of parks in protecting tropical biodiversity. *Science*. 291:125-128.
- BRYAN, G. W. 1994. Pollution due heavy metals and their compounds. In: KINNE, O. (ed.). *Marine Ecology*. New York: Wiley. pp. 1289-1431.
- BURATTI, S.; RAMOS-GÓMEZ, J.; FABBRINI, E.; DELVALLS, T. A. 2012. Application of neutral red retention assay to caged clams (*Ruditapes decussatus*) and crabs (*Carcinus maenas*) in the assessment of dredged material. *Ecotoxicology*. 21:75-86.
- CALLISTO, M. 2000. Macroinvertebrados bentônicos, 139-152. In: Bozelli, R.L.; Esteves, F.A. & Roland, F. Lago Batata: impacto e recuperação de um ecossistema amazônico (eds). IB-UFRJ/SBL, Rio de Janeiro.

- CAMPANA, O.; TAYLOR, A. M.; BLASCO, J.; MAHER, W. A.; SIMPSON, S. L. 2015. Importance of Subcellular Metal Partitioning and Kinetics to Predicting Sublethal Effects of Copper in Two Deposit-Feeding Organisms. *Environ. Sci. Technol.* 49(3):1806-1814.
- ÇELİK, A.; OGENLER, O.; COMELEKOGLU, U. 2005. The evaluation of micronucleus frequency by acridine orange fluorescent staining in peripheral blood of rats treated with lead acetate. *Mutagenesis.* 20:411-415.
- CESAR, A.; CHOUERI, R. B.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; PEREIRA, C. D. S. 2012. Integrative approach for the environmental quality assessment of aquatic ecosystems: A critical review. *Global Journal of Environmental Science and Technology.* 1:2-9.
- CETESB. 2001. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. Relatório do Programa de Controle de Poluição. São Paulo (SP), 137p + 46 pranchas.
- CHOUERI, R. B.; CESAR, A.; ABESSA, D. M. S.; TORRES, R. J.; MORAIS, R. D.; RIBA, I.; PEREIRA, C. D. S.; NASCIMENTO, M. R. L.; MOZETO, A. A.; DELVALLS, T. A. 2009. Development of site-specific sediment quality guidelines for North and South Atlantic littoral zones: Comparison against national and international sediment quality benchmarks. *J. Hazard. Mater.* 170:320-331.
- CHRISTOFOLETTI, R. A.; HATTORI, G. Y.; PINHEIRO, M. A. A. 2013. Food selection by a mangrove crab: temporal changes in fasted animals. *Hydrobiologia*, 702:63-72 (DOI: 10.1007/s10750-012-1307-6).
- COLLINS, A. R.; MA, A. G.; DUTHIE, S. J. 1995. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidized pyrimidines) in human cells. *Mutat. Res.* 336:69-77.
- COLLIER, T. K.; CHIANG, M. W. L.; AU, D. W. T.; RAINBOW, P. S. 2013. Biomarkers currently used in environmental monitoring. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C.; RAINBOW, P. S. (ed.). *Ecological Biomarkers.* CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- COUNTRYMAN, P. I.; HEDDLE, J. A. 1976. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research*, 41:321-332.
- DALABONA, G.; SILVA, J. L. 2005. Período reprodutivo de *Ucides cordatus* (Linnaeus) (Brachyura, Ocypodidae) na Baía das laranjeiras, sul do Brasil. *Acta Biologica Paraense.* 34(1,2,3,4):115-126.
- DUARTE, L. F. A. 2014. Impacto geno e citotóxico em populações do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae), em seis manguezais do Estado de São Paulo, Brasil. Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus de Rio Claro, 160p. (Tese de Doutorado).
- DUARTE, L. F. A.; DURAN, R. S.; MENDONÇA, J. T.; PINHEIRO, M. A. A. 2014. The fishery for the "uçá"- crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in a mangrove area in Cananéia, State of São Paulo, Brazil. I. Fishery performance, exploitation patterns and factors affecting the catches. *Brazilian Journal of Oceanography.* 62(3):187-199.
- DUARTE, L. F. A.; PINHEIRO, M. A. A. (em preparação) Accumulation and transfer of Cd, Cu, Pb, Cr, Mn and Hg in the food chain (water-sediment-vegetation-crab) of mangroves at São Paulo State, Brazil.
- DUARTE, L. F. A.; SOUZA, C. A.; NOBRE, C. R.; PEREIRA, C. D. S.; PINHEIRO, M. A. A. (submetido, 2016). Multi-level biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae), as indicator of conservation status in mangrove areas from western Atlantic. *Marine Environmental Research.*
- EISLER, R. 2010. Introduction. In: EISLER, R. (ed.). *Compendium of Trace Metals and Marine Biota.* Elsevier, 610p.

- ESPINOSA, F.; GUERRA-GARCÍA, J. M.; GARCÍA-GÓMEZ, J. C. 2007. Sewage pollution and extinction risk: an endangered limpet as a bioindicator? *Biodivers. Conserv.* 16(2):377-397.
- FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D.; ESTÉVEZ, M. A.; DÍAZ-RAVIÑA, M.; BÅÅTHC, E. 2010. Bacterial pollution induced community tolerance (PICT) to Cu and interactions with pH in long-term polluted vineyard soils. *Soil Biol. Biochem.* 43(11):2324-2331.
- FISCARELLI, A. G.; PINHEIRO, M. A. A. 2002. Perfil sócio-econômico e conhecimento etnobiológico do catador do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), nos manguezais de Iguape (24°41'S), SP, Brasil. *Actual. Biol.* 24(77): 129-142.
- FOSSI, M. C.; CASINI, S.; SAVELLI, C.; CORBELLI, C.; FRANCHI, E.; MATTEI, N.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CORSI, I.; BAMBER, S.; DEPLEDGE, H. M. 2000. Biomarker responses at different levels of biological organization in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo[a]pyrene. *Chemosphere.* 40:861-874.
- GARCÍA-LESTÓN, J.; MÉNDEZ, J.; PÁSARO, P.; LAFFON, B. 2010. Genotoxic effects of lead: An updated review. *Environ. Int.* 36:623-636.
- GODOY, J. M.; OLIVEIRA, M. S.; ALMEIDA, C. E. B.; CARVALHO, Z. L.; SILVA, E. R.; FERNANDES, F. C.; PITANGA, F. L.; DANELON, O. M. 2008. <sup>210</sup>Po concentration in *Perna perna* mussels: looking for radiation effects. *J. Environ. Radioact.* 99:631-640.
- GONDIM, M.; ARAÚJO, F. B. 1996. Redução dos tamanhos dos caranguejos (*Ucides cordatus* L.) capturados nos manguezais de Maracanã, zona do Salgado Paraense. Anais do 3° Congresso de Ecologia do Brasil, Brasília, DF: 260.
- GOULART, M. D.; CALLISTO, M. 2003. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, 2(2):153-164.
- HARTMANN, D. L.; WALLACE, J. M.; LIMPASUVAN, V.; THOMPSON, D. W. J.; HOLTON, J. R. 2000. Can ozone depletion and global warming interact to produce rapid climate change? *PNAS.* 97(4):1412-1417.
- HOSE, J. E.; MARTIN, G. G.; GERARD, A. S. 1990. A Decapod Hemocyte Classification Scheme Integrating Morphology, Cytochemistry, and Function. *Biol. Bull.* 178:33-45.
- HUSSON, F.; JOSSE, J.; LE, S.; MAZET, J. 2012. FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining with R. R package version 1.18. <http://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR>
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2011. Proposta de Plano Nacional de Gestão para o uso sustentável do caranguejo-uçá, do guaiamum e do siri-azul. Dias-Neto, J. (Org.). Brasília: IBAMA, 156p.
- IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. 1996. R: A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics.* 5(3):299-314.
- JONES, M. B.; JOHNSON, I. 1992. Responses of the brackish-water amphipod *Gammarus duebeni* (Crustacea) to saline sewage. *Neth. J. Sea Res.* 30:141-147.
- KALMAN, J.; RIBA, I.; BLASCO, J.; DELVALLS, T. A. 2008. Is aminolevulinic acid dehydratase activity in bivalves from south-west Iberian Peninsula a good biomarker of lead exposure? *Marine Environmental Research.* 66:38-40
- KAUFMAN, L.; ROUSSEUW, P. J. 2005. Finding Groups in Data. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 368p.
- KIRSCHBAUM, A. A.; SERIANI, R.; PEREIRA, C. D. S.; ASSUNÇÃO, A.; ABESSA, D. M. S.; ROTUNDO, M. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. 2009. Cytogenotoxicity biomarkers in fat snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 32(1):151-154.

- KLERKS, P. L.; WEIS, J. S. 1987. Genetic Adaptation to Heavy Metals in Aquatic Organisms: A Review. *Environ. Pollut.* 45:173-205.
- KRAUS, M. L.; WEIS, J. S.; WEIS, P. 1988. Effects of mercury on larval and adult grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 17:355-363.
- KURA, Y.; REVENGA, C.; HOSHINO, E.; MOCK, G. 2004. Why care about fish? In: KURA, Y.; REVENGA, C.; HOSHINO, E.; MOCK, G. (ed.). *Fishing for Answers, Making Sense of Global Fish Crisis*. World Resources Institute, Washington, DC. 152p.
- LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. 1998. Numerical ecology. 2nd English Edition. New York: Elsevier Science B.V., 853p.
- LODGE, D. M.; STEIN, R. A.; BROWN, K. M.; COVICH, A. P.; BRÖNMARK, C.; GARVEY, J. E.; KLOSIEWSKI, S. P. 2006. Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: Challenges in spatial scaling. *Aust. J. Ecol.* 23(1):53-57.
- LOWE, D. M.; FOSSATO, V. U.; DEPLEDGE, M. H. 1995. Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: an in vitro study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 129:189-196.
- LUOMA, S. N.; CAIN, D. J.; HO, K.; HUTCHINSON, A. 1983. Variable of tolerance to copper in two species from San Francisco Bay. *Mar. Environ. Res.* 10:209-222.
- LUOMA, S. M.; RAINBOW, P. S. 2008. Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management. Cambridge. 573p.
- MARCHAND, J.; DENIS, F.; LAROCHE, J. 2013. Evolutionary forces that change genetic variability. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C.; RAINBOW, P. S. (ed.). *Ecological Biomarkers*. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- MARQUES, O. A. V.; DULEBA, W. 2004. Estação Ecológica Juréia-Itatins - Ambiente Físico, Flora e Fauna. Holos, Editora Ltda-ME, Ribeirão Preto, SP, 384p.
- MATOZZO, V.; MARIN, M. G. 2010. First cytochemical study of haemocytes from the crab *Carcinus aestuarii* (Crustacea, Decapoda). *European Journal of Histochemistry*, 54:44-49.
- MCGEER, J. C.; SZEBEDINSZKY, C.; MCDONALD, D. G.; WOOD, C. M. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout: 1. Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. *Aquat. Toxicol.* 50:231-243.
- MACDONALD, D.; CARR, R. S.; CALDER, F. D.; LONG, E. R.; INGERSOLL, C. G. 1996. Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*. 5(4):253-278.
- MACFARLANE, G. R.; KOLLER, C. E.; BLOMBERG, S. P. 2007. Accumulation and partitioning of heavy metals in mangroves: A synthesis of field-based studies. *Chemosphere*. 69:1454-1464.
- MARTINEZ, C. B. R.; ALVARES, E. P.; HARRIS, R. R.; SANTOS, M. C. F. 1999. A morphological study on posterior gills of the mangrove crab *Ucides cordatus*. *Tissue & Cell*, 31(3):380-389.
- MELO, G. A. S. 1996. Manual de identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do litoral brasileiro, Pleiade/FAPESP, São Paulo.
- MILIOU, H.; VERRIOPOULOS, G.; MAROULIS, D.; BOULOUKOS, D.; MORAITOU-APOSTOLOPOULOU, M. 2000. Influence of life history adaptations on the fidelity of laboratory bioassays for the impact of heavy metals (Co<sup>2+</sup> and Cr<sup>6+</sup>) on tolerance and population dynamics of *Tisbe holothuriae*. *Mar. Pollut. Bull.* 40:352-359.
- MONSERRAT, J. M.; MARTÍNEZ, P. E.; GERACITANO, L. A.; AMADO, L. L.; MARTINS, C. M. G.; PINHO, G. L. L.; CHAVES, I. S.; FERREIRA-CRAVO, M.; VENTURA-LIMA, J.; BIANCHINI, A. 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. *Comp. Biochem. Physiol. Part C*. 146:221-234.

- MORAITOU-APOSTOLOPOULOU, M.; VERRIOPOULOS, G. 1979. Some effects of sub-lethal concentrations of copper on a marine copepod. *Mar. Pollut. Bull.* 10:88-92.
- NAYLOR, C.; PINDAR, L.; CALOW, P. 1990. Inter-and Intraspecific variation in sensitivity to toxins: The effects of acidity and zinc on the freshwater crustaceans *Asellus aquaticus* (L.) and *Gammarus pulex* (L.). *Water Res.* 24:757-762.
- NEWMAN, M. C. 2013. Bioaccumulation. In: NEWMAN, M. C. (ed.). *Quantitative Ecotoxicology*. 2<sup>o</sup> Edition. CRC Press / Taylor & Francis Group, 570p.
- NIGRO, M.; FALLENI, A.; DEL BARGA, I.; SCARCELLI, V.; LUCCHESI, P.; REGOLI, F.; FRENZILLI, G. 2006. Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: transplanted versus native mussels. *Aquat. Toxicol.* 77:339-347.
- NOLSAAEN, K.; HOLM, P. E.; PRIEMÉ, A.; HUNG, N. N. & BRANDT, K. K. 2011. Comparison of aerobic and anaerobic [<sup>3</sup>H]leucine incorporation assays for determining pollution-induced bacterial community tolerance in copper-polluted, irrigated soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 30(3):588-595.
- NOTTEN, M. J. M.; OOSTHOEKL, A. J. P.; ROZEMA, J.; AERTS, R. 2005. Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environ. Pollut.* 138:178-190.
- NUDI, A. H.; WAGENER, A. L. R.; FRANCONI, E.; SETTE, C. B.; SARTORI, A. V.; SCOFIELD, A. L. 2010. Biomarkers of PAHs exposure in crabs *Ucides cordatus*: Laboratory assay and field study. *Environ. Res.* 110:137-145.
- OGILVIE, L. A.; GRANT, A. 2008. Linking pollution induced community tolerance (PICT) and microbial community structure in chronically metal polluted estuarine sediments. *Mar. Environ. Res.* 65:187-198.
- OLIVEIRA-NETO, J. F.; BOEGER, W. A.; PIE, M. R.; OSTRENSKY, A.; HUNGRIA, D. B. 2007. Genetic structure of populations of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Decapoda: Ocypodidae) at local and regional scales. *Hydrobiologia.* 583:69-76.
- ORTEGA, P.; ZANOTTO, F. P. 2012. Cellular cadmium transport in gills and hepatopancreas of *Ucides cordatus*, a mangrove crab, 107-122. In: SARUWATARI, K. & NISHIMURA, M. (eds.). *Crabs: Anatomy, Habitat and Ecological Significance*. 1<sup>a</sup> ed. Hauppauge NY: Nova Science Publishers, 156p.
- OTOMO, P. V.; REINECKE, S. A. 2010. Increased cytotoxic and genotoxic tolerance of *Eisenia fetida* (Oligochaeta) to cadmium after long-term exposure. *Ecotoxicology.* 19:362-368.
- PAGANINI, C. L.; BIANCHINI, A. 2009. Copper accumulation and toxicity in isolated cells from gills and hepatopancreas of the blue crab (*Callinectes sapidus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 28(6):1200-1205.
- PATRICK, L. 2003. Toxic metals and antioxidants. Part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. *Altern. Med. Rev.* 8(2):106-28.
- PERALES-VELA, H. V.; PEÑA-CASTRO, J. M.; CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. 2006. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere.* 64:1-10.
- PEREIRA, C. D. S.; ABESSA, D. M. S.; CHOUERI, R. B.; ALMAGRO-PASTOR, V.; AUGUSTO, C.; MARANHO, L. A.; DÍAZ, M.; LAURA, M.; TORRES, R. J.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; ALMEIDA, J. E.; CORTEZ, F. S.; MOZETO, A. A.; SILBINGER, H. L. N.; SOUSA, E. C. P. M.; DEL VALLS, T. A.; BAINY, A. C. D. 2014. Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach. *Mar. Environ. Res.*, 96:118-126.
- PEREIRA, C. D. S.; MARTÍN-DÍAZ, M. L.; CATHARINO, M. G. M.; CESAR, A.; CHOUERI, R. B.; TANIGUCHI, S.; ABESSA, D. M. S.; BÍCEGO, M. C.; VASCONCELLOS, M. B. A.; BAINY, A. C. D.; SOUSA, E. C. P. M.; DELVALLS, T. A. 2012. Chronic contamination

assessment integrating biomarkers' responses in transplanted mussels-A seasonal monitoring. *Environ. Toxicol.* 27: 257-267.

PEREIRA, C. D. S.; MARTÍN-DÍAZ, M. L.; ZANETTE, J.; AUGUSTO, C.; CHOUERI, R. B.; ABESSA, D. M. S.; CATHARINO, M. G. M.; VASCONCELLOS, M. B. A.; BAINY, A. C. D.; SOUSA, MOREIRA, E. C. P.; DEL VALLS, T. A. 2011 Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone (São Paulo, Brazil). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74:1257-1264.

PESCE, S.; LISSALDE, S.; LAVIEILLE, D.; MARGOUM, C.; MAZZELLA, N.; ROUBEIX, V.; MONTUELLE, B. 2010. Evaluation of single and joint toxic effects of diuron and its main metabolites on natural phototrophic biofilms using a pollution-induced community tolerance (PICT) approach. *Aquat. Toxicol.* 99(4):492-499.

PETTS, J. 1999. Introduction to environmental impact assessment in practice: fulfilled potential or wasted opportunity? In: PETTS, J. (ed.). *Handbook of Environmental Impact Assessment: Impact and Limitations*. Blackwell Science Ltd. 450p.

PIAO, F.; CHENG, F.; CHEN, H.; LI, G.; SUN, X.; LIU, S. 2007. Effects of zinc coadministration on lead toxicities in rats. *Ind. Health.* 45:546-551.

PINHEIRO, M. A. A.; RODRIGUES, A. M. T. 2011. Crustáceos sobre-explotados e o Plano Nacional de Gestão dos caranguejos uçá (*Ucides cordatus*), guaiamú (*Cardisoma guanhumi*) e do siri-azul (*Callinectes sapidus*): uma estratégia para evitar que passem ao "status" de ameaçados de extinção. *Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha*, 2(1): 50-57.

PINHEIRO, M. A. A.; DUARTE, L. F. A. (em preparação). Environmental conservation status of mangroves at São Paulo State, Brazil: solid residues and evaluation of metal concentrations in water and sediment.

PINHEIRO, M. A. A.; DUARTE, L. F. A.; TOLEDO, T. R.; ADAMS, M. A.; TORRES, R. A. 2013. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 185(10):8273-8285 (DOI: 10.1007/s10661-013-3172-9).

PINHEIRO, M. A. A.; FISCARELLI, A. G.; HATTORI, G. Y. 2005. Growth of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura, Ocypodidae). *Journal of Crustacean Biology.* 25(2):293-301.

PINHEIRO, M. A. A.; OLIVEIRA, A. J. F. C.; FONTES, R. F. C. 2008. Introdução ao panorama ambiental da Baixada Santista, Cap. 01, 1-4. In: OLIVEIRA, A. J. F. C.; PINHEIRO, M. A. A.; FONTES, R. F. C. (Orgs.). *Panorama ambiental da Baixada Santista*. Universidade Estadual Paulista - Campus Experimental do Litoral Paulista, 1ª Edição, ISBN 978-85-61498-02-3, São Vicente, SP, 127p.

PINHEIRO, M. A. A.; SILVA, P. P. G.; DUARTE, L. F. A.; ALMEIDA, A. A.; ZANOTO, F. F. 2012. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 81:114-121.

PINHEIRO, M. A. A.; TOLEDO, T. R. 2010. Malformation in the crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), in São Vicente (SP), Brazil. *Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha*, 1(1): 1-5.

POMPEU, P. S.; ALVES, C. B. M. 2003. Local fish extinction in a small tropical lake in Brazil. *Neotrop. ichthyol.* 1(2): 133-135. ISSN 1679-6225.

RAINBOW, P. S. 2007. Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environ. Int.* 33:576-582

RAINBOW, P. S.; BLACK, W. H. 2005. Cadmium, zinc and uptake of calcium by two crabs, *Carcinus maenas* and *Eriocheir sinensis*. *Aquat. Toxicol.* 72:45-65.

- REDDY, P. S.; REDDY, P. R. SAINATH, S. B. 2011. Cadmium and mercury-induced hyperglycemia in the fresh water crab, *Oziotelphusa senex senex*: Involvement of neuro endocrine system. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74:279-283.
- ROMERO-RUIZ, A.; ALHAMA, J.; BLASCO, J.; GÓMEZ-ARIZA, J. L.; LÓPEZ-BAREA, 2008. New metallothionein assay in *Scrobicularia plana*: Heating effect and correlation with other biomarkers. *Environmental Pollution.* 156:1340-1347.
- ROSE, W. L.; ANDERSON, S. L. 2005. Genetic Ecotoxicology, 126-132. In: *Encyclopedia of Toxicology*. 2nd ed., Elsevier Ltd., Oxford: UK.
- ROSS, K.; COOPER, N.; BIDWELL, J. R.; ELDER, J. 2002. Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: A comparison between populations from contaminated and references sites. *Mar. Pollut. Bull.* 44:671-679.
- RUTGERS, M.; VERLAAT, I. M. V.; WIND, B.; POSTHUMA, L.; BREURE, A. M. 2009. Rapid method for assessing pollution-induced community tolerance in contaminated soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 17(11):2210-2213.
- SANT'ANNA, B. S.; BORGES, R. P.; HATTORI, G. Y.; PINHEIRO, M. A. A. 2014. Reproduction and management of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea, Brachyura, Ucididae) at Iguape, São Paulo, Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences.* 86(3):63-73.
- SCARPATO, R.; MIGLIORE, L.; ALFINITO-COGNETTI, G.; BARALE, R. 1990. Induction of micronucleus in gill tissue of *Mytilus galloprovincialis* exposed to polluted marine waters. *Mar. Pollut. Bull.* 21(2):74-80.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN, G. 1986. Guia para estudo de áreas de manguezal: Estrutura, Função e Flora. São Paulo, Caribbean Ecological Research, 150p.
- SEOANE, A. I.; DULOUT, F. N. 2001. Genotoxic ability of cadmium, chromium and nickel salts studied by kinetochore staining in the cytokinesis-blocked micronucleus assay. *Mutat. Res.* 490:99-106.
- SIEGEL, S.; CASTELLAN, N. J. 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences* (2nd Ed.). New York, NY: McGraw-Hill. 213-214p.
- SIGEL, A.; SIGEL, H.; SIGEL, R. K. O. 2009. *Metallothionein and Related Chelators*. Cambridge, UK: RSC Publishing.
- SILVA, J. S. V.; FERNANDES, F. C.; SOUZA, R. C. C. L.; LARSEN, K. T. S.; DANELON, O. M. 2004. Água de Lastro e Bioinvasão. In: *Água de Lastro e Bioinvasão*. SILVA, J. S. V. & SOUZA, R. C. L. (eds.). Interciência.
- SILVA, J.; FREITAS, T. R. O.; MARINHO, J. R.; SPEIT, G.; ERDTMANN, B. 2000. An alkaline single-cell gel electrophoresis (comet assay) assay for environmental biomonitoring with native rodents. *Genet. Mol. Biol.* 23:241-245.
- SILVESTRE, F.; DIERICK, J. F.; DUMONT, V.; DIEU, M.; RAES, M.; DEVOS, P. 2006. Differential protein expression profiles in anterior gills of *Eriocheir sinensis* during acclimation to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 76:46-58.
- STUHLBACHER, A.; MALTBY, L. 1992. Cadmium resistance in *Gammarus pulex* (L.). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 22:319-324.
- SUZUKI, J. S.; KODAMA, N.; MOLOTKOV, A.; AOKI, E.; TOHYAMA, C. 1998. Isolation and identification of metallothionein isoforms (MT-1 e MT-2) in the rat testis. *Biochem. J.* 334:695-701.
- TAPISSO, J. T.; MARQUES, C. C.; MATHIAS, M. L.; RAMALHINHO, M. G. 2009. Induction of micronuclei and sister chromatid exchange in bone-marrow cells and abnormalities in sperm of Algerian mice (*Mus spretus*) exposed to cadmium, lead and zinc. *Mutat. Res.* 678:59-64.

- TAYLOR, A. M.; MAHER, W. A. 2012. Exposure-dose-response of *Anadara trapezia* to metal contaminated estuarine sediments. 2. Lead spiked sediments. *Aquat. Toxicol.* (116-117):79-89.
- TERLIZZI, A.; SCUDERI, D.; FRASCHETTI, S.; ANDERSON, M. J. 2005. Quantifying effects of pollution on biodiversity: a case study of highly diverse molluscan assemblages in the Mediterranean. *Mar. Biol.* 148: 293-305.
- TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYARNAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J. C. & SASAKI, Y. F. 2000. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen.* 35(3):206-221.
- TLILI, A.; CORCOLL, N.; BONET, B.; MORIN, S.; MONTUELLE, B.; BÉRARD, A.; GUASCH, H. 2011. In situ spatio-temporal changes in pollution-induced community tolerance to zinc in autotrophic and heterotrophic biofilm communities. *Ecotoxicology.* 20(8):1823-1839.
- TOLEDO, T. R. 2007. Avaliação do impacto genotóxico em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) em dois manguezais do Sudeste brasileiro. Monografia de Conclusão de Curso, Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus Experimental do Litoral Paulista, São Vicente, SP, 28p.
- TORRES, R. J.; CESAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; CHOUERI, R. B.; ABESSA, D. M. S.; NASCIMENTO, M. R. L.; FADINI, P. S.; MOZETO, A. A. 2012. Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Mercury in Oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from Two Brazilian Estuarine Zones. *International Journal of Oceanography.* ID: 838320. 8 pg. doi:10.1155/2012/838320.
- VIARENGO, A.; BURLANDO, B.; DONDERO, F.; MARRO, A.; FABRI, R. 1999. Metallothionein as a tool in biomonitoring programmes. *Biomarkers*, 4:455-466.
- VIARENGO, A.; PONZANO, E.; DONDERO, F.; FABRI, R. 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: application to Mediterranean and Antarctic Molluscs. *Mar. Environ. Res.* 44:69-84.
- VILHENA, M.S.P.; COSTA, M.L. & BERREDO, J.F. 2012. Accumulation and transfer of Hg, As, Se, and other metals in the sediment-vegetation-crab-human food chain in the coastal zone of the northern Brazilian state of Pará (Amazonia). *Environ. Geochem. Health.* DOI 10.1007/s10653-013-9509-z.
- WOODWELL, G. M.; HOBBIE, J. E.; HOUGHTON, R. A.; MELILLO, J. M.; MOORE, B.; PETERSON, B. J.; SHAVER, G. R. 1983. Global Deforestation: Contribution to Atmospheric Carbon Dioxide. *Science.* 222(4628):1081-1086. DOI: 10.1126/science.222.4628.1081
- WORM, B.; HILBORN, R.; BAUM, J. K.; BRANCH, T. A.; COLLIE, J. S.; COSTELLO, C.; FOGARTY, M. J.; FULTON, E. A.; HUTCHINGS, J. A.; JENNINGS, S.; JENSEN, O. P.; LOTZE, H. K.; MACE, P. M.; MCCLANAHAN, T. R.; MINTO, C.; PALUMBI, S. R.; PARMA, A. M.; RICARD, D.; ROSENBERG, A. A.; WATSON, R.; ZELLER, D. 2009. Rebuilding Global Fisheries. *Science.* 325:578-585.
- XIE, L.; KLEKS, P. L. 2004. Fitness cost of resistance to cadmium in the least killifish (*Heterandria formosa*). *Environ. Toxicol. Chem.* 23:1499-1503.
- WANG, W. X. 2011. Incorporating exposure into aquatic toxicological studies: an imperative. *Aquat. Toxicol.* 105:9-15.
- ZAR, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis.* 4th Ed. Prentice Hall. 663p.

## **FONTE FINANCIADORA**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FAPESP Processo nº 2014/13448-2

(Estudo de Pós-Doutorado)