



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

IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO EM ELASMOBRÂNQUIOS COSTEIROS DO
NORDESTE: ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Beatriz de Mello Carvalho Rey

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

Prof. Dr. Paulo José Duarte Neto

Orientador

Prof.(a) Dr.(a) Rosângela Paulo

Teixeira Lessa

Co-orientador

Recife,
2023

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

Nome do mestrando

Título do trabalho

Nº folhas.: il.

Orientador: Paulo José Duarte Neto
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura). Departamento de Pesca e Aquicultura.
Inclui bibliografia

CDD [Nº]

1. Palavra-chave

2. Palavra-chave

I. Nome do Orientador

II. Título

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

IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO EM ELASMOBRÂNQUIOS COSTEIROS
DO NORDESTE: ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Beatriz de Mello Carvalho Rey

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

Prof. Dr./Profa. Dr. Paulo José Duarte Neto

Orientador
DEINFO/UFRPE

Prof. Dr./Profa. Dra. Rosângela Paula Teixeira Lessa

Co-orientadora
DEPAQ/UFRPE

Dedicatória

Dedico este trabalho a Fernanda de Mello e Aldemy de Azevedo

Agradecimentos

Agradeço à CAPES pelo fomento necessário a pesquisa, ao PPG Recursos Pesqueiros e Aquicultura, e principalmente, aos meus professores orientadores Paulo José Duarte Neto e Rosângela Paula Teixeira Lessa, pela confiança, por todo apoio durante esses dois anos, atenção, respeito, orientação e dedicação a nosso projeto; sou muita grata por ser orientanda dos dois.

Ao Laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas (DIMAR) e todos os amigos que fiz: Leandro, obrigada pela motivação e direção, sem você não estaria aqui; Heitor, obrigada pela seu amor, por todas risadas e toda ajuda nos processamentos; Philippe, obrigada por todo ensinamento sobre elasmos, todos os conselhos; Amanda G., obrigada pela sonoridade, pela loucura e carinho; Lucas obrigada pela paciência, parceria e amizade; Rosana, obrigada pela proteção; Laís, obrigada pela felicidade e loucura compartilhadas; Jeff, obrigada pela amizade e parceria; Rafael, obrigada pela maturidade e bom humor; Chico, obrigada pelos inumeros ensinamentos sobre dinâmica, pela coca e bom humor; Mikaela obrigada pelo amor, carinho e cuidado.

Ao Laboratório de Diagnóstico Animal (LDA) pela parceria fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa, pelo conhecimento adquirido com processamento, leitura e análise histológica e os amigos feitos. Agradeço ao professor Francisco Leite por todo suporte necessário, pelas respostas instantâneas, orientação precisas, pelas fotos maravilhosas e por compartilhar seu vasto conhecimento de leve e tranquila. Ao João, pelo processamento das amostras. A Telma S. Lima, pela amizade conquistada, por todas as lâminas lidas e relidas, por toda paciência, por todos momentos que pudemos passar juntas, pela dedicação e amor que tem com o ensinar.

Por fim e não menos importante, agradeço imensamente/infinitamente a minha família por acreditar nos meus sonhos e me apoiar em tudo que faço. Obrigada Mãe Fernanda de Mello, por ser um exemplo de força e coragem e me mostrar que devemos correr atrás do que almejamos; Obrigada Vô Aldemy, por ser meu porto seguro, tudo de melhor na minha vida. Sem vocês eu não poderia ser ou fazer nada. Obrigada Arita Indira, por ter feito parte disso em cada segundo e ser minha família agora. Obrigada Bianca Avelar, por me mostrar toda força que tenho.

Resumo

Cerca de 79 espécies de tubarões e 120 raias estão ameaçadas de extinção mundialmente. As principais ameaças para elasmobrânquios inclui a pesca e a poluição por contaminantes, de modo que compreender as respostas fisiológicas deste táxon e quais processos patológicos envolvidos é crucial para elaborar estratégias de enfrentamento e garantir seu bem-estar. O monitoramento de elasmobrânquios no meio ambiente deve ser realizado na tentativa de obter o equilíbrio das espécies e boa gestão pesqueira. Nesse contexto, o objetivo estudo foi monitorar através dos achados histopatológicos em fígado, rim e brânquias os possíveis impactos causados pelos efluentes contaminantes derramamento de óleo de 2019 em *R. porosus* (RP) e *H. guttatus* (HG), e análises de tecido muscular para detecção de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos na costa de Pernambuco, Brasil. A idade foi determinada pelos parametros de Gianeti et al. (2019) para *H. guttatus* e para *R. porosus* por Lessa et al. (2009), tempo de exposição ao óleo (TEO) baseado no data do derramamento e subtraído pelo período de captura dos animais; a quantificação histopatológica se deu através da metodologia de Bernet (1999) adaptada, e a metodologia de Zimmerli (2007) usado na identificação de comprometimento tecidual; a determinação de HPA com a Extração Acelerada por Solvente (ASE) com Purificação In-cell e GC-M. 71 espécimes foram obtidas do desembarque pesqueiro nos litorais norte com 69 indivíduos e sul com 3. O órgão mais comprometido foi as brânquias em ambas espécies. Os achados histopatológicos foram similares variando o grau de intensidade entre espécies, na brânquia: fusinamento lamelar, hiperplasia celular, hipertrofia celular, fibrose, necrose, constrição e a presença de tecido mixomatos; nos fígados: desorganização do padrão lobular; degeneração microvacuolar e macrovacuolar, necrose, hepatite mononuclear; Centros melanomacrófagos; nos rins: espessamento capsular; cilindro hialino, fibrose, necrose, inflamação mononuclear, centro melanomacrófagos, glomerulonefrite proliferativa; glomerulonefrite membranosa; glomeruloesclerose. Ao todo, nove compostos de HPA's foram detectados, dentre eles criseno, benzo(a)antraceno e benzo(e) pireno em ambas espécies. As concentrações encontrados pelo somatório dos hidrocarbonetos totais não ultrapassam o limiar definido pela ANVISA e variaram de 1,06 à 10,17 ng g⁻¹ para $\sum 16HPA$ e 1,16 à 13,83 ng g⁻¹ $\sum 38HPA$ em *R. Porosus* e em *H. guttatus* entre 0,64 e 11,04 ng g⁻¹ para $\sum 16HPA$ e entre 0,64 e 12,59 ng g⁻¹ $\sum 38HPA$. Pelos Índices (Ifshes e Iorg) 71% das raias e 60% dos tubarões analisados estão com danos teciduais graves, com morfologia anormal do tecido, sendo indicativos graves de stress e injurias consideradas crônicas pelo grau de intensidade. Os HPA's detectados evidenciam o risco a toxinas carcinogênicas, e que indicam exposição a compostos de origem pirolíticas advindos da queima de combustíveis fósseis. Este trabalho proporcina um parâmetro de monitoramento ambiental para espécies de elasmobrânquios costeiras. Ademais, fornece o um dos primeiros subsídios histopatológico em elasmobrânquios bioindicadores de poluição no o Brasil.

Palavras-chave: Bioindicador; Brânquias; Índice Bernet; Melanomacrófagos;

Monitoramento;

Abstract

Approximately 79 species of sharks and 120 species of rays are globally threatened with extinction. The primary threats to elasmobranchs include fishing and pollution from contaminants. Understanding the physiological responses of this taxon and the underlying pathological processes is crucial for developing coping strategies and ensuring their well-being. Environmental monitoring of elasmobranchs should be conducted to achieve species balance and effective fisheries management. In this context, the objective of this study was to monitor the potential impacts caused by contaminant effluents and the 2019 oil spill on *R. porosus* (RP) and *H. guttatus* (HG) through histopathological findings in the liver, kidney, and gills, as well as muscle tissue analysis for detecting Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) on the coast of Pernambuco, Brazil. The age of the specimens was determined based on parameters by Gianeti et al. (2019) for *H. guttatus* and by Lessa et al. (2009) for *R. porosus*. The oil exposure duration (TEO) was calculated from the spill date and subtracted by the capture period of the animals. Histopathological quantification was performed using the adapted Bernet (1999) methodology, and Zimmerli's (2007) technique was used to identify tissue damage. PAH determination was carried out using Accelerated Solvent Extraction (ASE) with In-cell Purification and GC-M. A total of 71 specimens were obtained from fishing landings in the northern and southern coastal regions, with 69 individuals in the north and 3 in the south. The most affected organ was the gills in both species. Histopathological findings were similar, varying in intensity between species. In the gills, these findings included lamellar fusion, cellular hyperplasia, cellular hypertrophy, fibrosis, necrosis, constriction, and the presence of myxomatous tissue. In the livers, observations included disorganization of the lobular pattern, microvacuolar and macrovacuolar degeneration, necrosis, mononuclear hepatitis, and melanomacrophage centers. Kidney abnormalities consisted of capsular thickening and hyaline cylinders; fibrosis; necrosis; mononuclear inflammation; melanomacrophage centers; proliferative glomerulonephritis; membranous glomerulonephritis; and glomerulosclerosis. In total, nine PAH compounds were detected, including chrysene, benzo(a)anthracene, and benzo(e)pyrene in both species. The concentrations of total hydrocarbons did not exceed the threshold defined by ANVISA and ranged from 1.06 to 10.17 ng g⁻¹ for $\Sigma 16\text{HPA}$ and 1.16 to 13.83 ng g⁻¹ for $\Sigma 38\text{HPA}$ in *R. porosus* and *H. guttatus*, respectively. The indices (Ifshes and Iorg) indicate that 71% of rays and 60% of sharks analyzed have severe tissue damage, with abnormal tissue morphology, suggesting chronic stress and injuries. The detected PAHs highlight the risk of carcinogenic toxins and indicate exposure to pyrolytic compounds originating from fossil fuel combustion. This work provides a parameter for environmental monitoring of coastal elasmobranch species and offers one of the first histopathological insights into pollution bioindicators in Brazil.

Key words: Bioindicator; gills; Index Bernet; melanomacrophages; monitore;

Lista de Figuras

Figura 1: Imagem de satélite do litoral de Pernambuco, destacando-se os pontos de coleta de elasmobrânquios, p1: Barra de Catuama; p2: Itamaracá; p3:Itapissuma; p4: Cabo de Santo agostinho.....	23
Figura 2: Fotomicrografia das lesões branquiais em <i>R porosus</i> e <i>H guttatus</i>	31
Figura 3: Fotomicrografia das lesões hepáticas em <i>R porosus</i> e <i>H guttatus</i>	32
Figura 4: Fotomicrografia das lesões renais em <i>R porosus</i> e <i>H guttatus</i>	33
Gráfico 1: Frequência absoluta de lesões por órgão em <i>H. guttatus</i>	34
Gráfico 2: Frequência absoluta de lesões por órgão em <i>R. porosus</i>	35
Gráfico 3: Representativo de Ifshes em <i>H. guttatus</i>	37
Gráfico 4: Representativo de Ifshes <i>R. pororsus</i>	37
Figura 5: Correlação de spearman para <i>H. guttatus</i>	40
Figura 6: Correlação de spearman para <i>R. porosus</i>	41
Figura 7: Teste de Kruskal Wallis para Indices de Orgão e Ifishes.....	42

Lista de tabelas

Tabela 1: Adaptação da metodologia de Bernet (1999) proposta no presente estudo para avaliação de elasmobrânquios e peixes ósseos.....	26
Tabela 2: Espécie, número de indivíduos, arte de pesca, sexo e regiões de captura no litoral dos elasmobrânquios avaliados; Sexo: (Fêmea/Macho), (-) ausente.....	28
Tabela 3: Idade, Tempo de Exposição e Índices Histopatológicos, média e desvio padrão das espécies por sexo (Fêmea/macho).....	36

Lista de Abreviaturas

ASE – Extração Acelerada por Solvente

ATSDR- Agency for Toxic Substances and Disease Registry

CETESB- Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

EI – Ionização por Elétrons EPA

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations

FS – Full Scan

GC – Cromatografia gasosa

GC-MS – Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

GPC – Cromatografia de Permeação em Gel

HPA- Hidrocarboneto Policíclico Aromático

IAEA – International Atomic Energy Agency

IARC – Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer

INCA- Instituto Nacional de Câncer

ITD – Detector de Armadilha de Íons

LOD – Limite de Detecção

LOQ – Limite de Quantificação

MRC – Material de Referência Certificado

MS – Espectrometria de Massas

NIST – National Institute of Standard and Technology

PLE – Extração com Líquido Pressurizado

SIM – Monitoramento de Íons Seleccionados

SOFIA- The State of World Fisheries and Aquaculture

SPE – Extração em Fase Sólida

SPLE – Extração Seletiva com Líquido Pressurizado

Sumário

Dedicatória	4
Agradecimentos	5
Resumo	6
Abstract	7
Lista de figuras	8
Lista de tabelas	9
Lista de abreviaturas	10
1- INTRODUÇÃO GERAL	12
1.1 OBJETIVOS	17
Capítulo 1 - IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO DE ELASMOBRÂNQUIOS COSTEIROS DO NORDESTE: ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	18
Abstract	20
Introdução	21
Material e métodos	23
Amostragem e estimativa de idades das amostras	23
Histopatologia	24
Determinação de HPA	26
Análises Estatísticas	27
Resultados	28
Caracterização do Indivíduos	28
Histopatologia: Biomarcadores e Índices	29
HPA	38
Estatística	40
Discussão	42
Conclusão	49
Referencias	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS	61

1- INTRODUÇÃO GERAL

A classe Chondrichthyes é representada subclasse Elasmobranchii (LESSA, et al., 1999) que abrange os tubarões e raias. Os elasmobrânquios são marcados pelo sucesso evolutivo, seu surgimento é datado à mais de 420 milhões de anos (TITAK et al., 2020) é um dos vertebrados mais antigos e variados ecologicamente possuindo todos os modos de reprodução existentes (PRIEDE et al., 2006;). Possuem funções primordiais no ambiente marinho ocupando níveis tróficos de predadores de topo e mesopredadores (GOMES, et al., 2020).

Os elasmobrânquios distribuíem-se mundialmente nos continentes, em ecossistemas marinhos, estuarinos e dulcícolas (GADIG, 2001). A Região Nordeste do Brasil possui diversidade de espécies de raias (OLIVEIRA, et al., 2019) e participa da jornada migratória de algumas espécies de tubarões pelágicos, como tubarão baleia e tubarão tigre (LESSA et al., 1999; BEZERRA et al., 2021).

O *Rhizoprionodon porosus* (RP) é um tubarão pertencente a Família Carcharhinidae, distribuí-se no atlântico ocidental de Bahamas até o Uruguai (COMPAGNO, 1984), no Brasil é abundante na costa norte e nordeste (LUCENA e LESSA, 2019). Possui comprimento máximo 1,2 m, com coloração acinzentada dorsalmente e alguns pontos brancos em adultos, habita águas costeiras, enseadas e salobras e arenosos (LUCENA e LESSA, 2019.; GOMES, et al., 2019.; EBERT, et al 2013). A espécie é vivípara placentária, produz até 8 embriões por parto com ciclo de reprodução anual (GOMES et al., 2019; FIGUEIREDO, 1977). É um mesopredador oportunista; alimenta-se de moluscos cefalópodes (lulas), crustáceos (camarões) e peixes ósseos, (EBERT, et al., 2013; GOMES et al., 2019).

A *Hypanus guttatus* (HG) é uma raia da Família Dasyatidae, possui formato de diamante com focinho pronunciado, coloração dorsal castanha acinzentada ou oliva, com largura de disco máxima de 2m (LESSA et al., 1999; GOMES et al., 2019). Distribuí-se pelo atlântico, no sul do Golfo do México até sul do Brasil; utiliza regiões estuarinas de fundos lamacentos e arenosos, possui hábito de se enterrar e capacidade de tolerar alta amplitude de salinidade (MENNI e LESSA, 1998; GOMES et al., 2019; GIANETI, 2019) é vivípara lecitotrófica com trofonemata, gerando até 6 embriões; generalista oportunista e alimenta-se preferencialmente por crustáceos, porém poliquetas e moluscos também fazem parte, possui hábitos bentônicos (QUEIROZ, 2017).

Ambas espécies alcançam de 70- 90 metros de profundidade, (GOMES et al., 2019) e representam significativa parcela dos desembarques pesqueiros na costa brasileira, na pesca artesanal e industrial (MELO et al., 2015; LESSA et al., 1999; WOSNICK et al., 2019). Além da pressão pesqueira, este táxon apresenta alta vulnerabilidade às ações antrópicas (STEVENS et al., 2000; LESSA., 1999) principalmente devido aos fatores biológicos e populacionais (maturidade sexual tardia, crescimento lento, alta longevidade e baixa fecundidade. Tendo uma tendência a acúmulo concentrações significativas de poluentes ambientais (CARRIER et al., 2010).

Mundialmente os elasmobrânquios estão sendo expostos de maneira crônica a todos os tipos de compostos orgânicos e inorgânicos, alguns deles carcinogênicos (TITAK et al., 2020; GILBERT, et al., 2015; MULL, et al., 2013; VAS, 1991;). Dentre os compostos orgânicos destacam-se os de origem petrogênica que distribui-se no ambiente marinho após derramamento, acidente e/ou vazamentos de petróleo nos oceanos e plataformas continentais. Nos últimos anos, uma grande quantidade de acidentes envolvendo derramamento de petróleo aconteceram no mundo, com numerosa liberação de compostos orgânicos no ambiente aquático (HONDA e SUZUKI, 2020).

Recentemente o litoral Nordestino brasileiro foi devastado por um extenso derramamento de petróleo. Conforme o IBAMA (2023), esse derramamento poderia ter acontecido a uma distância de 400 a 700 km da costa brasileira, onde é possível que o óleo tenha flutuado por aproximadamente 40 dias até atingir a costa nordestina (BONTEMPO, 2023). O vazamento atingiu mais de dois mil quilômetros, alcançou onze estados do Nordeste e impactou dois estados do Sudeste do país, 120 municípios e 724 localidades, ficando marcado como o maior desastre ambiental da história do Brasil (ARAÚJO, et al., 2020) e um dos derramamentos mais extensos registrados no mundo (PENA et al., 2020).

O estado de Pernambuco sofreu forte comprometimento na biodiversidade marinha incluindo peixes, mamíferos, aves e ervas marinhas; em alguns dos relatórios disponibilizados pelo estado, registrou-se a limpeza de 1.650 toneladas de resíduos (óleo misturado com areia e outros materiais) desde o primeiro reporte de manchas de óleo na praia de São José da Coroa Grande (BONTEMPO, 2023).

O petróleo ou óleo cru ou bruto corresponde a uma mistura de diversas moléculas e ligações, dentre elas as ligações carbono hidrogênio (SZKLO e ULLER, 2008), algumas toxinas conhecidas como compostos orgânicos voláteis (VOCs), Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA), sulfeto de hidrogênio e metais pesados

(PENA et al., 2020). O petróleo é originado a partir de processos geoquímicos da matéria orgânica, sendo os HPA's os seus principais componentes, constituídos exclusivamente por Hidrogênio e Carbono, com dois ou mais anéis aromáticos condensados. São compostos de grande relevância ambiental no qual representam uma família de mais de 100 compostos orgânicos e são encontrados onipresentes no meio ambiente (ar, água, solo e alimentos), (INCA, 2012; 2021; CETESB, 2018). Mesmo tendo alta persistência e importância ambiental destes compostos pouco sabe-se sobre efeitos destes compostos para com muitas espécies aquáticas. A escassez de investigações a cerca das interações entre xenobióticos e elasmobrânquios é marcante, e superior quando comparada com peixes ósseos (TITAK et al., 2020).

No Brasil, até o momento apenas um registro comprovou presença de HPA em raias da espécie *Pseudobatos horkelii*, a partir dos tecidos muscular, sanguíneo, branquial, hepático e ovariano; sendo detectada com concentrações moderadas de Benzo(a) antraceno, Benzo(g,h,i)perileno, Benzo(a)pireno, Benzo(a)fluoranteno, criseno e fluoranteno. As concentrações encontradas foram correlacionadas com alta da atividade portuárias e navais, situada próximo a um dos maiores portos do Rio Grande, na região Sul do Brasil, na Praia do Cassino (MARTINS et al., 2020).

Além das dificuldades apresentadas para o táxon relacionadas a pesca e vulnerabilidade ambiental, a ausência de estudos científicos envolvendo fisiologia básica, metabolismo são marcantes. Lesões, quantitativos celulares e respostas ao estresse são temáticas pouco conhecidas para os elasmobrânquios. Ao longo dos anos apenas alguns trabalhos trazem a histopatologia para o grupo como Alves, (2023), Alesci (2022), Takatsuka (2019), Tresnatie e Djawad (2012), majoritariamente concentradas na América do Norte (TIKTAK et al., 2020).

A histopatologia é uma ferramenta útil para avaliar os efeitos da tóxicos, em células, tecidos e órgãos, (SANT'ANNA et al., 2022), bem como monitorar o estado de saúde dos peixes durante a exposição a poluentes (THOPHON et al., 2003). A gama de informações que se pode obter a partir da histopatologia aplicada a respostas a estresse e xenobióticos é marcada para diversos grupos de animais já descritos, como mamíferos, répteis e anfíbios (RIBEIRO et al., 2002. ; HEMMADI, 2017.; GREEN et al., 2014.; DULVY et al., 2014). assim como os estudos de contaminação, principalmente para peixes (PEREIRA et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2016; WINKALER et al., 2001; TRESNATI et al., 2012).

De maneira isolada, dados quantitativos de concentração dos poluentes nos

ecossistemas nem sempre refletem sua ação no organismo. Assim avaliar a quantidade de poluente não é suficiente, havendo necessidade de detectar o efeito destes poluentes nos organismos que sofreram tal exposição (GARCIA, 2016). De acordo com Lins et al., (2010) a escolha dos órgãos alvos do estudo é crucial para a relevância dos dados obtidos. É indicado órgãos que estejam em contato direto com o agente tóxico, sendo assim as brânquias e os órgãos de metabolismo e excreção (como o fígado e o rim), podem ser indicadores de alterações toxicológicas aguda e crônica (LINS et al., 2010).

Em peixes, recorre-se às brânquias, gônadas, fígado e rim por serem órgãos envolvidos a funções vitais e pela facilidade de identificar transtornos teciduais (LINS et al, 2010;). Em elasmobrânquios, recorre-se à avaliação do fígado, pois esse órgão possui grande capacidade de acumular contaminantes tornando a histopatologia hepática um bom biomarcador de poluição aquática (MARINHO, 2013). Biomarcadores histopatológicos são formados por lesões que sinalizam efeitos de exposições, anteriores ou em prosseguimento, a agentes poluentes (CLEMENTE, 2009). A vantagem da histopatologia utilizando o efeito de biomarcador está na sua localização intermediária em relação ao nível de organização biológica e a quantificação da poluição (BERNET et al., 1999).

Biomarcadores histológicos permite estimar, quantitativamente, as alterações celulares bem como compreender a resposta fisiológica do animal frente às adversidade do ambiente no qual estão inseridos (LIEBEL et al., 2013; HEMMADI, 2017; ALVES et al., 2015). Com isso, entender a fisiologia básica e estrutural a partir da análise histopatológica de elasmobrânquios se faz notavelmente necessária para suprir lacunas da ciência, sendo um caminho consolidado para entender como estes animais respondem ao ambiente, e possivelmente realizar projeções de permanência no ambiente.

De forma geral os elasmobrânquios são considerados bons biondicadores ambientais por possuírem alta longevidade, vistos como “sentinelas” por serem predadores de topo, oferecem uma perspectiva singular sobre os processos que ocorrem nos oceânos, pela mobilidade entre bacias e baías e ampla gama de informação trófica que acumulam (BEZERRA, et al., 2021; EBERT et al., 2021). Espécies bioindicadoras são valiosas no monitoamento ambiental pela poluição, elasmobrânquios são pertinentes para este papel (ALVES et al., 2022). De acordo com sua importância ecológica, diversidade do táxon, carências de conhecimento científico, sobrepesca, este trabalho descreve achados histopatológicos em três órgãos fígado, rim e brânquias e detecção de

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos no tecido muscular em duas espécies de elasmobrânquios costeiros, *Rhizoprionodon porosus* e *Hypanus guttatus* no litoral Nordeste do Brasil, a fim de corroborar com a preservação desses animais e elucidar as lacunas fisiológicas existentes.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Analisar e quantificar a médio prazo o efeito dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) em tecido muscular, em duas espécies de elasmobrânquios costeiros no estado de Pernambuco quanto aos efeitos deletérios e status de saúde desses animais por meio de análises histológicas nos órgãos fígado, rim, brânquias.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar e detectar concentrações de HPA em tecido muscular de *Rhizoprionodon porosus* e *Hypanus guttatus*;
- Investigar e analisar o estado fisiológico de saúde das duas espécies de elasmobrânquios através das análise histologica do rim, fígado e brânquias;
- Analisar implicações da exposição de elasmobrânquios à HPA nos tecido hepático, renal e branquial através das respostas histopatologicas;
- Entender respostas fisiológicas dos principais órgãos do metabolismo dos elasmobrânquios frente a exposição de contaminantes.

Capítulo 1

IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO DE ELASMOBRÂNQUIOS COSTEIROS DO NORDESTE: ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO DE ELASMOBRÂNQUIOS COSTEIROS DO NORDESTE: ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Beatriz de Mello Carvalho Rey¹, Renato da Silva Carreira⁴, Francisco Gustavo da Silva³,
Francisco de Assis Leite Souza² Telma de Sousa Lima², Paulo José Duarte-Neto³,
Rosângela Paula Teixeira Lessa.¹

¹Departamento de Pesca e Aquicultura, Dinâmica de Populações Marinhas (DIMAR), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

²Laboratório de Diagnóstico Animal, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

³Departamento de Estatística e Informática, Universidade Federal Rural de Pernambuco

⁴ Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)

*E-mail: beatriz.rey@ufrpe.br.

Resumo

Os elasmobrânquios peixes cartilagosos, representados pelos tubarões e raias são mesopredadores e predadores de topo, distribuem-se mundialmente, e são reconhecidos como espécies bioindicadoras. Pouco sabe-se sobre o comportamento e repostas fisiológicas destes animais frente a contaminantes e as mudanças ambientais. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi analisar a saúde de duas espécies de elasmobrânquios costeiros possivelmente expostos a contaminação costeira e óleo derramado em 2019 no Brasil, utilizando-os como bioindicadores de poluição. Três órgãos (fígado, rim e brânquias) foram quantificados histopatologicamente e, o tecido muscular foram detectados compostos orgânicos através da Extração Acelerada por Solvente (ASE) com Purificação In-cell e GC-M em duas espécies *rhizoprionodon porosus* e *hypanus guttatus*; foram usados testes de Kruskal-Wallis e correlação de Spearman (ZAR, 1984) para o tratamento estatístico. Ao todo 71 espécimes foram coletadas pelo desembarque pesqueiro artesanal; o órgão mais comprometido foi as brânquias em ambas espécies; lesões por espécie (*H. guttatus*/*R.porosus*) na Brânquias: fusonamento (10/12), diferenciação (16/0), centros (4/19), fibrose(8/8), necrose (16/13), hipertrofia(10/16), hiperplasia(21/24). Fígado: Congestão(25/33), desorganização(14/15), degeneração vacuolar (27/33), centros melanomacrófagos (29/33), fibrose(3/3) necrose(11/8) inflamação(24/26) e parasitas (0/14). No rim: hemorragia(13/15), espessamento capsular(4/12), cilindro hialino(24/25), fibrose (23/19). Os Índices histopatológicos registraram diferenças significativas entre espécies, com maior impacto para raias e com forte correlação com o tempo de exposição ao óleo. O foram detectados nove compostos de HPA pirolíticos, entre eles benzo(a)pireno, criseno, Benzo(b)fluoranteno e Benzo(e)pireno, as concentrações não ultrapassam o limiar estabelecido pela ANVISA. Porém, 71% das *H. guttatus* e 60% *R.porosus* analisados possuem lesões acentuadas, comprovando respota ao estresse ambiental, e não estão saudáveis. Este trabalho porporcina um quantitativo histopatológico para o monitoramento ambiental para espécies de elasmobrânquios costeiros para a América do Sul.

Palavras chave: CMM; Índice de Bernet; HPA; estresse; derramamento de óleo;

Abstract

Elasmobranch cartilaginous fish, represented by sharks and rays, are mesopredators and top predators. They are distributed worldwide and recognized as bioindicator species. Little is known about the behavior and physiological responses of these animals to contaminants and environmental changes. In this context, the objective of this study was to analyze the health of two species of coastal elasmobranchs, possibly exposed to coastal contamination and oil spills in Brazil in 2019, using them as pollution bioindicators. Three organs (liver, kidney, and gills) were quantified histopathologically, and organic compounds were detected in muscle tissue using Accelerated Solvent Extraction (ASE) with In-cell Purification and GC-M in two species: *Rhizoprionodon porosus* and *Hypanus guttatus*. Kruskal-Wallis tests and Spearman correlation (ZAR, 1984) were used for statistical analysis. A total of 71 specimens were collected from artisanal fishing landings. The most affected organ was the gills in both species. Lesions by species (*H. guttatus*/*R. porosus*) in the gills included fusion (10/12), differentiation (16/0), centers (4/19), fibrosis (8/8), necrosis (16/13), hypertrophy (10/16), and hyperplasia (21/24). In the liver, findings included congestion (25/33), disorganization (14/15), vacuolar degeneration (27/33), melanomacrophage centers (29/33), fibrosis (3/3), necrosis (11/8), inflammation (24/26), and parasites (0/14). Kidney abnormalities consisted of hemorrhage (13/15), capsular thickening (4/12), hyaline cylinders (24/25), and fibrosis (23/19). Histopathological indices showed significant differences between species, with greater impact on rays and a strong correlation with oil exposure duration. Nine pyrolytic PAH compounds were detected, including benzo(a)pyrene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, and benzo(e)pyrene, with concentrations below the threshold established by ANVISA. However, 71% of *H. guttatus* and 60% of *R. porosus* analyzed have pronounced lesions, proving a response to environmental stress, and are not healthy. This work provides a histopathological quantification for environmental monitoring of coastal elasmobranch species in South America.

Keywords: CMM; Bernet Index; PAH; stress; oil spill;.

Introdução

Os tubarões e raias são peixes cartilagosos da classe Chondrichthyes, subclasse Elasmobranchii (LESSA, et al., 1999) animais que possuem traços biológicos K-strategistas com maturidade sexual tardia, crescimento lento, alta longevidade e baixa fecundidade (GOMES, et al., 2019.; STEVENS, et al., 2000). São géneros utilizadas como bioindicadores de contaminação aquática pelas suas características biológicas e por possuírem tanto hábitos de fidelidade local e migração (ALVES et al., 2022).

São integrantes essenciais ao funcionamento dos ecossistemas, porém muitas de suas espécies estão sinalizadas por esgotamento populacional e extinção (SHERMAN et al., 2022). A alta exploração pesqueira mundial resulta estes declínios populacionais (DULVY et al., 2014), cerca de 37% de tubarões e raias estão ameaçados de extinção (IUCN, 2024), e 25% das espécies sofrem com algum tipo de ameaça mundialmente (DULVY, et al., 2014).

Elasmobrânquios são recursos pesqueiros, porém, sua dados pesqueiros e avaliações são escassas em diversas localidades (FAO, 2024). A carne de tubaraões e raias passa por um paradoxo de baixo valor economico, baixa conservação da espécie e alta procura de barbatanas (FAO, 2024); atrelado a isso a qualidade da carne desses animais em si, é questionada em alguns estudos, devido ao risco a contaminação e impróprios para consumo (BARCIA et al., 2023; TITAK et al., 2020). Até o momento, sabe se que estes animais possuem tendência a acumular metais pesados incluindo mercúrio, na forma de metilmercúrio (BARCIA et al., 2023; JULIO et al., 2019). Porém, a escassas de informações é demarcada, apenas duas revisões bibliográficas retratam efeitos dos contaminantes em elasmobrânquios, Tiktak (2020) aborda tubarões e raias, e Bezerra (2019) somente raias.

Estudos limitados investigam doenças na elasmofauna, seja em ambientes cativos e de vida livre (ARCHER et al., 2022). Os elasmobrânquios podem ser afetados por pesticidas, bifelenilos policlorados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), metais pesados e organometais (GELSLEICHTER e WALKER, 2010). Porém, pouco se sabe sobre as respostas fisiológicas e resistência deste grupo para contaminantes (GELSLEICHTER et al., 2010).

O *Rhizoprionodon porosus* (RP) é um tubarão da Família Carcharhinidae, classificado como vulnerável ao risco de extinção (IUCN, et al., 2024). Possui pequeno porte e distribui-se pelo ao londo da costa brasileira, sendo abundante na costa norte e nordeste (LUCENA e LESSA, 2019). A raia *Hypanus guttatus* (HG) pertence a Família

Dasyatidae, possui hábitos bentônicos, de fundos arenosos e lamacentos (GOMES et al., 2019; LESSA et al., 1999), e distribui-se pelas águas tropicais do atlântico no sul do Golfo do México até sul do Brasil. Está classificada como quase ameaçada ao risco de extinção, (IUCN, 2024).

R. porosos e *H. guttatus* representam-se substancialmente no desembarque pesqueiro artesanal do nordeste do Brasil, são exploradas como espécies alvo e by-catch (pesca incidental), (LESSA et al., 1999). O Nordeste do Brasil passou por um grandes impacto ambientais recente em 2019, o extenso derramamento de óleo. Um vazamento que atingiu mais de dois mil quilômetros, alcançou onze estados do Nordeste e impactou dois estados do Sudeste do país, 120 municípios e 724 localidades. Este derramamento ficou marcado como o maior desastre ambiental da história do Brasil (ARAÚJO, et al., 2020). O Óleo derramado impactou drasticamente os recursos pesqueiros e a biota marinha (ARAÚJO, et al., 2020; PENA et al., 2020). Estudos devem ser realizados a fim de entender este desastre e remediar futuras catastrofes como está (PENA et al., 2020).

O óleo é uma mistura de compostos orgânicos e a sua presença e dissolução na água podem comprometer a sobrevivência das espécies (HONDA e SUZUKI, 2020). São compostos com efeitos tóxicos que tendem a provocar mutação, carcinogênese (INCA, 2021; ATSDR, 2009), genotoxicidade, imunotoxicidade, estresse oxidativo, desnaturação de proteínas, mutações genéticas no DNA e disrupção endócrina (RODRIGUES et al., 2022; GUIMARÃES et al., 2022; HONDA e SUZUKI, 2020; LOURENÇO et al., 2019; SOMERVILLE, et al., 2020; MARTINS, et al., 2020).

Com a atual degradação ambiental dos ecossistemas marinhos, o derramamento de óleo na costa brasileira em 2019, o risco de extinção dos elasmobrânquios e a necessidade do esforço de conservação do grupo, se faz necessário compreender as condições fisiológicas destes animais. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é analisar a saúde de espécies de elasmobrânquios costeiros utilizando-os como bioindicadores de poluição, a fim de elucidar a integridade física dessas espécies e o meio em que vivem. Para isso, foram analisados de forma qualitativa e quantitativa os danos histopatológicos encontrados em três órgãos de importância metabólica, (fígado, rim e brânquias) e, detecção de compostos orgânicos em fragmentos do tecido muscular nas espécies, *Rhizoprionodon porosos* e *Hypanus guttatus* provenientes de águas possivelmente impactadas pela poluição e degradação ambiental no Nordeste do Brasil.

Material e métodos

Amostragem e Estimativa de idades das amostras

A coleta de material foi feita através do acompanhamento do desembarque pesqueiro de pescadores artesanais do litoral norte e sul do estado de Pernambuco. A amostragem ocorreu de abril à dezembro de 2022. Ao todo, 31 raias (*H. guttatus*) foram capturadas em quatro municípios do estado de Pernambuco: Itamaracá, Itapissuma, Barra de Catuama e Cabo de Santo Agostinho. Nesse mesmo período, 40 tubarões (*R. Porosus*) foram capturados em três municípios: Itamaracá, Ponta de Pedras e Cabo de Santo Agostinho (Figura 1).

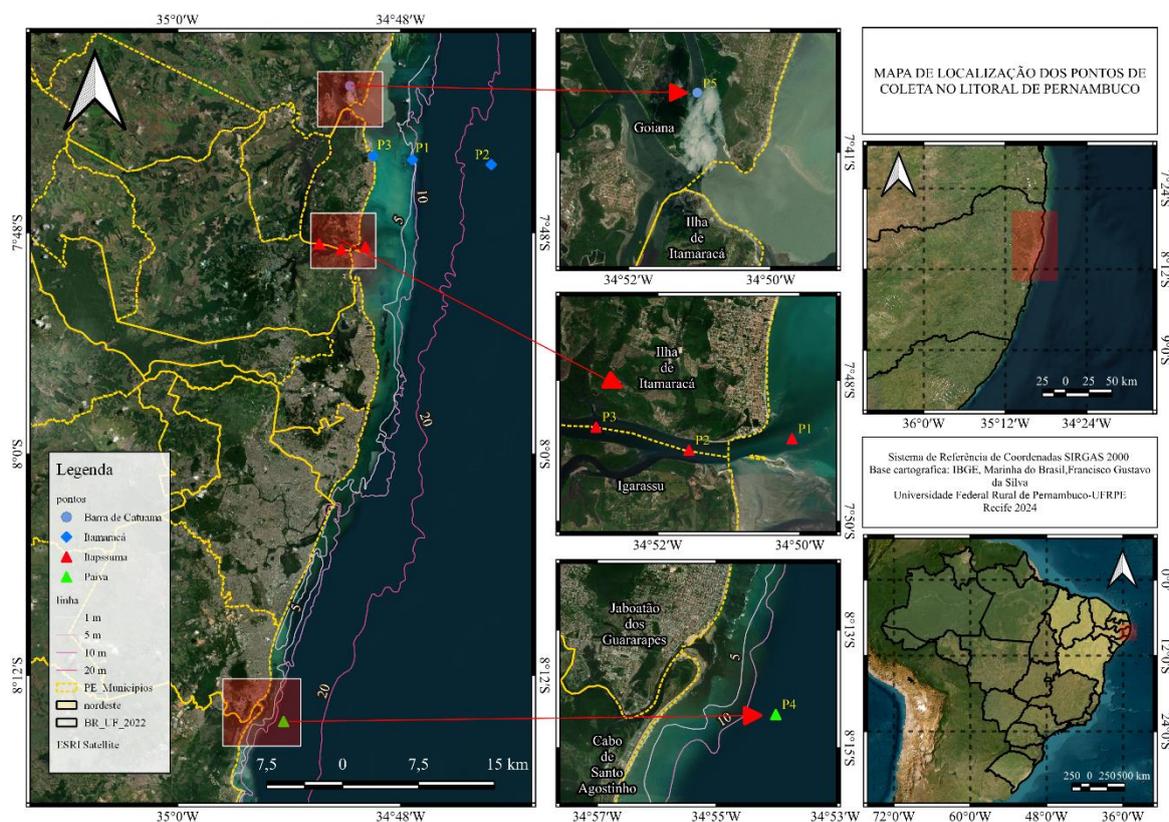


Figura 1: Imagem de satélite do litoral de Pernambuco, destacando-se os pontos de coleta de elasmobrânquios, p1: Barra de Catuama; p2: Itamaracá; p3:Itapissuma; p4: Cabo de Santo agostinho.

Quanto às artes de pesca utilizadas na captura de *R. Porosus*, utilizou-se espinhel de fundo e rede de emalhar, enquanto para *H. guttatus* empregou-se espinhel de fundo, arpão e raieira. Após coleta, foi feita a identificação de sexo e, em seguida, os indivíduos foram medidos com auxílio de trena e paquímetro. Nos tubarões, foi

mensurado o Comprimento Total (CT) e, nas raias, a Largura de Disco (LD).

Os parâmetros de crescimento utilizados foram estimados por Gianeti et al. (2019) para *Hypanus guttatus* onde: $L_{\infty} = 102,56$ cm, $k = 0,103$ cm e $t_0 = -1,384$ /ano para fêmeas e $L_{\infty} = 63,72$ cm, $K = 0,181$ cm e $t_0 = -1,398$ /ano, enquanto para *Rhizoprionodon porosus* foram estimados por Lessa et al. (2009), $L_{\infty} = 112,99$ cm; $k = 0,171$; $t_0 = -1,751$ /ano para ambos os sexos, tais estudos permitiram obter a idade absoluta dos animais capturados. Posteriormente foi calculado o Tempo de Exposição (TEO) ao o último evento de forte impacto na costa de Pernambuco, o derramamento de óleo bruto ocorrido em primeiro de setembro de 2019. Baseando-se nas datas de capturas de cada amostra correlionada com a data do derramamento, foi possível mensurar o tempo de exposição de cada animal.

Histopatologia

Após as medições e identificação dos órgãos, coletou-se o lobo direito devido o maior tamanho para os órgãos fígado e rim, e bânquias (a partir do terceiro arco branquial até o quinto, de ambos os lados), os quais foram acondicionados em formol a 10% e processados para histopatologia. A Desidratação seguiu séries crescentes de álcool (70, 80, 90, absoluto I e absoluto II), seguido da diafanização (xilol I e xilol II), e parafina (I e II), com volume de 1 x 10 de acordo com as substância, pelo período de 60 minutos. Posteriormente seccionadas no micrótomo com cortes de 5 μ e corados com Hematoxilina-Eosina. (Anexo I).

A leitura das lâminas seguiu as orientações histopatológicas de Wolf (2015), onde compreende a revisão por pares e em dupla. A revisão por pares, inclui duas leituras por lâminas sem o uso de consulta por diagnósticos pré-estabelecidos da leitura anterior, a metodologia de dupla é acrescido de outro observador especializado na área para finalizar o diagnóstico.

Para caracterização das alterações patológicas, adaptou-se neste trabalho a metodologia de Bernet et al., (1999) que propôs uma padronização de lesões encontradas na histologia de brânquias, fígado, rim e pele. Para tanto, as lesões foram agrupadas em cinco padrões de reação (Pr): Pr1- Distúrbios circulatórios e hemodinâmicos; Pr2- Alterações regressivas; Pr3- Alterações progressivas; Pr4- Inflamação, e Pr5- Neoplasia. Neste trabalho foi proposto o acréscimo do padrão Pr 6-

Outros achados, no qual se incluiu: (a) parasita e (b) outros, onde este último incluiu achados que não se aplicassem a nenhum dos índices citados, com valores de um em ambos. Essa adaptação pode ser vista na tabela 1.

Padrões de Reação	Alterações	W (1 a 3)	a ** (0 à 6)	Índices Σ
Pr 1- Distúrbios circulatórios e hemodinâmicos	a) Hemorragia	1		
	b) Edema intercelular	1		
	c) Constricção capilar	1		
Pr 2- Alterações regressivas	a) Alterações arquitetônicas	1		
	b) Alterações plasmáticas	1		
	c) Depósitos	1		
	d) Alterações nucleares	2		
	e) Atrofia	2		
	f) Necrose	3		
Pr 3- Alterações progressivas	a) Hipertrofia	1		
	b) Hiperplasia	2		
Pr 4- Inflamação	a) Exsudato	1		
	b) Ativação do sistema reticuloendotelial	1		
	c) Infiltrado	2		
Pr 5- Neoplasia	a) Benigna	2		
	b) Maligna	3		
Pr 6- Outros achados	a) Parasita	1		
	b) Outros	1		

Legenda: * representa a lesão acrescentada em cada Pr.

W: Fator de importância

** Grau de ocorrência, valor obtido por lâmina avaliada, valor de pontuação.

Tabela 1. Adaptação da metodologia de Bernet (1999) proposta no presente estudo para avaliação de elasmobrânquios e peixes ósseos.

Cada um desses padrões de reação contemplam alterações lesões, diferentes e, para cada lesão, atribui-se uma pontuação (W) ou valor de importância, onde: (1) importância patológica mínima; (2) importância moderada; (3) importância acentuada. Após determinar a lesão e sua respectiva pontuação, identificou-se a distribuição da lesão no parênquima tecidual para gerar o Grau de ocorrência. Esse parâmetro foi então classificado: (0) Inalterado; (1) Ocorrência baixa; (2) Ocorrência média; (4) Ocorrência moderada; (6) Ocorrência severa (lesão difusa) (Berneet, 1999). O Índice do órgão (Iorg) foi calculado de acordo com a seguinte equação: $Iorg = \sum pr \sum alt(a \cdot w)$, onde: pr = padrão de reação, alt = alteração, a = grau de ocorrência e w = fator de importância.

Posteriormente, para-se obter o valor total de saúde do animal foi calculado o Índice do peixe (Ifish) ou Índice Total, através da equação $Ifish = \sum_{org} \sum_{rp} (a_{org rp alt} \cdot WW_{org rp alt})$. Posteriormente, foi utilizado a metodologia de Zimmerli et al., (2007) a fim analisar a intensidade destes valores. Esta metodologia é um sistema de classificação de *Ifish* de acordo com a gravidade da resposta histológica em cinco estados do mais leve ao mais intenso, da classificação:

- I- Índice histológico <10: estrutura normal/saudável;
- II- Índice histológico 11–20: leves alterações;
- III- Índice histológico 21–30: estão presentes alterações moderadas na arquitetura e morfologia;
- IV- Índice histológico entre 31–40: alterações altas na arquitetura e morfologia normais do tecido;
Índice histológico >40: alterações graves da arquitetura e morfologia normal do tecido.

Determinação de HPA

Uma com 10 indivíduos (cinco espécies de *R. porosus* e cinco *H. guttatus*), contendo até 5 g de músculo, foram submetidas à detecção e quantificação de HPA. Nos tubarões, os sítios anatômicos escolhidos foram a região acima do crânio e a região dorsal proximo às vértebras, enquanto nas raias foi colhido o músculo das nadadeiras peitoral. As amostras foram armazenadas em freezer e encaminhadas para detecção e quantificação de HPA através da Extração Acelerada por Solvente (ASE) com Purificação In-cell e GC-MS. Conforme o peso médio úmido de 1.01 ± 0.05 g para raias e para tubarões $1,03 \pm 0,05$ g de massa úmida, foram homogeneizadas e adicionada a quantidade de alíquota do tecido (1,0g). Alíquotas de tecido muscular de raias (*H. guttatus*) e tubarões (*R. porosus*) passaram pelo sistema de Extração de Solvente Acelerado (ASE 200, Thermo) para extração de lipídios. Seguindo o protocolo EPA 3545 (EPA, 2007) realizado em condições de alta temperatura (80°C) e pressão (1500psi) e usando diclorometano (3x, 10 min ciclos). O excesso de lipídios foi removido do extrato orgânico empregando um clean-up in-cell de sílica no ASE (Massone et al., 2021). A fração contendo PAHs foi diluída. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (sistema Thermos TraceISQ) foi empregada para quantificação de PAHs, seguindo o protocolo EPA8270-D (EPA, 2014).

A aquisição dos dados foi realizada no modo monitoramento seletivo de íons (SIM), considerando íons típicos para análise de HPA (m/z) (Mauad et al., 2015). A quantificação foi baseada em curvas de calibração contendo uma mistura de 16 PAHs prioritários, outros compostos que não foram incluídos na mistura (homólogos alquilados) foram quantificados considerando o fator de resposta de homólogos com estrutura semelhante. O total de 37 compostos parentais alquilados foram identificados, estes incluem naftalenos(C0-C4), acenafteno, acenafteno, flúor (C1,C3), dibenzotiofenos (C0-C3), fenantrenos/antracenos (C1-C4), benzo[e]pireno, indeno[1,2,3] dibenz[a,h]antraceno e benzo[ghi] perileno. Os limites típicos de quantificação para HPA individuais foram de 0.5 ng· g⁻¹ wet weight (ww). Procedimentos de QA/QC foram considerados.

O embasamento de análise dos compostos foi feito de acordo com os critérios de classificação da Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC), (IARC, 2024). Para classificação de toxicidade e danos a saúde advindas de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, a IARC utiliza um critérios de classificação baseados no potencial carcinogênese para humanos, onde são divididos em quatro grupos:

Grupo I: carcinógenos para humanos;

Grupo IIa: provavelmente carcinógenos

Grupo Iib: possivelmente carcinógenos para humanos

Grupo I II: não classificado

Grupo IV: provavelmente não carcinógeno.

Analises Estatísticas

O tratamento dos dados estatísticos foi realizado no software R-studio, partindo das hipóteses:

- 1) De que existe diferença entre os Índices de órgão do fígado, rim e brânquia entre espécies *R. pororsus* e *H. guttatus*.
- 2) De que existe diferença entre os Índices histopatológicos dos indivíduos (*Ifishes*) por espécies, *R. pororsus* e *H. guttatus*.

Os testes de normalidade de Shapiro-Wilk foram realizados em todas as variáveis a fim de entender a distribuição dos dados, assim como homogeneidade de variância a partir do teste de Levene. As correlações foram estimadas entre as variáveis

comprimento, peso, sexo, maturação, idade e tempo de exposição ao óleo, sobre os índices *Iorg's* e *Ifishes*, individualmente para cada espécie. Dada a natureza não normal dos índices, a correlação foi medida através do método de Spearman, e a comparação dos índices *Iorgfig*, *IorgRim*, *IorgBra*, *Ifishes*, entre as espécies foi realizado utilizando o teste de Kruskal-Wallis (K.W.), considerando um nível de significância de 5%.

Resultados

Caracterização dos indivíduos

No decorrer de oito meses foram capturados 40 espécimes de *R. Porosus* e 31 espécimes de *H. guttatus*. Para RP o litoral norte (Tabela 2).

<i>Rhizoprionodon porosus</i>	N	Arte de Pesca	Região	Sexo
Litoral Norte	19	Rede de espera e Espinhel	Itamaracá	2 /17
	7	Rede de espera	Carne de Vaca	3 /4
Litoral Sul	12	Rede de espera	Ponta de Pedras	4/8
	2	Rede de espera	Cabo de Santo Agostinho	1/1
	40			
<i>Hypanus guttatus</i>				
Litoral Norte	8	Espinhel de fundo e Encalhe	Itamaracá	8/-
	16	Espinhel e rede	Itapissuma	7/9
Litoral Sul	6	Raieira	Barra de Catuama	6/-
	1	Arpão	Cabo de Santo Agostinho	1/-
	31			

Tabela 2: Espécie, número de indivíduos, arte de pesca, sexo e regiões de captura no litoral dos elasmobrânquios avaliados; Sexo: (Fêmea/Macho), (-) ausente.

Histopatologia: Biomarcadores e Índices

Em cento e oitenta e três amostras a avaliação histopatológica foi viável e sete *H. Guttatus* (HG), (dentre elas dois fígados, três rins, e três brânquias) e vinte e dois *R. porosus* (RP) dentre eles (seis fígados, seis rins e dez brânquias), foram consideradas inadequadas para a análise devido ao grau autólise e obtiveram a análise desconsiderada e ausente (NA). O alto grau de autólise foi atrelado ao tempo de exposição dos animais ao sol, justificado pela metodologia de captura, e ao composto usado para a fixação do material. Apenas uma amostra foi considerada com valor de zero, pois o órgão não possuía lesões.

Em ambas as espécies, notou-se que os achados histopatológicos foram similares, variando apenas quanto à intensidade da lesão. A análise das brânquias de RP e HG revelaram como sendo o órgão que envolve mais padrões de reação, ou seja, possui maior representatividade nas pontuações e diversidade maior de lesões em ambas espécies. Porém, o fígado em HG possui a segunda maior representatividade de padrões de reação, diferentemente em RP, no qual o segundo órgão com maior representatividade foi o rim.

Dos padrões de reação, o tecido branquial em HG teve maior representatividade em Alterações regressivas (PR2), seguido de distúrbios circulatórios e hemodinâmicos (PR1), e finalmente por Alterações progressivas (PR3). Já nos rins, foram alterações regressivas (PR2), seguido de distúrbios circulatórios e hemodinâmicos (PR1) e Inflamação (PR4). Em seu tecido hepático o padrão de reação mais acentuado foi Alterações regressivas (PR2), seguido de distúrbios circulatórios e hemodinâmicos (PR1), e por último Inflamação (PR4).

Para *R. porosus* os padrões de reação para o tecido branquial os distúrbios circulatórios e hemodinâmicos (PR1) foram mais representativos, seguido de Alterações regressivas (PR2), e alterações progressivas (PR3) e Inflamação (PR4). No tecido renal o PR mais acentuado foi Alterações regressivas (PR2), distúrbios circulatórios e hemodinâmicos (PR1) e Inflamação (PR4). No tecido hepático o PR mais acentuado foi alterações regressivas (PR2), seguido de distúrbios circulatórios e hemodinâmicos (PR1) e Inflamação (PR4).

Das lesões, as alterações branquiais encontradas em ambas as espécies foram similares e incluíram: 1) Lamelas primárias: congestão aleatória; centros melanomacrófagos (aleatório); Desorganização estrutural do padrão lamelar;

fusionamento lamelar (intersticial, em canal marginal externo, com obliteração dos espaços interlamelares); hiperplasia celular (células caliciformes, pilares e mucosas); hipertrofia celular (células caliciformes e mucosas); Espessamento na região do canal marginal externo associado a hiperplasias e hipertrofia celular; parasitos intersticiais e nos canais marginais externos, com cortes transversais e longitudinais; edema aleatório; ectasia vascular aleatória; necrose epitélio lamelar multifocal aleatória; inflamações mononuclear intersticial e aleatório); fibrose intersticial aleatória e nos canais marginais externos; 2) Septo Interbranquial: Congestão aleatória; edema; Inflamação mononuclear aleatória; Fibrose intersticial aleatória; espessamento intersticial e na região da membrana basal do septo interbranquial por hiperplasias e hipertrofia de células caliciformes e mucosas; parasito intersticial ; 3) Lamela secundaria: Telangiectasias (aneurisma) multifocal; congestão intersticial; melanomacrófagos; edema; necrose multifocal do epitélio; constrição lamelar multifocal; fusionamento lamelar multifocal; redução dos espaços interlamelares por espessamento lamelar, hemorragia ou debris celulares; hiperplasia e hipertrofia de células pilares, mucosas e caliciformes; bifurcação lamelar. Presença de tecido mixomatoso na região de lamelas primárias e septo interbranquial.

Destacam-se no Pr2 as lesões de fibrose, diferenciação mixoide e fusionamento lamelar. No Pr1 as lesões destacadas são congestão, telangiectasias e constrição e no Pr4 destacam-se hipertrofia de células caliciformes e hiperplasias de células mucosas, como podem ser vistas na figura 2.

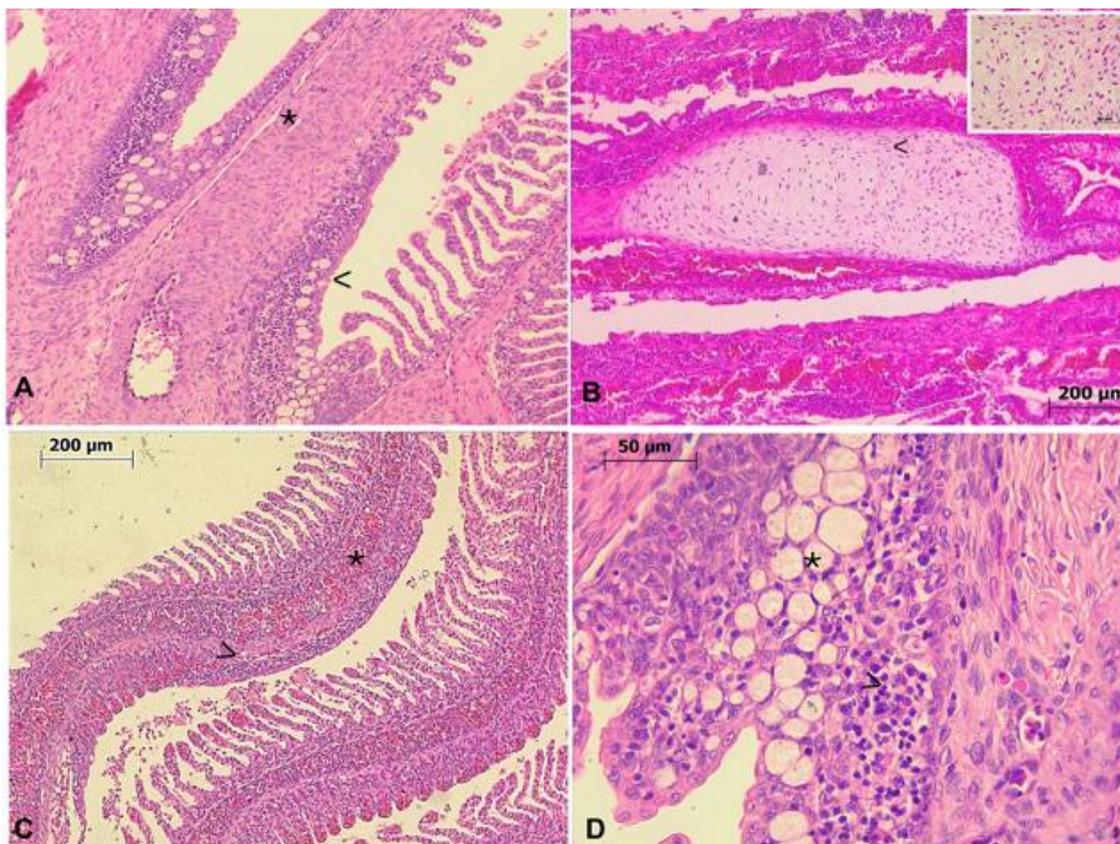


Figura 2. Fotomicrografia das lesões branquiais em *R. porosus* e *H. guttatus*. A- Espessamento de septo interbranquial por deposição de tecido conjuntivo fibroso (fibrose) Asterísco. Notar que o septo central encontra-se margeado por hipertrofia de células caliciformes (cabeça de seta). HE, objetiva 10x. B- Metaplasia mixoide em lamela primária (cabeça de seta). Notar tecido frouxo e basofílico bem delimitado, substituindo uma porção da lamela, acompanhando lamelas estruturalmente desorganizadas. Inserção: matriz mixoide e células mesenquimais benignas. HE, objetiva 10x. C- Lamelas primárias com marcada congestão (asterísco) e lamelas secundárias exibindo constricção e aneurisma (cabeça de seta).. HE, objetiva 10x. D. Evidenciação de hipertrofia (asterísco) e hiperplasia de células caliciformes e mucosas (cabeça de seta). HE, objetiva 40x.

As alterações hepáticas encontradas em ambas as espécies foram similares e incluíram: Hemorragia intersticial aleatório; congestão sinusoidal e da veia centrolobular; perda ou desorganização do padrão lobular; degeneração microvacuolar e vacuolar hepatocitária; pigmento de hemossiderina intersticial; parasitos intravascular e ectasia venosa; necrose hepática aleatória, hepatite mononuclear aleatória, periportal, perivascular ou subcapsular); Centros melanomacrófagos intersticiais aleatórios.

Dentro do padrão de reação Pr2, destacaram-se as lesões desorganização do padrão lobular, degeneração vacuolar, centros melanomacrófagos, infiltrados inflamatórios mononucleares, e parasitas intravasculares como pode ser visto na figura

3.

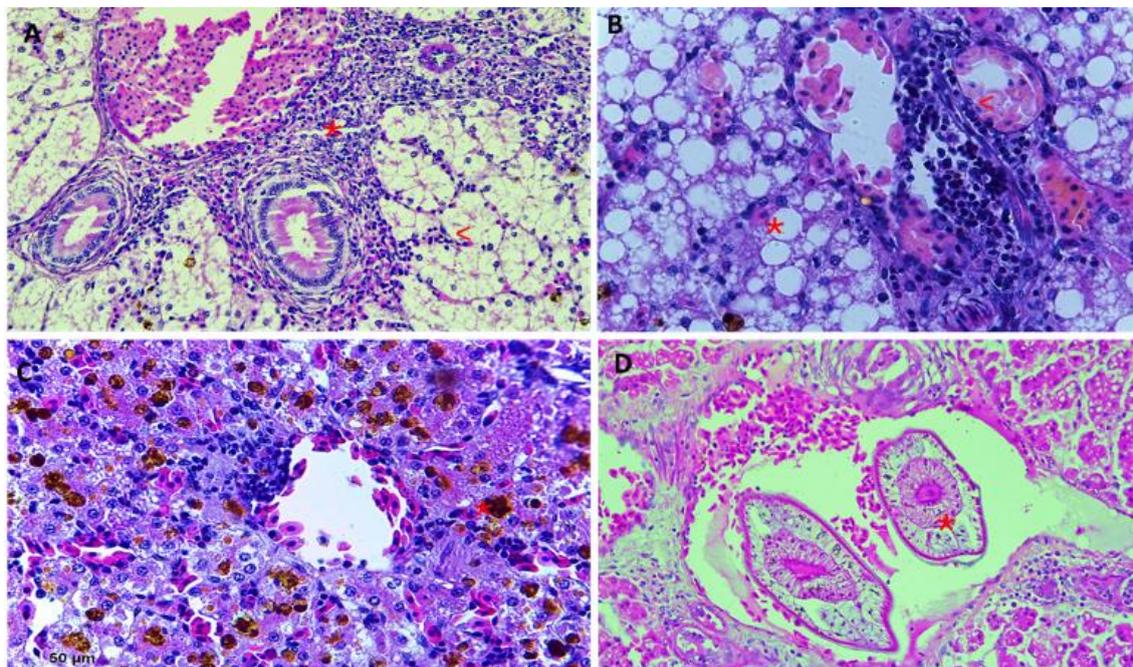


Figura 3- Fotomicrografia das lesões hepáticas em *R porosus* e *H guttatus*. **A-** Asterísco: Infiltrado inflamatório mononuclear periportal, e cordões de hepatócitos difusamente vacuolizados (cabeça de seta) e com padrão lobular desordenado. HE, objetiva 20x **B-** Em maior aumento, nota-se vacúolos intracelulares majoritariamente grandes (degeneração macrovacuolar) asterísco, Notar congestão e infiltração de células inflamatórias perivasculares (cabeça de seta). HE, objetiva 40x. **C-** Centros melanomacrófagos de tamanhos variados na região centrolobular a mediozonal do lóbulo hepático (asterísco). HE, objetiva 20x. **D-** Notar secções de nematódeos (asterísco) intravasculares na região de tríade portal em fígado com marcada degeneração vacuolar. HE, objetiva 20x.

As alterações renais encontradas foram: hemorragia (intersticial, subcapsular, pericapsular e cortical); congestão aleatória; edema; espessamento capsular; cilindro hialino; degeneração vacuolar do epitélio tubular; pigmentos de lipofuscina em gânglios renais; pigmento de hemossiderina intersticial; fibrose intersticial (cortical, medular, periglomerular, capsular e subcapsular); necrose intersticial (aleatória e cortical); regeneração e reparo no epitélio tubular; inflamação intersticial mononuclear (córtex, medula e hilo peritubular); centro melanomacrófago intersticial multifocal; glomerulonefrite proliferativa; glomerulonefrite membranosa; glomerulosclerose. Dentro do padrão de reação PR2, destacaram-se as lesões fibrose e atrofia, cilindro hialino e necrose, expostos na figura 4.

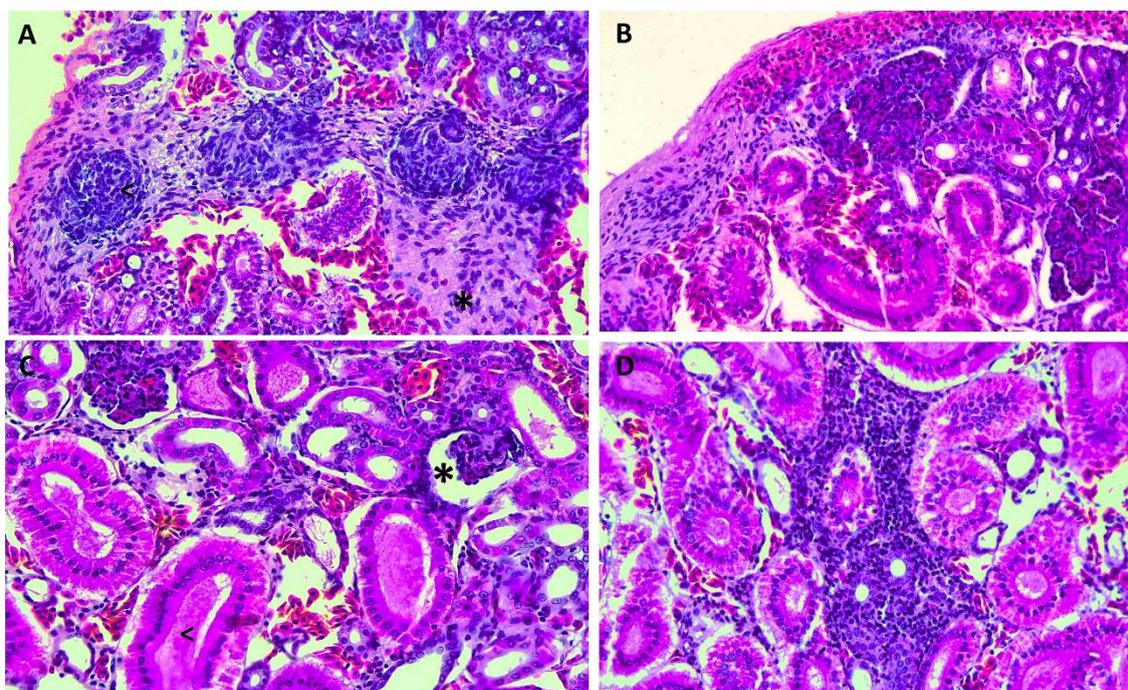
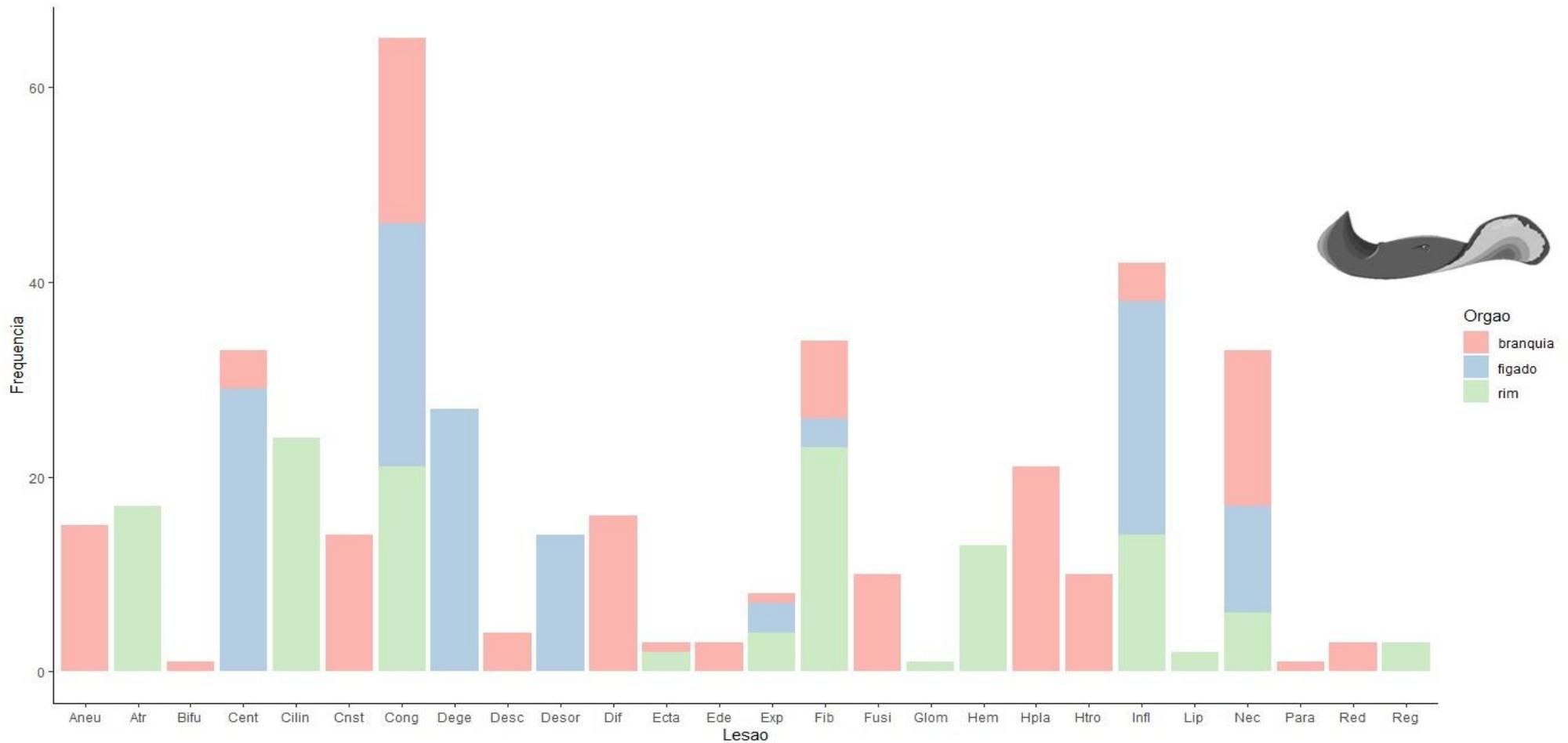
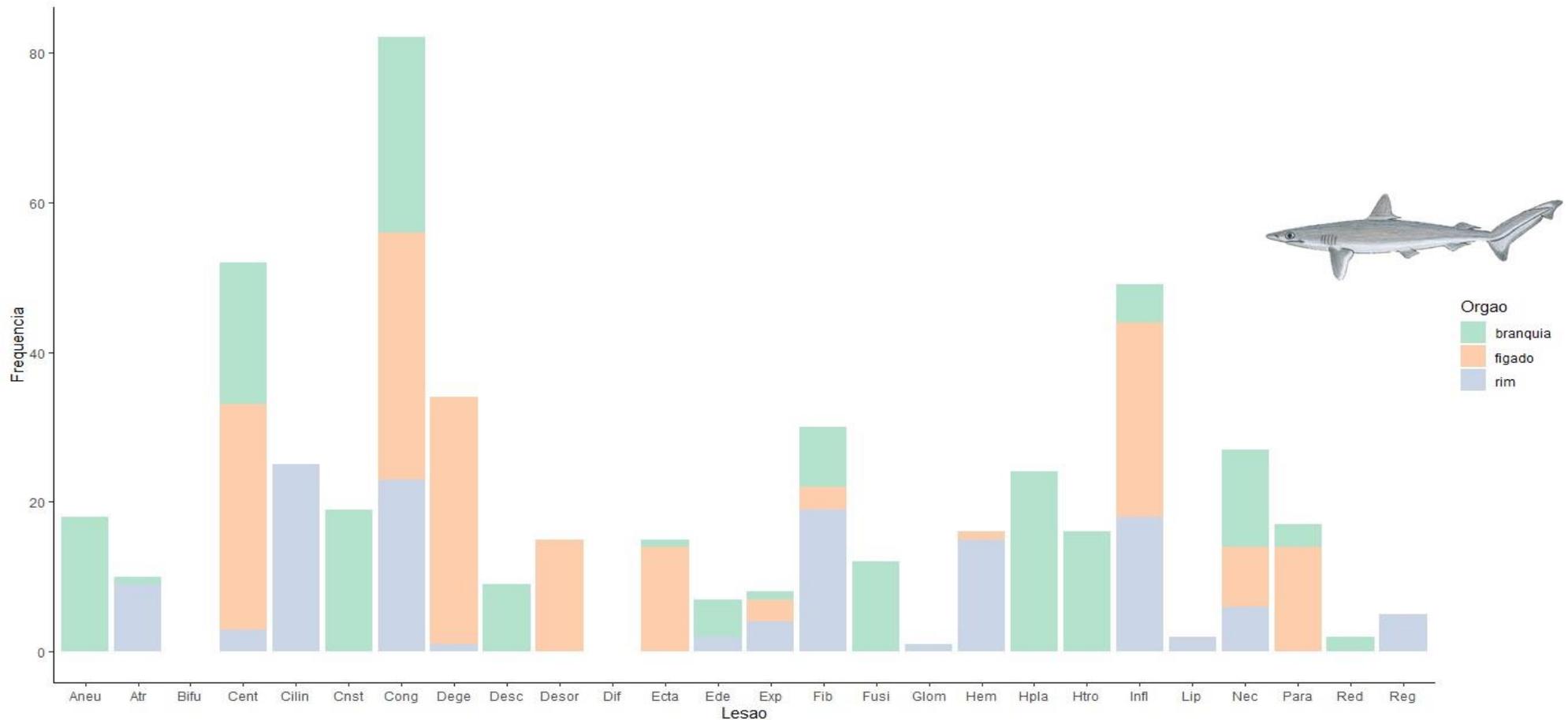


Figura 4- Fotomicrografia das lesões renais em *R porosus* e *H guttatus*. **A-** Notar Glomérulo Esclerose (ponta de seta), Notar Fibrose (asterisco) e congestão intersticial. HE, objetiva 20x. **B-** Fibrose subcapsular e congestão intersticial.. HE, objetiva 20x. **C-** Notar Atrofia glomerular (asterísco), Notar Cilindro hialino (cabeça de seta) e congestão intersticial. HE, objetiva 20x. **D-** Região medular, infiltrado inflamatório mononuclear e cilindro hialino no tubulos contorcidos. HE, objetiva 20x.

Das distribuições das lesões por órgão podem ser vistas no gráfico 1 para *H.guttatus* e grafico 2 para *R. porosus*.



*Aneu: Aneurisma; Atr: Atrofia; Bifu: Bifurcação Lamelar; Cent: Centros Melanomacrófagos; Cilin: Cilindro hialino; Cong: Congestão; Dege: Degeneração Vacuolar; Desor: Desorganização do padrão; Dif: Diferenciação; Ecta: Ectasia; Ede: Edema vascular; Exp: Espessamento; Fib: Fibrose; Fusi: Fusionamento lamelar; Glom: Glomerulo nefrite; Hem: Hemorragia; Hpla: Hiperplasia; Htro: Hipertrofia; Infl: Inflamação; Lip: Lipofucina; Nec: Necrose; Para: Parasita; Red: Redução dos espaços interlamelares; Reg: Regeneração. Gráfico 1: Frequência absoluta de lesões por órgão em *H. guttatus*.



*Aneu: Aneurisma; Atr: Atrofia; Bifu: Bifurcação Lamelar; Cent: Centros Melanomacrófagos; Cilin: Cilindro hialino; Cong: Congestão; Dege: Degeneração Vacuolar; Desor: Desorganização do padrão; Dif: Diferenciação; Ecta: Ectasia; Ede: Edema vascular; Exp: Espessamento; Fib: Fibrose; Fusi: Fusão lamelar; Glom: Glomerulo nefrite; Hem: Hemorragia; Hpla: Hiperplasia; Htro: Hipertrofia; Infl: Inflamação; Lip: Lipofucina; Nec: Necrose; Para: Parasita; Red: Redução dos espaços interlamelares; Reg: Regeneração. Gráfico 2: Frequência absoluta de lesões por órgão em *R. porosus*.

Espécie	Idade	TEO	IB	IF	IR	IFISHE
<i>Rhizoprionodon porosus</i>	2.66 ±	2.14±0.74/2.37	148 ±141.15/	76.5± 33.53/	62.88 ± 44.78/	42.9 ± 22.42/
	2.02/3.76 ±1.99	±0.64	156.18 ±183.43	95.38± 61.05	121± 229.14	49.9 ± 22.88
<i>Hypanus guttatus</i>	7.21 ±	2.93 ± 0.24 /	277 ± 234.73 /	123.05±	84.65 ±	58.19±
	3.08/4.71±	2.92± 0.18	265.44 ± 287.78	123.74/166.1±	76.31/146.75±	31.72/73.7 ±
	0.62			110.32	116.94	29.94

*TEO: tempo de exposição ao óleo; IB: Índice de Brânquia, IF: Índice de Fígado; IR: Índice de Rim; *Ifishe*: Índice Histopatológico do peixe.
Tabela 3: Idade, Tempo de Exposição e Índices Histopatológicos, média e desvio padrão das espécies por sexo (Fêmea/macho).

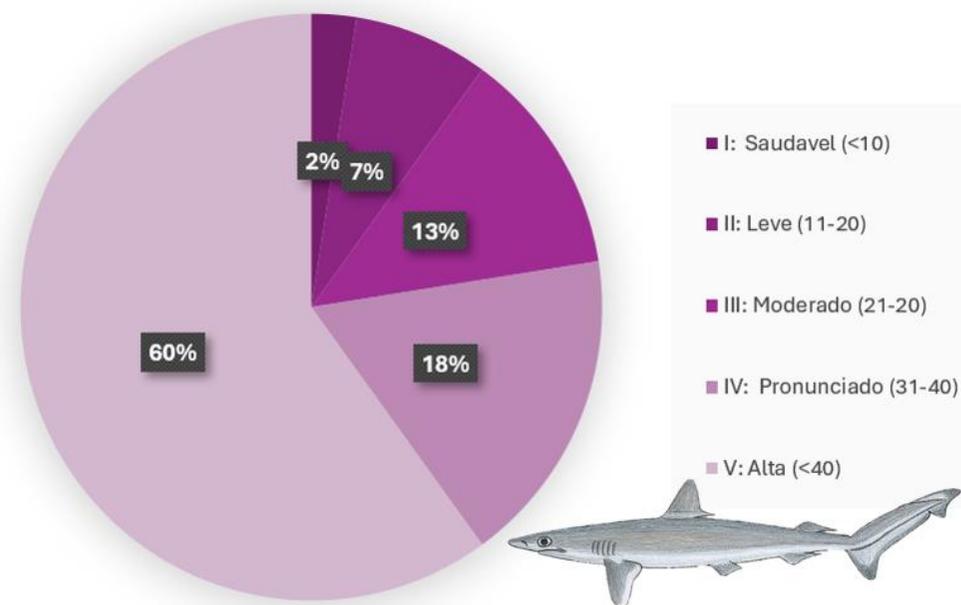
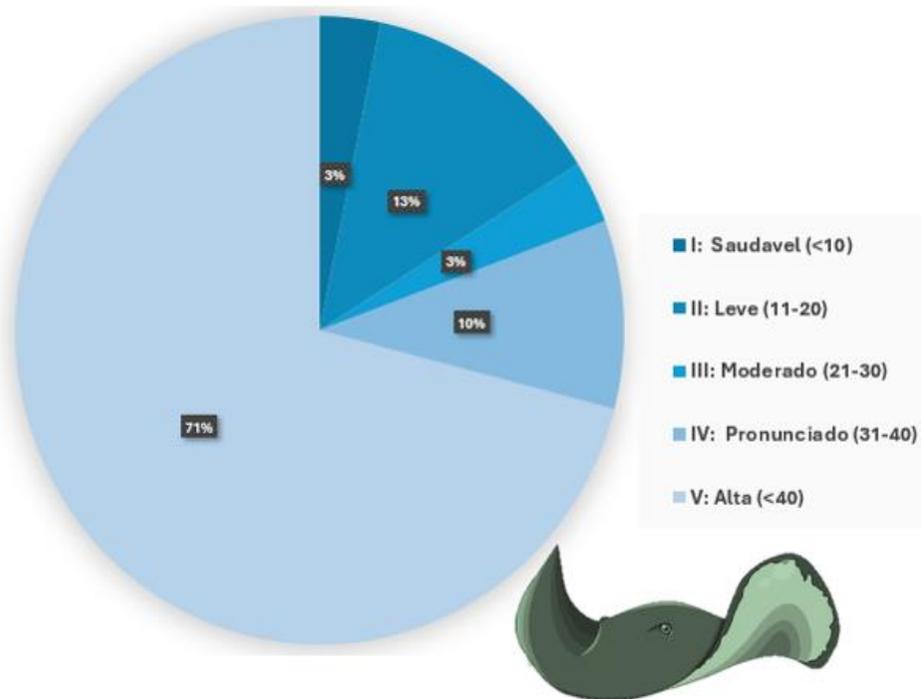


Gráfico 3: Representativo de Ifshes em *H. guttatus*. Gráfico 4: Representativo de Ifshes *R. pororsus* de acordo com gravidade da lesão.

Os índices dos indivíduos (*Ifish*) de *H. guttatus* obtiveram média geral no valor de 68 pontos e apenas 3% das raias foram consideradas saudáveis. Os resultados *Ifishes* de HG foram mais altos que RP, mostrando que estão mais comprometidas. Das raias analisadas 71% possuem pontuação acima de 40 pontos, compreendendo alterações graves da arquitetura e morfologia anormal do tecido como pode ser visto na figura na figura 3.

Os índices dos indivíduos (*Ifish*) de *R. porosus* obtiveram média geral entre espécies 47 pontos, e apenas 2% da amostra foram considerados saudáveis. De acordo com Zimmerli (2007), 60% equivalentes à 24 dos 40 indivíduos de *R. porosus* estão com *Ifishes* altos, com pontuações superiores a 40 pontos, o que compreendem alterações graves da arquitetura e morfologia anormal do tecido.

HPA

Nove compostos de Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos foram identificados nas amostras de músculo provenientes de *R. porosus* e *H. guttatus*: Fluoranteno, C1-Fluoranteno- Pireno, C2- Fluoranteno- pireno, Benzo(a)antraceno, criseno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(e)pireno, Benzo(a)pireno, Benzo(g,h,i)perileno em baixas concentrações. Das 9 espécimes tiveram pelo menos um dos HPA's detectados, sendo concentrações significativamente mais acenturadas em *R. porosus*. Em um indivíduo *H. guttatus* não foi detectado nenhum HPA. O composto mais detectado foi o Criseno (9/9),

seguido do Benzo(a)antraceno (6/9) e Benzo(e)pireno (4/9).

Os valores encontrados pelo somatório dos hidrocarbonetos totais variaram de 1,06 à 10,17 ng g⁻¹ para $\Sigma 16HPA$ e 1,16 à 13,83 ng g⁻¹ para $\Sigma 38HPA$ em *R. porosus*. Já em *H. Guttatus*, foi encontrado concentrações entre 0,64 e 11,04 ng g⁻¹ para $\Sigma 16HPA$ e entre 0,64 e 12,5 ng g⁻¹ para $\Sigma 38HPA$, podem ser vistos na tabela 4.

Espécie	FOR	C1- FOR	C2- FOR	BaA	BbF	BeP	CHR	BghiP	BaP	∑16HPA	∑38HPA
	-	0.701	1.817	1.328	1.826	1.764	2.862	1.067	-	7.08	11.36
	-	-	-	0.679	-	-	1.353	-	-	2.03	2.03
<i>Rhizoprionodon porosus</i>	0.748	0.9	1.324	1.489	2.704	1.444	3.609	1.088	0.529	10.17	13.83
	-	-	-	-	-	-	1.159	-	-	1.16	1.16
	-	-	-	-	-	-	1.061	-	-	1.06	1.06
	1.21	-	-	2.235	2.291	1.544	3.434	0.976	0.898	11.04	12.59
	-	-	-	-	-	-	0.643	-	-	0.64	0.64
<i>Hypanus guttatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	0.743	0.868	0.626	-	0.513	1.744	-	-	2.37	4.49
	-	-	-	0.531	-	-	1.37	-	-	1.9	1.9

**FOR: Fluoranteno, BaP: Benzo(a)pireno, BeP: Benzo(e)pireno; BghiP: Benzo(g,h,i)perileno; CHR: Criseno; BbF: Benzo[b]fluoranteno; BaA: Benzo[a]antraceno; C2- FOR: Fluoranteno-pireno; C1- FOR: Fluoranteno-pireno.

Tabela 4: Concentrações dos compostos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos detectados nas espécies de elasmobrânquios e o somatório dos 16HPA e 38HPA;

Estadística

As medidas morfométricas (peso, comprimento), sexo e maturação e idade não registraram correlações fortes entre *IorgFíg*, *IorgRim*, *IorgBran* e *Ifishe* de HG, porém o tempo de exposição registrou correlação moderada (0,43) com o *IorgFíg*. Os valores de correlação sugerem que a maior contribuição para o *Ifishe* em HG seja proveniente do *Iorg* das brânquias, seguido do *Iorg* do Fígado e do Rim. Na figura 5 são apresentadas as correlações de de Spearman para *H. gutattus*.

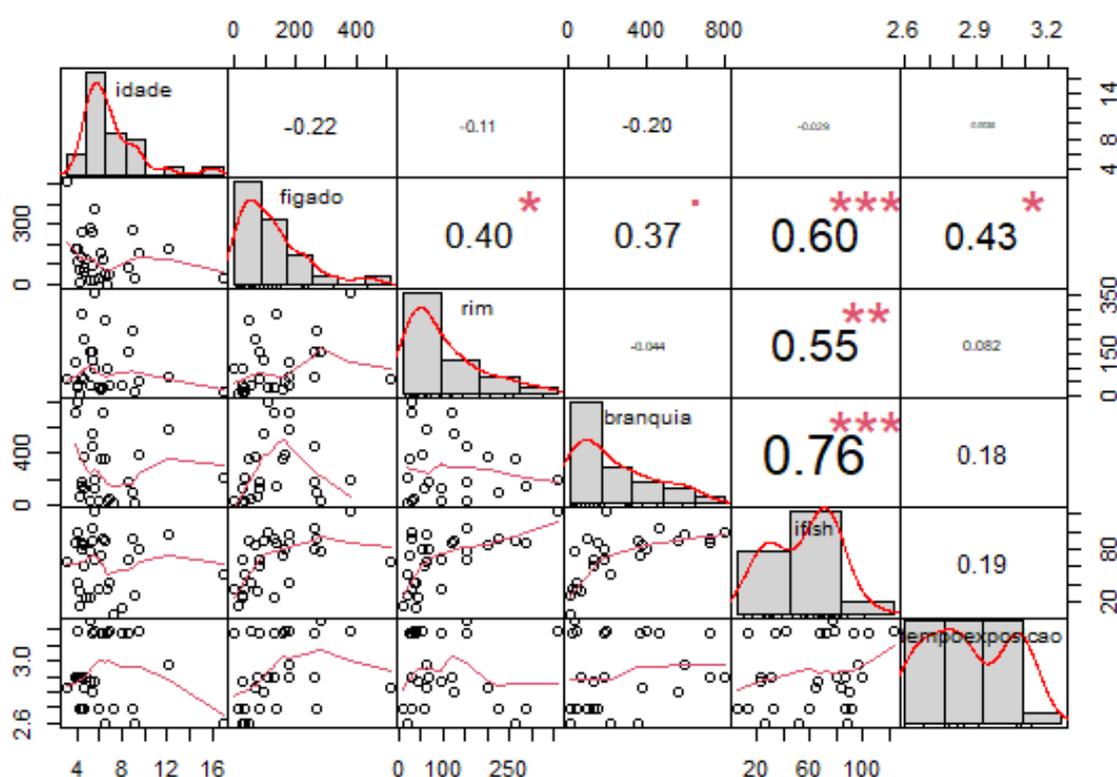


Figura 5 : Correlação de spearman para *H. guttatus*

As medidas morfométricas peso, comprimento, sexo e maturação, idade e tempo de exposição não registraram correlações entre *IorgFíg*, *IorgRim*, *IorgBran* e *Ifishe* de RP. Os valores de correlação sugerem que o *Ifishe* é representado basicamente pelo *Iorg* das brânquias e menos representado pelos *Iorgs* dos rim e fígado. A figura 6 apresenta as correlações de Spearman para *R. porosus*.

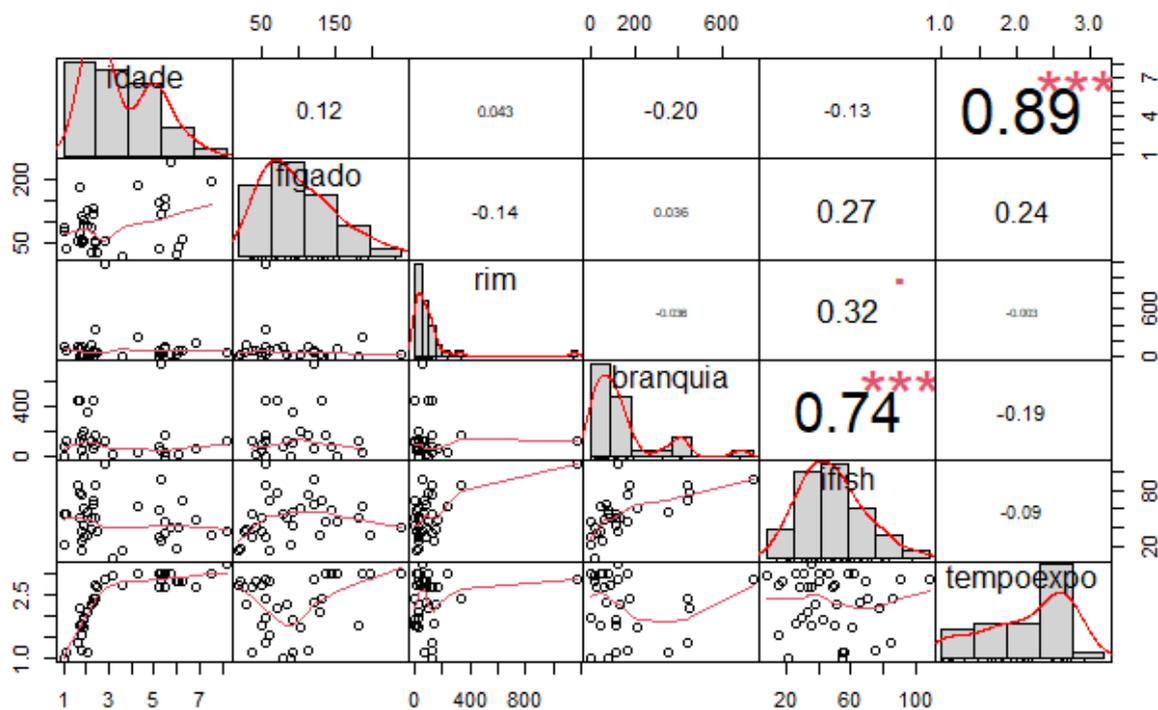
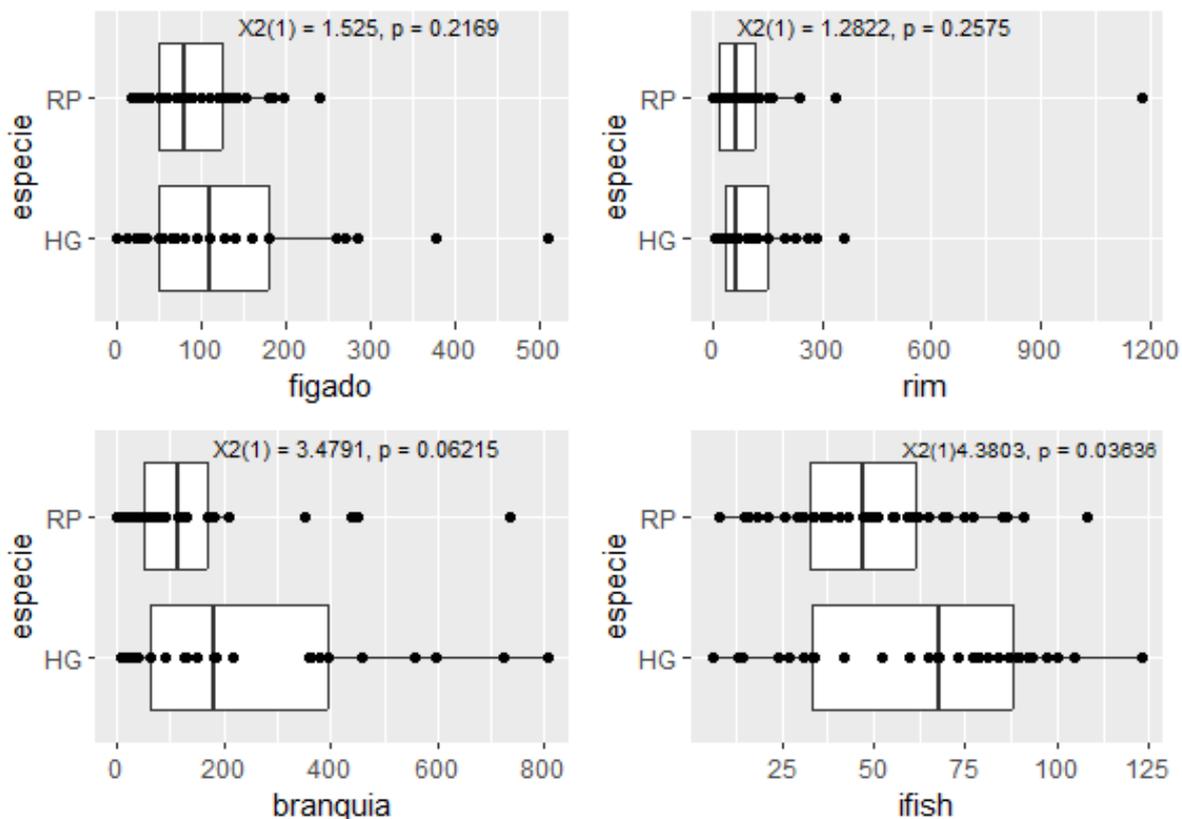


Figura 6 : Correlação de spearman para *R. porosus*



**Boxplot 1: Iorg de fígado nas duas espécies, com o teste de Kruskal-wallis. Boxplot 2:Iorg

do rim nas duas espécies, com o teste de Kruskal-wallis. Boxplot 3: IorgBra, com o teste de Kruskal-wallis. Boxplot4: Ifishes entre espécies, com o teste de Kruskal-wallis. RP: rhizoprionodon porosus. HG: hypanus guttatus. X2: Qui-quadrado. Figura 7: Teste de Kruskal Wallis para Índices de Órgão e Ifishes.

Através do teste de kruskal-Wallis realizado para cada um dos índices de órgão, foi verificado que não houve diferença significativa entre as espécies (*IorgFig* p-valor = 0,2169, *IorgRim* p-valor = 0,2575 e *IorgBra* p-valor = 0,062). Ao contrário dos *Iorg*, o *Ifishe* demonstrou diferença significativa entre espécies, com p-valor igual a 0,036 (p-valor < 0.05).

Discussão

O presente estudo apresentou quantificação histopatológica e determinação de HPA referente ao status da saúde de 71 espécimes de *R. porosus* e *H. guttatus* usadas como bioindicadores de poluição da costa nordeste do Brasil. Cerca de 70% dos elasmobrânquios analisados estão altamente comprometidos com morfofisiologia alterada, tendo elevados danos teciduais nos órgãos fígado, rim e brânquias. As brânquias representam a maior concentração lesões, sendo o órgão eficaz mais nesta análise. Este estudo também propõe uma adaptação para a metodolólógia de Bernet (1999) com adição de mais um padrão de reação o Pr 6- Outros achados que incluiu o item/lesão parasita e possíveis achados a depender da espécie.

Quanto ao perfil dos 71 espécimes de *R. porosus* e *H. guttatus* capturados, notou-se que faixa etária, maturação e localização geográfica obtidos corroboram os registros anteriores de uso de habitat e ocupação no litoral de Pernambuco para as respectivas espécies (SANTOS e GADIG, 2014; YOKOTAA e LESSA, 2006; LESSA et al., 1999; HAZIN et al., 2000; JULIO, 2019). O uso de elasmobrânquios costeiros como bioindicadores de contaminação local foram consideradas bons, ou seja demonstrando uma quantidade elevada de lesões, corroborando com Alves (2022), Somerville (2020).

A partir dos índices de órgão de RP e HG analisados em postos pelo teste de Kruskall-wallis, não obtivemos diferenças significativas. Isso mostra que

individualmente os Iorg de brânquia, fígado e rim não possuem diferenças significativas entre as espécies (*R. porosus* e *H. guttatus*), eles estão igualmente afetados e possivelmente os agressores são os mesmos; Porém, quando comparados juntos, através do Índices de peixes, *Ifishes*, diferenças significativas entre espécies foi observado. Isto mostra que existe diferença no nível de saúde e impacto para *R. porosus* e *H. guttatus*.

Este fato também se confirma através da quantificação histopatológica apresentada aqui, onde a média dos *Ifishes* em HG é superior a de RP, tendo comprometimento de 70% dos 31 raias observadas. Sugere-se que isto ocorra devido a HG possuir comportamento bentônico e desenvolvimento no substrato (GOMES et al., 2019; LESSA et al., 1999), pois esta região arrecada grande acumulação de metais e resíduos de contaminantes sendo o destino final de diversos compostos (BEZERRA, et al., 2019; DE SOUZA et al., 2016), incluindo os compostos vindos das queima de combustíveis fósseis de origem pirolítica. Contudo, neste trabalho o uso da raia *H.guttatus* se sobressai como bioindicador, de acordo com a maior representatividade dos padrões de reação e lesões e maior e índices histopatológicos (*Iorg*, *Ifishe*).

De acordo com os *Iorgs* obtidos, os dados estatísticos mostram que as brânquias possuem correlação forte e significativa na representatividade dos *Ifishes* em relação a fígado e rim em as espécies. Logo, *Iorg* das Brânquias representa o órgão mais eficaz frente a detecção de processos patológicos diversos em relação aos outros neste trabalho, isto é, como previamente suposto, as brânquias são órgãos com boa incidência e variabilidade de lesões para serem usadas como biomarcadoras histológicas em elasmobrânquios (WEGNER, 2015; DUCAN et al., 2014, DUCAN et al., 2015; BARBOSA et al., 2010). A importância dos órgãos fígado e rim diverge entre espécies. Para *R. porosus* o *Iorg* do fígado e rim tiveram baixa correlação e não significativa com com o *Ifishe*. No entanto, eles apresentaram correlações significativas moderadas para *H.guttatus*, sendo o *Iorg* do rim a segunda maior correlação.

A média dos *Ifishes* encontrada aqui é significativamente superior aos reportados para peixes ósseos por Ribeiro (2023), Saraiva (2015), McHugh (2011) Jesus (2022), e Zimmerli (2007). No âmbito das lesões biomarcadoras identificadas, alterações na arquitetura branquial representam respostas fisiológicas do estresse ao ambiente, devido à sua alta sensibilidade mesmo quando expostas a baixas concentrações e curtos períodos de tempo (Bezerra et al.,2019). Das lesões branquias reportadas aqui, destacam-se a de fibrose, diferenciação mixoide e fusionamento lamelar, congestão, telagectasias e constrição, hipertofia de células caliciformes e hiperplasias de células

mucosas. Estas lesões frequentemente reportadas para peixes ósseos frente a exposição de contaminantes (BERNET et al., 1999; WOLF et al., 2015).

As hiperplasias demonstram distúrbios de crescimento e proliferação aumentados. Sabe-se que o aumento de células mucosas representam o um dos primeiros mecanismos de defesa a componentes externos, seja um estresse agudo ou crônico, patógenos, poluição, proteção e lubrificação (WEGNER, 2015; DUCAN, 2016; HARPER e WOLF, 2009). A mucosa dos elasmobrânquios previne a proliferação de microrganismos patogênicos, sendo responsável pela proteção e lubrificação do epitélio branquial contra o atrito (MITCHELL et al., 2023; WEGNER, 2015; DUCAN et al., 2014), sendo uma barreira física (SHEPERD, 1982; VIDYA E CHITRA, 2018).

As respostas fisiológicas envolvendo produção de muco e hiperplasia de células epiteliais são comumente encontradas em animais provenientes a estresse de contaminação por metais pesados como cádmio, mercúrio e HPA, em peixes (RIBEIRO et al., 2023; ALESCI et al., 2022; EVANS, 1987; SWEIDAN et al., 2015; COSTA et al., 2008), em *Dasyatis kuhlii* no trabalho de Tresnati e Djawad (2012) relatam que espécies expostas a diferentes concentrações de nitrato foram a óbito, e as alterações histológicas reportadas foram hiperplasia de células epiteliais (mucosas), fusonamento lamelar e aneurismas, semelhantes as expostas aqui.

A mudança arquitetural da lamelas, redução de espaços interlamelares e o encurtamento (constricção) representam resposta adaptiva a contaminantes na água, sendo uma tentativa de diminuição do contato com poluentes (BEZERRA et al., 2020, FONSECA et al., 2017). Ademais, durante a avaliação histopatológica nas brânquias, chamou a atenção, ainda, a presença de um tecido mixoide substituindo e distendendo o interstício lamelar em lamelas primárias e septo intersticial. Pelo conhecimento dos autores, essa lesão não foi previamente descrita em brânquias de elasmobrânquios (WEGNER, 2015), e sugere se tratar de um processo de metaplasia, ou seja, uma mudança na histoarquitetura do tecido após uma injúria que favoreceu a substituição do tecido conjuntivo lamelar em outro da mesma linhagem (BOGLIOLO, 2013).

Em mamíferos, essa alteração ocorre em processos de reparo e regeneração, o que nos permite sugerir que, devido a uma agressão crônica, sucedeu-se a introdução de um tecido mixoide. Este achado não foi observado em *R. porosus*. As lesões resultantes de proliferações e diferenciações celulares são numerosas e têm enorme importância no diagnóstico de doenças e monitoramento da saúde de animais e humanos (BOGLIOLO,

2013).

Dos danos hepáticos encontrados, a degeneração vacuolar, inflamação e presença de centros melanomacófagos se sobressaem e são lesões com importante função biomarcadoras de contaminantes. O fígado é um importante indicador de saúde nutricional para elasmobrânquios (SMITH et al., 2017). Contudo, identificar os hepatócitos pode ser desafiador devido ao grande acúmulo vacuolar existente (MELO 2017; MORAES, 2017), de modo que a avaliação do acúmulo de gordura no fígado (fisiológico ou patológico) deve ser interpretado com cautela. As degenerações aqui encontradas ultrapassam o que seria considerado normal, sendo quantidades de vacuolização superiores a 50% do fígado de peixe; foi observada tanto em RP quanto em HG e sugerem ocorrência de esteatose hepática, similar ao visto em *Prionace glauca* reportado por Alves (2023).

A esteatose pode ser provocada por agressões diversas como contaminantes, hipóxia, alterações nutricionais e distúrbios metabólicos (BOGLIOLO, 2013) e consta como uma lesão frequente em peixes provenientes de águas contaminadas por agentes tóxicos, como metais pesados, PCBs e HPA's (ALVES et al., 2023; ALESCI et al., 2022; WOLF e WHEELERB, 2018; GARNER, 2013.; MORAES et al., 2016. ; JESUS , 2023). A esteatose também foi lesão frequentemente registrada para *Mugil Curema e Haemulon aurolineatum* coletados em Pernambuco, correlacionados com compostos orgânicos como metais e HPA em Jesus (2023). A inflamação mononuclear (leucócitos e macrófagos) com padrão periportal representa um indicativo de poluição ambiental, devido sua funcionalidade envolvida na digestão de xenobióticos (KARDONG, 2016; GAJIC et al., 2020).

Quanto aos danos renais aqui identificados, notou-se lesões mais inespecíficas, embora tenha sido o segundo órgão mais indicador para HG. As lesões podem estar relacionadas com uma exposição crônica a substâncias, patógenos e/ou refletir uma resposta do órgão a fatores idiopáticos. Nesse sentido, não há como afirmar, com precisão, a que doenças essas alterações estão relacionadas. Das lesões comuns aos três órgãos destacaram os centros melanomacrófagos (CMM), os quais foram mais marcantes nos fígados, especialmente de HG. Estudos sugerem que a função geral do CMM é a convergência da destruição, desintoxicação e ou reciclagem de materiais endógenos e exógenos (STEINEL e BOLNICK, 2017; MORAES et al.,2016). CMM atualmente são tidos como biomarcadores fisiológicos e histopatológicos de peixes, “indicador de primeira linha” no monitoramento ambiental, utilizados para documentar

e quantificar os efeitos de poluentes. Podem ser indicativos de exposição a bifenilos policlorados (PCBs) e orgânicos, HPA (BORUNCISNKA, et al 2009).

Com a detecção de parasitos e protozoários, tornou-se necessário a adaptação do método de Bernet (1999) para elasmobrânquios. De maneira geral, tubarões e raias possuem forte inclinação para ecto e endoparasitas (RODRÍGUEZ-SANTIAGO et al., 2015; RODRÍGUEZ-IBARRA et al., 2011; MARTORELLI et al., 2008), contudo, no presente estudo, foi um achado incidental de histopatologia em fígados e brânquias de RP e em brânquias de HG, assemelhando-se ao exposto na literatura (COUSIN et al., 2003).

Em vista do mais recente impacto ambiental para região costeira do Brasil, o derramamento de óleo na costa em 2019, estudos de toxicidade e histologia com o estudo de Magalhães (2019) analisou impacto dentro dos três primeiros meses após o evento (curto prazo) sobre peixes moluscos e crustáceos. Magalhães (2019) não detectou diferença entre costa norte e sul de Pernambuco, e o impacto foi decrescente em moluscos (134 ng g⁻¹), crustáceos(73,9 ng g⁻¹) e peixes (45,3 ng g⁻¹.); sendo mais intenso em animais sem mobilidade, sésseis e tendo maior contribuição dos HPA de baixo peso molecular de origem petrógena. Já no trabalho de Costa (2023) realizado após três anos do derramamento em *Anomalocardia brasiliensis* mariscos e ostras, *Crassostrea rhizophorae* diferenças foram encontradas entre litoral norte e sul de Pernambuco com ênfase no litoral Norte, porém foi marcada a diminuição das concentrações médias de HPA quando comparadas com Magalhães (2019) e maior prevalência de HPAs de alto peso molecular de origem pirolítica. Em ambos os trabalhos não foi excedido o limiar de preocupação da ANVISA.

Além disso, no trabalho de Bertotti (2022) para as tartarugas encalhadas *Chelonia mydas*, *Lepidochelys olivacea*, e *Caretta caretta*, foram detectados elevadas concentrações de HPAs petrogênicos e pirogênicos em fígado e músculo, sendo nos fígados maior presença de hpa de baixo peso molecular e no músculo presença de hpa de alto peso molecular; evidenciando assim a funcionalidade de biodiluição do fígado para com estes compostos. Mesmo com as concentrações $\Sigma 40\text{HPA}$ detectados no fígado (202,2 ng g⁻¹) e no músculo (231,1 ng g⁻¹) não foram diretamente correlacionadas ao derramamento de óleo de 2019 e atreladas a curta tempo de exposição aos compostos.

Com base nos trabalhos expostos que partem de premissas similares e resultados diferentes para a mesma localidade, marca a grande influência do tempo de exposição do animal ao comportamento do composto. Na presente investigação os resultados

estatísticos sobre a idade dos animais, infere que seja ela maior ou menor, não possui correlação significativa forte com o grau do índice histopatológico, ou seja, um animal mais velho não necessariamente possui o índice histopatológico mais alto em relação ao mais jovem. Contudo o tempo de exposição calculado a idade e tempo de exposição que o animal tem, em *Hypanus guttatus* influencia significativamente o índice histopatológico do fígado. Com isso é possível que elasmobrânquios que tiveram maior tempo expostos ao óleo derramado em 2019, tiveram índices histopatológicos mais elevados e isso não está correlacionado com a idade do indivíduo e sim ao tempo de permanência no local contaminado.

Em relação aos compostos orgânicos aqui detectados são Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de alto peso molecular, mais de um anel benzênico e não são voláteis e possuem provável origem pirolítica e não são comumente derivados do petróleo, atribuídos a queima incompleta de combustíveis fósseis nas zonas costeiras ou embarcações. Pode-se sugerir que seja pela intensa intensa atividade portuária e industrial de Pernambuco (KOENING, et al., 2002), assim observado no sul do Brasil, na praia do Casino, no trabalho de Martins (2020) a partir dos tecidos muscular, sanguíneo, branquial, hepático e ovariano da raia *Pseudobatos horkelii* com a detecção de Benzo(a) antraceno, Benzo(g,h,i)perileno, Benzo(a)pireno, Benzo(a)fluoranteno, criseno e fluoranteno e decorrente da intensa atividade industrial, portuária e naval da região.

Apenas nove compostos foram detectados, isso pode estar correlacionado com o número de indivíduos analisados (10 amostras). Somado a isso, o óleo que atingiu a região do litoral de Pernambuco sofreu processos de transformação como o intemperismo nos primeiros meses após derramamento (SOARES et al., 2023), caracterizando-se por sedimentação de compostos mais pesados e tóxicos, tais como os aqui encontrados. A presença de compostos pesados no trabalho de Costa (2023) para ostras e mariscos após três anos também salienta a hipótese de que o intemperismo natural sobre o óleo do derramamento. Os processos de evaporação, volatilização e intemperismo são naturais para estes compostos e reduzem o risco de contaminação do pescado (ANVISA, norma técnica de 27/2019). Além disso, espera-se encontrar menores concentrações de HPAs em indivíduos que ocupam níveis tróficos mais altos (HONDA E SUZUKI, 2020), como exposto por Magalhães(2019), os decrescentes valores com decorrente aumento do nível trófico. No presente trabalho, as espécies, tanto *R. porosus* quanto *H. guttatus* são mesopredadoras (FISHBASE, 2023) o que

reforça a indicação de taxas de HPAs menores.

Dos HPA detectados, apenas o Benzo(e)pireno não é um dos 16 HPA prioritários de acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) (EPA, 2023); O benzo[a]pireno é classificado no Grupo I, definitivamente carcinógenos para humanos, na lista da Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC), quanto ao benzo(b)pireno e o criseno pertencem ao grupo 2B (possivelmente carcinogênico). De acordo com os estudos de Bernardo (2016) há alguns compostos de HPA que são classificados no Grupo III da IARC, ou seja, eles não são classificados quanto à sua carcinogenicidade, diante disso o estudo prevê o potencial carcinogênico dos compostos. Assim, Benzo(a)antraceno, Fluoranteno, Benzo(a)pireno, Criseno, Benzo(e)pireno, Benzo(b)fluoreno e Benzo(a)fluoreno identificados no presente trabalho segundo Bernardo (2016) possuem potencial para carcinogenicidade. Porém, os níveis de HPA/animal aqui encontrados podem ser classificados como “pouco preocupantes”, tendo em vista que estão abaixo de 6 µg/kg BaP equivalentes (ANVISA, na norma técnica de 27/2019). As concentrações dos demais compostos foram calculados a partir da potência relativa de BaP, pois não se tem estimativas individuais para cada composto e não são superiores ao valor explícito da ANVISA.

É importante destacar que, embora baixos, níveis de HPA circulantes cronicamente podem trazer prejuízos aos organismos aquáticos. Raias *Hypanus sabinus* sofreram redução na capacidade eletrosensorial após exposição ao derramamento de óleo na DeepWater Horizon (CAVE e KAJIURA, 2020). Além disso, injúrias teciduais em pele, fígado e cegueira são reportadas em peixes (DIGHIESH et al., 2019).

Acredita-se que as alterações reportadas aqui sejam reflexo direto da exposição de *r. porosus* e *h. guttatus* a poluentes e conclui-se que o nível de poluição do litoral pernambucano (LEITÃO, 2007), impacta ativamente raias e tubarões, com maior impacto em raias. Referente ao histórico da região, acredita-se que o mercúrio e compostos advindos da atividade portuária são fortes contribuidores deste impacto. (KOENING, et al., 2002).

Conclusão

Este trabalho produz um parâmetro quantitativo através de Bernet (1999) e Zimmerli (2007) de comprometimento dos tecidos branquial, hepático e renal de elasmobrânquios da costa Nordeste do Brasil, contribuindo para o monitoramento ambiental do grupo. Os índices histológicos individuais, aqui expostos indicam que 60% dos tubarões *R. porosus* e 70% das raias *H. guttatus* estão comprometidas e com saúde alterada, respondendo a estresse e injúrias crônicas. Os achados histopatológicos encontrados nas brânquias demonstraram maior representatividade na variabilidade de lesões, plasticidade nas respostas fisiológicas, refletem como bons biomarcadores de histológicos para elasmobrânquios. As brânquias mostraram um nova diferenciação celular mixomatoza apresentada para *H. Guttatus*, novos estudos com colorações específicas devem ser realizados para determinar exata funcionalidade desta diferenciação, seja ela patológica ou não. O maior comprometimento encontrado nas raias HG em virtude da elevadas respostas fisiológicas neste trabalho, acentua o uso de batoides como bioindicadoras de poluição ambiental e reforça a necessidade de estudos toxicológicos com esses elasmobrânquios. Os HPA's detectados não ultrapassam o limite da ANVISA e são origem petrogênica. Acredita-se que seja reflexo da industrialização e intensa atividades portuárias de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Technical support document for a methylmercury reference dose as a basis for fish consumption screening values (FCSVs). Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/hac/pha/MethylmercuryReference/TechnicalSupportDocumentforAMethylmercuryReferenceDoseasaBasisforFCSVs9-10-2009.pdf>, Acesso em: outubro de 2023.

ALESCI, A.; CICERO, N.; FUMIA, A.; PETRARCA, C.; MANGIFESTA, R.; NAVA, V.; LO CASCIO, P.; GANGEMI, S.; DI GIOACCHINO, M.; LAURIANO, E.R. Histological and Chemical Analysis of Heavy Metals in Kidney and Gills of Boops boops: Melanomacrophages Centers and Rodlet Cells as Environmental Biomarkers. *Toxics*, 10, 218, 2022.

ALVES, L.M.F, MOUTINHO, A. B., Gómez, L.J., Oropesa, A., Muñoz-Arnanz, J., Jiménez, B. LEMOS, M.F.L., FONSECA, v.F., Cabral, H., NOVAIS, S. C. Evidence of contamination-associated damage in blue sharks (*Prionace glauca*) from the Northeast Atlantic. *Science of The Total Environment*, 872, 2023.

ARAÚJO, M. E., RAMALHO, C. W. N., Mello, P. W. Pescadores artesanais, consumidores e meio ambiente: consequências imediatas do vazamento de petróleo no Estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. *CSP Cadernos de Saúde Pública*, 36:1. 2020.

ARCHER K. R., GROLL, T., HARVEY, R. J., THORNTON S. M., STIDWORTHY, M. F. DENK, D. Case series: Lymphoid neoplasia in three elasmobranch species. *Journal of Fish Disease*, 46:3, 2022.

ASMAA HASHEM SWEIDAN, A.H., EL-BENDARY N., HEGAZY, O.M., HASSANIEN, A.E. SNASELF, V. Water Pollution Detection System based on Fish Gills as a Biomarker. *Procedia Computer Science*, 65. 601 – 611, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMA TÉCNICA, ANVISA. SEI/ANVISA – 0815698: Riscos à saúde humana decorrentes do consumo de pescados oriundos das praias contaminadas por óleo cru na região Nordeste do Brasil, 2019.

BARBOSA, W.S. Compromisso íon-respiratório em arraiais de água doce da família Potamotrygonidae (Chondrichthyes; Elasmobranchii): um estudo estereológico em brânquias. Relatório, Universidade Federal do Amazonas, 2010.

BARRETO, R. R. P. História de vida e vulnerabilidade dos tubarões oceânicos (Elasmobranchii) do Atlântico Sul. 66p. Dissertação Mestrado, Recursos pesqueiros e aquicultura, Universidade federal Rural de Pernambuco, Recife. 2015.

BERNARDO D. L., BARROS, K. A., RENATO C. SILVA R.C., PAVÃO, A.C. CARCINOGENICIDADE DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS. *Química Nova*, 39:7, 789-794, 2016.

BERTOTTI, G. A.L. ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS E ELEMENTOS TRAÇO EM TECIDOS DE TARTARUGAS MARINHAS NO NORDESTE DO BRASIL.

39p. Dissertação (Mestrado), Biodiversidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2022.

BEZERRA, M.F., LACERDA L. D., LAI C. Trace metals and persistent organic pollutants contamination in batoids (Chondrichthyes: Batoidea): A systematic review. *Environmental Pollution*, 248, 684-695, 2019.

BONTEMPO, F. E.B.; Análise temporal da contaminação de óleo relacionada à geodiversidade litorânea no município do Cabo de Santo Agostinho -PE. (Tese)- 140 p. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. Repositório UFPE. Disponível em: <https://www.repositorio.ufpe.br/handle/123456789/50255>. Acesso em: novembro, 2023.

BORNATOWSKI, H., BRAGA, R.R., KALINOWSKI, C., SIMÕES, J.R. “Buying a Pig in a Poke”: The Problem of Elasmobranch Meat Consumption in Southern Brazil. *Society of Ethnobiology*, 6: 1, 196-202, 2015.

BORUCINSKA, J.D., KOTRAN, K., SHACKETT, M., BARKER, T. Melanomacrophages in three species of free-ranging sharks from the northwestern Atlantic, the blue shark *Prionace glauca* (L.), the shortfin mako, *Isurus oxyrinchus Rafinesque*, and the thresher, *Alopias vulpinus* (Bonnaterre). *Journal of Fish Diseases*, 32, 883–891, 2009.

BRASILEIRO, F., G. Bogliolo: *Patologia geral*. Rio De Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 6.ed. 898. 2019.

CAVE, E.J.; KAJIURA, S.M. Electrosensory Impairment in the Atlantic Stingray, *Hypanus sabinus*, After Crude Oil Exposure, *Zoology*, 143, 2020.

CLEMENTE, Z. MONITORAMENTO DO RESERVATÓRIO ALAGADOS, PONTA GROSSA (PR) ATRAVÉS DE BIOMARCADORES E ANÁLISE DE CIANOTOXINAS. 88p. Dissertação (mestrado). Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. 2009.

COSTA, G.K.A., SILVA, S.P.A., TRINDADE, M.R.C.M., SANTOS, F.L., CARREIRA, R.S., MASSONE, C.G., O SANT'ANA, O.D., SILVA, S.M.B.C. Concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and histological changes in *Anomalocardia brasiliana* and *Crassostrea rhizophorae* from Pernambuco, Brazil after the 2019 oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, 192, 2023.

COMPAGNO, L. J. V. *Sharks of the order Carcharhiniforms*, Princeton: Princeton University Press, 570p., 1988.

COUSIN, J. C. B., PEREIRA-Jr., J. & GONZALES, J. F. HISTOPATOLOGIA NO FÍGADO DE *Prionace glauca* (CHONDRICHTHYES, SQUALIFORMES, CARCHARHINIDAE) CAUSADA POR *Hepatoxylon trichiuri* (EUCESTODA, TRYPANORHYNCHA). *BIOCIÊNCIAS*, 11:2, 167-172. 2003.

DOS SANTOS, C. M. H. & GADIG, O. B. F. Abnormal embryos of sharpnose sharks, *Rhizoprionodon porosus* and *Rhizoprionodon lalandii* (Elasmobranchii:

Carcharhinidae), from Brazilian coast, western South Atlantic. *Marine Biodiversity Records*, 7:55, 2014.

DUCAN, W.P. LASSO C. A., ROSA, R., MORALES-BETANCOURT M. GARRONE-NETO A., D., C.MR. RAYAS DE AGUA DULCE (POTAMOTRYGONIDAE) DE SURAMÉRICA, Parte II, Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. In: *ECOFISIOLOGIA DAS RAIAS DE ÁGUA DOCE (POTAMOTRYGONIDAE): MECANISMOS DE INTERAÇÃO ORGANISMO-AMBIENTE*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia, 2016.

DUNCAN, W.P., SILVA M. I., FERNANDES, M. N. Gill dimensions in near-term embryos of Amazonian freshwater stingrays (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) and their relationship to the lifestyle and habitat of neonatal pups. *Sociedade Brasileira de Ictiologia Neotropical Ichthyology*, 13:1, 123-136, 2015.

EBERT, D. A.; DANDO, M.; FOWLER, S. *Sharks of the world: a complete Guide*. New Jersey, Princeton University Press, 609p, 2021.

ELLIS, A.E, MUNROE, A., ROBERTS, R.J. Defence mechanisms in fish. 1. A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected particulate material in the plaice (*Pleuronectes platessa* L. *Jornal Fish Biology*, 8. 67–79, 1976.

GARCIA, d. P., *Metabolismo do Malondialdeído em peixes: Implicações na avaliação da peroxidação lipídica como biomarcador de contaminação aquática*. 2016.91p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Química Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Fonte: Repositório Institucional UNESP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/0fd31fbd-22a6-49f3-992d-4931bb2daa1b>. Acesso em: novembro, 2023.

HAAPARANTA A., VALTONEN E.T., HOFFMANN R. & HOLMES J. Do macrophage centers in freshwater fishes reflect the difference in water quality? *Aquatic Toxicology* 34, 253–272, 1996.

HONDA, M.; SUZUKIN N. Review Toxicities of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Aquatic Animals.. *Journal Environmental. Research and Public Health*.17:1363, 2020.

EPA 2023. Benzo[A]Pyrene (Bap) Casrn 50-32-8. DISPONÍVEL EM: HTTPS://CFPUB.EPA.GOV/NCEA/IRIS2/CHEMICALLANDING.CFM?SUBSTANC E_NMBR=136, ACESSO EM: Outubro, 2023.

EVANS D, NOWAK B. Effect of ranching time on melanomacrophage centres in anterior kidney and spleen of Southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*. *Fish Shellfish Immunol* (2016) 59:358. 2016.

EVANS, D.H., *The Fish Gill: Site of Action and Model for Toxic Effects of*

Environmental Pollutants . Environmental Health Perspectives, 71, 47-58, 1987.

FIGUEIREDO, J.L., MENEZES, A.N. Manual de peixes marinhos so Sudeste do Brasil. Museu de Zoologia de São Paulo, Universidade de São Paulo, 1977.

FISHBASE, *Hypanus guttatus*. 2023. Disponível em: <https://www.fishbase.se/summary/1247> Acesso em: Julho, 2023.

FISHBASE, *Rhizoprionodon porosus*. 2023. Disponível em: https://www.fishbase.se/Summary/SpeciesSummary.php?id=903&lang=portuguese_po Acesso em: Julho, 2023.

FONSECA A.R., SANCHES L.F., FERNANDES A,C FONTAINHAS-FERNANDES A.D. MONTEIRO, S.M, PACHECO,F.A.L. The impact of freshwater metal concentrations on the severity of histopathological changes in fish gills: A statistical perspective. *Science of the Total Environment*, 599–600.217–226,2017.

GAJIC A., ALIC, A., KAHRIC, A., BILALOVIC,N., SUPIC,J. BESIROVIC, H., Melanomacrophage centers and diseases occurring in lesserspotted catsharks, *Scyliorhinus canicula* (L.), from the southern Adriatic Sea - importance for monitoring. *ACTAADRIATICA*, 61:2, 175 - 184, 2020.

GARNER, M.M. A Retrospective Study of Disease in Elasmobranchs. *Vet. Pathol.*, 50:3, 377-389, 2013.

GIANETI, M.D., SANTANA, F.M., YOKOTA, L. VASCONSELOS, J.E., DIAS, J.F., LESSA, R.P.T. Age structure and multi-model growth estimation of longnose stingray *Hypanus guttatus* (Dasyatidae: Myliobatoidei) from north-east Brazil. *Journal of Fish biology*, 94:3, 481-488, 2019.

GILBERT, J.; REICHEL-T-BRUSHETT, A.; BUTCHER, P.; MCGRATH, S.; PEDDEMORS, V.; BOWLING, A.; CHRISTIDIS L.; Metal and metalloid concentrations in the tissues of dusky *Carcharhinus obscurus*, sandbar *C. plumbeus* and white *Carcharodon carcharias* sharks from south-eastern Australian waters, and the implications for human consumption. *Marine Pollution Bulletin* 92, 186–194, 2015.

GOMES, U.L, SIGNORI, C. GADIG, O.F.B., SANTOS, H.R.S., VICENTE, M.M. A Guide To Identification Of Sharks And Rays From The Rio De Janeiro, Southeast Brazil. Technical Books, Rio de Janeiro, 2, 198p, 2019.

GUIMARÃES, I. D. L. MONTEIRO, F. C., PINHO, J.V.A. RODRIGUES, P.A., FERRARO, R.G.,CONTE-JUNIOR,C.A. Polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic animals: a systematic review on analytical advances and challenges. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 57:3, 198-217,2022.

HAGAR S. DIGHIESH, H.S, ELDANASOURY, M.A., KAMEL, S.A., SHARAF, S.M. Toxicity of Water Soluble Fractions of Petroleum Crude Oil and its

Histopathological Alterations Effects on Red Tilapia Fish. *Catrina The international Journal Of Enviromental Sciences.*, 18:1, 25-31., 2019.

HARPER C, WOLF JC. Morphologic effects of the stress response in fish. *ILAR J.* 50:4. 387-96, 2009.

HONDA, M., SUZUKI, N. Toxicities of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Aquatic Animals. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 17:4, 2020.

IARC, Evidence Summarys Briefs, 2024. Disponível em: [Evidence Summary Briefs series – IARC \(who.int\)](#). Acesso em: dezembro de 2023.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ambiente, trabalho e câncer : aspectos epidemiológicos, toxicológicos e regulatórios. INCA, 290 p. 2021.

IUCN. Lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção. 2023, fonte: virtual, Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/search?query=elasmobranchii&searchType=species>, acesso em: outubro de 2023.

JESUS, R. N. Variações na estrutura populacional e biomarcadores histológicos em Mugil curema (pisces, mugilidae) e Haemulon aurolineatum (pisces, haemulidae) para avaliação de impactos do derramamento de óleo em Pernambuco (Brasil). 98p. Dissertação (Mestrado), Univerisidade Federal Rural de Pernambuco, 2022.

JULIO, T. G., MOURA, V.L., LACERDA, L.D., LESSA, R.P.T. Mercury concentrations in coastal Elasmobranchs (*Hypanus guttatus* and *Rhizoprionodon porosus*) and human exposure in Pernambuco, Northeastern Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 94:, 2022.

KARDONG, K.V. Vertebrados - Anatomia Comparada, Função e Evolução. Roca, 6. 2016.

KOENING, M.L., ESKINAZI-LEÇA, E. SIGRID NEUMANN-LEITÃO, S., MACÊDO S.J. Impactos da construção do Porto de Suape sobre a comunidade fitoplanctônica. *Acta bot. bras.* 16:4, 407-420, 2002.

LACY, E.R., REALE, E. FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF THE ELASMOBRANCH NEPHRON AND RETENTION OF UREA. 5. In: *CELLULAR AND MOLECULAR APPROACHES TO FISH IONIC REGULATION*. Academic Press, 1995.

LACY, E.R., REALE, E. The elasmobranch kidney III. Fine structure of the peritubular sheath. *Anat Embryol.* 173, 299-305, 1986.

LEITÃO, S.S., BARBOSA, J.M., CARRARO, G.P. Caracterização Dos Impactos Ambientais Na Ilha De Itamaracá, Pernambuco. *Rev. Bras. Enga. Pesca* 2[2], 101-111 p, 2007.

LESSA, R., SANTANA, F., RINCÓN, G., GADIG, O., AND EL- DEIR, A. Biodiversidade de elasmobrânquios do brasil. Relatório Para O Programa Nacional De

Diversidade Biológica (Pronabio)-Necton-Elasmobrânquios. Ministério do Meio Ambiente, dos recursos hídricos e da Amazônia legal (MMA). 1999.

LESSA, R.P.T., SANTANA, F.M., ALEMIDA, Z.A. Age and growth of the Brazilian sharpnose shark, *Rhizoprionodon lalandii* and Caribbean sharpnose shark, *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) on the northern coast of Brazil (Maranhão). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4:4, 532-544, 2009.

LESSA, R.P.T., FEITOSA, L.M. Investigando berçários de elasmobrânquios em um hotspot de conservação global para melhoramento do manejo. Cancioneiro, 2021. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/353559177>, Acesso em: setembro de 2023.

LINS, J. A.P.N.; KIRSCHNIK, P.G.; QUEIROZ, V. S.; CIRIO, S. M.; Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica. Revista Acadêmica Ciência Animal* 8(4):469-484, 2010.

LOURENÇO, R.A., Taniguchia, S. SILVA, J., Dias P.S., Bícigo, M.C. Comparação Entre Técnicas De Extração De Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Em Tecidos Hepático E Adiposo De Tetrápodes Marinhos E Avaliação Da Heterogeneidade Dos Tecidos. *Quim. Nova*, Vol. 42, No. 2, 197-205, 2019

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

MARSILI, L., COPPOLA, D., GIANNETTI, M. CASINI, S., FOSSI, M. C., VAN WYK, J. H., SPERONE, E., Tripepi, S., Micarelli, P., Rizzuto, S., (2016). Skin biopsies as a sensitive non-lethal technique for the ecotoxicological studies of great White shark (*Carcharodon carcharias*) sampled in South Africa. *Expert Opin Environmental Biology*. 4:1, 2016.

MARTINS, M. F., COSTA, P. G., BIANCHINI, A. Contaminant screening and tissue distribution in the critically endangered Brazilian guitarfish *Pseudobatos horkelii*. *Environmental pollution*, 265, 2020.

MARTINS, M. F., COSTA, P. G., BIANCHINI, A. Maternal transfer of polycyclic aromatic hydrocarbon in endangered elasmobranch, the Brazilian guitarfish. *Chemosphere* 263, 2020.

MARTINS, M. F., COSTA, P. G., BIANCHINI, A., Contaminant screening and tissue distribution in the critically endangered Brazilian guitarfish *Pseudobatos horkelii*. *Environmental pollution*. 265, 2020.

MARTINS, M. F., COSTA, P. G., BIANCHINI, A.. Maternal transfer of polycyclic aromatic hydrocarbon in endangered elasmobranch, the Brazilian guitarfish. *Chemosphere* 263, 2021.

MARTORELLI, S. R., FREDENSBORG, B. L., - LEUNG, T. L. F., Four trematode cercariae from the New Zealand intertidal snail *Zeacumantus subcarinatus* (Batillariidae). *New Zealand Journal of Zoology*, 35:1, 73-85, 2008.

MCHUGH, K.J., SMIT, N.J., VAN VUREN, J.H.J., VAN DYK, J.C., BERVOETS, L., - COVACI, A., WEPENER, V. A histology-based fish health assessment of the tigerfish, *Hydrocynus vittatus* from a DDT-affected area. *Physics and Chemistry of the Earth*, 36:14, 895-904, 2011.

MELO, A. C. M.; ARAÚJO, M. L. G.; LESSA, R. P. T. Biologia reprodutiva e pesca de *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) em Pernambuco-Brasil. IN: III Simpósio Iberoamericano de Ecologia Reprodutiva, Recrutamento e Pesca, 3, 2015. Porto de Galinhas. Livro Rápido. Olinda, 234p.

MELO, A.C.M. Biologia reprodutiva e pesca da raia *Dasyatis guttata* (Block & Schneider, 1801) (Elasmobranchii: Dasyatidae) na plataforma continental de Pernambuco, Brasil. 98 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

MELO, A.C.M., ANDRADE, C.B., POSCAI, A. REGO, M.G., SÁ, F.B., NETO, J.E., ARAUJO, A.L. Ecomorphology of the rectal gland of three batoids (Elasmobranchii: Myliobatiformes). *Zoologischer Anzeiger*, 293. 225-232, 2021.

MELO, L.F. Desenvolvimento embrionário do fígado de Tubarão azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes. 41p. Dissertação (mestrado), Universidade de São Paulo, Pós Graduação Anatomia de Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo. 2017.

MELO, L.F., CABRERA, M.L., RODRIGUES, A.C.B., TURQUETTI, A.O.M., RUIVO, L.P., BRUNO, C.E.M., RICI, R.E.G. Morphological Description of Blue Shark Liver, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)*, 6:5, 2019.

MITCHELL, S.O., SCHOLZ, F., MARCOS, H. RODGER. Sampling Artefacts in Gill Histology of Freshwater Atlantic Salmon (*Salmo Salar*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* .43:1, 1–11, 2023.

MOLTER, C. M., BASELER, L.J. CLINICAL CHALLENGE: DIAGNOSIS OF LOIMOPAPILLOSUM SP. BRANCHITIS IN A SOUTHERN STINGRAY (*DASYATIS AMERICANA*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 48:4, 1267–1269, 2017.

MORAES, J.F., AGUINAGA, J.Y. VIADANNA, P.O., MORAES, F.R. A histology-based study in apparently healthy wild freshwater stingrays *Potamotrygon motoro*. *Comparative Clinical Pathology*, 25, 165–168, 2016.

MULL, C.; LYONS, K.; BLASIUS, M.; WINKLER, C.; O’SULLIVAN, J.; LOWE, C.; Evidence of maternal offloading of organic contaminants in white sharks. *PLOS ONE*,

8:4, 2013.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. *Aquatic Toxicology*. 74, 53–69, 2005.

PEDRO M. COSTA, P.M. DINIZ, M. S., CAEIRO, S., LOBO, J. MARTINS, M. FERREIRA, A.M. CAETANO, M., VALE, C., DELVALLS, A. COSTA, M.H. Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: A weighted indices approach. *Aquatic Toxicology* 92, 202–212, 2009.

PENA, P. G. L., NORTHROSS, A. L., LIMA, M. A. G., RÊGO, R. C. F., Derramamento de Óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. *CSP Cadernos Saúde pública*, 36:2, 2020.

QUEIROZ, P.A.N. Ecologia alimentar de *Dasyatis guttata* (Myliobatoidei: Dasyatidae) capturada pela pesca artesanal no litoral de Pernambuco, Brasil. 2017. 94 p. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Recife, 2017.

RIBEIRO, E.B., I. M. A. LIMA, I.M.A., CARVALHO-NETO, F. C. M., BEZERRA, I. C. S. SODRÉ, L. C. CARVALHO-NETA, R. N. F. Gill and hepatic histological alterations in *Sciades herzbergii* resulting from trace element contamination in the Port of São Luiz, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 83:274069, 2023.

ROBERST, R.J. *Fish Pathology*. Blackwell Publishing Ltd 4. 2012.

RODRIGUES, P., OLIVA-TELES, L., GUIMARÃES, L. Occurrence of Pharmaceutical and Pesticide Transformation Products in Freshwater: Update on Environmental Levels, Toxicological Information and Future Challenges. *Reviews Env. Contamination (formerly: Residue Reviews)* 260, 14 2022.

RODRÍGUEZ-IBARRA, E., MONKS, S., PULIDO-FLORES, G. Metacercariae of the type *Paramonilicaecum* (Digenea: Didymozoidae), accidental parasites in elasmobranchs (Elasmobranchii) from the Mexican Gulf of Mexico and identification of metacercarias (Didymozoidae) of the Colección Nacional de Helminthos. *Revista Mexicana de Biodiversidade*, 82:2, 2011.

RODRÍGUEZ-SANTIAGO, M.A., GRANO-MALDONADO, M.I., ÁVILA, E., GÓMEZ, S. Occurrence Of *Heteropriapulus heterotylus* (Monogenoidea: Dactylogyridae), Ectoparasite Of Two Invasive Sailfin Catfishes (Siluriformes: Loricariidae) From The Southeastern Mexico. *Neotropical Helminthology*. 9:1, 2015.

SARAIVA, L.COSTA, J.F. SERRADO, J. CRUZ, C. EIRAS, J.C. A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*, 448, 375-381, 2015.

SHEPHARD, K.L. The influence of mucus on the diffusion of ions across the esophagus of fish. *Physiological Zoology*. 55:21-34, 1982.

SANT'ANNA, C.S. DE ALBUQUERQUE, C. A.C.; CRISTIANE S; FILHO, G.R.O.; Prática deliberada no ensino de histologia na graduação em Medicina: estudo prospectivo randomizado e controlado. *Revista Brasileira de Educação Médica*, 46:2, 2022.

SMITH, M. WARMOLTS, D., ROBERT, D.T., MURRAY, H.M., EZCURRA, J. *The Elasmobranch Husbandry Manual II: Recent Advances in the Care of Sharks, Rays and their Relatives* Editors Ohio Biological Survey. 504 p. 2017.

SOARES, L.M.B. INTEMPERISMO NATURAL DO ÓLEO QUE ATINGIU A COSTA DE PERNAMBUCO DURANTE O DESASTRE OCORRIDO NO SEGUNDO SEMESTRE DE 2019: COMPARAÇÃO ENTRE UM COSTÃO ROCHOSO (ITAPUAMA) E A FOZ DE UM RIO (MAMUCABAS), 74p. Trabalho de Conclusão, Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

SOMERVILLE, R., FISHER, M., PERSSON, L. Análise das concentrações de elementos-traço e atividade de enzimas antioxidantes no tecido muscular do tubarão-nariz-afiado do Atlântico, *Rhizoprionodon terraenovae*. *Arch Environ Contam Toxicol* 79, 371–390, 2020.

STEINEL, N.C, BOLNICK, D.I. Melanomacrophage Centers As a Histological Indicator of Immune Function in Fish and Other Poikilotherms. *Front. Immunolgy*. 8:827, 2017.

STEVENS, J., BONFIL, R., DULVY, N., AND WALKER, P. The effects of fishing on shark, rays, and chimaeras (condrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57:3, 476-494, 2000.

SZKLO, A. S. ; ULLER, V. C. . *Fundamentos do Refino de Petróleo - Economia*. Rio de Janeiro: Intercências, 2:1. 2008.

TIKTAKA G. P., DEMI B., LAWRENCEC, P.J., JOHN, N., LEE B., SHAWA, K., PREZIOSIA, R., MEGSONA, D. (2020). Review Are concentrations of pollutants in sharks, rays and skates (Elasmobranchii) a cause for concern? A systematic review. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 2020.

THOPHON, S., M. KRUATRACHUE, E. S. UPATHAN, P. POKETHITIYOOK, S. SAHAPHONG, S. JARIKHUAN. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*, 121: 307-320, 2003.

TRESNATI, J., DJAWAD, I. Effect of lead on gill and liver of blue spotted ray (*Dasyatis kuhlii*). *Journal of Cell and Animal Biology*. 6:17, 250-256, 2012.

VAS, P.; Trace metal levels in sharks from British and Atlantic waters. *Marine Pollution Bulletin* 22, 67–72, 1991.

VIDYA, P.V., CHITRA, K.C. Sublethal effects of silicon dioxide nanoparticles on the structure of gill, liver and brain tissues in the fish, *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). *IJAR*, 4:4, 228-232, 2018.

WEGNER, N.C. Elasmobranch Gill Structure. *Physiology of Elasmobranch Fishes: Structure and Interaction with Environment*, 34:3, 2016.

WOLF, J.C, BAUMGARTNER, W.A, BLAZER,V.S. Nonlesions, Misdiagnoses, Missed Diagnoses, and Other Interpretive Challenges in Fish Histopathology Studies: A Guide for Investigators, Authors, Reviewers, and Readers. *Toxicologic Pathology*,43:3, 297-325. 2015.

WOLF, J.C., WHEELER, J.R. A critical review of histopathological findings associated with endocrine and non-endocrine hepatic toxicity in fish models. *quatic Toxicology* 197, 60–70, 2018.

WOSNICK N., AWRUCH C. A., ADAMS, K. R., GUTIERRE; S. M. M., BORNATOWSKI, H., PRADO, A. C. FREIRE, C. A. Impacts of fisheiries on elasmobranch reporduction: high rates of abortation and subsequent maternal mortality in the shortnose guitarfish. *Animal Conservation*. 22:2, 198-206,2019.

WOSNICK, N. MARTINS, M.F., MOOG,. G.A.V., HAUSER-DAVIS, R.A. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contamination in Sharks and Batoids (Chondrichthyes: Elasmobranchii) and Ensuing Ecological Concerns. In: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* Editor: Warren L. Gregoire, Nova Science Publishers,2022.

Wosnick, N., Chaves, A.P. LEITE, R.D., SILVA, J.L., Saint’Pierre, T.D., Willmer, I.Q., Hauser-Davis, R.A. Nurse shark, space rockets and cargo ships: Metal and oxidative strees in a benthic, residente and large-sized mesopredator, *Ginglymostoma cirratum*. *Environmental Pollution*, 288:11, 2021.

YOKOTA LESSA, R.P.T., *Neotropical Ichthyology*, 16:1, 2018.

YOKOTA, L. & R.P. LESSA. . A nursery area for sharks and rays in northeastern Brazil. *Environmental Biology of Fishes* 75: 349-360, 2006.

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

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Elasmobrânquios foram considerados bons bioindicadores de poluição ambiental, com destaque para *H. gutattus*. O tempo de exposição a um tóxico é um fator crucial na intensidade da agressão e impacto ambiental. O monitoramento ambiental deve ser realizado no âmbito das espécies bioindicadoras para prevenir e nortear situações de exposição como derramamentos e descargas de compostos orgânicos e inorgânicos.

As repostas fisiológicas dos animais aquáticos precisa ser entendida e estabelecida, a fim de elucidar caminhos na reestruturação dos ecossistemas. Considera-se imprescindível realização de pesquisas envolvendo elasmobrânquios na América do Sul, devido a forte industrialização e declínio das espécies. Se torna necessário estabelecer limites de toxinas acurados, definir concentrações toleráveis de poluentes para espécies em elasmobrânquios no Brasil e no mundo. A gestão sustentável deve ser aprimorada nos governos, a fim de remediar e buscar o menor impacto dos efluentes contaminantes com o meio aquático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HASSAN, J. M., AFZAL, M., RAO, C. V. N., FAYAD, S. Petroleum Hydrocarbon Pollution in sharks in the arabian gulf. *Environmental Contamination and Toxicology*, New York. (2000) 65:391-398.

ALVES, L. M.F., LEMOS, M. F.L., CABRAL H., NOVAIS, S. C. Elasmobranchs as bioindicators of pollution in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, Volume 176, 2022.

BERNET, D., SCHMID, H., MEIER, W., BURKHARDT-HOLM, P., WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22, 25-34. 1999.

BEZERRA, N. B. P. A., ONODERA, A.R., NUNES P., VIANA D.L., NUNES, I. S. L.B., RÊGO, M.G. ROQUE, P.C.G., HAZIN, F.V. Elasmobrânquios marinhos do nordeste brasileiro. *Ciências do Mar: dos oceanos do mundo ao Nordeste do Brasil*, agosto 2021. 205-225.

BEZERRA, N.P.A., NUNES, A.R.P.N., VIANA, D.L. Ilka Siqueira Lima Branco NUNES, I.S.L.B., RÊGO, M.G., ROQUE, P.C.G., HAZIN, F.V. ELASMOBRÂNQUIOS MARINHOS DO NORDESTE BRASILEIRO. *Ciências do Mar: dos oceanos do mundo ao Nordeste do Brasil*. 235p, 2021 Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/354031461_ELASMOBRANQUIOS_MARINHOS_DO_NORDESTE_BRASILEIRO. Acesso em: outubro 2023.

BRASILEIRO, F., G. Bogliolo: *Patologia geral*. Rio De Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 6.ed. 898p. 2019.

CARRIER, J.C., MUSICK, J.A., & HEITHAUS, M.R. *Sharks and Their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation*. CRC Press, 1ed, 2010. 746p.

DENT, F., CLARKE, S. State of the global market for shark products. *Fao Fisheries And Aquaculture Technical Paper*. 2015.

EBERT, D.A., DANDO, M., FOWLER, S. *Sharks of the World: A complete guide*, Princeton University Press, 2ed, 2021.

GADIG, O.B.F. *Tubarões da costa brasileira*. 2001, Dissertação (Mestrado), Ciências Biológica, Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, São Paulo, Fonte Virtual, Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/34244521_Tubaroes_da_costa_brasileira, Acesso em: acesso em julho de 2023.

GELSLEICHTER, J. WALKER, C.J. Pollutant Exposure and Effects in Sharks and Their Relatives, IN: Carrier, J.C., Musick, J.A., & Heithaus, M.R. (Eds.). *Sharks and*

Their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation, CRC Press, 1ed, 2010.746p.

GOMES, U.L, SIGNORI, C. GADIG, O.F.B., SANTOS, H.R.S., VICENTE, M.M. A Guide To Identification Of Sharks And Rays From The Rio De Janeiro, Southeast Brazil. Technical Books, Rio de Janeiro, 2ed, 198p, 2019.

GREEN, J. W., SPRINGER, T.A. SAULNIER, A. N., SWINTEK, J. Statistical Analysis Of Histopathological Endpoints. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 33, No. 5, 1108–1116p., 2014.

HEMMADI, V. Review Article A critical review on integrating multiple fish biomarkers as indicator of heavy metals contamination in aquatic ecosystem. International Journal of Bioassays 6.9, 5494-5506p, 2017.

JULIO, T.G. Biodiversidade e contaminação por mercúrio de elasmobrânquios da costa de Pernambuco . 2019. 75 p. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Fonte: Repositório UFPE. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/33105>, Acesso em: julho 2023.

KOENING, M.L., ESKINAZI-LEÇA, E. SIGRID NEUMANN-LEITÃO, S., MACÊDO S.J. Impactos da construção do Porto de Suape sobre a comunidade fitoplanctônica. Acta bot. bras. 16(4): 407-420, 2002.

KOTAS, J.E., VIZUETE, E.P., SANTOS, R.A., BAGGIO, M.R., SALGE, P.G., BARRETO, R. PAN Tubarões: Primeiro Ciclo do Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Tubarões e Raias Marinhas Ameaçados de Extinção . Brasília (DF): ICMBio/CEPSUL, 384p. 2023. Fonte: Repositório ICMBio, Disponível em: <https://repositorio.icmbio.gov.br/bitstream/ceca/17110/2/Livro%20Pan%20Tubar%C3%B5es%202023%20vfinal%202023.01%20digital%20compacto%20PREFACIO%20APRES.pdf>. Acesso em: julho 2023.

LEITÃO, S.S., BARBOSA, J.M., CARRARO, G.P. Caracterização Dos Impactos Ambientais Na Ilha De Itamaracá, Pernambuco. Rev. Bras. Enga. Pesca 2[2], 101-111 p, 2007.

LESSA, R., SANTANA, F., RINCÓN, G., GADIG, O., AND EL- DEIR, A. Biodiversidade de elasmobrânquios do Brasil. Relatório Para O Programa Nacional De Diversidade Biológica (Pronabio)-Necton-Elasmobrânquios. Ministério do Meio Ambiente, dos recursos hídricos e da Amazônia legal (MMA). 1999.

LIEBEL, S., TOMOTAKE, M. E. M., OLIVEIRA, C. A. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 8(2), 09–15, 2013.

LUCENA, L.R.R., LESSA, R.P.T. HAPE AND CLUSTER ANALYSIS FOR DIFFERENT DETECTOR PATTERNS OF RHIZOPRIONODON POROSUS IN NORTHEAST COAST OF BRAZIL. Rev. Bras. Biom., Lavras, 37:2, 258-271, 2019.

NICHOLAS K DULVY, N.K., FOWLER, S.R., MUSICK, J.A., CAVANAGH, R.D., KYNE, P.M., HARRISON, L.R., CARLSON, J.K., DAVIDSON, L.N.K., FORDHAM,

S.V., FRANCIS, M.P., POLLOCK, C.M., SIMPFENDORFER C.A., BURGESS, G.H., CARPENTER, K.E. COMPAGNO, L.J., DAVID A EBERT. D.A., GIBSON, C., HEUPEL, M.R., LIVINGSTONE, S.R., JONNELL C SANCIANGCO, J.C., STEVENS. J.D., VALENTI, S., WHITE, W.T. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays, *Life*, 590, 2014.

OLIVEIRA, C.D.L., OLIVEIRA, C.Y.B. SILVA, H.R., JULIO, T. G. Diversity of seawater stingray in the coast of Brazil and its status of national and global threat . *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, 2019, 52(1): 7 – 20.

OLIVEIRA, S.R.S., PINHEIRO-SOUSA, P.S., ALMEIDA, Z.S. CASTRO, J., CARVALHO-NETA, R.F.N. Lesões Histopatológicas Como Biomarcadores De Contaminação Aquática Em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes, Cichlidae) De Uma Área Protegida No Maranhão. *Rev. Bras. Eng. Pesca* 9(1): 12-26, 2016.

PEREIRA, N. J., SANTOS, M. M. DOS, MAIÃO, J. P. L. DA S., CAMPOS, J. S. DE P., SILVA, N. D. DA, MENDES, D. C. DA S., LENZ, T. DE M., & SANTOS, D. M. S. Biomarcadores histológicos em brânquias de peixes na avaliação da contaminação ambiental do Rio Mearim, Nordeste brasileiro. *Brazilian Journal of Development*, 6(9), 68063–68079, 2020.

PRIEDE, G. I. Colonization of the deep sea by fishes. *Journal of Fish Biology*, 83(6):1528-50. 2013.

REZENDE C. E., MARQUES, J.S.J., RANGEL, T.P., BRITO, F.P., ALMEIDA, M.G., SALOMÃO, M.B., GOBO, A.A.R., SOUZA-SANTOS, L.P., ARAÚJO-CATRO, C.M.V., COTSA, M.F. Geoquímica De Metais Em Sedimentos Da Zona Estuarina Do Complexo Industrial Porto De Suape, Pe. *Journal Of Integrated Coastal Zone Management*, Vol. 11, Núm. 4, 2011, Pp. 379-387.

RIBEIRO C.A. O., BELGER L., PELLETIER, E., ROULEAUC C. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research* 90, 217–225, 2002.

STEINEL, N.C., BOLNICK, D.I. Melanomacrophage Centers As a Histological indicator of immune Function in Fish and Other Poikilotherms. *Journal Frontiers in Immunology*, Volume 8:827, 2017 .

STEVENS, J., BONFIL, R., DULVY, N., AND WALKER, P. The effects of fishing on shark, rays, and chimaeras (condrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3):476-494.

TIKTAKA G. P., DEMI B., LAWRENCEC, P.J., JOHN, N., LEE B., SHAWA, K., PREZIOSIA, R., MEGSONA, D. (2020). Review Are concentrations of pollutants in sharks, rays and skates (Elasmobranchii) a cause for concern? A systematic review. *Marine Pollution Bulletin*, Volume 160, 2020.

TRESNATI, J., DJAWAD, I. Effect of lead on gill and liver of blue spotted ray (*Dasyatis kuhlii*). *Journal of Cell and Animal Biology* Vol. 6(17), pp. 250-256, 2012.

VIANNA, A.M. Poluição Ambiental, Um Problema De Urbanização e Crescimento Desordenado Das Cidades. *Sustinere*, v. 3, n. 1, p. 22-42, 2015.

WINKALER, E.U. SILVA, A.G., GALINDO, H.C., MARTINEZ, C.B.R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Maringá*, v. 23, n. 2, p. 507-514, 2001.