

NOVAS EVIDÊNCIAS PALINOLÓGICAS DE UM PALEOCANAL DA LAGOA MIRIM NAS ADJACÊNCIAS DO BANHADO DO TAIM, RIO GRANDE – RS

Leonardo Gonçalves de Lima¹, Cláudia Klose Parise²

¹ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Oceanografia e Limnologia, Laboratório de Estudos em Oceanografia Geológica. Av. dos Portugueses 1966, Cidade Universitária do Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

² Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Oceanografia e Limnologia, Laboratório de Estudos em Modelagem Climática. Av. dos Portugueses 1966, Cidade Universitária do Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

Autor correspondente: lima.leonardo@ufma.br.

RESUMO

Na região do Banhado do Taim foi preservado um ambiente deposicional de canal de ligação (*inlet*) que outrora viabilizou o desenvolvimento de amplos sistemas lagunares/estuarinos na retaguarda de barreiras costeiras durante diferentes ciclos transgressivos e regressivos da linha de costa. As condições de estiagem relacionadas ao fenômeno La Niña de 2007 possibilitaram o afloramento de uma seção estratigráfica areno-lamosa numa localidade que diversos autores propuseram ser a antiga paleoembocadura da lagoa Mirim. No presente estudo, três fácies sedimentares foram amostradas em um único afloramento, integrando análises sedimentológicas, palinológicas e diatomológicas. Os resultados obtidos permitiram interpretações a respeito da gênese e evolução de um paleocanal de ligação entre a Lagoa Mirim e o Oceano Atlântico. Foram descritas quatro fases: uma primeira fase de elevado hidrodinamismo responsável pela deposição dos sedimentos mais basais do canal composta de areias siliciclásticas com a presença de estruturas cruzadas; uma segunda fase essencialmente estuarina governada por uma elevada troca de águas entre laguna e oceano uma terceira fase apontando uma redução das atividades dinâmicas do canal com posterior desenvolvimento vegetacional nas adjacências do canal e uma última fase caracterizando a colmatação do canal e a formação posterior de um horizonte de solos.

Palavras-chaves: evolução costeira, palinologia, sistemas laguna-barreira.

Abstract

New Palynological Evidence of a Mirim Lagoon Paleochannel in The Vicinity of the Taim Swamp, Rio Grande – RS

In the Taim Swamp region, depositional environments of connection channels were preserved, which allowed the development of large lagoon and estuarine systems at the rear of coastal barriers during different transgressive and regressive cycles of the coastline. The drought conditions related to the La Niña phenomenon of 2007 propitiated the outcropping of old stratigraphic levels along the Mirim Lagoon margins. In the present study, three sedimentary facies were sampled in a single outcrop, integrating sedimentological, palynological and diatomological analyzes. The results obtained here allowed interpreting genesis and evolution of a paleocanal of connection between the Mirim lagoon and the Atlantic Ocean. Four phases were interpreted: a first phase of high hydrodynamism responsible for the deposition of the most basal sediments of the channel, composed by siliciclastic sands with crossed structures a second phase essentially estuarine governed by a high water exchange between lagoon and ocean a third one indicating a reduction of the dynamics of the canal with later vegetative development in the adjacencies of the channel and a last phase characterizing the channel filling occurs followed by the formation of a soils horizon.

Key Words: Coastal Evolution, Palinology, Barrier-Lagoon Systems.

INTRODUÇÃO

Os trabalhos de mapeamento geológico da planície costeira do Rio Grande do Sul (RS) realizados nas últimas décadas (p.e., Villwock 1984; Villwock & Tomazelli, 1995; Tomazelli & Villwock,

2000; Rosa *et al.*, 2007), permitiram a compreensão dos eventos que marcaram a gênese e a evolução da região costeira durante o Quaternário (Pleistoceno e Holoceno). Sob o controle das variações climáticas e flutuações do nível relativo do mar durante este período, os sedimentos disponíveis se acumularam

em distintos sistemas deposicionais transgressivos-regressivos do tipo laguna-barreira (Abreu *et al.* 1984, Villwock & Tomazelli, 1995, Buchmann *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 2012).

Do ponto de vista paleogeográfico e, portanto, da sucessão de eventos que originaram as lagoas e lagunas costeiras do sul do RS, Jost *et al.* (1974) sugeriram um modelo conceitual de configuração da linha de costa a partir do Plioceno Superior cuja gênese se dá a partir da formação de barreiras costeiras ancoradas em substratos pleistocênicos. O sistema Lagunar IV no litoral sul do RS é representado atualmente pela Lagoa Mangueira e banhados associados (Fig. 1) cobrindo uma bacia de drenagem de 2.000 km². A orientação principal da Lagoa Mangueira, no mesmo sentido dos ventos predominantes de sudoeste (SW) e nordeste (NE), produz uma ampla pista de vento (*fetch*), intensificando a geração de ondas e correntes, levando ao desenvolvimento de sequências erosivas e deposicionais de grande expressão regional, os esporões arenosos (*spits*) (e.g. Toldo Jr, 1994). Segundo Martins *et al.* (1972) a drenagem continental em períodos de mar baixo transportava os sedimentos em direção ao Cone do Rio Grande, um prisma sedimentar na quebra da atual plataforma continental do RS com mais de 10.000 m de espessura. Estudos baseados em dados geomorfológicos (p.e., Delaney, 1965; Soliani, 1973; Soliani & Jost, 1974; Buchmann, 1997 e Buchmann *et al.*, 1998) propuseram que o Banhado do Taim seria a ligação da Lagoa Mirim e o Oceano. Rosa *et al.* (2007) por meio de uma nova abordagem geomorfológica para o setor sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul (PCRGS) baseada em imagens de radar (SRTM) enfatiza que junto ao banhado do Taim encontrava-se esta antiga paleoembocadura. Nesta mesma localidade, Rosa *et al.* (2009), utilizando-se de dados gravimétricos, evidenciaram a presença de uma forte anomalia negativa, sugerindo a existência de um vale inciso, cuja drenagem, durante períodos de nível do mar baixo, transferia sedimentos da PCRGS para as regiões mais distais da Bacia de Pelotas. Neste mesmo contexto, Lima *et al.* (2012) vinculou a origem holocênica da paleoembocadura da Lagoa Mirim ao desenvolvimento de uma ilha-barreira transgressiva que migrou em direção ao continente originando a atual Lagoa Mangueira. Neste mesmo artigo fica evidenciado que a conexão entre a Laguna Mirim e o oceano permaneceu ativa de 6.820 cal. anos AP até 710 cal. anos AP, quando então ambientes paludiais de água doce ocupam o complexo lagunar indicando o colapso dos canais

de ligação outrora existentes, e que permitiam no passado o desenvolvimento de ambientes estuarinos na retrobarreira.

O presente estudo apresenta novas evidências palinológicas e micropaleontológicas que confirmam a posição e a evolução do paleocanal entre a Laguna Mirim e o Oceano Atlântico.

MATERIAL E MÉTODOS

Na região do Banhado do Taim (Figura 1) sob uma condição extrema de estiagem relacionada ao fenômeno La Niña de 2007 (de Lima *et al.*, 2010) os níveis lagunares foram rebaixados o suficiente para expor um afloramento sedimentar ao longo de um canal artificial de drenagem (Figura 2). Nas coordenadas 32°33'39"S e 52°35'04"O foi realizado um corte estratigráfico com a utilização de uma pá para expor as estruturas sedimentares presentes, remover possíveis desmoronamentos e camadas intemperizadas presentes no afloramento. A partir disto foram amostrados sedimentos em sete níveis estratigráficos (N1, N2, N3, N4, N5, N6 e N7) e hierarquizados em três fácies sedimentares de acordo com as características texturais, estruturas sedimentares, microfósseis e coloração dos sedimentos. Estas amostras foram processadas com o objetivo de individualizar suas classes texturais em intervalos granulométricos de ½ phi, conforme metodologia proposta por Suguio (1973). O tratamento estatístico das amostras seguiu a método descrito em Folk e Ward (1957) e os resultados analisados no programa SISGRAN (Camargo, 2006). O carbono total (volátil) dos níveis estratigráficos (alíquotas de 5g) foi obtido mediante a queima em um forno de Lavoisier por 4 horas à temperatura de 550°C, segundo método empregado por Wetzel (1975). Parâmetros relativos à coloração dos sedimentos foram descritos segundo Munsell (2009).

De forma complementar às descrições palinológicas foram realizadas caracterizações da flora local, a partir da coleta e identificação de exemplares botânicos.

A partir do registro sedimentar foram realizadas análises micropaleontológicas que incluem contagem e identificação de diatomáceas e palinomorfos a nível de família. Para tal foram coletadas em campo alíquotas de 1 cm³ nos sete níveis estratigráficos amostrados. O processamento químico das amostras foi baseado nas técnicas descritas em Faegri e Iversen (1989), adaptando-se o tratamento a frio com HCl (5%) e KOH (5%) e separação entre partículas

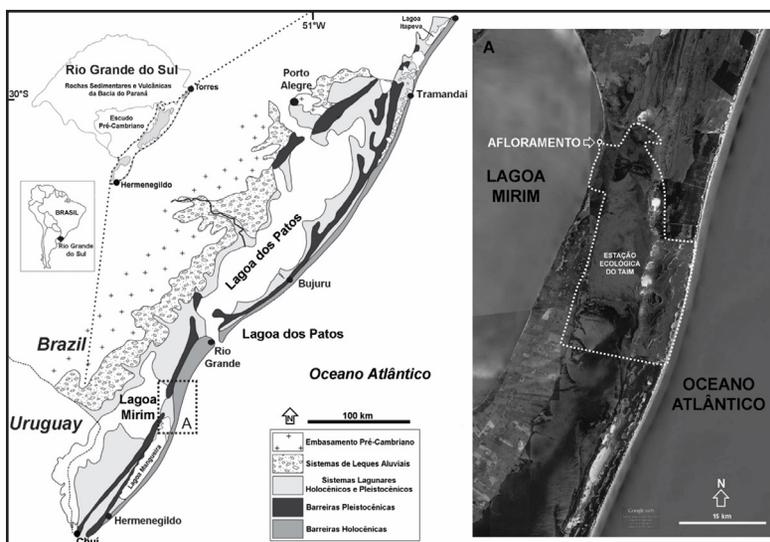


Figura 1. Mapa de localização do Banhado do Taim e geologia geral da Planície Costeira do Rio Grande do Sul (modificado de Tomazelli e Villwock, 1996). A imagem Google Earth ilustra a superfície atual das barreiras costeiras e a localização do afloramento onde foi descrito o paleocanal.

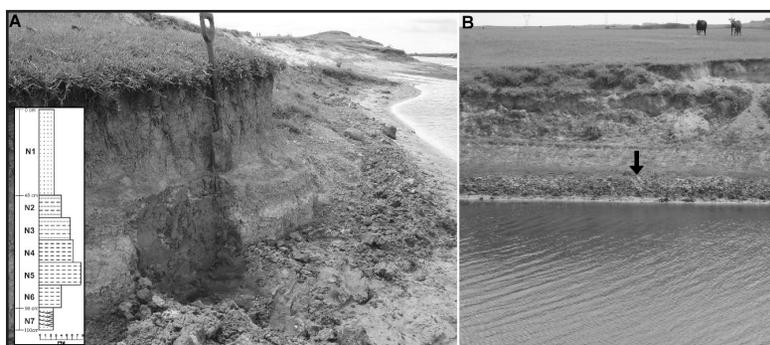


Figura 2. A) Afloramento sedimentar às margens da Lagoa Mirim e seção estratigráfica interpretada (escala: pá de corte). B) Vista panorâmica do canal artificial de drenagem onde se observa o estrato silteoso relativo à fácies B indicado pela seta.

inorgânicas e orgânicas mediante a utilização de solução aquosa de $ZnCl_2$ de densidade 2,2 g/cm³. Os resultados foram analisados e visualizados no programa C2 versão 1.7.7 (Juggins, 2005). Num microscópio Zeiss foram fotografados os principais táxons identificados.

RESULTADOS

Os resultados mostrados a seguir incluem a caracterização e descrição palinológica, micropaleontológicas e geobotânica de um afloramento sedimentar às margens da Lagoa Mirim. A superfície do afloramento apresenta-se plana com uma composição vegetal de mais de 85% de gramíneas, principalmente *Paspalum* sp., *Axonopus* sp. e *Andropogon* sp., ocorrendo também

leguminosas, mirtáceas, umbelíferas, verbenáceas, pteridófitas, ciperáceas e euforbiáceas geralmente de pequeno porte. As margens lagunares, banhados e terrenos topograficamente rebaixados são tomados por vegetação paludial, principalmente *Scirpus* sp., *Juncus acutus* e *Typha domingensis*.

O registro sedimentar foi hierarquizado em três fácies sedimentares (Fig. 2A e tab.1) A fácies de topo (nível N1) foi designada de fácies A apresentando um horizonte B textural, com características de um paleossolo hidromórfico de 40 cm de espessura com 6% de matéria orgânica volátil e grande quantidade de detritos orgânicos de tamanho areia grossa. Esta fácies foi classificada como areia fina (2,5 phi), moderadamente selecionada (Tab. 1) e de coloração oliva acinzentada (2,5GY 7/1). Esta amostra contém 2,2 e 4,5 % de silte e argila, respectivamente. Abaixo

desta fácies encontra-se a fácies B (Fig. 2) de 50 cm de espessura e comportando os níveis N2, N3, N4, N5 e N6, onde no intervalo basal de 10 cm apresenta textura de silte grosso (4,0 phi) sem estruturas sedimentares, muito pobremente selecionado e coloração cinza avermelhado (7,5R 6/2), enquanto que no nível acima desse encontra-se um horizonte de 40 cm de espessura com granocrescência ascendente variando de silte muito fino (7,8 phi) a silte grosso (4,0 phi), de coloração oliva acinzentado claro (5GY 7/1). O intervalo de 20 cm no topo da fácies B (N2 e N3) apresenta lentes de areia milimétricas exibindo geometria plano paralela. Na fácies B torna-se nítido a presença de concreções ferruginosas centimétricas de coloração amarelada claro (5Y 6/6) dispersas aleatoriamente. Esta fácies baseou-se em cinco amostras sedimentares e palinológicas, sendo que somente o nível N3 e N5 apresentaram resultados positivos para palinomorfos e diatomáceas. Na fácies B, a matéria orgânica volátil oscilou entre 2,75 a 5,25% enquanto nos níveis N3 e N5 apresentou 3,18 e 5,25%, respectivamente.

A fácies C representa a base do estrato sedimentar amostrado (nível N7), apresentando estruturas cruzadas de baixo ângulo, textura de areia fina (2,3 phi) bem selecionada (Tab. 1), de coloração verde acinzentado claro (10GY 8/1), com teor de 0,7% de matéria orgânica. Esta fácies insere-se de forma abrupta sobre a fácies B indicando uma provável discordância erosiva neste limite.

Dentre as sete amostras palinológicas processadas, somente duas (N3 e N5) produziram resultados positivos para palinomorfos e diatomáceas (>100 grãos por lamina). Os resultados referentes ao nível N3 são caracterizados pela ausência de palinomorfos de algas marinhas (Dinoflagelados) (Figura 3). Polens arbóreos estão presentes neste nível, porém sua ocorrência é rara, onde Anacardiaceae e Palmae tiveram ambos 1,2% de frequência, enquanto Moracea-Urticaceae e *Alnus* representaram 0,6% do total (Figura 4). Entre os polens herbáceos (não-arbóreos) observou-se maior frequência de Asteraceae (24%), seguida de Poaceae (15,8%) e Cyperaceae (12,6%). Menos frequentes nesta

Tabela 1. Classificação verbal das amostras sedimentares recuperadas do afloramento.

Fácies	Nível	Média	Classificação	Mediana	Seleção	Classificação	Assimetria	Classificação	Curtose	Classificação	% Areia	% Silte	% Argila
A	N1	2,60	Areia fina	2,55	0,96	Moderadamente selecionado	0,45	Muito positiva	2,96	Muito leptocúrtica	93,24	2,258	4,5
	N2	4,00	Silte grosso	3,38	1,65	Pobremente selecionado	0,73	Muito positiva	3,46	Extremamente leptocúrtica	77,1	14,36	8,537
	N3	5,63	Silte médio	5,09	2,28	Muito pobremente selecionado	0,33	Muito positiva	0,58	Muito platocúrtica	41,02	32,77	26,2
	N4	6,27	Silte fino	5,74	3,36	Muito pobremente selecionado	0,22	Positiva	0,71	Platicúrtica	34,03	38,34	27,63
	N5	7,87	Silte muito fino	8,58	3,35	Muito pobremente selecionado	-0,26	Negativa	0,57	Muito platocúrtica	18,58	30,79	50,62
	N6	4,06	Silte grosso	3,08	2,33	Muito pobremente selecionado	0,73	Muito positiva	1,81	Muito leptocúrtica	72,35	17,81	9,838
C	N7	2,53	Areia fina	2,50	0,39	Bem selecionado	0,15	Positiva	0,89	Platicúrtica	100	0	0

categoria foram Primulaceae (1,2%), Gunneraceae (0,6%) e Apiaceae (0,6%). Ficou evidente a pouca quantidade de diatomáceas, indicada pelo táxon marinho de *Coscinodiscus* sp. (0,63%), e pelo táxon cosmopolita *Surirella* sp. e *Nitzshia* sp. (0,63%) e pelo táxon de água doce *Eunotia* sp. (Fig. 4). Alternadamente, os táxons polínicos de hábitos aquáticos foram mais frequentes neste nível com Typhaceae alcançando 13,9% e *Azolla filiculoides* 1,2%. Chlorophytas foram frequentes, no entanto foi observado somente *Botriococcus* sp. que alcançou 18,9% do total neste nível (Figuras 3 e 4).

A amostra palinológica referente ao nível N5 se diferencia pela presença de raros cistos de dinoflagelados de *Operculodinium* sp. (0,69%) e outros não identificados (0,69%). Polens arbóreos não foram identificados no nível N5. Entre os polens herbáceos, Cyperaceae foi o mais frequente com 26,3%, seguido de Poaceae (13,8%), Asteraceae (7,6%) e Gunneraceae com 1,3%. Pólens aquáticos foram frequentes, principalmente *Azolla filiculoides* (7,2%), seguido de Typhaceae (3,4%). Diatomáceas marinhas identificadas foram *Coscinodiscus* sp. (1,38%), *Cyclotella* sp. (0,34%), *Cymbella*

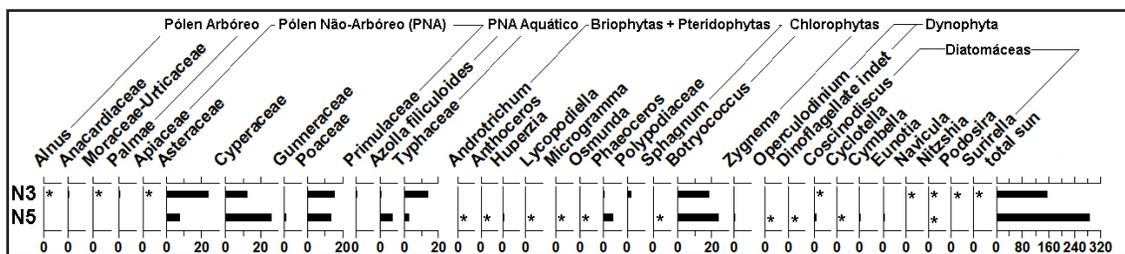


Figura 3. Palinodiagramas dos grupos de Pólen Arbóreo, Pólen Não-Arbóreo (PNA), Pólen Não-Arbóreo Aquático, Briophytas somadas as Pteridophytas, Chlorophytas, Dinophytas e Diatomáceas dos níveis N3 e N5. Os níveis com asterisco (*) indicam valores inferiores a 1%.

sp. (0,34%) e *Podosira* sp. (0,69%). De outro lado, foi encontrada a presença de indicadores de ambientes paludiais de água doce como as diatomáceas *Zygnema* sp. (0,34%), *Navicula* sp. (0,34%) e *Eunotia* sp. (1,04%). Chlorophytas de *Botriococcus* sp. (24,3%) foi o segundo táxon mais presente neste nível estratigráfico. Pteridophytas

e Bryophytas exibiram frequências baixas, com a exceção de *Phaeoceros Laevis* (5,5% do total) (Figuras 3 e 4). Junto ao nível N5 foi encontrada uma alta abundância de fitólitos (cristais de opala) pertencente a gramíneas, ciperáceas e monocotiledôneas. No entanto, não foram somadas aos demais grupos.

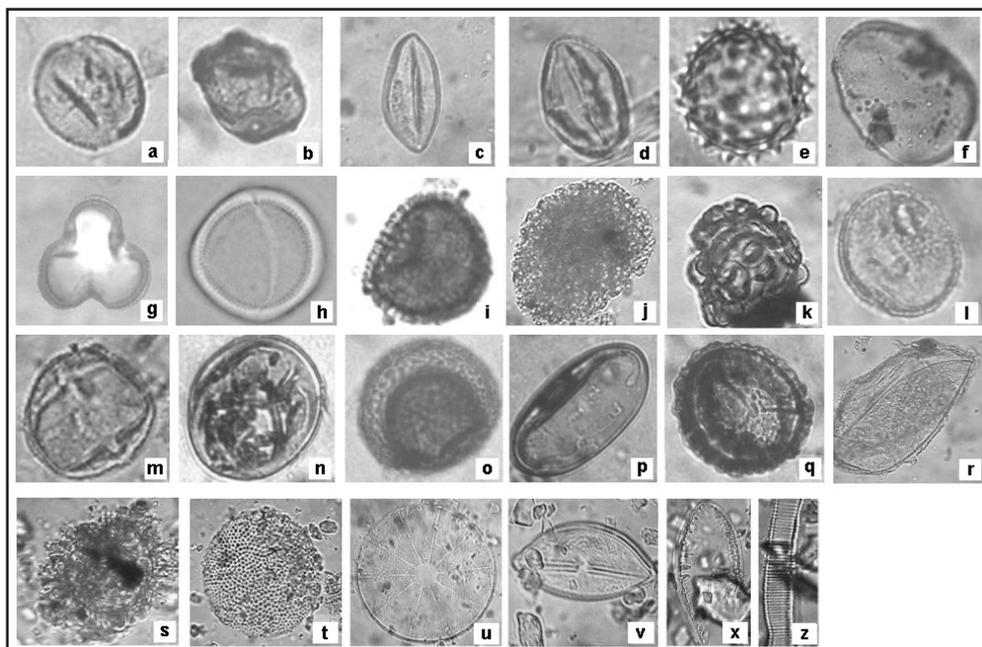


Figura 4. Prancha de polens, esporos e diatomáceas identificados nos níveis N3 e N5. a-*Moraceae-Urticaceae*; b-*Alnus*; c-*Palmae*; d-*Apiaceae*; e-*Asteraceae*; f-*Cyperaceae*; g-*Gunneraceae*; h-*Primulaceae*; i-*Azolla filliculoides*; j-*Botriococcus* sp.; k-*Zygnema* sp.; l-*Typhaceae*; m-*Anarcadiaceae*; n-*Phaeoceros Laevis* o-*Osmunda* sp. p-*Polipodiaceae*; q-*Huperzia* sp.; r-Dynophyta não identificado; s-*Operculodinium* sp.; t-*Coscinodiscus* sp.; u-*Cyclotella* sp.; v-*Cymbella* sp.; w-*Surirella* sp.; z-*Eunotia* sp.

DISCUSSÃO

O trabalho de Godolphim (1985) foi pioneiro no detalhamento geomorfológico do setor costeiro entre o Banhado do Taim e a cidade de Rio Grande, e desde este tempo, apontava que a presença de ao menos um paleocanal da Lagoa Mirim deveria estar localizado nas adjacências do Banhado do

Taim. Esta proposição geomorfológica foi sendo reafirmada a cada novo trabalho de mapeamento da PCRGS realizado pelo Centro de Estudos Costeiros e Oceânicos (CECO) (p.e., Villwock et al., 1986; Villwock & Tomazelli, 1995; Tomazelli & Villwock, 2000). Esses, por sua vez, apontaram sempre a continuidade do Sistema Barreira II e III ao sul do Banhado do Taim, e, portanto, a ausência

de uma depressão escavada (vale inciso) de grande porte nesta localidade mesmo sob condições de nível de mar baixo. Desta forma, a alternativa mais plausível onde se quebra esta continuidade das barreiras pleistocênicas, permitindo tal incursão de águas, seria a região adjacente ao Banhado do Taim, onde existe um rebaixamento topográfico seccionando os Sistemas de Barreiras II e III de forma transversal (Rosa et al., 2007). Como nesta posição, tanto a Barreira II como a Barreira III encontram-se seccionadas, este paleocanal de ligação deve ter tido diferentes fases de atividade e inatividade, principalmente pela cronologia das barreiras e sua concordância com distintas transgressões e regressões (p.e., Allen & Posamentier, 1993).

A estratigrafia local é relativamente bem conhecida, sendo descrita nos trabalhos de Buckmann (1997) e Kley (2012). Nestes trabalhos as sondagens comportam as posições mais profundas e centrais do paleocanal, especificamente nos testemunhos T3, T4, T5, TA6 e TA7 pode ser observado um recobrimento eólico bem desenvolvido sobre o paleocanal. No entanto, a superfície do paleocanal foi pouco explorada até hoje, sendo descrita no afloramento do presente estudo junto à margem da lagoa Mirim, onde ocorre o raseamento do paleocanal e a ausência dos depósitos eólicos.

A evolução dos ambientes deposicionais que fizeram parte deste paleocanal de ligação entre a laguna e o oceano é caracterizado por uma fase inicial que resultou de uma elevada hidrodinâmica, responsável pela gênese da fácies C (nível N7). Esta fácies de composição essencialmente arenosa (areia fina), indica uma ampla toca de águas sob condições de elevado fluxo. A elevada porosidade desta fácies, em sincronia com sua textura sedimentar, permitiu uma condição oxidativa à matéria orgânica (0,7%) presente na mesma, impossibilitando a preservação de espécimes polínicos.

De maneira discordante, a fácies C sobrepõe-se à fácies B de textura siltosa, indicando uma brusca redução hidrodinâmica do ambiente deposicional. Esta redução foi ocasionada pela migração do Sistema Laguna Barreira IV em direção ao continente por ocasião da Última Transgressão Marinha (UTM), quando então o Sistema de Barreiras Holocênicas acopla-se ao substrato pleistocênico, reduzindo a profundidade local e permitindo o amplo desenvolvimento de vegetação paludial que hoje ocupa o Banhado do Taim. Segundo Lima (2008) este isolamento entre o corpo lagunar (Lagoa Mangueira) e o Oceano Atlântico deu início ao desenvolvimento de ambientes paludiais de água

doce na retaguarda da barreira, diretamente sobre ambientes deposicionais lagunares/estuarinos. De acordo com esse mesmo autor, os ambientes deposicionais paludiais do Banhado do Taim marcam o início da transição laguna/lagoa costeira por volta de 710 cal. anos AP. As evidências disto seriam a presença massiva de *Diploneis* sp., *Cymatozira* sp., *Nitzschia* sp., *Stauroneus* sp. preservadas nos estratos basais de turfeiras aflorantes, tanto na linha de costa da Praia do Hermenegildo como no limite sul da Lagoa Mangueira.

É muito provável que a continuidade topográfica do Banhado do Taim reflita a estabilidade dos níveis freáticos ao longo do desenvolvimento da Lagoa Mangueira, onde sua gênese decorre de uma situação hidrológica semelhante à atual, posicionando a lamina d'água em retrobarreira sobrelevada em relação ao nível do mar (Lima et al., 2012). Desta forma, a gênese e evolução mais provável destes ambientes paludiais se dá a partir da segmentação da retrobarreira (limite norte e sul da Lagoa Mangueira) por esporões arenosos lagunares (*spits*) que terminam por restringir a dinâmica lagunar segundo o modelo proposto por Zenkovitch (1969), fenômeno este observado atualmente em ambos os extremos da Lagoa Mangueira.

A granocrescência identificada no topo da fácies B indica que a colmatação deste ambiente deposicional deveu-se principalmente à redução dos influxos (prisma de maré). Esta redução hidrodinâmica possibilitou que a evolução dos ambientes deposicionais de margem lagunar inserissem cada vez mais areias retrabalhadas para dentro da fácies B, ampliando gradativamente a proximidade das margens do canal. A dinâmica de ondas somada à componente longitudinal de transporte (*longshore currents*) nas margens da Lagoa Mirim e extremo norte da Lagoa Mangueira impulsionaram a formação de pontais arenosos projetando-se para dentro do paleocanal. Segundo Villwock (1984), este mesmo mecanismo foi responsável pela evolução e segmentação do rosário de lagoas no litoral norte da PCRGS. Assim, a evolução de pontais arenosos é tida como forma mais provável do fechamento e colmatação do paleocanal do Taim. Dois destes pontais são facilmente mapeáveis no banhado do Taim, um vinculado ao extremo norte da Lagoa Mangueira e outro vinculado à margem da Lagoa Mirim, exatamente na localização do afloramento descrito.

Ainda na fácies B, a presença de indicadores marinhos no nível N5 se diferencia pela presença de cistos de dinoflagelados (*Operculodinium*

sp.), e diatomáceas marinhas (*Coscinodiscus* sp., *Cyclotella* sp., *Cymbella* sp. e *Podosira* sp.). Estes táxons evidenciam a influência marinha neste ambiente deposicional, condicionando à existência de ambientes deposicionais com influência de água salobra. A presença massiva e significativa de *Botryococcus* sp. (24,3%) indica um paleoambiente de águas relativamente rasas e de características estuarinas (p.e. Medeanic, 2004; Medeanic *et al.*, 2006). De outro lado, a presença de *Zygnema* sp., *Navícula* sp. e *Eunotia* sp., que são indicadores de água doce, sugerem que na retrobarreira existia ao menos uma descarga fluvial importante viabilizando a ocorrência de influxos de água doce para dentro deste complexo lagunar. Esta condição mixohalina é típica de ambientes lagunares/estuarinos, assegurando a presença de canais de ligação entre laguna e oceano. Segundo Lima *et al.* (2012), estes canais foram mantidos abertos no Holoceno, devido à configuração morfológica dos sistemas de ilhas-barreiras transgressivas que se faziam presentes nesta localidade entre 6.800 e 710 cal. anos AP. Após ter sido atingido o nível máximo da UTM, este sistema de barreiras costeiras se soldou ao substrato pleistocênico (Barreira III *sensu* Villwock, 1984) impedindo a comunicação entre Laguna Mirim e oceano. Posteriormente à última transgressão, na localidade do Taim, a Barreira IV desenvolveu uma fase regressiva sobrepondo cordões litorâneos à antiga barreira transgressiva, consolidando o fechamento do paleocanal. Abundantes fitólitos (não contados nas lâminas) encontrados nessa amostra (N5) pertencentes a gramíneas e ciperáceas, entre outras monocotiledôneas, indicam proximidade da margem lagunar, onde se fazia presente uma densa cobertura vegetal de plantas produtoras de fitólitos.

A fácies B exibe correspondência com a base do testemunho T2 identificado por Buchmann, (1997) onde o mesmo atribui para este nível um ambiente marinho-estuarino pela presença de *Ostrea* sp., *Corbula* sp. e *Heleobia* sp.

A amostra palinológica pertencente ao nível N3 é caracterizada pela ausência de palinómorfos de dinoflagelados. As frequências de polens arbóreos e herbáceas são elevadas quando comparadas ao nível anterior indicando um aumento da cobertura vegetal durante este tempo. Estas frequências parecem indicar uma redução da lamina d'água favorecendo o incremento de polens terrestres. Por outro lado, houve uma elevação no número de Typhaceae e redução no número de *Azolla filiculoides* indicando que, mesmo com a redução da lamina d'água, pequenas depressões desta superfície deposicional

ainda permaneceram alagadas evidenciando certa sazonalidade de chuvas e secas (p.e., Medeanic *et al.*, 2006). A redução drástica nas frequências de diatomáceas (observou-se raros *Coscinodiscus* sp. de habitat marinho e *Surirella* sp. de habitat de água salobra) é indicativa do enfraquecimento das condições marinhas. Provavelmente a formação desse nível estratigráfico (N3) deu-se em clima mais seco ou de solos com uma melhor drenagem, causando a diminuição de diversidade e frequência de pteridófitos e briófitas, bem como a redução no número de ciperáceas. De modo geral, as diatomáceas foram raras, indicando uma condição mais seca, possivelmente relacionada à redução de influxos de água doce para a Lagoa Mirim e Lagoa Mangueira.

As concreções ferruginosas identificadas na fácies B indicam que estes sedimentos foram expostos a condições subaéreas inúmeras vezes, permitindo a oxidação do sedimento. Esta exposição ao ambiente subaéreo (clima seco) terminou por oxidar parte da matéria orgânica, implicando em resultados palinológicos negativos. Em áreas continentais do RS, alguns estudos corroboram a vigência deste clima seco para o Holoceno Médio (p.e., Behling, 2002; Behling *et al.*, 2004, 2005).

O topo do afloramento corresponde à fácies A indicando o perfil superficial de solo. O conteúdo de 6% de matéria orgânica indica o maior valor encontrado nas amostras, enquanto os teores de silte e argila indicam uma concentração associada ao horizonte B de solos. A ausência de um porte expressivo deste horizonte orgânico somado à ausência de concreções de CaCO₃ indicam uma origem relativamente recente quando comparados aos horizontes de solos que recobrem as barreiras Pleistocênicas. A fácies C apresenta novamente correspondência com o testemunho T2 identificado por Buchmann, (1997), onde o autor sugere que após a instalação de um ambiente marinho (fácies B), um evento regressivo retrabalhou o topo dos depósitos, posteriormente colmatado por areias carbonosas (fácies A).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir de um afloramento às margens da Lagoa Mirim permitiram traçar considerações evolutivas a respeito da dinâmica de preenchimento de um canal de ligação que conectou no passado a Lagoa Mirim ao Oceano Atlântico.

A primeira fase deste preenchimento pode ser caracterizada como resultado de uma elevada

hidrodinâmica, responsável pela formação de uma fácies essencialmente arenosa com estruturas cruzadas. A segunda fase indicou que o início dos processos de colmatação do paleocanal foram resultado da migração do Sistema Laguna Barreira IV em direção ao continente, onde foi constatada a presença de indicadores marinhos - cistos de dinoflagelados (*Operculodinium* sp.) e diatomáceas marinhas (*Coscinodiscus* sp., *Cyclotella* sp., *Cymbella* sp., e *Podosira* sp.), indicadores de ambientes rasos como *Botryococcus* e presença de indicadores de água doce (*Zygnema* sp., *Navícula* sp. e *Eunotia* sp.). Estes últimos sugerem que nesta fase existia ao menos uma descarga fluvial importante na retrobarreira, viabilizando a ocorrência de influxos de água doce para dentro do paleocanal.

Numa fase posterior, ainda dentro do contexto da fácies B, a cobertura vegetal torna-se abundante, indicando uma redução da lâmina d'água e favorecendo o incremento de polens terrestres. No entanto, o incremento de Typhaceae e a redução de *Azolla filiculoides* indicam que, mesmo com a redução da lamina d'água, pequenas depressões desta superfície deposicional ainda permaneciam alagadas, indicando certa sazonalidade de chuvas e secas. Nesta fase, tem-se início a restrição do paleocanal em sincronia com o desaparecimento gradual dos indicadores marinhos, o clima torna-se mais seco com os ambientes deposicionais melhor drenados, levando a uma redução na diversidade e frequência de pteridófitos, briófitas e ciperáceas. Estas últimas modificações tornam-se permanentes quando um perfil de solos bem desenvolvido (com horizonte B) vem a instalar-se sobre a fácies B, encerrando a atividade do paleocanal.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Prof^a Dr^a Svetlana Medeanic (*in memoriam*) por ter compartilhado seu tempo, conhecimento e sabedoria na formação dos estudantes interessados em entender a gênese, evolução e beleza da PCRGS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, V. S.; Madeira-Falcetta, M. & Thiesen, C. V. 1984. Estudo Preliminar da Geologia, Geomorfologia e Paleontologia da Região de Ponta dos Latinos – Lagoa Mirim - RS. In: Congresso Brasileiro de Paleontologia, 1983. Coletânea de Trabalhos Paleontológicos. Paleontologia e Estratigrafia. Brasília. 8, (2): 187-193.
- Allen, G.P. & Posamentier, H.W. 1993. Sequence stratigraphy and facies model of an incised valley fill: the Gironde estuary, France. *Journal of Sedimentary Petrology* 63(3): 378–391.
- Behling, H. 2002. South and southeast brazilian grasslands during Late Quaternary times: a synthesis. *Palaeogeograph, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 117:19-27.
- Behling, H.; Pillar, V. & Bauermann, S.G. 2004. Late Quaternary Araucaria forest, grassland (campos), fire and climate dynamics, inferred from a high-resolution pollen record of Cambará do Sul in southern Brazil. *Palaeogeograph, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 203:277-297.
- Behling, H.; Pillar, V. & Bauermann, S.G. 2005. Late Quaternary grassland (Campos), gallery forest, fire and climate dynamics, studied by pollen, charcoal and multivariate analysis of the São Francisco de Assis core in western Rio Grande do Sul (southern Brazil). *Review of Palaeobotany and Palynology*, 133: 235-248.
- Buchmann F. S. de C. 1997. Banhado do Taim e Lagoa Mangueira. Evolução Holocênica da Paleoembocadura da Lagoa Mirim. Instituto de Geociências, Curso de Pós Graduação em Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Dissertação de Mestrado, 160p.
- Buchmann, F. S. de C.; Barbosa, P. V.; Villwock, J. A. 1998. Sedimentologia e paleontologia durante o máximo transgressivo holocênico na lagoa mirim, RS, Brasil. *Acta Geológica Leopoldensia*. XXI (46/47) :21-26.
- Camargo, M. G. 2006. SYSGRAN para Windows: Sistema de análises granulométricas. Disponível em www.cem.ufpr.br.
- Delaney, P. J. V. 1965. Fisiografia e Geologia de superfície da Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Escola de Geologia da UFRGS, Porto Alegre, publicação especial. 6:105p.
- de Lima, E. G., Salgueiro Donato Bacelar, L. C. S. D., Marques, J. R. Fenômeno La Niña de maio de 2007 a abril de 2008 e a precipitação no Rio Grande do Sul. 2010. Anais do XVI Congresso Brasileiro de Meteorologia (CBMET), Área: Meteorologia Sinótica e Extremos Meteorológicos.

- Faegri, K. & Iversen, J. 1989. Textbook of pollen analysis. 4th Ed. New York, John Wiley & Sons.
- Godolphim, M. F. 1985. Paleogeografia da região do Cassino no Município do Rio Grande, Brasil. *Pesquisas*, 17: 233-254.
- Folk, R. L. & Ward, W. C. 1957. Brazos River Bar: Study and significance of grain size parameters. *Journal of Sedimentary Petrology*, 27(1):03-26.
- Jost, H.; Soliani JR & Godolphim, M. F. 1974. Evolução paleogeográfica da região da Laguna Mirim, R.S. SE Brasil. *Actas Del Primer Congreso Argentino de Paleontología e Bioestratigrafia*, Tucuman, Argentina, Tomo II, 575-587.
- Juggins, S. 2005. C2 Version 1.5: Software for ecological and palaeoecological data analysis and visualisation, University of Newcastle, Newcastle-upon-Tyne.
- Kley A. S. 2012. Reconstituição Paleogeográfica e Paleoambiental no Taim: Estudo dos Furos de Sondagem TA6 e TA7, na Porção Sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 94p.
- Lima, L. G.; Medeanic, S.; Caron, F.; Dillenburg, S. R. . Reconstrução Paleogeográfica e Paleoambiental da Região da Praia do Hermenegildo-RS: Palinomorfos e diatomáceas. In: Simpósio Paranaense de Estudos Climáticos, 2008, Campo Mourão-PR. Passado, presente e Futuro, 2008.
- Lima, L. G.; Dillenburg, S.R.; Medeanic, S.; Barboza, E.G.; Rosa, M.L.C.C.; Tomazelli, L.J.; Dehnhardt, B.A.; Caron, F. 2012. Sea-level rise and sediment budget controlling the evolution of a transgressive barrier in southern Brazil. *Journal of South American Earth Sciences*, 42: 27-38,
- Martins, L. R.; Melo, U.; França, A. M.C.; Santana, C. I. & Martins, I. R. 1972. Distribuição Faciológica da Margem Continental Sul Riograndense. *Congresso Brasileiro de Geologia*. 26^o Anais Belém. Brasil. (2) 115 - 132.
- Medeanic, S. 2004. The distribution of palynomorphs in the surface sediments on the margin of the Patos lagoon estuary, RS, Brazil, as compared with the actual vegetation. *Iheringia. Série Botânica*, Porto Alegre, 59(2):183-200.
- Medeanic, S.; Costa, C. B. & Corrêa, I. C. S. 2006. Os palinomorfos nas reconstruções paleoambientais: *Azolla filiculoides* Lam. nos sedimentos holocênicos da Planície Costeira do Rio Grande do Sul. *Gravel (Porto Alegre)*, 4: 49-61.
- Munsell Color Company I. 2009. Geological Rock-color charts. Baltimore, Maryland.
- Rosa, M. L. C. C.; Barboza, E. G.; TOMAZELLI, L. J.; AYUP-ZOUAIN, R. N.; Dillenburg, S. R. 2007. Aplicação de Ferramentas de Visualização Tridimensional na Modelagem Geomorfológica da Região Sul da Província Costeira do Rio Grande do Sul. *Gravel (Porto Alegre)*, 5 :1-10.
- Rosa, M. L. C. C.; Tomazelli, L. J.; Costa, A. F. U.; Barboza, E. G. 2009. Integração de Métodos Potenciais (Gravimetria e Magnetometria) na Caracterização do Embasamento da Região Sudoeste da Bacia de Pelotas, Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Geofísica (Impresso)*, 27: 641-657.
- Soliani JR, E. 1973. Geologia da Região de Santa Vitória do Palmar, RS, e a Posição Estratigráfica dos Fósseis de Mamíferos Pleistocênicos. Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 88p.
- Soliani JR, E. & Jost, H. 1974. Mamíferos pleistocênicos e sua posição estratigráfica na Planície Costeira do R.G.S., SE do Brasil. *Primer Congreso Argentino de Paleontología y Bio-Estratigrafia*, Tucuman, Argentina. Atlas. Tomo II: 569-574.
- Suguio, K. 1973. Introdução à Sedimentologia. São Paulo. Ed. Edgard Blucher. EDUSP, 317p.
- Toldo Jr, E. E. 1994. Sedimentação, Predição do Padrão de Ondas, e Dinâmica Sedimentar da Antepraia e Zona de Surfe do Sistema Lagunar, da Lagoa dos Patos, RS. Porto Alegre, Tese de Doutorado em Geociência, UFRGS, 189p.
- Tomazelli, L. J. & Villwock, J. A. 1996. Quaternary Geological Evolution of Rio Grande do Sul Coastal Plain, Southern Brazil . *Anais Acad. bras. Ciências*, 68 (3): 373-382.
- Tomazelli, L. J. & Villwock, J. A. 2000. O Cenozoico do Rio Grande do Sul: geologia da planície costeira. In: Holz, M. & De Ros, L.F (eds.). *Geologia do Rio Grande do Sul*. Edições CIGO/UFRGS, Porto Alegre,

p. 375-406.

Villwock, J. A. 1984. Geology of the Coastal Province of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. A Synthesis. Pesquisas, 16:5-49.

Villwock, J. A.; Tomazelli, L. J.; Loss, E. L.; Dehnhardt, E. A.; Horn F^o, N. O.; Bachi, F. A. & Dehnhardt, B. A. 1986. Geology of the Rio Grande do Sul Coastal Province. In: Rabassa, J. (ed.). Quaternary of South America and Atartic Peninsula. A.A. Balkema, Rotterdam. 4:79-97.

Villwock, J. A. & Tomazelli, L. J. 1995. Geologia Costeira do Rio Grande do Sul. Notas Técnicas do CECO-IG-UFRGS, Porto Alegre, 8:1-45.

Wetzel, R. G. 1975. W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, and Toronto. Xii. Limnology. 743 p.

Zenkovich, V. P. 1969. Origin of barrier beaches and lagoon coast. In: Lagunas Costeras, un Simposio. Mem. Simp. Intern. Lagunas Costeras. UNAM-UNESCO, 27-38.

MARINE QUALITY ASSESMENT OF AMAZON MANGROVES USING BENTHIC AND DIVERSITY INDICES BASED ON POLYCHAETE FAUNA

Lorena Karine Santos Sousa^{1*}, Allana Stéphanie Tavares Cutrim², Rannyele Passos Ribeiro³, Verônica Maria de Oliveira², Zafira da Silva de Almeida²

¹ Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão, Cidade Universitária Dom Delgado, Av. dos Portugueses, 1966. São Luís-MA, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Tirirical. São Luís-MA, Brasil.

³ Universidad Autónoma de Madrid, Edificio de Biología, Calle Darwin, 2, Cantoblanco, 28049. Madrid, Spain.

*Correspondence author: lorenakarine.ss@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the environmental quality of two mangroves in the Gulf of Maranhão, Brazil, based on polychaete composition. Samples were collected in two areas: Buenos Aires stream, located near to the Itaqui Port, and Quebra Pote. Biotic (AMBI, M-AMBI, BENTIX) and diversity indices (SHANNON-WEAVER) were used to assess disturbance levels. A total of 732 specimens of polychaetes belonging to 11 families were found. The most abundant polychaetes in the Buenos Aires stream were *Exogone* sp. and *Paradoneis* sp. In Quebra Pote mangroves, *Nephtys simoni* and *Notomastus* sp. were the most abundant species. According to AMBI, both areas were classified as slightly polluted. According to M-AMBI and BENTIX, both areas were considered unpolluted, and according to Shannon-Weaver, both areas were classified as moderately polluted. Based on this study, it is recommended the constant monitoring of those mangrove areas, thus ensuring the survival and health of benthic communities.

Keywords: annelids, ambi, bentix, m-ambi, shannon.

Abstract

Avaliação da qualidade marinha dos manguezais da Amazônia utilizando índices bênticos e de diversidade com base na fauna de poliquetas

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade ambiental de duas áreas de manguezal do Golfão Maranhense, Brasil, com base na composição de poliquetas. As coletas foram realizadas em duas áreas: igarapé Buenos Aires, localizado no entorno da Região Portuária do Itaqui, e Quebra Pote. Foram usados índices bióticos (AMBI, M-AMBI e BENTIX) e o índice de diversidade (SHANNON-WEAVER) para verificar o grau de perturbação ambiental em cada área de estudo e em cada zona (P1, P2 e P3). Foram coletados 732 espécimes de poliquetas pertencendo a 11 famílias. As espécies mais abundantes para o igarapé Buenos Aires foram *Exogone* sp. e *Paradoneis* sp. e para o manguezal de Quebra Pote *Nephtys simoni* e *Notomastus* sp. De acordo com o AMBI, ambas as áreas estudadas foram classificadas como levemente poluídas. Enquanto para o M-AMBI e BENTIX foram consideradas como não poluídas e Shannon-Weaver classificou como moderadamente poluídas. O acompanhamento rigoroso dessas florestas de mangue é imprescindível para a sobrevivência e saúde das comunidades bentônicas.

Palavras-chave: anelídeos, ambi, bentix, m-ambi, shannon.

INTRODUCTION

Polychaetes comprise one of the most abundant and diverse groups of benthic macrofauna. They inhabit a range of environments, including estuaries, mangrove swamps, and deep sea, performing important ecological functions in marine food chains (Amaral & Migotto 1980, Paiva 2006). One of these

functions is nutrient cycling, since many species of polychaetes incorporate organic debris and transform them into animal biomass (Amaral *et al.* 2005). They can also ease the recovery of organic debris that would otherwise be trapped in the sediment, as some species of polychaetes dwell in burrows.

Polychaetes are useful indicators of environmental disturbances due to their sensitivity

to abiotic variations. Such particularities can be easily measured in quantitative and qualitative terms, especially when compared to other benthic fauna (Feres *et al.* 2008). For example, many polychaetes are extremely resistant to marine pollution, particularly to organic enrichment (Amaral & Nonato 1981, Reish & Gerlinger 1997, Sola & Paiva 2001, Muniz 2005).

In recent years, the monitoring of aquatic ecosystems has been intensified, particularly in European countries. This is likely due to initiatives for the development of good environmental status through evaluation of aquatic organisms and its application to unravel the environmental disturbances (Bigot *et al.* 2008). The characterization of marine ecosystem quality is commonly performed through the assessment of physicochemical parameters; however, such methodology can only quantify isolated substances (Callisto *et al.* 2001).

When biological indicators are used in environmental monitoring, bottom-up and top-down methods are applied. Bottom-up method consists in the exposure of organisms to pre-determined stress agents or specific analysis of a compound present in the organism. On the other hand, top-down methods analyze impacts at the macro level, measuring the structural and functional organization of biological communities (Cairns *et al.* 1993). Several metrics can be used in the top-down method, such as diversity and biotic indices (e.g., Shannon-Weaver (1949), Simpson (1949), Margalef (1956) and Pielou (1966), that evaluate the structure of the community and its relation to species abundance, richness, and evenness (Metcalf 1989). The present study used the diversity index of Shannon-Weaver, once it is one of the oldest and most used for environmental quality assessment (Equbal *et al.* 2017, Hutton *et al.* 2015, Leshno *et al.* 2016, Borja *et al.* 2012). Comparisons between reference areas and potentially impacted areas are frequently used (Buss *et al.* 2003).

Biotic indexes consist of attributing a score to the collected taxa according to its sensibility tolerance in relation to the environment. Among the biotic indexes are the Marine biotic index (AMBI) (Borja *et al.* 2000), Multivariable AMBI (M-AMBI) (Muxika *et al.* 2007) and BENTIX (Simboura & Zenetos 2002). Studies performed by Borja *et al.* (2000), Chainho *et al.* (2007), Pieper (2010), Pino *et al.* (2015), Brauko *et al.* (2015) and Basatnia *et al.* (2015) suggest that these indexes are efficient as indicators of environmental quality.

There is a huge knowledge gap regarding benthic invertebrates in Northern Brazil (Amaral &

Jablonski 2005, Lana *et al.* 2009, Ribeiro & Almeida 2014), which includes the coast of Maranhão, where few environmental quality studies have been published and to date, no studies using benthic organisms have been carried out. Several studies proved the efficiency of using benthic fauna as indicators of environmental disturbance through the use of biotic indexes for estuarine areas (e.g. Omena *et al.* 2012, Brauko *et al.* 2015). Since estuaries and well-developed mangroves are very abundant on the coast of Maranhão, the use of biotic indexes can assist with the identification of impacted areas.

In this study, biotic and diversity indexes were applied to determine the level of environmental disturbance at pre-selected areas. Indexes based on polychaete communities were applied, aiming to compare the impacts in two mangroves located in Gulf of Maranhão, more specifically, in São Marcos Bay and São José Bay, respectively.

MATERIAL AND METHODS

Study Area

The coast of Maranhão has 640 km of extension, with a large continental shelf and shallow waters under the constant influence of river discharge (Almeida *et al.* 2010). The Gulf of Maranhão is located at the northern end of the state, comprising the bays of São Marcos and São José, which are separated by the island of São Luís (Teixeira & Sousa-Filho 2009). In São Marcos Bay, the sampling was carried out in the mangrove area of the Buenos Aires stream, located near the Itaqui Port (2°35'57,7"S 44°21'09,4"W). Whereas in São José Bay, the sampling was performed in Quebra Pote mangroves, located on the east coast of the Island of São Luís (02°41'344"S 044°12'604"W) (Figure 1).

The Buenos Aires stream is located in the vicinity of the Itaqui Port, on the western coast of São Luís island. The Itaqui Port is considered one of the largest ports on the Brazilian coast, and it is the second largest port complex in Latin America. (Amaral & Alfredini 2010). Several studies conducted in São Marcos Bay have suggested that this area is potentially contaminated (Carvalho-Neta & Abreu-Silva 2010, Carvalho-Neta *et al.* 2012).

Quebra Pote is located in the east coast of São Luís Island, and it is influenced by the Tibiri River. This river carries out large quantities of nutrients, turning the water turbid, especially in the rainy season (Silva & Almeida 2002). Urbanization seems to be the main cause of environmental degradation, as indiscriminate dumping of garbage and domestic

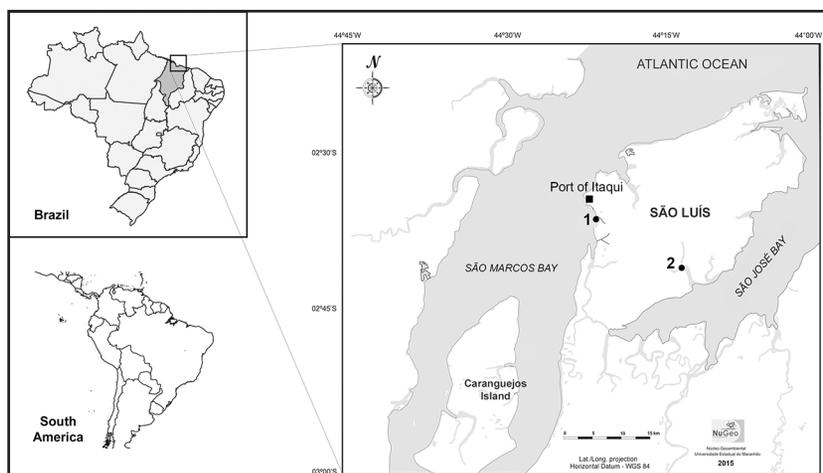


Figure 1. Geographical location of the sampling areas: 1) Buenos Aires stream, Itaqui Port, São Marcos Bay and 2) Quebra Pote mangrove, São José Bay, Maranhão.

sewage has been observed. In both study sites, the mangrove forests are predominantly composed of *Avicennia schaueriana* and *Rhizophora mangle* species.

Faunal sampling

In Buenos Aires stream, the sampling was performed between September 2012 and January 2014, while in Quebra Pote the sampling was carried out between November 2013 and July 2014. In both sites, the samplings were performed during low tide. Samples were collected with a 100 m transect, placed perpendicular to the waterline at each mangrove site.

Three points within the transect were defined: P1, below the eulittoral zone (water), P2, intermediate eulittoral zone, and P3, upper eulittoral region (continent). Three subsamples were taken at each point (10 meters to the left, center and right of the transect). A total of 18 samples were collected per sampling period, totaling 72 sub-samples in each area studied.

Sediment samples were also collected using a corer (10 cm in diameter, 20 cm depth). The material was then fixed in 4% formaldehyde and transported to the Laboratory of Fisheries and Aquatic Ecology, at the State University of Maranhão. All samples were washed in sieves (0.5 mm in diameter) and preserved in 70% ethyl alcohol. The material was screened, and the specimens were identified with the aid of a stereomicroscope and optical microscope. All specimens were identified to the lowest possible taxonomic level.

Along with the sediment sampling for analysis of biological material, it was also collected sediment samples for grain size characterization and organic material quantification in each study site. The

samples were sent to the Laboratory of Soil Physics at the State University of Maranhão. The proportions of gravel, sand, silt, and clay were determined by sieving (> 0.062 mm in diameter) and pipetting (> 0.062 mm in diameter) according to Suguio (1973).

The organic matter content was determined through the calcination weight loss method. The samples were dried in an oven at 60° C for at least 48 hours to obtain the constant weight (dry weight). Then, they were incinerated in a muffle at 550 °C for 4 hours and then weighed. The organic matter content that volatilized was determined from the initial and final weight difference (Walkley & Black 1934).

The water abiotic parameters (temperature, salinity, and dissolved oxygen) were measured using a Hanna multiparameter probe. However, abiotic parameters of water were not assessed on September 12 and February 13 at Buenos Aires stream.

Data processing

Several indexes were used to evaluate the ecological quality of each mangrove: AMBI, M-AMBI, BENTIX. SHANNON was used to assess the current environmental status of each mangrove sampled. The indexes were also applied to verify the variability between zones in each location.

The indexes AMBI and M-AMBI classified the macrobenthic species into five ecological groups (EG) according to their sensitivity level, ranging from sensitive to disturbances (EG I) to tolerant (EG V). For each ecological group, a score was calculated through the formula $CB = \{(0 \times \%GI) + (1.5 \times \%GII) + (3 \times \%GIII) + (4.5 \times \%GIV) + (6 \times \%GV)\} / 100$.

The AZTI Marine Biotic Index (AMBI) developed by Borja *et al.* (2000) was used to assess the ecosystem quality and to analyze how

substrate communities are responding to natural or anthropogenic changes (Borja & Muxika 2005).

The multivariate AMBI (M-AMBI) was calculated using factor analysis along with the AMBI, and the diversity and species richness structural indexes to assess the ecological quality of the ecosystem (high, good, moderate, poor, and bad) (Bolta 2013).

The species were classified into three ecological groups, according to BENTIX: sensitive to disturbance (GI), tolerant to disturbance (GII) and first order opportunistic species (GIII). This index was calculated using

the following formula: $BENTIX = \{6 X \%GI + 2 X (\%GII + \%GIII)\} / 100$.

The SHANNON index was used to evaluate the composition and abundance of the species, and it was calculated using Primer 6.0 software (Clarke & Warwick 2001, Clarke & Gorley 2006). The ecological status of the study areas compiled by Chainho *et al.* (2007) (Table 1) was used in this study. A matrix with all the results was generated, and these data were analyzed by one-way ANOVA to verify significant differences between the sites P1, P2, and P3. This test was performed using the statistical package IBM SPSS version 20.0.

Table 1. Ecological status according to biotic indices (Chainho *et al.* 2007).

ECOLOGICAL	H'	AMBI	M-AMBI	BENTIX
Unpolluted	$0 < H' \leq 1$	$0 < AMBI \leq 1.2$	$0.82 < M-AMBI \leq 1.00$	$4.5 < BENTIX \leq 6.0$
Slightly polluted	$1 < H' \leq 2$	$1.2 < AMBI \leq 3.3$	$0.61 < M-AMBI \leq 0.82$	$3.5 < BENTIX \leq 4.5$
Moderately polluted	$2 < H' \leq 3$	$3.3 < AMBI \leq 4.3$	$0.40 < M-AMBI \leq 0.61$	$2.5 < BENTIX \leq 3.5$
Polluted	$3 < H' \leq 4$	$4.3 < AMBI \leq 5.5$	$0.20 < M-AMBI \leq 0.40$	$2.0 < BENTIX \leq 2.5$
Extremely polluted	$4 < H' \leq 5$	$5.5 < AMBI \leq 6.0$	$0 < M-AMBI \leq 0.20$	$0 < BENTIX \leq 2.0$

RESULTS

Environmental parameters

Water parameters (temperature, salinity and dissolved oxygen), grain size and organic material of the study sites were obtained and compiled with previous studies (2012-2014). According to the data obtained, water temperature in Buenos Aires stream ranged from 25°C to 30.6 °C, dissolved oxygen ranged from 1.35 mg/L to 5.42 mg/L, and

salinity ranged from 23.2 to 33.8. In Quebra Pote, water temperature ranged from 25.5°C to 27.8°C, dissolved oxygen ranged from 3.2 mg/L to 7.5 mg/L and salinity ranged from 11.3 to 30 (Table 2). The sediments of Buenos Aires stream exhibited a silt percentage of 42% and a clay percentage of 54%, and the organic matter content was 28%. In Quebra Pote the percentages of silt and clay were 38% and 55%, respectively, with organic matter content of 36% (Table 3).

Table 2. Water parameters in Buenos Aires stream and Quebra Pote mangroves. Temperature (°C), Dissolved Oxygen (D.O) (mg/L) and Salinity.

Abiotic variables	Buenos Aires				Quebra Pote			
	Mar/12	Jun/12	Nov/13	Jan/14	Nov/13	Jan/14	Mar/14	Jul/14
Temp./°C	29.06	30.6	25	28	25.7	27.5	27.8	25.8
D.O	1.35	1.5	4.07	5.42	3.2	6.05	5.4	7.5
Salinity	23.2	26.9	33.8	31.9	27.5	30	11.3	26.3

Table 3. Grain size composition and organic matter content in the sediment from Buenos Aires stream and Quebra Pote mangroves.

Classes	Buenos Aires	Quebra Pote
Fine sand (%)	3	6
Coarse sand (%)	1	1
Silt (%)	42	38
Clay (%)	54	55
Organic matter (%)	28	36

Polychaetes composition

It was found a total of 732 polychaetes belonging to 11 families. In Buenos Aires stream 18 species were identified, with *Exogone* sp. and *Paradoneis* sp. being the most abundant. Whereas in Quebra Pote, 15 species were identified, with a higher abundance of *Nephtys simoni* (Perkins, 1980), *Notomastus* sp., and *Paraonis* sp.

In this study, *Exogone* sp., *Laeonereis culveri* (Webster, 1879), *Lumbrineriopsis* sp. and *Abyssoninoe* sp. were exclusively found in Buenos Aires stream, while *Alitta succinea* Leuckart, 1847 were exclusively found in Quebra Pote mangroves. *Phyllodoce* sp. and *Streblospio benedicti* showed the lowest abundance at both study sites (Table 4).

Biotic and diversity indexes

The biotic indexes for Buenos Aires stream were: AMBI = 2.46, M-AMBI = 1.00, BENTIX = 5.45 e SHANNON= 2,3. In Quebra Pote, the indexes values were: AMBI = 2.65, M-AMBI = 0.90, BENTIX = 5.11 e SHANNON= 2.1 (Figure 2). According to AMBI, both areas are slightly polluted. The M-AMBI and BENTIX indexes, classify the study areas as unpolluted, and according to the SHANNON index, both areas are classified as moderately polluted.

According to the AMBI index, groups II and III were predominant ecological groups in both mangroves (Figure 3A). According to BENTIX, two ecological groups were detected: sensitive species and tolerant species, with the former presenting a higher percentage (Figure 3B).

Table 4. Absolute abundance and ecological group of specimens collected in Buenos Aires stream and in Quebra Pote mangroves. (BA)= Buenos Aires, (QP)= Quebra Pote and (EG)= Ecological group according to AMBI and BENTIX.

Family/ species	Abundance BA	Abundance QP	(EG) AMBI	(EG) BENTIX	Total Abundance
Ampharetidae					
<i>Isolda pulchella</i> Müller in Grube, 1858	7	1	III	I	8
Capitellidae					
<i>Capitella</i> sp.	9	30	V	I	39
<i>Heteromastus</i> sp.	6	12	IV	I	18
<i>Notomastus</i> sp.	23	118	III	II	141
Lumbrineridae					
<i>Lumbrineriopsis</i> sp.	4	0	II	I	4
<i>Abyssoninoe</i> sp.	5	0	II	I	5
Nephtyidae					
<i>Nephtys simoni</i> Perkins, 1980	1	109	II	I	110
Nereididae					
<i>Alitta succinea</i> (Leuckart, 1847)	0	13	III	I	13
<i>Nereis</i> sp.	11	7	III	II	18
<i>Perinereis andersoni</i> Kinberg, 1866	2	4	III	I	6
<i>Laeonereis culveri</i> (Webster, 1879)	3	0	III	I	3
Orbiniidae					
<i>Scoloplos texana</i> (Maciolek & Holland, 1978)	7	19	III	I	26
Paraonidae					
<i>Paradoneis</i> sp.	25	16	III	I	41
<i>Paraonis</i> sp.	15	98	III	I	113
Phyllodoceidae					
<i>Phyllodoce</i> sp.	1	1	II	I	2
Pilargidae					
<i>Sigambra grubei</i> Müller in Grube, 1858	5	13	IV	I	18
Spionidae					
<i>Streblospio benedicti</i> Webster, 1879	1	1	II	II	2
Syllidae					
<i>Exogone</i> sp.	70	0	II	I	70
<i>Syllis</i> sp.	16	79	II	I	95
Total	211	521			732

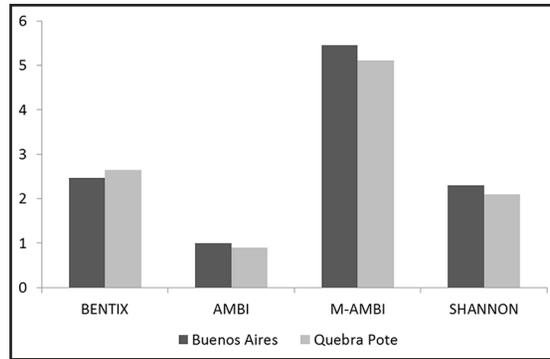


Figure 2. Biotic indexes (AMBI, M-AMBI, BENTIX) and diversity index (SHANNON-WEAVER) for Buenos Aires and Quebra Pote mangroves.

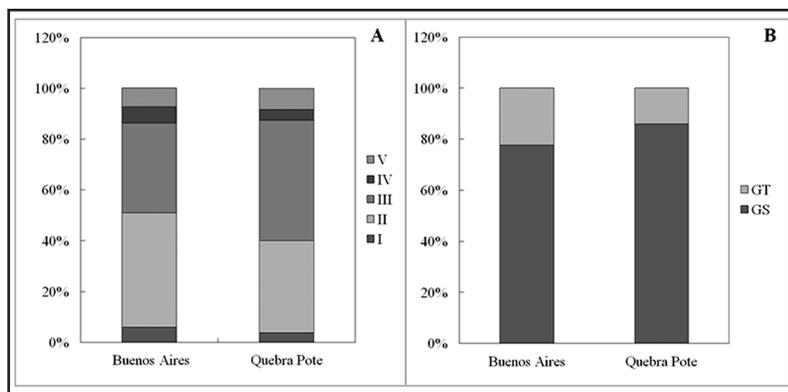


Figure 3. Percentage of Polychaete per group, according to (A) AMBI and (B) BENTIX in Buenos Aires and Quebra Pote mangroves. (*I= sensitive species, II= species indifferent to organic enrichment, III= tolerant species, IV= second-order opportunistic species, V= First-order opportunistic species); *(GT= tolerant group; GS= sensitive group).

The biotic indexes were also applied to verify the gradient of environmental disturbance in each mangrove. For Buenos Aires stream, the corresponding values were: BENTIX (P1=5,27, P2=5,43, P3=5,57), AMBI (P1=2,70, P2=2,39, P3=2,13), M-AMBI (P1=1,00, P2=1,00, P3=1,00) and SHANNON (P1=2,58, P2=2,3, P3=1,83) (Figure 4A). For Quebra Pote, the corresponding values were: BENTIX (P1=5,44, P2=4,43, P3=5,50), AMBI (P1=2,34, P2=2,85, P3=2,38), M-AMBI (P1=1,00, P2=1,00, P3=1,00) and SHANNON (P1=2,14, P2=2,04, P3= 2,0) (Figure 4B).

The BENTIX index for Buenos Aires stream classified all sites as unpolluted, while in Quebra Pote only site P2 was classified as slightly polluted. According to AMBI index, all sites in the study areas were classified as slightly polluted. The M-AMBI index, classified the study sites as unpolluted. On the other hand, the SHANNON index classified the sites P1 and P2 as moderately polluted and P3 slightly polluted, in Buenos Aires stream, while in Quebra Pote, all sites were classified as moderately polluted.

According to One-way ANOVA, there was no significant difference among the littoral zones regarding the indices (BENTIX, AMBI, M-AMBI and SHANNON) (Table 5).

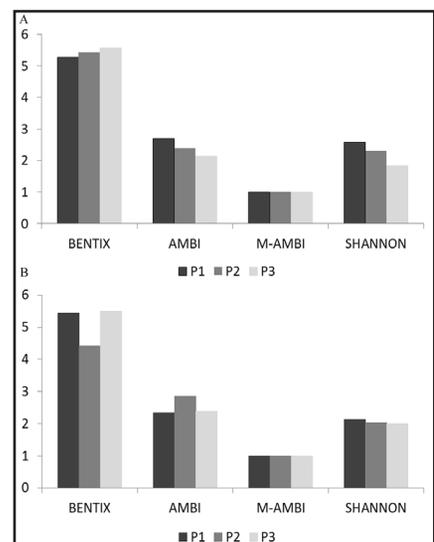


Figure 4. Biotic indices (AMBI, M-AMBI, BENTIX) and diversity index (SHANNON-WEAVER) for P1, P2 and P3 in (A) Buenos Aires and (B) Quebra Pote mangroves.

Table 5. Analysis of variance (One-way ANOVA) among zones according to BENTIX, AMBI, M-AMBI e SHANNON.

	P1		P2		P3	
	F	p	F	p	F	P
BENTIX	2.72	0.11	0.48	0.49	0.41	0.66
AMBI	1.29	0.26	0.77	0.38	1.27	0.30
M-AMBI	0.43	0.51	1.90	0.18	1.87	0.17
SHANNON	0.07	0.78	0.008	0.92	1.56	0.23

DISCUSSION

Environmental parameters

In the present study, water temperature was similar to the expected values to tropical regions, with little variations throughout the year (Siqueira *et al.* 2003). Additionally, abiotic factors such as dissolved oxygen, salinity as well as water temperature, were similar to previous studies carried out in São Luís Port Complex and Quebra Pote mangrove (Siva & Almeida 2002; Carvalho- Neta *et al.* 2012).

Analysis of metals in the water and sediment was not performed in the present study. However, previous studies on metal contamination in the water column and on sediments in the study area showed significantly higher levels of mercury and chrome, indicating that the area exhibit high exposure risks to some contaminants (Cavalcante *et al.* 1990). Such high concentrations in the environment may lead to significant changes in local macrobenthic communities, modifying their structure and distribution (Linnik & Zubenko 2000).

Despite receiving effluents from the Industrial District of São Luís, the Quebra Pote mangroves do not have high levels of metals such as copper and zinc (Castro *et al.* 1999). However, the region has high concentrations of solid residues and domestic effluents released by the local community (Silva & Almeida 2002), which causes the accumulation of organic matter in sediments, leading to significant alterations in the trophic structure by increasing the biomass of benthic communities (Omena *et al.* 2012).

The grain size composition of the mangroves was characterized by elevated silt and clay content, and a large amount of organic matter. Such characteristics were also observed in mangroves on the coast of the state of Maranhão by Sousa *et al.* (2015) and, on the coast of the state of Pará (Barbosa *et al.* 2015). The large content of organic matter found in the sediment analyzed in this study might be due to the grain size composition (fine sediment), as well as the indirect action of tides, which normally facilitate retention and assimilation of organic matter (Siqueira and

Aprile 2012). Fine particle composition is particularly adequate for the establishment of benthic populations, since there is a large amount of organic matter, besides facilitating their locomotion (McLachlan & Brown 2006).

Polychaetes composition

Nephtys simoni and *Exogone* sp. are carnivores with great motility, being able to cope with habitat instability or move away easily. *Notomastus* sp. and *Paradoneis* sp. are deposit feeders, and their abundance is directly related to food availability (Jumars *et al.* 2015). According to Pearson & Rosenberg (1978), areas with high organic matter are more prone to be colonized and exhibit a greater abundance of these polychaetes.

Alitta succinea was exclusively found in Quebra Pote mangroves. This species has a wide distribution and exhibit high plasticity, being found from rocky shores to intertidal regions, both in marine and brackish environments (Sene-Silva *et al.* 2011).

Phyllococe sp. and *Streblospio benedicti* were the less abundant species in both study areas. Species of the Phyllococidae family are characterized by being flexible and mainly associated with hard substrates (Oliveira 2013). Spionidae has widespread geographic distribution, and it is one of the most abundant and diverse taxa (Rocha *et al.* 2009).

The total number of polychaete species observed in Buenos Aires stream was lower when compared to Quebra Pote. This difference may be related to the local disturbances in Buenos Aires stream, once the region is located near the port complex and may be influenced by dredging activities that are carried out frequently. Such physical disturbances might explain why the abundance was lower, since constant removal prevent polychaetes from recolonizing the area (Cruz-Motta & Collins 2004; Powilleit *et al.* 2005; Witt *et al.* 2004; Palmer *et al.* 2008). Moreover, the recovery period after such activity can vary from weeks to years (Harvey *et al.* 1998; Bolam 2004) Despite the rapid expansion of the São Luís port complex, few studies on the local macrofauna were carried out (Ribeiro &

Almeida 2014). Therefore, there is a lack regarding the species resilience and invasion capacity. This situation is worrying since domestic and international maritime transport crosses natural barriers, which facilitates the entry of new species (*Paraonis* sp., *Phyllodoce* sp. and *Syllis* sp.) into environments previously inaccessible by natural means (Carlton 1987, Lodge 1993, Williamson & Fitter 1996).

Biotic and diversity indexes

The AMBI index classified the two mangrove areas classified as slightly polluted due to the predominance of the ecological groups II and III. Species in the ecological group II are indifferent to organic enrichment and species in the ecological group III are tolerant species that may occur under normal conditions, but are stimulated by organic enrichment (Borja *et al.* 2000).

The two areas were considered unpolluted according to the indexes M-AMBI and BENTIX. According to BENTIX, the species are classified into two ecological groups: sensitive species and tolerant species. In the present study, sensitive species were more abundant. However, tolerant or opportunistic species tend to dominate organically enriched environments, and less tolerant or sensitive species are likely to become increasingly rare or disappear altogether (Belan 2003). The SHANNON index overestimated the results compared to the other indexes since it classified the mangroves as moderately polluted. Regarding the littoral zones, no significant difference was observed among the sites P1, P2, and P3, which suggests that there is no gradient of pollution in the intertidal of the two study areas.

In the present study, the ecological status was not congruent according to the biotic indexes, except for M-AMBI and BENTIX that classified the environments as unpolluted. That is opposite to what was observed by Brauko *et al.* (2015) in a southern Brazilian estuary, in which BENTIX and M-AMBI presented a low congruence, and BENTIX and AMBI showed similar results. That was expected, since both of them are based only in the ecological groups and do not consider the global diversity. The M-AMBI index also presented good ecological status in the study carried out by Garaffo *et al.* (2016).

Most of the studies on these biotic indexes show that BENTIX presents low levels of discrimination and sensitivity, due to the classification of the species in only three ecological groups (Dauvin *et al.* 2007, Muniz *et al.* 2012). Whereas for M-AMBI, overestimation has been observed due to a possible reflection of the incorporation of the SHANNON

diversity index and species richness as metrics (Simboura & Argyrou 2010).

Seasonal changes also result in drastic alterations in species composition, affecting indices that include metrics as categories of sensitive pollution and indicative pollution (Chainho 2007). Studies carried out by Salas *et al.* (2006) and Reiss & Kroencke (2005), showed that diversity indices were more variable than the AMBI method, since the former depends on species composition and abundance, while the latter reflects the balance between indicative pollution and species-sensitive pollution. The incongruent responses among the indices may be due to inadequacy of species attributions in the list of ecological groups of each index, originally developed for European waters (Gillett *et al.* 2015).

It is important to note that changes in the environmental quality coupled with biotic indices are often confused with variability in the distribution of macrobenthic communities, once the indices may vary or respond to natural disturbances (Muniz *et al.* 2012). The community structure of benthic fauna is strongly influenced by environmental characteristics. The spatial and temporal variability of these organisms depends on their life cycle, physicochemical variables (e.g., temperature, salinity and substrate characteristics) and biological interactions, such as predation (Levinton 1995). Benthic organisms are usually widely distributed spatially and influenced by disturbances, biotic and abiotic factors, and the seasonal patterns are correlated with temporal variability of the water column. (Brauko *et al.* 2015). Due to environmental variations, estuarine ecosystems are characterized as naturally stressed, and the greater the degree of stress, the smaller the number of species able to inhabit these systems, leading the dominant species to exhibit opportunistic characteristics (Bemvenuti & Colling 2010).

The present study showed that coupled analyses of biotic indices are in fact useful for the assessment of the effects of environmental impacts on polychaete communities. Future studies should be performed to have a deep understanding of how polychaete distribution patterns in mangroves could be used to understand the impacts of environmental disturbances on local macrofauna. However, using benthic fauna to assess estuarine environments is difficult to interpret due to the high variability of the ecosystem natural conditions. Therefore, further studies are needed to understand the natural variability of the ecosystem and to understand how anthropic impacts on mangroves might affect the survival and health of benthic communities.

Acknowledgments

We would like to thank the State University of Maranhão (UEMA) for the financial support provided through the Institutional Scientific Initiation Scholarship Program Institutional (PIBIC/UEMA). The Foundation for Scientific and Technological Research and Development of the State of Maranhão (FAPEMA) and the Fisheries and Aquatic Ecology Laboratory (LabPEA/UEMA) for technical support.

REFERENCES

- ALMEIDA, Z. S., CAVALCANTE, A. N., PAZ, A. C., PINHEIRO, A. L. R. & NUNES, K. B. 2010. Subsídios para o gerenciamento do sistema de produção pesqueira – pargo em Barreirinhas, Maranhão – estudo de caso. *Pesquisa em Foco*, 18(1): 23-46.
- AMARAL, A. C. Z. & MIGOTTO, A. 1980. Importância dos anelídeos poliquetas na alimentação da macrofauna demersal e epibentônica da região de Ubatuba. *Bol. Inst. Oceanogr*, 29(3): 31-35.
- AMARAL, A. C. Z. & NONATO, E. F. 1981. Anelídeos poliquetos da costa brasileira: características e chave para famílias; glossário. Brasília, CNPq/Coordenação Editorial, 47 p.
- AMARAL, A. C. Z., JABLONSKI, S. 2005. Conservação da biodiversidade marinha e costeira no Brasil. *Megadiversidade* 1: 43-51.
- AMARAL, A. C. Z., RIZZO, A. E. & ARRUDA, E. P. 2005. Manual de identificação dos invertebrados marinhos da região Sudeste-Sul do Brasil. Editora da Universidade de São Paulo, 288 p.
- AMARAL, R. F. & ALFREDINI, P. 2010. Modelação hidrossedimentológica no canal de acesso do complexo portuário do Maranhão. *RBRH*, 15(2): 5-14.
- BARBOSA, I. C. C., MÜLLER, R. C. S., ALVES, C. N., BERRÊDO, J. F. & SOUZA FILHO, P. W. M. 2015. Composição Química de Sedimento de Manguezal do Estuário Bragantino (PA) – Brasil. *Rev. Virtual Quim.*, 7(4): 1087-1101.
- BASATNIA, N., HOSSEINI, S. A., GHORBANI, R. & MUNIZ, P. 2015. Performance comparison of biotic indices measuring the ecological status base on soft-bottom macroinvertebrates: a study along the shallow Gomishan lagoon (Southeast Caspian Sea). *Braz. J. Oceanogr.*, 63(4): 363-378.
- BELAN, T. A. 2003. Benthos abundance pattern and species composition in conditions of pollution in Amursky Bay (the Peter the Great Bay, the Sea of Japan). *Mar. Pollut. Bull.*, 46(9): 1111- 1119.
- BEMVENUTI, C.E. & COLLING, L.A. 2010. As comunidades de macroinvertebrados bentônicos, p. 101-114, in See-liger, U. & Odebrecht, C. (eds.), *O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações*. FURG, Rio Grande, 179 p.
- BIGOT, L., GRÉMARE, A., AMOUROUX, J. M., FROUIN, P., MAIRE, O. & GAERTNER, J. C. 2008. Assessment of the ecological quality status of soft-bottoms in Reunion Island (tropical Southwest Indian Ocean) using AZTI marine biotic indices. *Mar. Pollut. Bull.*, 56(4): 704-722.
- BOLAM, S. G., WHOMERSLEY, P. & SCHRATZBERGER, M. 2004. Macrofaunal recolonization on intertidal mudflats: effect of sediment organic and sand content. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, 306: 157–180
- BOLTA, P. M. P. 2013. Índice M-AMBI como ferramenta para diagnosticar a integridade ambiental costeira, aplicado a Baixada Santista- SP. *Revinter*, 6(1): 45-77.
- BORJA, A. & MUXIKA, I. 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Mar. Pollut. Bull.*, 50: 787-789.
- BORJA, A., DAUER, D & GRÉMARE, A. 2012. The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecol. Ind.* 12: 1–7.
- BORJA, A., FRANCO, J. & PÉREZ, V. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Mar. Pollut. Bull.*, 40(12): 1100-1114.
- BRAUKO, K. M., SOUZA, F. M., MUNIZ, P., CAMARGO, M. G. & LANA, P. C. 2015. Spatial variability of three benthic indices for marine quality assessment in a subtropical estuary of Southern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, 91: 454-460.
- BRAUKO, K.M., SOUZA, F.M., MUNIZ, P., CAMARGO, M.G & LANA, P.C., 2015. Spatial variability of three benthic indices for marine quality assessment in a subtropical estuary of Southern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 91: 454–460.
- BUSS, D. F., BAPTISTA, D. F. & NESSIMIAN, D. F. 2015. Assessment of the ecological quality status of soft-bottom benthos in a subtropical estuary of Southern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, 91: 454-460.

- J. L. 2003. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cad. Saúde Pública*, 19(2): 465-473.
- CAIRNS, J., MCCORMICK, P.V., & NIEDERLEHNER, B.R. 1993. A proposed framework for developing indicators of ecosystem health. *Hydrobiologia*, 263(1): 1-44.
- CALLISTO, M., MORETTI, M. & GOULART, M. 2001. Macroinvertebrados bentônicos como Ferramenta para Avaliar a Saúde de Riachos. *RBRH*, 6(1): 71-82.
- CARLTON, J. T. 1987. Patterns of transoceanic marine biological invasions in the Pacific Ocean. *Bull. Mar. Sci.*, 41(2): 452-465.
- CARLTON, J. T. 1989. Man's role in changing the face of the ocean: biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conserv. Biol*, 3(3): 265-273.
- CARVALHO-NETA, R. N. F. & ABREU-SILVA, A. L. 2010. *Sciades herzbergii* oxidative stress biomarkers: an in situ study of an estuarine ecosystem (São Marcos' Bay, Maranhão, Brazil). *Braz. J. Oceanogr.*, 58(4): 11-17.
- CARVALHO-NETA, R. N. F., TORRES-JUNIOR, A. R. & ABREU-SILVA, A. L. 2012. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and non-polluted areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 166(5): 1314-1327.
- CASTRO, A. C. L., GARCIA, M. R. S., CAVALCANTE, P. R. S. & ROJAS, M. O. I. 1999. Avaliação dos níveis de Cu e Zn no tecido muscular de *Mugil gaimardianus* (Pisces: Osteichthyes) no estuário do rio Tibiri, Ilha de São Luís, Maranhão. *Bol. Lab. Hidrobiol.*, 12: 65-73.
- CAVALCANTE, P. R. S., TAROUÇO, J. E. F. & COSTA, M. L. 1990. Avaliação dos níveis de mercúrio da porção interna do Golfo Maranhense. In: *FINEP. Riscos e conseqüências do uso do mercúrio*. Brasília: FINEP, 314 p.
- CHAINHO, P., COSTA, J. L., CHAVES, M. L., DAUER, D. M. & COSTA, M. J. 2007. Influence of seasonal variability in benthic invertebrate community structure on the use of biotic indices to assess the ecological status of a Portuguese estuary. *Mar. Pollut. Bull.*, 54(10): 1586-1597.
- CLARKE, K. R. & GORLEY, R. M. 2006. *Primer v6: User manual/tutorial*. Primer-E: Plymouth.
- CLARKE, K. R. & WARWICK, R. M. 2001. *Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. 2. ed. Wellington: Primer-E: Plymouth Marine Laboratory, 176 p.
- CRUZ-MOTTA, J. J. & COLLINS, J. 2004. Impacts of dredged material disposal on a tropical soft-bottom benthic assemblage. *Mar. Pollut. Bull.*, 48: 270-280.
- DAUVIN, J.C., RUELLET, T., DESROY, N & JANSON, A.L., 2007. The ecological quality status of the Bay of Seine and the Seine estuary: use of biotic indices. *Mar. Pollut. Bull.* 55: 241-257.
- EQUBAL, J., THIRUCHITRAMBALAM, G., LAKRA, R. K., SAVURIRAJAN, M & SATYAM, K. 2017. Assessing the ecological quality of the Port Blair coast (South Andaman, India) using different suites of benthic biotic indices. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 97(5): 1007-1021.
- FERES, S. J. C., SANTOS, L. A. & TAGORI-MARTINS, R. M. C. 2008. Família Nereidae (Polychaeta) como bioindicadora de poluição orgânica em praias de São Luís, Maranhão – Brasil. *B. Lab. Hidro*, 21(1): 95-98.
- GARAFFO, G.V., JAUBET, M. L., BECHERUCCI, M. E & ELÍAS, R. 2016. Assessing environmental health using ecological indices for soft bottom in sewage-affected rocky shores: The case of the largest seaside resort of SWAtlantic. *Mar. Pollut. Bull*115:233-239.
- GILLETT, D.J., WEISBERG, S.B., GRAYSON, T., HAMILTON, A., HANSEN, V., LEPOO, E.W., PELLETIER, M.C., BORJA, A., CADIEN, D., DAUER, D., DIAZ, R., DUTCH, M., HYLAND, J.L., KELLOGG, M., LARSEN, P.F., LEVINTON, J.S., LLANSO, R., LOVELL, L.L., MONTAGNA, P.A., PASKO, D., PHILLIPS, C.A., RAKOCINSKI, C., RANASINGHE, J.A., SANGER, D.M., TEIXEIRA, H., VANDOLAH R.F., VELARDE R.G. & WELCH, K.I. 2015. Effect of ecological group classification schemes on performance of the AMBI benthic index in US coastal waters. *Ecol. Indic.*, 50: 99-107.
- HARVEY, M., GAUTHIER, D. & MUNRO, J. 1998. Temporal changes in the composition and abundance of the macro-benthic invertebrate communities at dredged material disposal sites in the anse à Beaufils, baie des Chaleurs, eastern Canada. *Mar. Pollut. Bull.*, 36: 41-55.
- HUTTON, M., VENTURINI, N., GARCÍA-

- RODRÍGUEZ, F., BRUGNOLI, E & MUNIZ, P. 2015. Assessing the ecological quality status of a temperate urban estuary by means of benthic biotic indices. *Mar. Pollut. Bull.*, 91:441–453.
- JUMARS, P. A., DORGAN, K. M. & LINDSAY, S. M. 2015. Diet of worms emended: an update of polychaete feeding guilds. *Ann. Rev. Mar. Sci.*, 7: 497–520.
- LANA, P.C., AMARAL, A.C.Z., SOUZA, J.R.B., RUTA, C., PAIVA, P.C. & BRASIL, A.C.S., et al. (2009). Polychaeta. In: Rocha, R.M. & Boeger, W.A. (Org). Estado da arte e perspectivas para a zoologia no Brasil. Curitiba: UFPR.
- LESHNO, Y., BENJAMINI, C & EDELMAN-FURSTENBERG, Y. 2016. Ecological quality assessment in the Eastern Mediterranean combining live and dead molluscan assemblages. *Mar. Pollut. Bull.*, 104:246–256.
- LEVINTON J. S. 1995. *Marine Biology, function, biodiversity, ecology*. Oxford University Press, Oxford: 245-258p.
- LODGE, D. M. 1993. Species invasions and deletions: community effects and responses to climate and habitat change. Pp 367-387. In: Kareiva, P., Kingsolver, J. & Huey, R. (eds.), *Biotic interactions and global change*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 559p.
- MARGALEF, R. 1956. Información y diversidad específica en las comunidades de organismos. *Invest. Pesq.*, 3: 99-106.
- MCLACHLAN, A. & BROWN, A., 2006. *The Ecology of Sandy Shores*, 2nd edition. Academic Press, 373 pp.
- METCALFE, J. L. 1989. Biological Water Quality Assessment of Running Waters Based on Macroinvertebrate Communities: History and Present Status in Europe. *Environ. Pollut.*, 60(1/2):101-139.
- MUNIZ, P., HUTTON, M., KANDRATAVICIUS, N., LANFRANCONI, A., BRUGNOLI, E., VENTURINI, N & GIMÉNEZ, L. 2012. Performance of biotic indices in naturally stressed estuarine environments on the Southwestern Atlantic coast (Uruguay): a multiple scale approach. *Ecol. Ind.*, 63(4):363-378.
- MUNIZ, P., VENTURINI, N., PIRES-VANIN, A.M.S., TOMMASI, L.R. & BORJA, A. 2005. Testing the applicability of a Marine Biotic Index (AMBI) to assessing the ecological quality of soft-bottom benthic communities, in the South America Atlantic region. *Mar. Pollut. Bull.*, 50: 624-637.
- MUXIKA, I., BORJA, Á., BALD, J. 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Mar. Pollut. Bull.*, 55:16–29.
- OLIVEIRA, V. M. 2013. Revisão taxonômica de Phyllodocidae Orsted, 1843 (Annelida: Polychaeta) das regiões sul e sudeste do Brasil. 299f. Tese de doutorado (Programa de Pós- Graduação em Ciências Biológicas- Zoologia), Universidade Federal do Paraná.
- OMENA, E. P., LAVRADO, H. P., PARANHOS, R. & SILVA, T. A. 2012. Spatial distribution of intertidal sandy beach polychaeta along an estuarine and morphodynamic gradient in an eutrophic tropical bay. *Mar. Pollut. Bull.*, 64(9): 1861-1873.
- PAIVA, P. C. 2006. Capítulo 7. Filo Annelida. Classe Polychaeta. In: LAVRADO, H. P; IGNACIO, B. I. Biodiversidade bentônica da região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 261-298p.
- PALMER, T. A., MONTAGNA, P. A. & NAIRN, R. B. 2008. The effects of a dredge excavation pit on benthic macrofauna in offshore Louisiana. *Environ. Manage.*, 41(4): 573–583.
- PEARSON, T. H. & ROSENBERG, R. 1978. Macro-benthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol.*, 16: 229- 31.
- PETER M. LINNIK, P. M. & ZUBENKO, I. B. 2000. Role of bottom sediments in the secondary pollution of aquatic environments by heavy-metal compounds. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, 5: 11–21.
- PIELOU, E. C. 1966. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. *J. Theor. Biol.*, 10: 370-383.
- PIEPER, W. W. 2010. Variabilidade espacial dos índices AMBI e M-AMBI em ambientes estuarinos da costa sul e sudeste do Brasil. 118f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos)- Universidade Federal do Paraná.
- PINO, L., MARÍN, S. L. & NUNEZ, R. 2015. Indicadores bióticos y fracción de tamaños en la definición de la macrofauna. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(2): 329-336.

- POWILLEIT, M., KLEINE, J. & LEUCHS, H. 2005. Impacts of experimental dredged material disposal on a shallow, sublittoral macrofauna community in Mecklenburg Bay (Western Baltic Sea). *Mar. Pollut. Bull.*, 52: 386–396.
- REISH, D. J. & GERLINGER, T. V. 1997. A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bull. Mar. Sci.*, 60(2): 584–607.
- REISS, H. & KROÖNCKE, I. 2005. Seasonal variability of benthic indices: an approach to test the applicability of different indices for ecosystem quality assessment. *Mar. Pollut. Bull.*, 50:1490–1499.
- RIBEIRO, R. P. & ALMEIDA, Z. F. 2014. Anelídeos Poliquetas do estado do Maranhão, Brasil: síntese do conhecimento. *Bioikos*, 28(1): 45–55.
- ROCHA, M. B., Radashevsky, V. & Paiva, P. C. 2009. Espécies de *Scolecopsis* (Polychaeta, Spionidae) de praias do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Biota Neotrop.*, 9(4): 101–108.
- SALAS F., MARCOS C., NETO J. M., PATICIOB J., PEREZ-RIZAF A. & MARQUES J.C. 2006. User friendly guide using benthic ecological indicators in coastal and marine quality assessment. *Ocean Coast Manag.*, 49: 308–331.
- SENE-SILVA, G., OLIVEIRA, J. S. & MICHELS-SOUZA, M. A. 2011. Occurrence of *Nephtys fluviatilis* (Monro, 1937) and *Alitta Succinea* (Frey & Leuckart, 1847) (Annelida: Polychaeta) in an oligohaline environment at Faisqueira river, Antonina, Paraná. *Biol. Health. Sci.*, 17(1): 7–11.
- SHANNON, C.E. & WEAVER, W. 1949. The mathematical theory of communication. Reprinted with corrections from. *Bell Syst. Tech.*, 27: 379–423.
- SILVA, J. R. R. & ALMEIDA, Z. S. 2002. Zoneamento vertical dos crustáceos bentônicos em substratos inconsolidados do manguezal do Quebra-Pote na ilha de São Luís, Maranhão – Brasil. *Bol. Tec. Cient.*, 10(1): 125–143.
- SIMBOURA, N & ARGYROU, M., 2010. An insight into the performance of benthic classification indices tested in Eastern Mediterranean coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 60: 701–709.
- SIMBOURA, N. & ZENETOS. 2002. A. Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Mediterr Mar Sci.*, 3(2): 77–111.
- SIMPSON, E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688.
- SIQUEIRA, G. W., LIMA, W. N., MENDES, A. S., APRILE, F.M. & DARWICH, A.J., 2003. Aspectos hidroquímicos das águas subjacentes à Plataforma Continental do Amazonas entre os Cabos Orange (AP) e Maguari (PA). *B. Lab. Hidro*, 16: 5–20.
- SOLA, M. C. R. & PAIVA, P. C. 2001. Variação temporal da macrofauna bentônica sublittoral da praia da Urca (RJ) após a ocorrência de ressacas. *Rev. Bras. Oceanogr.*, 49(1-2): 137–142.
- SOUSA, D. B., SANTOS, N. B., OLIVEIRA, V. M., CARVALHO-NETA, R. N. F. & ALMEIDA, Z. S. 2015. Carcinofauna benthica estuarina de dois manguezais da costa amazônica maranhense, Brasil. *Iheringia*, 05(3): 339–347.
- SUGUIO, K. 1973. *Introdução à Sedimentologia*. São Paulo, Edgard Blucher/EDUSP, 317p.
- TEIXEIRA, S. G., SOUSA FILHO, P. W. M. 2009. Mapeamento de ambientes costeiros tropicais (Golfão Maranhense, Brasil) utilizando imagens de sensores remotos orbitais. *Rev. Bras. Geof.*, 27(1): 68–82.
- WALKER, A. & BLACK, J. A. 1934. An of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, 37(1):29–38.
- WILLIAMSON, M. H. & FITTER, A. 1996. The characters of successful invaders. *Biol Conserv*, 78: 163–170.
- WITT, J., SCHROEDER, A., KNUST, R. & ARNTZ, W.E. 2004. The impact of harbour sludge disposal on benthic macrofauna communities in the Weser Estuary. *Helgoland Mar Res.*, 58: 117–128.

TOLERÂNCIA DE *Poecilia* spp. À SALINIDADE: USO EM BIOENSAIOS COM AMOSTRAS SALINIZADAS

Jorge Luís Ferreira Nogueira¹ & Ricardo Luvizotto-Santos^{2*}

¹ Bacharel em Oceanografia, Departamento de Oceanografia e Limnologia, CCBS, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA. CEP 65080-805.

² Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA. CEP 65080-805.

*Autor correspondente: luvizottosantos@ufma.br

RESUMO

Os bioensaios podem ser empregados em complementação às análises químicas tradicionais nos trabalhos de avaliação e monitoramento ambiental. Entretanto, não existe um protocolo definido no Brasil para peixes eurihalinos para avaliação de amostras estuarinas cuja salinidade varia de forma significativa, e a escolha de organismos-teste adaptados se torna imperativa. Este trabalho avaliou a sobrevivência das espécies *Poecilia latipinna*, *P. reticulata*, *P. sphenops* e *P. vivipara* expostas por 96h a diferentes salinidades (zero, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 g/kg) após 7 dias de aclimação em água doce ou salobra (15 g/kg) visando determinar a espécie mais indicada para bioensaios com amostras de água salinizada. Nos grupos aclimatados à água doce, no geral, houve um aumento progressivo da mortalidade dos peixes a partir da salinidade 20 g/kg, exceto para *P. vivipara* que apresentou 100% de sobrevivência em toda a faixa de salinidade estudada. As CLs 50_(96h) determinadas pelo método *Trimmed Spearman-Kärber* foram: 23,67 g/kg para *P. reticulata*, 23,35 g/kg para *P. sphenops*, e 31,86 g/kg para *P. latipinna*. Estas espécies quando aclimatadas à água salobra apresentaram maior sobrevivência quando expostas às salinidades mais elevadas. Considerando a tolerância à uma ampla faixa de salinidade e o fato de ser uma espécie nativa, *P. vivipara* é a espécie mais indicada para realização de bioensaios com amostras de água de origem estuarina, sendo recomendada uma aclimação prévia à água salobra.

Palavras-chave: Bioensaio, eurihalino, organismo-teste, *Poecilia latipinna*; *Poecilia reticulata*; *Poecilia sphenops*; *Poecilia vivipara*.

ABSTRACT

Tolerance of *Poecilia* spp. to salinity: use in bio-essays with salinized samples

Bioassays can be used in addition to the traditional chemical analyzes in environmental assessment and monitoring. However, there is no protocol defined in Brazil for euryhaline fish for evaluation of estuarine samples whose salinity varies significantly, and the choice of adapted test organisms becomes imperative. This work evaluated the survival of the species *Poecilia latipinna*, *P. reticulata*, *P. sphenops* and *P. vivipara* exposed for 96h at different salinities (zero, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 g/kg) after 7 days of acclimatization in fresh or brackish water (15 g/kg) to determine the most suitable species for bioassays with salinized water samples. In the groups acclimatized in freshwater, in general, there was a progressive increase in fish mortality from the salinity 20 g/kg, except for *P. vivipara* that presented 100% survival in the salinity range studied. The LCs 50_(96h) determined by the *Trimmed Spearman-Kärber* method were 23.67 g/kg for *P. reticulata*, 23.35 g/kg for *P. sphenops*, and 31.86 g/kg for *P. latipinna*. These species when acclimated to brackish water showed higher survival when exposed to high salinities. Considering the tolerance to salinity and the fact that it is a native species, *P. vivipara* is the best species to perform bioassays with samples of water of estuarine origin and we recommend a previous acclimatization in brackish water.

Keywords: Bioassay, euryhaline, *Poecilia latipinna*; *Poecilia reticulata*; *Poecilia sphenops*; *Poecilia vivipara*, test organism.

INTRODUÇÃO

A partir da revolução industrial, a capacidade do homem para modificar o ambiente tem se intensificado e um grande número de substâncias químicas tem sido lançado nos ecossistemas aquáticos. A poluição de corpos hídricos altera as características ambientais e a avaliação do nível dessa degradação se dá através de análises físicas, químicas e biológicas, as quais são utilizadas como parâmetros de qualidade ambiental. Em complementação às estas análises tradicionais, os testes de toxicidade auxiliam na avaliação dos efeitos dos contaminantes sobre os sistemas biológicos. Diferentes bioensaios que quantificam as reações adversas em decorrência da exposição aos agentes estressantes têm auxiliado nos trabalhos de monitoramento e avaliação ambiental.

Com relação à seleção de organismos-teste para os ensaios ecotoxicológicos, Domingues & Bertolotti (2014) ressaltam a percepção dos seguintes critérios, 1) ter sensibilidade a uma diversidade de agentes químicos; 2) a sensibilidade deve ser relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo uma boa exatidão e reprodutibilidade dos resultados, 3) conhecimento de sua biologia, fisiologia e hábitos alimentares; 4) ser preferencialmente de pequeno porte e ciclo de vida curto; 5) ser de fácil manuseio em laboratório e 6) distribuição ampla.

Powers (1989) discute as diversas características que fazem dos peixes excelentes modelos biológicos, entre elas o fato de serem os vertebrados mais antigos e diversos, ocuparem diferentes ambientes, e ainda o fato de serem apropriados tanto para ensaios em campo quanto em laboratório. Além disso, há abundante informação disponível para diversas espécies permitindo sua manutenção e reprodução em laboratório.

Os peixes estão presentes em quase todos os ambientes aquáticos e desempenham um importante papel ecológico na cadeia alimentar sendo que algumas espécies têm a função de transferir a energia dos níveis tróficos inferiores para os mais altos. Dessa forma, conhecer as respostas frente à exposição aos agentes tóxicos possui elevada relevância ecológica, sendo os peixes, um grupo importante na avaliação de contaminantes no ambiente (Powers, 1989; van der Oost *et al.*, 2003). Ensaios agudos com peixes têm sido amplamente utilizados por diversas agências de controle ambiental, sendo que no Brasil, a ABNT através da NBR 15088 (2016) estabeleceu a norma para a determinação da toxicidade aguda

para os peixes *Danio rerio* e *Pimephales promelas*. Entretanto, estas espécies são restritas a água doce, sendo que não há um protocolo estabelecido no Brasil para as espécies estuarinas ou marinhas.

Os peixes da família Poeciliidae, conhecidos popularmente como barrigudinhos, guaru ou *guppy*, são abundantes e habitam as regiões dulcícolas e estuarinas desde os Estados Unidos até a Argentina (Neves & Monteiro, 2003). Estes organismos são eurihalinos e encontrados em ambientes lênticos (Amaral *et al.*, 2001), se alimentando principalmente de pequenos invertebrados e algas (Bizerril & Primo, 2001). Apresentam dimorfismo sexual sendo as fêmeas de algumas espécies maiores que os machos, os quais possuem um órgão especializado para fecundação interna chamado gonopódio formado a partir da nadadeira anal (Monteiro, 2013).

Os poecilídeos são qualificados como bons modelos para pesquisa em biologia do desenvolvimento devido ao seu pequeno tamanho e facilidade de manejo, elevada prolificidade, altas taxas de natalidade e número embriões por fêmea. Essas características favorecem a amostragem, processamento, manutenção e manuseio em laboratório, bem como a visualização de características macro e microscópicas (Rocha *et al.*, 2010).

Segundo Meffe & Snelson Jr (1989) os poecilídeos são bastante utilizados como espécies-modelo por apresentar elevada capacidade de resposta à presença dos contaminantes. A tolerância à salinidade difere significativamente entre as espécies de poecilídeos, sendo associada tanto a fatores genéticos quanto ambientais (Shikano & Fujio, 1995; Shikano & Fujio, 1997). Vale ressaltar que muitas espécies desta família são conhecidas por sua resistência à poluição orgânica, sendo comumente encontradas em córregos contendo esgoto doméstico (Araújo *et al.*, 2001, Paulo *et al.*, 2012).

Para a avaliação toxicológica de amostras estuarinas, o organismo-teste deve estar adaptado a sobreviver em certa faixa de salinidade sem que isso altere significativamente a resposta (sensibilidade) frente ao agente tóxico. Nesse sentido, conhecer esses limites são importantes para a definição da espécie candidata a organismo-teste. O objetivo deste trabalho foi determinar a sobrevivência de quatro espécies de poecilídeos ao choque osmótico sendo duas exóticas (*Poecilia latipinna* e *Poecilia sphenops*) e duas nativas (*Poecilia reticulata* e *Poecilia vivipara*), após a aclimação em água doce e salobra.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os bioensaios foram feitos no Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Federal do Maranhão (DEOLI-UFMA), no período de novembro de 2014 a junho de 2015. A espécie *P. reticulata*, foi coletada no Campus Dom Delgado da UFMA (latitude 9717499.62 m S e longitude 577296.70 m O), utilizando rede de malha de 3 mm do tipo puçá. A espécie *P. vivipara* foi coletada em um tanque de maré de uma piscicultura de Camurupim (*Megalops atlanticus*) localizada no Porto do Braga, município de Raposa, MA (latitude 9732363.35 m S e longitude 600418.76 m O) também com rede de malha de 3 mm do tipo puçá.

As espécies exóticas *P. sphenops* e *P. latipinna* foram cultivadas no Laboratório de Aquicultura Continental do DEOLI-UFMA, sendo os reprodutores das espécies (n=20) adquiridos em pisciculturas de peixes ornamentais na região. Os adultos foram cultivados em tanques de PVC 500 L (água de poço artesiano) contendo macrófitas (*Eichhornia crassipes*) para manter a qualidade da água e para proteger os recém-nascidos.

Os testes de exposição à salinidade seguiram as recomendações da norma ABNT NBR 15088 (2016) com relação à quantidade de peixe por frasco-teste, quantidade de réplicas por salinidade, parâmetros monitorados durante o ensaio, sistema e tempo de exposição e tempo de aclimação.

Antes da exposição às diferentes salinidades, os peixes foram divididos em dois grupos em aquários de 30 L com sistema de filtragem, temperatura ambiente de 25°C ± 1°C, foto período de 12 h e alimentados 3 vezes ao dia com ração comercial (Tetra, Alemanha), sendo um grupo aclimatado por 7 dias à salinidade zero (50% de água destilada e 50% de água de poço artesiano) e outro aclimatado à salinidade 15 g/kg. As soluções salinas foram preparadas a partir de sal marinho sintético (Prodac Ocean Fish, Itália).

Após o período de aclimação, os peixes foram transferidos para frascos de vidro contendo 1,0 L de água nas salinidades zero, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 g/kg, com 3 réplicas e 5 peixes em cada frasco-teste, totalizando 15 organismos por salinidade.

Foram utilizados pós-alevinos (Rocha *et al.*, 2010) de *P. latipinna* com comprimento médio de 8,01 ± 4,30 mm e peso corpóreo de 0,09 g ± 0,03. Para *P. sphenops* foram utilizados pós-alevinos com comprimento médio de 7,85 ± 3,50 mm e peso corpóreo de 0,06 ± 0,03 g. Para a espécie *P. reticulata* foram utilizados machos com comprimento médio

de 15,82 ± 1,78 mm e peso corpóreo de 0,16 ± 0,04 g. Para *P. vivipara* foram utilizados machos com comprimento médio de 14,17 ± 3,58 mm e peso corpóreo de 0,16 ± 0,08 g. Os peixes foram mantidos em sistema semi-estático com renovação diária de 25% do volume (por sifonamento), sob aeração constante, sem alimentação e fotoperíodo de 12h. A cada 24 horas os organismos mortos foram contados e retirados e os parâmetros oxigênio dissolvido, pH, temperatura e salinidade foram medidos utilizando um sensor multiparâmetro (YSI- 556 MPS) antes da troca parcial de água. A biometria dos lotes foi feita ao final do ensaio (96h) em 30 % dos peixes, com auxílio de um paquímetro e balança com 0,001 g de precisão. Os dados de mortalidade nos diferentes tratamentos foram submetidos a ANOVA-Tukey (p<0,05) com auxílio do programa *Statistica 10* (StatSoft, 2011) e apresentados nos gráficos como média e desvio padrão das réplicas de cada salinidade testada. A CL50_(96h) foi estimada através do método *Trimmed Sperman-Karber* (Hamilton *et al.*, 1977) com auxílio do programa TOXSTAT (3.4).

RESULTADOS

Os parâmetros monitorados durante os ensaios apresentaram pouca variação em torno das médias, sendo que a temperatura ficou em 26,15 ± 0,15°C; pH em 8,05 ± 0,32 e oxigênio dissolvido em 6,35 ± 1,01 mg/L. Os valores de salinidade em cada frasco-teste medidos após 96h de exposição apresentaram variação inferior a 5% em relação ao início dos ensaios.

Todos os indivíduos de *P. vivipara* aclimatados tanto à salinidade zero quanto à 15 g/kg sobreviveram nas diferentes salinidades testadas. Para as demais espécies, observou-se um efeito na mortalidade em função do aumento da salinidade.

Com relação ao grupo de *P. reticulata* aclimatado à salinidade zero, houve um aumento significativo na mortalidade a partir da salinidade 25 g/kg (p=0,00024) (Figura 1), sendo que a CL50_(96h) foi de 23,67 g/kg (22,53 – 25,06 g/kg). Por outro lado, quando os indivíduos foram aclimatados à salinidade 15, houve mortalidade significativa apenas na salinidade 40 g/kg (p=0,00030).

Nos ensaios com *P. sphenops* também houve efeito significativo a partir da salinidade 25 g/kg (p=0,00017) nos indivíduos aclimatados à salinidade zero, sendo que a CL50_(96h) foi de 23,35 g/kg (21,72 – 25,12 g/kg) (Figura 2). Para os indivíduos aclimatados à água salobra, houve mortalidade somente na salinidade 40 g/kg.

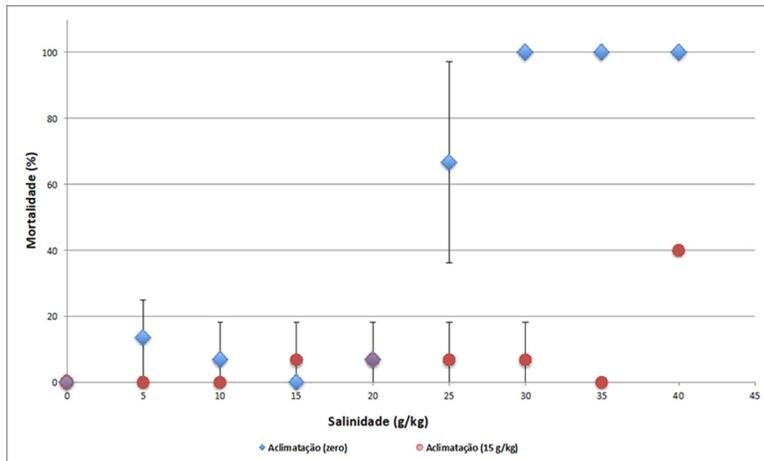


Figura 1. Mortalidade média ($\pm s$) de *Poecilia reticulata* após transferência a diferentes salinidades em duas condições de aclimação. * indica efeito significativo (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

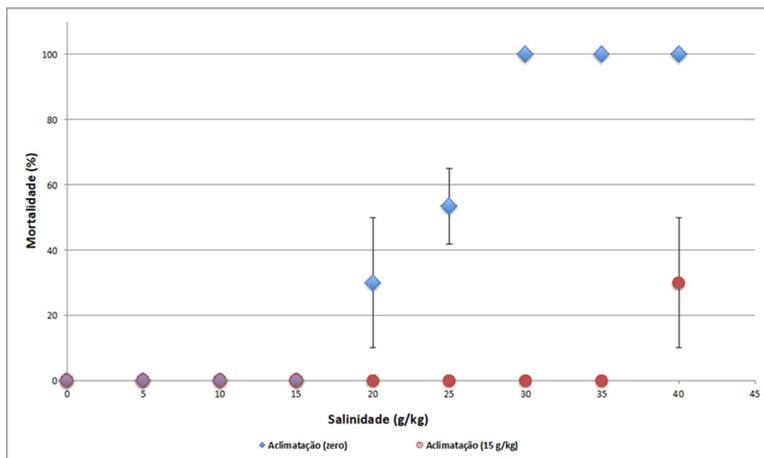


Figura 2. Mortalidade média ($\pm s$) de *Poecilia sphenops* após transferência a diferentes salinidades em duas condições de aclimação. * indica efeito significativo (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

Os resultados dos ensaios com *P. latipinna* indicaram mortalidade significativa a partir da salinidade 35 g/kg para os organismos aclimatados à salinidade zero ($p=0,00024$), sendo que a $CL_{50}^{(96h)}$ foi de 31,86 g/kg (28,87 – 35,18 g/kg). Para os organismos aclimatados à salinidade 15 g/kg, não foi observada mortalidade para a espécie (Figura 3).

DISCUSSÃO

Em linhas gerais, os peixes eurihalinos são capazes de manter relativamente constante a osmolalidade e a composição iônica de seus fluidos internos, independentemente da composição do meio externo, através de processos osmorregulatórios (Nordlie, 2009; Kültz, 2015). Porém, sabe-se que variações de salinidade afetam o metabolismo desses organismos principalmente o crescimento e

a sobrevivência (Boeuf & Payan, 2001; Varsamos *et al.*, 2005; Nordlie, 2006). Diversas espécies, quando submetidas às salinidades próximas ao seu ponto isosmótico, apresentam menor gasto energético para osmorregulação e quanto mais distante, maior a necessidade de ativar mecanismos reguladores e compensatórios os quais demandam mais energia (Gaumet *et al.*, 1995; Boeuf & Payan, 2001; Altinok & Grizzle 2001; Herrera *et al.*, 2009; Nordlie, 2009; Kültz, 2015).

A eurialinidade de poecilídeos está diretamente relacionada às adaptações morfofuncionais que permitem sua sobrevivência em condições de estresse osmótico, tendo as brânquias como órgão-chave nos processos de trocas gasosas, iono-osmorregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção de compostos nitrogenados (Vigliano *et al.*, 2006). Além de variar de espécie para espécie, a eurialinidade é

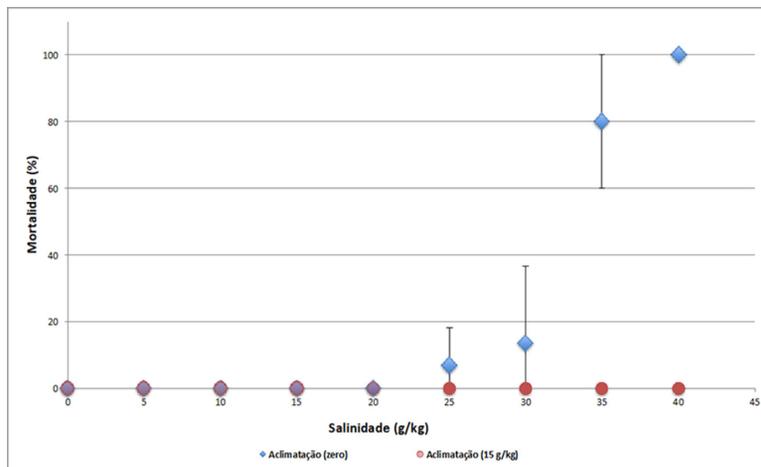


Figura 3. Mortalidade média (\pm s) de *Poecilia latipinna* após transferência a diferentes salinidades em duas condições de aclimação. * indica efeito significativo (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

influenciada por condições de exposição ambiental durante seu desenvolvimento ontogenético (Araújo *et al.*, 2001). Sabe-se que fêmeas quando expostas a maior salinidade produzem descendentes mais tolerantes à salinidade (Shikano & Fujio, 1997; Shikano & Fujio, 1999).

A tolerância de *P. vivipara* à salinidade já foi descrita por Sabóia-Moraes *et al.* (1996), Rocha *et al.*, (2010) e Antunes *et al.* (2011), sendo que o desempenho demonstrado nos bioensaios corrobora com o que se conhece da espécie. Vale ressaltar que neste estudo, os indivíduos dessa espécie foram coletados em tanques de maré sujeitos a longos períodos de exposição a salinidades elevadas, conforme verificado por Silva (2014) e, portanto, acredita-se que estavam melhor adaptadas ao estresse salino que as demais espécies que foram cultivadas em água doce.

A espécie *P. reticulata* também é reconhecida por sua tolerância aos ambientes de maior salinidade, entretanto, a mortalidade aqui observada nos ensaios pode estar relacionada ao tempo de aclimação adotado o qual, aparentemente, não foi suficiente para a ativação dos mecanismos osmorregulatórios desta espécie. De fato, Schwerdtfeger & Bereiter-Hahn (1978) verificaram aumento nas células de cloreto em indivíduos aclimatados por três semanas à água do mar. Assim, acredita-se que um maior período de aclimação possa aumentar a sobrevivência em condições hipersalinas.

Diversos autores têm indicado que *P. sphenops* é extremamente tolerante à variação de salinidade, tendo a espécie sido encontrada em águas com salinidade até 87 g/kg (Sublette *et al.*, 1990), embora, prefiram águas salobras com menos de 10 g/kg (Boschung Jr. & Mayden, 2004), com crescimento maior nessa condição quando comparado à água doce (Travis *et al.*, 1989). De forma similar, a

ocorrência de *P. latipinna* tem sido relatada em ambientes aquáticos desde a água doce até água hipersalina (Gonzalez *et al.*, 2005; Kumaraguru-Vasagam *et al.*, 2005; Bachman & Rand, 2008; Hussain *et al.*, 2009). De acordo com Nordlie *et al.* (1992), um longo período de aclimação à água salobra permitiu a sobrevivência de indivíduos até a salinidade 80, e que o isolamento dessas espécies em águas doces ou salobras não altera sua capacidade osmorregulatória. De fato, Evans (1973; 1975) e Gustafson (1981) examinaram a capacidade osmorregulatória da espécie e concluíram que *P. latipinna* é fisiologicamente adaptada para grandes variações de salinidade do meio.

Neste estudo, foram utilizados pós-alevinos de *P. sphenops* e *P. latipinna*, seguindo classificação adotada por Rocha *et al.* (2010): “peixe jovem que se alimenta exclusivamente de itens exógenos”. Estes autores verificaram que nesta fase os indivíduos possuem brânquias bem desenvolvidas com elevada capacidade para as trocas gasosas e iônicas, sendo que a variação da salinidade do meio induziu mudanças no conteúdo de glicocompostos secretados pelas células de muco, assim como verificado para adultos (Sabia-Moraes *et al.*, 1996). Além disso, Mac Manus & Travis (1998) verificaram que a variação de salinidade não afetou a alocação de biomassa nem as reservas lipídicas em *P. latipinna* desde a eclosão até a fase adulta. Nesse sentido, desconsideramos as possíveis variações na resposta adaptativa entre pós-alevinos e machos adultos.

A mortalidade observada a partir de 20 g/kg nos lotes aclimatados em água doce indica que estas duas espécies são sensíveis a partir deste gradiente osmótico (entre os fluidos corporais e meio externo), mesmo se tratando de espécies capazes de sobreviver em ambientes hipersalinos. Nesse sentido, mais uma vez destaca-se a importância da aclimação

na ativação dos mecanismos osmorregulatórios que permitirão a manutenção da homeostase durante o estresse hipersalino.

Nesse ponto cabe a discussão sobre a distribuição natural entre os poecilídeos estudados para a definição da espécie mais indicada como organismo-teste. Apesar da espécie exótica *P. latipinna* ter demonstrado bom desempenho nos ensaios, sendo inclusive considerada por Large (1985) e Trexler *et al.* (1990) como sendo característica de água salobra, espécies endêmicas com ampla distribuição devem preferencialmente ser utilizadas nos trabalhos de biomonitoramento.

No período em que as principais agências ambientais do mundo estabeleciam os critérios de qualidade de água, houve a preocupação em utilizar valores de toxicidade a partir de resultados obtidos com organismos da fauna local. Os EUA, por exemplo, excluíram dos documentos os resultados obtidos com espécies que não ocorriam (se reproduziam) nos ecossistemas daquele país (USPA, 1986). No Canadá, recomendava-se que resultados obtidos com espécies exóticas seriam utilizados somente até o momento em que os resultados com espécies endêmicas estivessem disponíveis (CCREM, 1987).

É importante considerar que quando a toxicidade de um químico em particular é avaliada antes do lançamento no ambiente, a espécie testada seja daquele ambiente (Sunderam *et al.*, 1992). Além disso, Pandrangi *et al.* (1995) discutindo sobre a preferência entre espécies endêmicas e exóticas para ensaios ecotoxicológicos (genotoxicidade), indicaram que o uso de organismos endêmicos como sentinelas ambientais será sempre preferível ao uso de espécies exóticas.

No Brasil, Magalhães e Ferrão-Filho (2008) sugeriram a necessidade de se intensificarem os estudos na utilização de espécies nativas e consequente estabelecimento de novos protocolos de ensaios ecotoxicológicos. Nessa linha, Bertoleti (2009) avaliou a toxicidade de substâncias de referência para diferentes espécies de peixes nativos e exóticos e concluiu que os resultados obtidos para as espécies nativas foram semelhantes aos verificados para a espécie padronizada *Danio rerio* (zebrafish). Entretanto, outras duas espécies exóticas como a carpa e a tilápia demonstraram menor sensibilidade aos agentes tóxicos testados.

Sendo assim, sugerimos que a espécie nativa *P. vivipara* deva receber maior atenção no estabelecimento de protocolos de bioensaios por se tratar de uma espécie eurihalina de ampla distribuição, tanto em ambientes dulcícolas como em águas salobra/salinas.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados de tolerância à salinidade e por se tratar de uma espécie endêmica

de ampla distribuição em diversas regiões e habitats do Brasil, considera-se que a espécie nativa *P. vivipara* seja a mais indicada para realização de bioensaios com amostras de água de origem estuarina. Recomenda-se uma aclimação prévia à água salobra no caso de lotes coletados ou cultivados em água doce, de preferência por um período maior que o adotado neste estudo, considerando-se o tempo necessário para a ativação dos mecanismos osmorregulatórios (limitantes e compensatórios) dos peixes os quais demandam energia e podem interferir nas respostas frente ao estresse químico dos bioensaios. Uma alternativa que também deve ser considerada é o cultivo desses peixes em salinidade entre 15 e 20 g/kg, o que permitiria a oferta constante de organismos-teste prontos para serem utilizados nos ensaios de amostras estuarinas.

REFERÊNCIAS

- ABNT. 2016. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. NBR 15088. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas. 22p.
- ALTINOK, I.; & GRIZZLE, J.M. 2001. Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juveniles euryhaline and freshwater stenohaline fishes. *J. Fish Biol.*, 59(5): 1142-1152.
- AMARAL, M.D.C.; BONECKER, A.C.T.; & ORTIZ, C.H. 2001. Activity determination of Na⁺ K⁺-ATPase and Mg⁺⁺-ATPase enzymes in the gill of *Poecilia vivipara* (Osteichthyes, Cyprinodontiformes) in different salinities. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 44(1): 1-6.
- ANTUNES, A.M.; ROCHA, T.L.; MORAIS, J.O.R.; & SABÓIA-MORAIS, S.M.T. 2011. Miogênese do tecido muscular branquial do peixe eurihalino *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) exposto à salinidade. *Ciênc. Anim. Bras.*, 12(3): 478-486.
- ARAÚJO, A.E.J.; MORAIS, J.O.R.; SOUZA, P.R., & SABÓIA-MORAIS, S.M.T. 2001. Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Acta Sci. Biol. Sci.*, 23(2): 391-399.
- BACHMAN, P.M.; & RAND, G.M. 2008. Effects of salinity on native estuarine fish species in South Florida. *Ecotoxicology*, 17(7):591-597.
- BERTOLETTI E. 2009. Sensibilidade de algumas

- espécies de peixes de água doce utilizadas no Brasil. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., 4(1-3): 9-13.
- BIZERRIL, C.R.S.F.; & PRIMO, P.B.S. 2001. Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro. FEMAR-SEMADS, Rio de Janeiro. 417p.
- BOEUF, G.; & PAYAN, P. 2001. How should salinity influence fish growth? Comp. Biochem. Physiol. C, 130(4):411-423.
- BOSCHUNG Jr., H.T.; & MAYDEN, R.L. 2004. Fishes of Alabama. Smithsonian Books, Washington, D.C. 736 p.
- CCREM - Canadian Council of Resource and Environment Ministers 1987. Canadian Water Quality Guidelines. Protocols for Deriving Water Quality Guidelines for the Protection of Agricultural Water Uses, Ottawa, Ontario.
- DOMINGUES, D.F.; & BERTOLETTI, E. 2006. Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: Zagatto, P.A. & Bertoletti, E. (eds), Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações. São Carlos. RiMa. p.153-184.
- EVANS, D.H. 1973. Sodium uptake by the sailfin molly, *Poecilia latipinna*: Kinetic analysis of a carrier system present in both fresh-water-acclimated and sea-water-acclimated individuals. Comp. Biochem. Physiol. A., 45(3): 843-850.
- EVANS, D.H. 1975. The effects of various external cations and sodium transport inhibitors on sodium uptake by the sailfin molly, *Poecilia latipinna*, acclimated to seawater. J. Comp. Physiol. B., 96(2): 111-115.
- GAUMET, F.; BOEUF, G.; SEVERE, A.; LE ROUX, A.; & MAYER-GOSTAN, N. 1995. Effects of salinity on the ionic balance and growth of juvenile turbot. J. Fish Biol., 47(5): 865-876.
- GONZALEZ, R.J.; COOPER, J.; & Head, D. 2005. Physiological responses to hyper-saline waters in sailfin mollies (*Poecilia latipinna*). Comp. Biochem. Physiol. A, 142(4): 397-403.
- GUSTAFSON, D.L. 1981. The influence of salinity on plasma osmolality and routine oxygen consumption in the sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Lesueur), from a freshwater and an estuarine population. Thesis (M.S.), University of Florida, Gainesville.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; & THURSTON, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol. 11(7): 714-719; Correction 12(4):417 (1978).
- HERRERA, M.; VARGAS-CHACO, L.; HACHERO, I.; RU, I.; & RODILES, A. 2009. Osmoregulatory changes in wedge sole (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881) after acclimation to different environmental salinities. Aqua. Res., 40(7):762-771.
- HUSSAIN, N.A.; MOHAMED, A.R.M.; AL-NOO, S.S.; MUTLAK, F.M.; ABED I.M.; & COAD, B.W. 2009. Structure and ecological indices of the fish assemblages in the recently restored Al-Hammar Marsh, Southern Iraq. BIORISK - Biodiversity and Ecosystem Risk Assessment, 3: 173-186.
- KÜLTZ, D. 2015. Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. J. Exp. Biol., 218(12): 1907-1914.
- KUMARAGURU-VASAGAM, K.P.; RAJAPOGAL, S.; & BALASUBRAMANIAN, T. 2005. Effect of salinity on gestation period, fry production, and growth performance of sailfin molly (*Poecilia latipinna* Lesueur) in captivity. The Israeli Journal of Aquaculture, 57(3): 191- 196.
- LARGE, H L. 1985. Life history tactics of the sailfin molly (*Poecilia latipinna*) in contrasting environments. Retrospective Theses and Dissertations. 4791. Disponível em: <http://stars.library.ucf.edu/rtd/4791>
- MC MANUS, M. G.; & TRAVIS, J. 1998. Effects of temperature and salinity on the life history of the sailfin molly (Pisces: Poeciliidae): lipid storage and reproductive allocation. Oecologia, 114(3), 317-325.
- MAGALHÃES, D.P.; & FERRÃO-FILHO, A. 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. Oecologia Brasiliensis, 12(3): 355-381.
- MEFFE, G.K.; & SNELSON Jr, F.F. 1989. An ecological overview of Poeciliid fishes, in: G.K. Meffe & E.E. Snelson Jr. (Eds.), Ecology and evolution of livebearing fishes. Prentice-Hall, New Jersey, 730-757.
- MONTEIRO, A.B. 2013. Biogeografia evolutiva: a seleção sexual e o índice de predação como fatores evolutivos do Lebistes (*Poecilia reticulata*) em comunidades íctias. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista, 98 p.
- NORDLIE, F.G. 2006. Physiochemical environments and tolerances of cyprinodontoid fishes found in estuaries and salt marshes of eastern North America. Rev. Fish Biol. Fisher., 16(1):51-106.
- NORDLIE, F.G. 2009. Environmental influences on regulation of blood plasma/serum components in teleost fishes: A review. Rev. Fish Biol. Fisher., 19(4): 481-564.
- NORDLIE, F.G.; HANEY, D.C.; & WALSH, S.J. 1992. Comparisons of salinity tolerances and osmotic regulatory capabilities in populations of Sailfin Molly

- (*Poecilia latipinna*) from brackish and fresh waters. *Copeia*, 1992(3): 741-746.
- NEVES, F.M.; & MONTEIRO, L.R. 2003. Body shape and size divergence among populations of *Poecilia vivipara* in coastal lagoons of southeastern Brazil. *J. Fish Biol.*, 63(4): 928-941.
- PAULO, D.V.; FONTES, F.M.; & FLORES-LOPES, F. 2012. Histopathological alterations observed in the liver of *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) as a tool for the environmental quality assessment of the Cachoeira River, BA. *Braz. J. Biol.*, 72(1): 131-140.
- PANDRANGI, R.; PETRAS, M.; RALPH, S.; & VRZOC, M. 1995. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp. *Environ. Mol. Mutagen.*, 26(4), 345-356.
- POWERS, D.A. 1989. Fish as model systems. *Science*, 246(4928): 352-358.
- ROCHA, T.L.; CARVALHO, R.; YAMADA, A.T.; & SABÓIA-MORAIS, S.M.T. 2010. Morphologic analysis of developmental phases and gill ontogenesis in neotropical species *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) exposed to different salinities. *Zoologia*, 27 (4): 554-562.
- SABÓIA-MORAES, S.M.T.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; MOTA, D.L.; & BITTENCORT, A.M. 1996. Mucous cell types in the branchial epithelium of the euryhaline fish *Poecilia vivipara*. *J. Fish Biol.*, 49(3): 545-548.
- SCHWERDTFEGER, W.K.; & BEREITER-HAHN, J. 1978. Transient occurrence of chloride cells in the abdominal epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, adapted to sea water. *Cell tissue Res.*, 191(3), 463-471.
- SILVA, J.S. da. 2004. Caracterização do cultivo do camurupim (*Megalops atlanticus*, Valenciennes, 1847) no município da Raposa, MA. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão. 49 p.
- SCHEWERDTFEGER, W.K.; & BEREITER-HAHN, J. 1978. Transient occurrence of chloride cells in the abdominal epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, adapted to sea water. *Cell Tissue Res.*, 191(3): 463-471.
- SHIKANO, T.; & FUJIO, Y., 1995. Strain difference in the acclimation to artificial sea water of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Tohoku Journal of Agricultural Research*. 45(3-4): 79-85.
- SHIKANO, T.; & FUJIO, Y. 1997. Successful propagation in seawater of the guppy *Poecilia reticulata* with reference to high salinity tolerance at birth. *Fisheries Sci.*, 63(4): 573-575.
- SHIKANO, T.; & FUJIO, Y. 1999. Changes in salinity tolerance and branchial chloride cells of newborn guppy during freshwater and seawater adaptation. *J. Exp. Zool.*, 284(2): 137-146.
- SHIKANO, T.; NAKAJIMA, M.; & FUJIO, Y. 1997. Difference in osmoregulatory function in seawater among strains of the guppy *Poecilia reticulata*. *Fisheries Sci.*, 63(1), 69-72.
- SUBLETTE, J.E.; HATCH, M.D.; & SUBLETTE, M. 1990. The fishes of New Mexico. University of New Mexico Press, Albuquerque, New Mexico. 303p.
- SUNDERAM, R.I.M.; THOMPSON, G.B.; & CHENG, D.M.H. 1992. Toxicity of endosulfan to native and introduced fish in Australia. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11(10): 1469-1476.
- TRAVIS, J.; FARR, J.A.; Mc MANAUS, M.; & TREXLER, J.C. 1989. Environmental effects on adult growth patterns in the sailfin molly *Poecilia latipinna* (Poeciliidae). *Environ. Biol. Fisher* 26(2): 119-128.
- TREXLER, J.C.; JOSEEP, T.; & TREXLER, M. 1990. Phenotypic plasticity in sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Pisces; Poeciliidae) II. Laboratory Experiment. *Evolution*, 44(1): 157-167.
- TRUHAUT, R. 1977. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. *Ecotox. Environ. Safe*, 1(2): 151-173.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. 1986. Quality criteria for water 1986. EPA 440/5-86-001. Office of Water Regulations and Standards. Washington, DC. 395p.
- VARSAMOS, S.; NEBEL, C.; & CHARMANTIER, G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. *Comp. Biochem. Phys. A*, 141(4):401- 429.
- VIGLIANO, F.A.; ALEMAN, N.; QUIROGA, M.I.; & NIETO, J.M. 2006. Ultrastructural characterization of cills in juveniles of the Argentinian Silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes). *Anatomia Histologia Embriologia*, 35(2): 76-83.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; & VERMEULEN, N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxic. Pharmac.*, 13(2): 57-149.

**FIRST RECORD OF A NUCLEAR-FOLLOWER ASSOCIATION
BETWEEN *Corydoras vittatus* (NIJSSEN, 1971), *Corydoras cf. julii*
(CALLICHTHYIDAE) AND *Knodus victoriae* (STEINDACHNER,
1907) (CHARACIDAE)**

Jorge Luiz Silva Nunes^{1,5,6}, Ana Paula Viana Amurim², Diego Sousa Campos³, Fernanda Viana Dos Santos², Laícia Carneiro Leite⁴, Pâmella Silva de Brito⁵, Erick Cristofore Guimarães⁶

¹Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Oceanografia e Limnologia, Laboratório de Organismos Aquáticos. Av. dos Portugueses 1966, Cidade Universitária do Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

²Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais. BR-222, KM 04, S/N, Boa Vista, CEP 65500-000, Chapadinha, MA, Brasil.

³Universidade Federal do Maranhão, Coordenação de Ciências Naturais. Av. Dr. José Anselmo, 2008, São Benedito, 65.400-000, Codó, MA, Brasil.

⁴Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal. Rua Monção, 226, Zona Norte, CEP 15385000, Ilha Solteira, SP, Brasil.

⁵Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal. Av. dos Portugueses 1966, Cidade Universitária do Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

⁶Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação. Av. dos Portugueses 1966, Cidade Universitária do Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

Autor correspondente: silvanunes@yahoo.com

RESUMO

A interação nuclear-seguidor é um tipo particular de associação alimentar interespecífica que envolve uma espécie nuclear, que revolve ou vasculha o substrato, e espécies seguidoras, que acessam os itens alimentares disponibilizados pela atividade do nuclear. Este tipo de associação foi observada em um riacho de cabeceira da bacia do rio Itapecuru, no cerrado maranhense, envolvendo os cascudinhos, *Corydoras vittatus*, *Corydoras cf. julii*, como espécies nucleares, e *Knodus victoriae*, como seu seguidor. Indivíduos de *C. vittatus*, *Corydoras cf. julii* revolveram o substrato durante alimentação, promovendo a suspensão de sedimento. Os seguidores, por sua vez, movimentaram-se pela “nuvem” de partículas em suspensão, capturando itens alimentares. As partículas alimentares em suspensão parecem não ser utilizadas pelo cascudinho, mas tornam-se disponíveis para *K. victoriae*. O comportamento de seguidor representa uma tática alimentar alternativa para estas espécies, reforçando a idéia geral de plasticidade comportamental entre as espécies seguidoras.

Palavras-chave: interação interespecífica, comensalismo, dulcícolas, forrageamento, *snorkeling*.

ABSTRACT

Nuclear-follower interactions are a particular type of interspecific foraging association which involves a nuclear species, which revolves or scans through the substrate, and follower species that access the food items made available by the nuclear species' activity. This type of association was observed in a headwater stream at the Itapecuru basin, in the Maranhão cerrado, involving the catfishes *Corydoras vittatus*, *Corydoras cf. julii* as nuclear species and *Knodus victoriae* as its follower. Individuals of *C. vittatus*, *Corydoras cf. julii* revolved the substrate during their foraging, promoting sediment suspension. Their followers, in turn, moved through the “cloud” of particles in suspension, capturing food items. Food particles in suspension do not seem to be used by the catfishes but become available for *K. victoriae*. The follower behavior represents a feeding tactic for these species, reinforcing the general idea of behavioral plasticity between follower species.

Key-words: interspecific interaction, commensalism, freshwater, foraging, *snorkeling*.

INTRODUCTION

Fish activities observations can elucidate a large set of strategies used as feeding tactics and habitat use (Baker & Foster, 1994; Leitão *et al.*, 2007; Teresa & Carvalho, 2008). Feeding associations may include a substantial number and diversity of organisms and foraging tactics, including what it is called nuclear-follower association (Leitão *et al.*, 2007; Teresa & Carvalho, 2008; Garrone Neto & Sazima, 2009; Teresa *et al.*, 2011; Teresa *et al.*, 2014).

This association is characterized by the relationship of an individual or a group of scavenger fish which disturb the substrate when exploring it for food, while one or more opportunistic species feed on small animals and nutrients dislocated in the water column through active foraging (Teresa & Carvalho, 2008; Garrone-Neto & Sazima, 2009; Teresa *et al.*, 2014).

Thus, some species of fish that feed on benthic prey or organic matter deposited in the bottom, often associate with other fish species that actively stir the substrate (Strand, 1988; Lukoschek & McCormick, 2000; Teresa & Carvalho, 2008; Teresa *et al.*, 2014).

This type of association has been broadly described in marine environments (Dubin, 1982; Strand, 1988; Santos & Castro, 2003; Sazima & Grossman, 2005; Bshary *et al.*, 2006; Sazima *et al.*, 2006; Sazima *et al.*, 2007; Gibran, 2007; Luiz *et al.*, 2008; Araújo *et al.*, 2009; Maia-Nogueira *et al.*, 2009; Craig & Erisman, 2010; Pereira *et al.*, 2012; Quimbayo *et al.*, 2014), on a smaller scale in neotropical freshwater environments that provide conditions for subaquatic observations (e.g., Kocher & McKaye, 1983; Sazima, 1986; Baker & Foster, 1994; Casatti & Castro, 1998; Sabino & Zuanon, 1998; Sabino, 1999; Carvalho *et al.*, 2003; Leitão *et al.*, 2007; Teresa & Carvalho, 2008; Garrone Neto & Sazima, 2009; Teresa *et al.*, 2011; Sabino *et al.*, 2017).

This study aimed to describe the nuclear-follower interaction observed between *Corydoras vittatus* Nijssen, 1971, *Corydoras cf. julii* and *Knodus victoriae* (Steindachner, 1907), the first record of ecological interactions between freshwater species in the Mirador State Park, in Maranhão state.

MATERIAL AND METHODS

The subaquatic record of the interaction nuclear-follower interaction was conducted in the Itapecuru river, in a stretch that runs through the Mirador State Park, located in the mid-southern region of the Maranhão state (Figure 1). This state park is a domain of the Cerrado biome, with geographic formations of plateaus and chapadas, corresponding to the largest conservation unit in the state (Conceição & Castro, 2009).

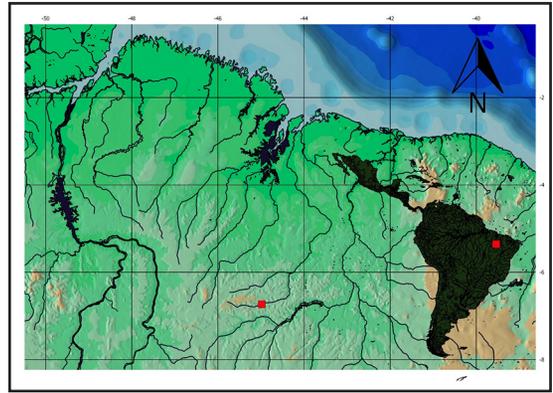


Figure 1. The study site in the Itapecuru river - Maranhão state, northeastern Brazil marked in red.

Our study area exhibit typical characteristics of a headwater region, with rapids, a deep-narrowed bed, sandy bottom, crystalline waters and banks with preserved ciliary forest. Information on the nuclear-follower behavior was obtained through subaquatic photographs and videos using the method *ad libitum*. Free dives was conducted in December of 2011, during the afternoon, in a location that was up to 1.5 m deep and close to the shore for a period of three hours for two consecutive days.

RESULTS

Photographs and videos recorded the nuclear-follower behavior for *Corydoras vittatus* and *Corydoras cf. julii* which were observed foraging by themselves or in groups of up to three individuals. The behavior was characterized by animals revolving the substrate with (a) their pectoral fins in rapid beats, (b) their bodies close to the bottom and (c) digging with their snouts, leading to sediment suspension and the formation of a “cloud” of particles. During this set of behaviors, the animals were closely followed by individuals or groups of up to ten fishes *Knodus victoriae*, that took advantage of the fragments and food remains suspended in the water column by the foraging activity of the catfishes (Figure 2).

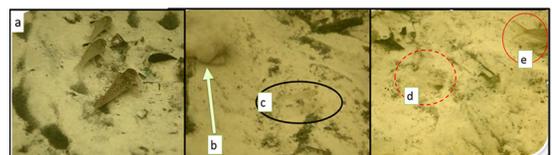


Figure 2. Records of nuclear-follower association. A) *Corydoras vittatus* and *Corydoras cf. julii* on feeding activity. B) sediment suspension. C) *Knodus victoriae* a follower. D) *Corydoras vittatus*.

DISCUSSION

The ability to disturb the substrate is one of the main indicators of a nuclear species (Strand, 1988; Sazima *et al.*, 2007). On the other hand, according to these authors, there are not, apparently, any other behavioral components that could predict the chances of a species to act as a follower (Sazima *et al.*, 2007), but a common trait in species that act as followers is the ability of immediately being able to respond to perturbations in the bottom.

Characidae are known for exhibiting opportunistic foraging behavior (Sazima, 1986, Teresa & Carvalho, 2008), with even minor substrate movements (stones rolling, fruits and branches falling or divers) attracting their attention (pers obs. Guimarães, E. C.).

Regarding nuclear-follower interactions between Callichthyidae (nuclear) and Characidae (follower), this type of association was already reported by Sazima, 1986 between *Corydoras polystictus* (Regan 1912) and *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus 1758) in a foraging activity at a lagoon in the Pantanal, as well as by Teresa & Carvalho (2008) in a record between *Aspidoras fuscoguttatus* (Nijssen & Isbrücker, 1976), as a nuclear species, and *Knodus moenkhausii* (Eigenmann & Kennedy 1903), *Poecilia reticulata* (Peters 1859) and *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski 2000) as followers in a headwater stream, in the high portion of Paraná River. Both studies corroborates our findings, where Callichthyidae individuals disturbing the substrate during foraging, promoting sediment suspension while followers move through the “cloud” of particles in suspension, capturing food items. Particles in suspension do not seem to be used by Callichthyidae but are made available to Characidae.

It seems that the follower behavior presents an alternative feeding strategy for these species, reinforcing the general idea of behavioral plasticity of Characidae species (Sazima, 1986, Teresa & Carvalho, 2008) as well as species from other families (Baker & Foster, 1994; Casatti & Castro, 1998; Sabino & Zuanon, 1998; Sabino, 1999; Carvalho *et al.*, 2003; Leitão *et al.*, 2007; Teresa & Carvalho, 2008; Garrone Neto & Sazima, 2009; Teresa *et al.*, 2011).

This is the first report of such behavior being performed by *Knodus victoriae* following *Corydoras vittatus* and *Corydoras cf. julii*. Such discovery is an important addition to our knowledge on the behavior of this particular species and, in a larger scale, on the feeding dynamics on freshwater environments, mainly on the Maranhão state.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M.E., PEREIRA, P.H., FEITOSA, J.L., GONDOLO, G., PIMENTA, D., & NOTTINGHAN, M.C. 2009. Feeding behavior and follower fishes of *Myrichthys ocellatus* (Anguilliformes: ophichthidae) in the western Atlantic. *Neotrop Ichthyol*, 7:503–7.
- BAKER, J. A. & S. A. FOSTER. 1994. Observations on a foraging association between two freshwater stream fishes. *Ecol Freshw Fish*, 3:137-139.
- BSHARY, R., HOHNER, A., AIT-EL-DJOUADI, K., & FRICKE, H. 2006. Interspecific communicative and coordinated hunting between groupers and giant moray eels in the Red Sea. *PLoS Biol*, 4:e431.
- CARVALHO, L.N., ARRUDA, R. & ZUANON, J. 2003. Record of cleaning behavior by *Platydoras costatus* (Siluriformes: Doradidae) in the Amazon Basin, Brazil. *Neotrop. Ichthyol*. 1(2):137-139.
- CASATTI, L., & CASTRO, R.M.C. 1998. A fish community of São Francisco River headwaters riffles, southeastern Brazil. *Ichthyol. Explor. Freshwat*. 9(3):229-242.
- CONCEIÇÃO, G.M., & CASTRO, A.A.J.F. 2009. Fitossociologia de uma área de cerrado marginal, Parque Estadual do Mirador, Mirador, Maranhão. *Scientia Plena*, 5(10).
- CRAIG, M., & ERISMAN, B. 2010. A competitive following association between two reef fishes and the Jewelled Moray in the Gulf of California, Mexico. *Coral Reefs*, 29:813–813.
- DUBIN, R.E. 1982. Behavioral interactions between Caribbean reef fish and eels (Muraenidae and Ophichthidae). *Copeia*, 1982(1):229-232.
- GARRONE-NETO, D., & SAZIMA, I. 2009. The more stirring the better: cichlid fishes associate with foraging potamotrygonid rays. *Neotrop. Ichthyol.*, 7:499-501.
- GERHARDINGER, L.C., SAMAGAIA, R., HOSTIM-SILVA, M., & BARREIROS, J.P. 2006. A following association between juvenile *Epinephelus marginatus* (Serranidae) and *Myrichthys ocellatus* (Ophichthidae). *Cybium*, 30(1):82–4.
- GIBRAN, F.Z. 2007. Activity, habitat use, feeding behavior, and diet of four sympatric species of Serranidae (Actinopterygii: Perciformes) in southeastern Brazil. *Neotrop Ichthyol*, 5:387–98.
- KOCKER, T.D., & MCKAYE, K.R. 1983. Defese of heterospecific cichlids by *Cyrtocara moorii* in Lake

- Malawi, Africa. *Copeia*, 1983(2):544-547.
- LEITÃO, R.P., CARAMASCHI, E.P., & ZUANON, J. 2007. Following food clouds: feeding association between a minute loriciid and a characidiin species in an Atlantic Forest stream, Southeastern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.*, 5(3):307-310.
- LUKOSCHEK, V., & McCORMICK, M.I. 2000. A review of multispecies foraging associations in fishes and their ecological significance. In *9th International Coral Reef Symposium. Bali*, 23-27.
- LUIZ, O. J. JR., CARVALHO-FILHO, A., FERREIRA, C.E.L., FLOETER, S.R., GASPARINI, J.L., & SAZIMA, I. 2008. The reef fish assemblage of the Laje de Santos Marine State Park, Southwestern Atlantic: annotated checklist with comments on abundance, distribution, trophic structure, symbiotic associations, and conservation. *Zootaxa*, 1807:1-25.
- MAIA-NOGUEIRA, R., DE ANCHIETA, C.C., NUNES, J., CONI, E.O., FERREIRA, C.M., & SAMPAIO, C.L.S. 2009. The twinspace bass *Serranus flaviventris* (Serranidae) as follower of the goldspotted eel *Myrichthys ocellatus* (Ophichthidae) in north-eastern Brazil, with notes on other serranids. *Mar Biodiv Rec*, 2:e99.
- PEREIRA, P.H.C., FEITOSA, J.L., CHAVES, L.C., & DE ARAÚJO, M.E. 2012. Reef fish foraging associations: "nuclear-follower" behavior or an ephemeral interaction? In: Proceedings of the 12th international coral reef symposium, p. 1-5.
- QUIMBAYO, J.P., ZAPATA, F.A., FLOETER, S.R., BESUDO, S., & SAZIMA, I. 2014. Reef fish foraging associations at Malpelo island, Colombia (Tropical Eastern Pacific). *Bol Invest Mar Cost*, 43(1):183-93.
- SABINO, J., & ZUANON, J. 1998. A stream fish assemblage in central Amazonia: distribution, activity patterns and feeding behavior. *Ichthyol. Explor. Freshwat.*, 8(3):201-210.
- SABINO, J. 1999. *Comportamento de peixes em riachos: uma abordagem naturalística*. In: Ecologia de Peixes de Riachos (Caramaschi, E.P., Mazzoni, R. & Peres-Neto, P.R., eds.). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 183-208 p.
- SABINO, J., ANDRADE, L.P., SAZIMA, I., TERESA, F.B., FLOETER, S.R., SAZIMA, C., & BONALDO, R.M. 2017. Following fish feeding associations in marine and freshwater habitats. *Mar Freshwater Res*, 68(2):381.
- SANTOS, F.B., & CASTRO, R. 2003. Activity, habitat utilization, feeding behaviour, and diet of the sand moray *Gymnothorax ocellatus* (Anguilliformes, Muraenidae) in the South western Atlantic. *Biota Neotrop.*, 3:1-7.
- SAZIMA, I. 1986. Similarities in feeding behavior between some marine and freshwater fishes in two tropical communities. *J. Fish. Biol.*, 29:53-65.
- SAZIMA, C., & GROSSMAN, A. 2005. A non-digging zoobenthivorous fish attracts two opportunistic predatory fish associates. *Neotrop. Ichthyol.*, 3:445-449.
- SAZIMA, C., KRAJEWSKI, J.E., BONALDO, R.M., & SAZIMA, I. 2006. Nuclear-follower foraging associations of reef fishes and other animals at an oceanic archipelago. *Environ. Biol. Fishes*, 78:1-11.
- SAZIMA, C., KRAJEWSKI, J.P., BONALDO, R.M., & SAZIMA, I. 2007. Nuclear-follower foraging associations of reef fishes and other animals at an oceanic archipelago. *Environ. Biol. Fishes*, 80:351-361.
- STRAND, S. 1988. Following behavior: interspecific foraging associations among Gulf of California reef fishes. *Copeia*, 2:351-357.
- TERESA, F.B., & CARVALHO F.R. 2008. Feeding association between benthic and nektonic Neotropical stream fishes. *Neotrop. Ichthyol.*, 6:109-111.
- TERESA, F.B., ROMERO, R.M., CASATTI, L., & SABINO, J. 2011. Habitat simplification affects nuclear-follower foraging association among stream fishes. *Neotrop. Ichthyol.*, 9:121-126.
- TERESA, F.B., SAZIMA, C., SAZIMA, I., & FLOETER, S.R. 2014. Predictive factors of species composition of follower fishes in nuclear-follower feeding associations: a snapshot study. *Neotrop. Ichthyol.*, 12:913-919.

DO PHYSICAL INJURIES AFFECT ELECTROPERCEPTION? A CASE STUDY ON THE BRAZILIAN ELECTRIC RAY, *NARCINE BRASILIENSIS* (OLFERS, 1831)

Natascha Wosnick^{1*}, Yuri V. Niella², Jorge L.S. Nunes¹, Carolina A. Freire³

¹Laboratório de Organismos Aquáticos, Universidade Federal do Maranhão, 65080-805, São Luís, Maranhão, Brazil.

²Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, Brazil.

³Departamento de Fisiologia, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná, 80210-170, Curitiba, Brazil.

*Correspondence author: n.wosnick@gmail.com

ABSTRACT

The present study aimed to analyze the possible consequences of body deformities caused by fishing in the electroreceptive system of *Narcine brasiliensis*. Results demonstrated that the ability to detect low electrical stimuli was affected, as well as the ability to respond properly to higher signals. We discuss the results as they relate to ecological consequences, especially for benthic species that heavily depend on the electrosensitive system for efficient foraging and predator avoidance/defense. Keywords: batoids; Torpediniformes; endemic ray; sensory behavior; compensatory release.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar as possíveis consequências das deformidades corporais causadas pela pesca no sistema eletro-perceptivo da raia treme-treme, *Narcine brasiliensis*. Os resultados demonstraram que a capacidade de detectar baixos estímulos elétricos foi afetada, bem como a capacidade de responder adequadamente aos sinais mais elevados. Discutimos os resultados com foco nas consequências ecológicas das injúrias externas, especialmente para espécies bentônicas que dependem fortemente do sistema eletro-perceptivo para o forrageio eficiente e defesa contra predadores.

Palavras-chave: batoides; Torpediniformes; raia endêmica; comportamento sensorial; soltura compensatória.

INTRODUCTION

External injuries caused by fishing are common in batoids, and its negative influence on physiological traits depends on their extent and severity (Poisson *et al.*, 2014; Wilson *et al.*, 2014). Among the most commonly observed injuries in incidentally captured rays, contusions in the ventral portion of the body are the ones with the highest occurrence (Rodrigues *et al.*, 2018). However, profound cuts, fractures, and partial or total loss of body parts are also observed. Despite the growing interest in quantifying the stress caused by commercial capture, little is known about its long-term effects and the recoverability of externally injured specimens. Such a knowledge gap becomes particularly challenging for bycatch species with low commercial value which are released alive through management protocols, whether by ethical choice of fishermen or local/national legislation (FAO 2014).

The Brazilian electric ray *Narcine brasiliensis* (Olfers 1831) is an endemic species of the Western Atlantic, being commonly captured as bycatch by artisanal fisheries (Nunes *et al.*, 2005; Bornatowski

et al., 2009). *Narcine* spp. exhibit an oval-shaped disc, two dorsal fins of similar size, a well-developed caudal fin, and a characteristic lateral caudal curvature (Gomes *et al.*, 2010). It is a small-sized ray, reaching up to 49 cm in total length with sexual maturity occurring with about 25 cm (TL) in males and 30 cm (TL) in females (Gomes *et al.*, 2010). According to fishermen, this species has no commercial value and its release is considered a great challenge and often an annoyance, since electric discharges performed by the animals during handling are very common (personal communication). Although release is frequently performed, the physical state in which live animals are returned is unknown, as well as the effects of injuries caused by the fishing apparatus on recovery, survival, and subsequent behavior.

Elasmobranchs exhibit an elaborate ampullary electroreceptor system sensitive to low-frequency stimuli (Hueter *et al.*, 2004). This sensory is composed of a series of sensory units called Ampullae of Lorenzini, which are connected to the environment through external pores and subdermal canals and to the central nervous system through

fibers and nerves (Helfman *et al.*, 2006). The ampullae are multifunctional and mostly located in the ventral portion of the animal's body (Hueter *et al.*, 2004). Due to its location, electroreception is particularly important for prey detection in benthic species, such as the Brazilian electric ray (Last *et al.*, 2016).

There is an absence of studies determining the non-lethal but still potentially harmful effects that external injuries caused by commercial capture might pose to elasmobranchs. Our study is based on the possible influences that external injuries on the ventral body portion, even if healed, may have on the electrosensory system in *N. brasiliensis*, a benthic species that heavily relies on ampullae proper functioning not only for foraging but also for predator defense.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in partnership with Paranaguá Aquarium, where the animals are held in a 250 L tank with salinity kept at 32 PSU and temperature at 20°C. Water quality is maintained through the use of biological and mechanical filters, partial water exchange every 30 days and constant monitoring of pH and ammonia levels. Both adult males monitored in the present study were incidentally caught by artisanal fishermen on 2014 and donated to the aquarium, where they are kept on display since then. While one male was donated in perfect conditions (hereafter referred as healthy specimen), the other individual exhibited several lacerations caused by the fishing apparatus

(hereafter referred as impaired specimen). Both animals were healthy at the time of the experiments, however, the impaired ray still presented significant modifications of disc shape and several scars along the body (Figure 1a).

The artificial electric impulse was generated through a metallic dipole system buried in the substrate of the enclosure. The apparatus was connected to a multimeter for quantification of the stimulus generated at each stage of the experiment. To evaluate the influence of amperage (μA) on animal response, network frequency was kept constant at 60Hz and the electric tension at 12V. The protocol used in the present study was adapted from McGowan & Kajiura (2009). Fifteen impulse generation events were carried out for each animal with individual durations of 5 minutes and 2-minute intervals between each set. Experiments were performed only for three days to avoid conditioned response. The animals were filmed and photographed throughout the experiment and behavioural data were collected for further analysis. This work was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA-UFPR 132 #776/2014).

The behaviors displayed by both the impaired and healthy specimen were categorized to obtain a behavioural scale, where the most evasive conduct, *i.e.* an abrupt swimming in the opposite direction, was considered as the negative lower limit (-3); the most attractive behaviorism, *i.e.* biting the equipment until it was turned off, was considered as the positive upper limit (6); and the lack of movement while exposure was the zero threshold (Figure 1b). The remainder scaled behaviors consisted in: *a)* repulsion:

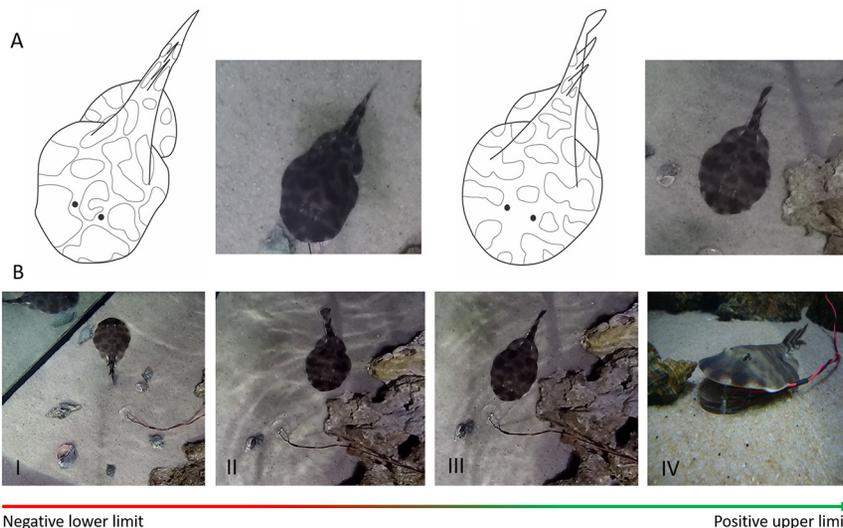


Figure 1. (a) Body shape of the animals used in the present study; (I) impaired male and (II) healthy male. (b) Behavioural scale. (I) Abrupt swimming in the opposite direction as negative lower limit; (II) Lack of movement while exposure as zero threshold; (III) Investigative behavior toward the signal as a positive response; (IV) Biting the equipment until it was turned off as positive upper limit.

swimming away when the signal was changed from 6 to 12 μA (-2); slowly swimming away (-1); and *b*) attraction: slowly swimming towards the equipment (1); investigated it without biting (2); swimming around the apparatus (3); biting it once (4); and biting the equipment four times (5). Due to the low number of observations, a Fisher's exact test was used to inspect for possible significant differences between the 2 specimens during exposure to the different voltages. The relationships between the respective time took to answer the stimulus (seconds) for each specimen and their corresponding distances from the dipole were investigated with linear relationships. Additionally, a two-sample student's T-test was used to assess whether the answering time significantly differed between both males rays. All analyses were performed in the R software (version 3.4.2) and the significance level was set at 0.05.

RESULTS

The impaired *N. brasiliensis* remained still and did not answer to any 6 μA stimulus, except for a smooth movement of its tail and pectoral fins in a single occasion. However, it was attracted by the 12 μA stimulus (Figure 2a). On the other hand, while the healthy specimen was attracted only by the 6 μA amperage, it was repulsed by the stronger current (Figure 2b) and significantly differed from the injured ray on this regard (Fisher's test; $p\text{-value} < 0.001$). Significant positive relationships were observed between the time to answer and the distance from the dipole, with both rays answering faster when closer to the equipment (Fig. 2c-2d). Besides, although the healthy specimen answered a bit faster to the stimulus (mean = 20.06 s) than the injured ray (mean = 24.91 s), such a difference was found not to be significant ($t = 0.93$; degrees of freedom = 17.10; $p\text{-value} = 0.364$).

DISCUSSION

Here, we presented for the first time the possible influences of external injuries and body deformity on the electroperception capacity in a benthic electric ray. Up to the present moment, all studies with electrical rays aimed to elucidate morphological and functional aspects of the electric organs (Mathewson *et al.*, 1958; Bennett *et al.*, 1961; Macesic & Kajiura 2009), however, nothing was yet known about the electroperception capacity in Torpediniformes, nor how both systems (*i.e.*, electroperception and electrogenesis) interact. *N. brasiliensis* can generate electricity through its main and accessory electric organs, both located within their pectoral fins. Despite its electrogenic capacity, this species uses electric organ discharges (EODs) only for predator defense and intraspecific communication (Macesic & Kajiura 2009). Thus, foraging and prey capture

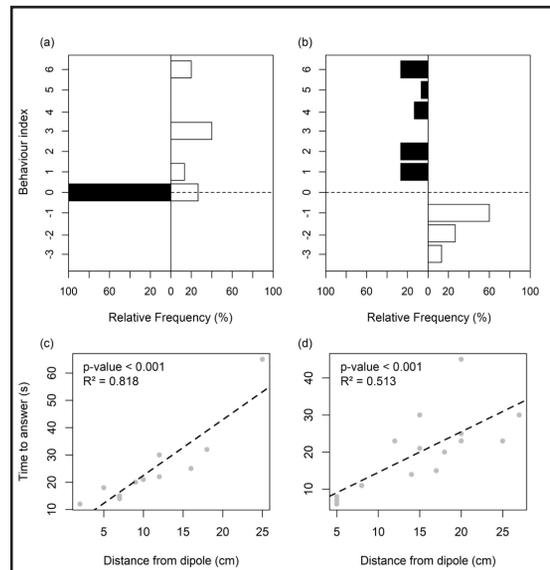


Figure 2. Behavioural scale of the impaired (left panels) and healthy (right panels) *N. brasiliensis*. Black and white bars in (a) and (b) respectively represent the relative frequencies of 6 μA and 12 μA amperages. The dashed lines depict the zero threshold, *i.e.* specimen immobile, in (a) and (b); and the corresponding fitted linear models in (c) and (d).

are performed exclusively by the synergy between electroperception and feeding kinematics (Dean & Motta 2004).

Regarding the electroperception system of *N. brasiliensis*, the present study corroborated its use not only for foraging (indicated by attraction followed by bites in the apparatus in 6 μA), but also detection of potential predators (indicated by evasive escape in 12 μA), at least for the healthy male. The injuries in the impaired male seemed to affect its ability to detect signal strength, but not its general capacity of signal detection (speed response *vs.* distance from the emitting source). It is possible that the injuries and subsequent body deformity presented by the impaired male has generated a morpho-functional noise that reduced its electroperception capacity. More specifically, it is known that any movement performed by the animal itself generates noises, which can be neutralized by specific behaviors during foraging (*i.e.* electric rays hold the disc rigid while hunting for prey (Montgomery & Bodznick 1999). Therefore, due to the reduced swimming capacity caused by the partial loss of both pectoral fins, it is possible that the impaired male must perform additional pectoral movements during foraging, causing electrical noise that exceeded the artificially emitted signal. This could also explain why the impaired male responded positively to the higher amperages, indicating that the noise generated by the pectoral movement did not overlap with higher

stimuli.

Such interference becomes particularly problematic in the context of compensatory release, particularly for species commonly caught as bycatch, since negative effects caused by interaction with the fishing apparatus may compromise post-release survival by altering proper response of the animal in its natural habitat. More specifically, the sublethal effects of commercial capture also embrace alterations in the behavior patterns (Skomal 2007; Skomal *et al.*, 2007), leading the animal to respond inefficiently to stimulus generated by prey and predators. Under natural conditions, an animal that is unable to modulate perceptual capacity can lose its predatory potential, as well as become vulnerable to direct predation.

Some valid points should be considered in future studies of this nature. Our sample size was low, so, complementary studies are necessary to validate not only the influence of injuries on the electroreceptive capacity, but also the ability of these animals to detect amperage-dependent signals. Furthermore, complementary studies using multifunctional signals (*e.g.* amperage, frequency and voltage) can bring new functional, behavioural and evolutionary perspectives of a sensorial capacity that modulates important aspects of the behavior and ecology of elasmobranchs.

Acknowledgements

We would like to thank the financial support from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) through a PhD scholarship awarded to N. Wosnick and the Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) for providing a productive scholarship to J.L.S. Nunes. The authors also thank Paranaguá Aquarum crew for the help during the experiments. We finally thank O. Wozniak for reviewing the manuscript.

REFERENCES

BORNATOWSKI, H., ABILHOA, V., & CHARVET-ALMEIDA, P. 2009. Elasmobranchs of the Paraná Coast, southern Brazil, south-western Atlantic. *Mar. Biodivers. Rec.*, 2.

DEAN, M. N., & MOTTA, P. J. 2004. Feeding behavior and kinematics of the lesser electric ray, *Narcine brasiliensis* (Elasmobranchii: Batoidea). *Zoology*, 107(3): 171-189.

GOMES, U. L., SIGNORI, C. N., GADIG, O. B. F., & SANTOS, H. S. 2010. *Guia para Identificação de Tubarões e Raias do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro: Technical Books, 234 p.

HUETER, R. E., MANN, D. A., MARUSKA, K. P., SISNEROS, J. A., & DEMSKI, L. S. 2004. *Sensory*

biology of elasmobranchs. Biology of sharks and their relatives, 325-368.

International Plan of Action For the Conservation and Management of Sharks - FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Downloaded 17 March 2018 30.

LAST, P., WHITE, W., SÉRET, B., NAYLOR, G., DE CARVALHO, M., & STEHMANN, M. 2016. *Rays of the World*. Csiro Publishing. 800p.

MACESIC, L. J., & KAJIURA, S. M. 2009. Electric organ morphology and function in the lesser electric ray, *Narcine brasiliensis*. *Zoology*, 112(6): 442-450.

MATHEWSON, R., MAURO, A., AMATINIEK, E., & GRUNDFEST, H. 1958. Morphology of main and accessory electric organs of *Narcine brasiliensis* (Olfers) and some correlations with their electro physiological properties. *Biol. Bull.*, 115: 1.

MCGOWAN, D. W., & KAJIURA, S. M. 2009. Electroreception in the euryhaline stingray, *Dasyatis sabina*. *J. Exp. Biol.*, 212(10): 1544-1552.

MONTGOMERY, J. C., & BODZNICK, D. 1999. Signals and noise in the elasmobranch electrosensory system. *J. Exp. Biol.*, 202(10): 1349-1355.

NUNES, J. L. S., DE ALMEIDA, Z. D. D. S., & PIORSKI, N. M. 2005. Raias capturadas pela pesca artesanal em águas rasas do Maranhão-Brazil. *Arquivos de Ciências do Mar*, 38(1-2): 49-54.

POISSON, F., SÉRET, B., VERNET, A. L., GOUJON, M., & DAGORN, L. 2014. Collaborative research: Development of a manual on elasmobranch handling and release best practices in tropical tuna purse-seine fisheries. *Mar. Policy*, 44: 312-320.

RODRIGUES, A. F. S., DE SOUSA RANGEL, B., WOSNICK, N., BORNATOWSKI, H., SANTOS, J. L., MOREIRA, R. G., & DEAMORIM, A. F. 2018. Report of injuries in batoids caught in small-scale fisheries: implications for management plans. *Oecol. Aust.*, 1.

SKOMAL, G. B. 2007. Evaluating the physiological and physical consequences of capture on post-release survivorship in large pelagic fishes. *Fish. Manag. Ecol.*, 14(2): 81-89.

SKOMAL, G., LOBEL, P. S., & MARSHALL, G. 2007. The use of animal-borne imaging to assess post-release behavior as it relates to capture stress in grey reef sharks, *Carcharhinus amblyrhynchos*. *Mar. Technol. Soc. J.*, 41(4): 44-48.

WILSON, S. M., RABY, G. D., BURNETT, N. J., HINCH, S. G., & COOKE, S. J. 2014. Looking beyond the mortality of bycatch: sublethal effects of incidental capture on marine animals. *Biol. Cons.*, 171: 61-72.

NOTA CIENTÍFICA

USO DE ANTIBIÓTICOS NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE
Crassostrea rhizophorae PARA UTILIZAÇÃO EM TESTES DE
ECOTOXICIDADE

Clovis Lira da Rocha Jr.¹, Lisandra Maria Barroso Matos², Daniela Bezerra Boaes², Ricardo Luvizotto Santos^{3*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA, Brasil. CEP 65080-805.

² Laboratório de Ecotoxicologia. Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA, Brasil. CEP 65080-805.

³ Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA. CEP 65080-805.

* Autor correspondente: luvizottosantos@ufma.br

RESUMO

A contaminação bacteriana na larvicultura de ostras pode resultar em número insuficiente de embriões para uso em ensaios embriolares. O uso profilático de uma mistura de antibióticos (amoxicilina 25 µg/mL, cefalexina 25 µg/mL, nitrofurantoína 125 µg/mL e cloranfenicol 25 µg/mL) foi testado durante o cultivo de embriões de ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae*. As concentrações mais elevadas da mistura de antibióticos (1,0 e 0,5 µL/mL) foram tóxicas para os embriões. A concentração de 0,0625 µL/mL de solução da mistura de antibióticos no meio de cultivo não afetou o desenvolvimento normal dos ovos permitindo a produção de um número satisfatório de embriões em estágio de mórula em meio livre de bactérias.

Palavras-chave: ecotoxicologia, ensaio embrio-larval, ostra-do-mangue.

Abstract

Use of antibiotics in the production of *Crassostrea rhizophorae* embryos for use in ecotoxicity tests

Use of antibiotics in the production of *Crassostrea rhizophorae* embryos for use in ecotoxicity tests. Bacterial contamination in oyster hatchery may result in insufficient number of embryos to be used in early-life stage toxicity test. Prophylactic use of a mixture of antibiotics (amoxicillin 25 µg/mL, cephalexin 25 µg/mL, nitrofurantoin 125 µg/mL and chloramphenicol 25 µg/mL) was tested during hatchery of *Crassostrea rhizophorae*. High concentrations of the antibiotic mixture (1.0 and 0.5 µL/mL) were toxic to the embryos. The concentration of 0.0625 µL/mL of the antibiotic mixture in culture water did not affect the normal development of oyster eggs allowing the production of a satisfactory number of embryos at morula stage, free of bacterial contamination.

Keywords: Ecotoxicology, early-life stage test, mangrove oyster.

No Brasil, as regiões litorâneas ou próximas ao litoral abrigam as maiores densidades demográficas, e os efeitos dessa ocupação podem ser percebidos nos ecossistemas marinhos adjacentes. Além disso, a maioria dos portos brasileiros se encontra em áreas costeiras estuarinas (Brasil, 1991) e nessas regiões é comum a presença de agentes potencialmente tóxicos gerados pelas atividades portuárias (e industriais) que se somam aos aportes continentais via bacia de drenagem (Marques *et al.*, 2011). Estes agentes incluem derivados de petróleo, produtos da queima de combustíveis, pesticidas, compostos orgânicos persistentes, metais pesados, entre outros (Walker

et al., 2003; Geffard *et al.*, 2003; Siqueira, 2008; Marques *et al.*, 2011). Desse modo, desenvolver ações de monitoramento e controle da poluição aquática é uma necessidade premente nessas áreas visando a conservação dos recursos vivos e a manutenção das atividades socialmente importantes como a pesca (Islam e Tanaka, 2004; Magris *et al.*, 2006). Nesse contexto, a ecotoxicologia é uma importante ferramenta para a avaliação ambiental, e o desenvolvimento de protocolos de ensaios com organismos-teste da fauna e flora locais tem recebido a atenção de pesquisadores brasileiros.

Os estágios iniciais do desenvolvimento

ontogenético de ostras representam numa fase crítica para o organismo por serem sensíveis a diversos estressores ambientais. Nesse sentido, a espécie *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) tem sido utilizada em ensaios embrio-larvais devido a sua sensibilidade frente à toxicidade de amostras ambientais (Zagatto e Bertolotti, 2008). De fato, o estudo da embriotoxicidade em ostras do gênero *Crassostrea* é reconhecido como um dos mais sensíveis dentre os bioensaios (Stebbing *et al.*, 1980; Geffard *et al.*, 2003), sendo indicado para o monitoramento das regiões costeiras (His *et al.*, 1999).

Para estes ensaios embrio-larvais é necessária a reprodução *in vitro* a qual está sujeita à contaminação bacteriana. A competição interespecífica e a predação causada por microrganismos indesejáveis impossibilitam a obtenção do número suficiente de embriões para a montagem dos ensaios (Jeffries, 1982; Elston, 1984). Segundo Miranda e Guzenski (1999) os cultivos de *C. rhizophorae* são mais suscetíveis à contaminação por bactérias que outras espécies devido à falta de tecnologias de reprodução amplamente difundidas.

Bactérias dos gêneros *Vibrio* e *Pseudomonas* são os patógenos mais frequentes nas larviculturas de moluscos (Lodeiros *et al.*, 1998; Campa-Córdova *et al.*, 2005) e o uso de antibióticos como o cloranfenicol (FIPERJ 1997, Zayas *et al.*, 1995), estreptomomicina ou tetraciclina (Pereira, 1997) tem sido recomendado como medida profilática. Entretanto, os princípios ativos mais eficientes e as concentrações seguras ainda não são conhecidos para a ostra nativa *C. rhizophorae*.

Visando estabelecer um protocolo de profilaxia contra contaminação bacteriana, avaliou-se a utilização de uma solução contendo uma mistura de quatro formulações comerciais de antibióticos (amoxicilina, cefalexina, nitrofurantoina e cloranfenicol) a fim de determinar a eficiência na obtenção de embriões em estágio de mórula de *C. rhizophorae*.

Em estudo preliminar, diferentes bancos de ostras foram visitados na Ilha do Maranhão (Nordeste do Brasil) considerando a distância de fontes poluidoras e aspectos logísticos como a facilidade de acesso e abundância de indivíduos com características morfológicas semelhantes. Lopes (2016) através da identificação molecular de ostras nativas em sete municípios do estado do Maranhão utilizando o gene COI, constatou a ocorrência das espécies *Crassostrea gasar* e *C. rhizophorae* ao

longo do litoral maranhense. De fato, nos bancos de ostras visitados foram identificados 2 grupos com características morfológicas distintas, principalmente em relação ao tamanho, formato e coloração das valvas. Estes exemplares foram coletados e separados em dois grupos fenotípicos (grupo 1 e grupo 2). Em seguida, foram levados ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LabGem) do DEBIO-UFMA onde o grupo 1 foi identificado com *C. gasar* através do método do *DNA barcoding* (Herbert *et al.*, 2003; dados não publicados) para 100% dos indivíduos analisados. Dessa forma, por exclusão, considerou-se que o grupo 2 era constituído por exemplares de *C. rhizophorae*. Com base nesses resultados, utilizamos somente ostras oriundas do banco localizado no Carimã (Raposa, MA) cujos indivíduos apresentavam o mesmo fenótipo comum ao grupo 2 desse estudo preliminar.

Para os ensaios, foram preparados meios de cultivo com água marinha coletada em área distante da zona urbana da Ilha do Maranhão (Carimã, Raposa, MA) ajustada à salinidade 20 g/kg, pH 8,0 e temperatura de 25°C. Em frascos de vidro contendo 10 mL de meio de cultivo, foram adicionados aproximadamente 1.000 embriões/mL obtidos através de fertilização *in vitro* de óvulos maduros e espermatozoides na proporção de 1:30 extraídos com auxílio de uma pipeta de vidro de adultos coletados na mesma área. A contagem de gametas e embriões foi feita em câmara de Neubauer.

Uma solução estoque (SE) contendo quatro antibióticos foi preparada em água marinha tratada: amoxicilina 25 µg/mL, cefalexina 25 µg/mL, nitrofurantoina 125 µg/mL e cloranfenicol 25 µg/mL. Foram adicionadas diferentes alíquotas dessa SE aos meios de cultivo resultando nas concentrações: 1,0; 0,5; 0,125 e 0,0625 µL por mL de meio de cultivo. Ademais, dois grupos controle foram preparados simultaneamente sendo um contendo somente água salinidade 20 (controle negativo) e outro contendo uma solução de 1,0 µg/mL de dodecil sulfato de sódio (DSS) (controle positivo). Todos os tratamentos foram preparados em triplicata.

Após 20 minutos de exposição, amostras dos diferentes meios foram coletadas e fixadas com formaldeído 4%. Em seguida, os embriões foram quantificados e classificados quanto ao seu desenvolvimento da seguinte forma: 0 - óvulo não fecundado, em forma de pera ou arredondado; 1 - membrana celular em fase de granulação; 2 - granulação da membrana com formação do corpo hemisférico; e 3 - clivagens iniciadas com duas ou mais células (Figura 1).

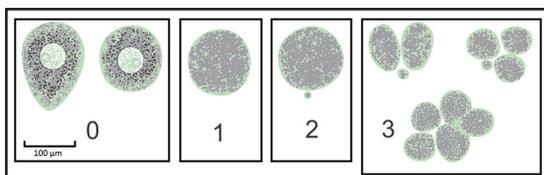


Figura 1. Estágios iniciais do desenvolvimento de embriões de *C. rhizophorae*.

Os percentuais médios de cada classe do desenvolvimento embrionário foram representados através de um gráfico de sobreposição de barras (Figura 2). As médias quanto aos percentuais de embriões contabilizados na fase 3 foram comparadas utilizando teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) (Figura 3).

No controle negativo, foram obtidos em média 500 embriões/mL, enquanto que no controle positivo houve diminuição significativa ($p < 0,05$) no número de embriões classe 3 com média de 208 embriões/mL. As soluções mais concentradas de antibióticos (1,0 e

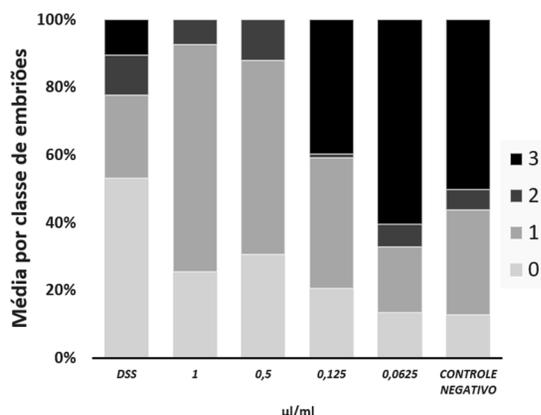


Figura 2. Percentual médio para as classes de embriões de *C. rhizophorae* ao final do tratamento com diferentes concentrações da mistura de antibióticos e controles positivo (DSS) e negativo.

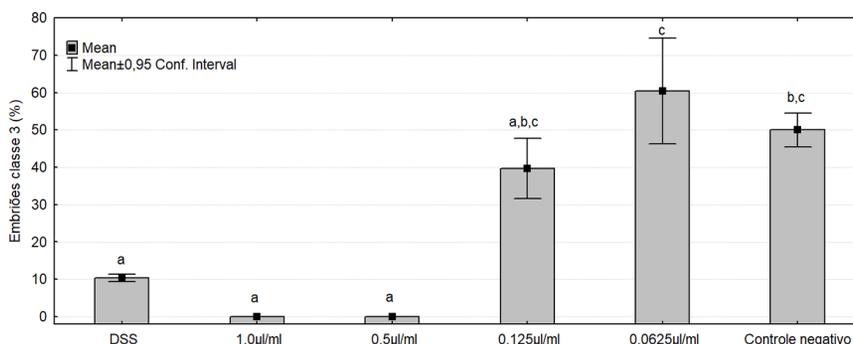


Figura 3. Percentagem média de embriões de *C. rhizophorae* na classe 3 nas diferentes concentrações da mistura de antibióticos e controles positivo (DSS) e negativo (média \pm intervalo de confiança 95%). Letras diferentes indicam médias significativamente diferentes entre si (Kruskal-Wallis, $H_{crit} = 16,7$; $p < 0,05$).

0,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$) não permitiram a produção de embriões no estágio 3, indicando que nestas concentrações os antibióticos apresentaram toxicidade elevada. As soluções de antibióticos de 0,125 e 0,0625 $\mu\text{L}/\text{mL}$ apresentaram média de embriões no estágio 3 semelhante à observada no grupo controle negativo ($p > 0,05$), com valores de 400 e 604 embriões/mL, respectivamente.

Sabe-se que algumas condições, tais como densidade larval, temperatura, período sazonal, adição de alimento, flora bacteriana das matrizes e dos equipamentos utilizados no manejo favorecem o aparecimento de bactérias nos cultivos *in vitro*, sendo muitas delas patogênicas (Walne, 1958; Jeathon *et al.*, 1988; Lemos *et al.*, 1994; Wassnig e Southgate, 2011; Brandão *et al.*, 2017). A proliferação de patógenos oportunistas pode levar ao surgimento de doenças, desenvolvimento anormal das larvas e até mortalidade (Fitt *et al.*, 1992; Uriarte *et al.*, 2001; Prado *et al.*, 2005) inviabilizando os cultivos tanto para a produção de sementes para a ostrasicultura, quanto para a obtenção de embriões para ensaios ecotoxicológicos. Dessa forma, o tratamento com antibióticos é uma alternativa para garantir o sucesso no desenvolvimento dos embriões e obtenção de número suficiente de larvas. De fato, Miranda e Guzinski (1999) compararam um tratamento sem nenhum antibiótico com outro utilizando a combinação de 0,8 ppm de nitrofurazona e 0,8 ppm de cloranfenicol durante 24 dias. Como resultado, observaram mortalidade total no tratamento sem antibiótico, enquanto o tratamento com antibióticos apresentou crescimento normal e sobrevivência de 36 % dos embriões. Zays *et al.*, (1995) também verificaram que 0,2 mg/L de cloranfenicol elevou a sobrevivência larval do cultivo experimental em até 47 %.

O uso de antibióticos na larvicultura de moluscos é ainda um assunto bastante controverso. Se por um lado eles são capazes de garantir a sobrevivência larval nos cultivos, por outro lado podem retardar o crescimento ou ainda produzir bactérias mais resistentes (Miranda e Guzenski, 1999). Entretanto, Elston (1984) ressalta que o controle da proliferação de bactérias é ponto crítico para o sucesso de uma larvicultura, e que apesar de todo cuidado que se tenha nas etapas da obtenção das sementes, a microflora presente nos reprodutores é uma das principais fontes de bactérias e podem ser introduzidas na larvicultura durante a retirada dos gametas para a fertilização *in vitro*.

Variações na qualidade do meio onde está instalado o cultivo influenciam no desenvolvimento de patógenos e sua sensibilidade aos antibióticos. Em estudo utilizando representantes patogênicos da flora microbiológica presente em ostras, Brandão *et al.* (2017) observaram diferentes suscetibilidades das bactérias aos antibióticos pela quantificação dos genes de resistência (bla_{TEM} , bla_{SHV} e bla_{KPC}) via PCR em DNA em relação ao aumento de *Escherichia coli* e *Vibrio parahaemolyticus* em períodos sazonais diferentes. Dessa forma, o uso de antibióticos na larvicultura de *C. rhizophorae* é um procedimento que vem sendo adotado em alguns laboratórios, sendo o cloranfenicol um dos antibióticos mais utilizados como medida profilática (FIPERJ, 1997).

Neste estudo, o uso de cloranfenicol em associação com outros antibióticos (amoxicilina, cefalexina e nitrofurantoina) na concentração de 0,0625µl da mistura por mL de meio de cultivo não afetou o desenvolvimento dos ovos de *C. rhizophorae* permitindo a produção de um número satisfatório de embriões no estágio 3 (mórula com clivagens iniciadas com duas ou mais células) em meio livre de bactérias, sendo que este protocolo passou a ser incorporado nos procedimentos de preparação de ensaios embrio-larvais com a ostra do mangue *C. rhizophorae* no Laboratório de Ecotoxicologia da UFMA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRANDÃO, M.A.R., LOPES, A.T.S., NETA, M.T.S., OLIVEIRA, R.B.F., REZENDE, R.P., ALBUQUERQUE, G.R., GONÇALVES, V.D., RODRIGUES, D.P., BOEHS, G. & MECIEL, B. M. 2017. Microbiological quality and prevalence of β -lactam antibiotic resistance genes in oysters (*Crassostrea rhizophorae*). J. Food. Prot., 80(3): 488-496.
- BRASIL. 1991. Comissão Interministerial (CIMA) para a preparação da Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (CNUMAD). Subsídios técnicos para elaboração do Relatório Nacional do Brasil para a CNUMAD. Brasília. 172 p.
- CAMPA-CÓRDOVA, A.I., LUNA-GONZALÉZ, A., ZARAIAN-HERZBERG, M., CÁCERES-MARTINEZ, C.J., 2005. Prophylactic use of antibiotics in larval culture of *Argopecten ventricosus* (Sowerby, 1835). J. Shellfish Res., 24(4): 923-930.
- ELSTON, R.A. 1984. Prevention and management of infectious diseases in Intensive mollusc husbandry. J. World Maricul. Soc., 15(1-4): 284-300.
- FIPERJ. 1997. Reprodução e cultivo da ostra de mangue (*Crassostrea rhizophorae*). FIPERJ, Rio de Janeiro. 4 p.
- FITT, W.K., HESLINGA, G.A. & WATSON, T.C. 1992. Use of antibiotics in the mariculture of giant clams. Aquaculture, 104(1-2):1-10.
- GEFFARD, O., GEFFARD, A., HIS, E. & BUDZINSKI, H. 2003. Assessment of the bioavailability and toxicity of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals applied to *Crassostrea gigas* embryos and larvae. Mar. Pol. Bull., 46(4): 481-490.
- HEBERT, P.D., RATNASINGHAM, S., & de WAARD, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 270 (Suppl 1), S96-S99.
- HIS, E., HEYYANG, I., GEFFARD, O. & MONTAUDOUIN, X. 1999. A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. Water Res., 33(7): 1706- 1718.
- ISLAM, M.S. & TANAKA, M. 2004. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. Mar. Pollut. Bull., 48(7-8): 624-49.
- JEATHON, C., PRIEUR, D., & COCHARD, J.C. 1988. Bacteriological survey of antibiotic-treated seawaters in a *Pecten maximus* hatchery. Aquaculture, 71(1-2): 1-8.

- JEFFRIES, V.E. 1982. Three *Vibrio* strains pathogenic to larvae of *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Aquaculture*, 29(3-4): 201-226.
- LEMONS, M.B.N., NASCIMENTO, I.A., ARAÚJO, M.M.S., PEREIRA, S.A., BAHIA, I. & SMITH, D. 1994. The combined effects of salinity, temperature, antibiotic and aeration on larval growth and survival of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*. *J. Shellfish Res.*, 13(1): 187-192.
- LODEIROS, C.J., RENGELA, J.J., FREITESA, L., MORALES, F. & HIMMELMAND, J.H. 1998. Growth and survival of the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* maintained in suspended culture at three depths. *Aquaculture*, 165(1-2): 41-50.
- LOPES, R.G.P.S. 2016. Identificação molecular de ostras nativas do maranhão utilizando o gene COI. Dissertação de mestrado, UEMA, São Luís, MA. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=3444402.
- MAGRIS, R.A., PASSAMANI, F., BINDA F.P. & LOUREIRO FERNANDES, L. 2006. Utilização de testes de toxicidade com embriões da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) para avaliação da eficiência de uma estação de tratamento de esgotos de Vitória (ES). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, 1(1): 49-52.
- MARQUES, J.S.J., RANGEL, T.P., BRITO, F.P., ALMEIDA, M.G., SALOMÃO, M.S.M.B., GOBO, A.A.R., SOUZA-SANTOS, L.P., ARAÚJI-CASTRO, C.M.V., COSTA, M.F. & REZENDE, C.E. 2011. Geoquímica de metais em sedimentos da zona estuarina do Complexo Industrial Porto de Suape, PE – Brasil. *Revista da Gestão Costeira Integrada*, 11(4): 379-387.
- MIRANDA, M.B.B. & GUZENSKI, J. 1999. Cultivo larval da ostra do mangue, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), em diferentes condições de temperatura, salinidade e densidade. *Arq. Ciên. Mar.*, 32(1-2): 73-84.
- PEREIRA, C.C. 1997. Cultivo de ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae*) em Cuba. Ed. Informe Técnico del Ministerio de la Industria Pesquera, Havana. 8 p.
- PRADO, S., ROMALDE J.L., MONTES, J. & BARJA, J. L. 2005. Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of *Vibrio neptunius* as an oyster pathogen. *Dis. Aquat. Organ.*, 67(3): 209-15.
- SIQUEIRA, F.L.K. 2008. Avaliação do sistema de cultivo de ostra do gênero *Crassostrea* (Sacco, 1897) no estuário do rio Vaza-Barris (Sergipe). Dissertação de Mestrado, UNIT, Aracajú, SE. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp060363.pdf>.
- STEBBING, A.R.D., AKESSON, B., CALABRESE, A., GENTILE, J.H., JENSEN, A. & LLOYD, R. 1980. The role of bioassays in marine pollution monitoring. *Rapports et Proc es-verbaux des Reunions du Conseil International Permanent pour la Exploitation de la Mer.*, 179, 322–332.
- URIARTE, I., FARIÁS, A. & CASTILLA, J.C. 2001. Effect of antibiotic treatment during larval development of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus*. *Aquacul. Eng.*, 25(3): 139-147.
- WALKER, C.H., HOPKIN, S.P., SIBLY, R.M. & PEAKAL, D.B. 2003. *Principles of Ecotoxicology*. 2nd Ed. Ed. CRC Press, Nova York, NY. 326p.
- WALNE P. R. 1958. The importance of bacteria in laboratory experiments on rearing the larvae of *Ostrea edulis* (L.). *J. Mar. Biol. Assoc.*, 37(2): 415-425.
- WASSNIG, M. & SOUTHGATE, P.C. 2011. The effects of egg stocking density and antibiotic treatment on survival and development of winged pearl oyster (*Pteria Penguin*, Röding 1798) embryos. *J. Shellfish Res.*, 30(1): 103-107.
- ZAGATTO, P.A. & BERTOLETTI, E. 2008. *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. Ed. RiMa. São Carlos, SP.
- ZAYAS, L.F., ORTIZ, J.L. & HERRERA, A.R. 1995. Nuevas perincias em el cultivo artificial del ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae*). Informe Técnico, p. 8-9.