

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

SAMILLE CONCEIÇÃO DIAS

**MONITORAMENTO DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS UTILIZANDO
BIOMARCADORES ECOTOXICOLÓGICOS EM ESPÉCIES BIOINDICADORAS**

LAGES

2023

SAMILLE CONCEIÇÃO DIAS

**MONITORAMENTO DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS UTILIZANDO
BIOMARCADORES ECOTOXICOLÓGICOS EM ESPÉCIES BIOINDICADORAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof^a. Dra. Indianara Fernanda Barcarolli.

LAGES

2023

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Conceição Dias, Samille

Monitoramento de ecossistemas aquáticos utilizando biomarcadores ecotoxicológicos em espécies bioindicadoras / Samille Conceição Dias. -- 2023.
54 p.

Orientador: Indianara Fernanda Barcarolli
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Lages, 2023.

1. Qualidade Ambiental. 2. Atividade Enzimática. 3. Contaminação Ambiental. 4. Macroinvertebrados bentônicos. 5. Crustáceos. I. Barcarolli, Indianara Fernanda. II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. III. Título.

SAMILLE CONCEIÇÃO DIAS

**MONITORAMENTO DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS UTILIZANDO
BIOMARCADORES ECOTOXICOLÓGICOS EM ESPÉCIES BIOINDICADORAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Ingrid de Fátima Barcarolli
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membros:



Dr. Klebson Daniel Sodre do Rosário
Universidade do Estado do Pará - UEPA



Juciane Teresinha Cardoso
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Lages, 28 de julho de 2023.

Este trabalho é dedicado à minha mãe e ao meu pai com muito amor!

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Ana Célia Farias da Conceição, ao meu Raimundo Silva Dias, aos meus irmãos Soraya Conceição Dias e Sávio Conceição Dias por compreenderem a minha ausência, e mesmo à distância sempre me incentivarem e me apoiarem em todos os meus sonhos e decisões.

Ao meu noivo Leandro da Silva Pompeu pela paciência, companheirismo e principalmente pelo apoio e respeito as minhas decisões pessoais e acadêmicas.

À minha orientadora Dra. Indianara Barcarolli, a quem admiro profundamente, pela orientação, ensinamentos, apoio e pelas valiosas contribuições para esta pesquisa e para minha vida acadêmica. Agradeço também pelo carinho e pela amizade construída ao longo desses dois anos.

À Letícia Varela pela parceira em laboratório e em campo, bem como, pela amizade e pelas boas risadas e conversas.

Ao Emanuel Burei, aluno de iniciação científica e meu assistente de pesquisa, por toda ajuda e dedicação a este trabalho.

À Jaqueline Prestes, Annanda Souza, Jonatathan Batista, Gustavo Souza e Geórgia Rodrigues, Letícia Moliner, Carolina Meurer e Vinicius Nascimento que fizeram importantes contribuições para o desenvolvimento deste estudo, seja pelo auxílio nas atividades de campo ou nas análises de dados.

À Jaqueline Prestes e a Annanda Souza, novamente, pela amizade e companheirismo durante toda a graduação e mestrado. A todas as amigas que eu construí durante o mestrado, especialmente a Michele Chuquel, Juliana Araújo, Aline Jählig, Patrícia Andrade, Geórgia Rodrigues, Carolina Meurer e Cassiana Carvalho.

À Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), pela oportunidade e apoio fornecidos.

À empresa Klabin S.A pela concessão de bolsa e toda estrutura disponibilizada durante as etapas deste estudo, o que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho.

Ao corpo do docente do programa, por todo conhecimento repassado e experiências trocadas. Especialmente, a prof^a. Mari Lucia Campos, pela experiência incrível que foi participar de suas aulas.

À prof^a. Josiane Teresinha Cardoso pelo apoio fornecido durante a docência orientada e qualificação, no período de afastamento de minha orientadora.

A todos os amigos, familiares e professores que de forma direta ou indireta contribuíram com a minha formação acadêmica.

“O amor por todas as coisas vivas é o mais nobre atributo de um homem.”

- Charles Darwin

RESUMO

Os ecossistemas aquáticos representam uma das porções mais ameaçadas da biosfera terrestre, pois atuam como receptores finais de diversos tipos de contaminantes oriundos do processo de industrialização, urbanização e agricultura. Esses contaminantes causam efeitos prejudiciais na biota aquática, que podem ser detectados por meio dos biomarcadores de efeito, exposição e suscetibilidade. No monitoramento ambiental, os biomarcadores em espécies bioindicadoras são frequentemente utilizados para avaliar os impactos de diferentes poluentes nos ecossistemas naturais. Nesse contexto, esta dissertação teve como objetivo geral analisar biomarcadores ecotoxicológicos em espécies bioindicadoras em dois ecossistemas aquáticos no Estado de Santa Catarina. A dissertação foi dividida em dois capítulos, no estudo apresentado no primeiro capítulo foram analisados biomarcadores do sistema antioxidante (catalase e glutathione-s-transferase) em larvas de Chironomidae (Diptera, Nematocera) coletadas em cinco pontos ao longo do rio Caveiras. Dentre esses pontos, três estão situadas dentro da RPPN complexo serra da Farofa, e dois estão localizados fora da área de reserva. As coletas foram realizadas de outubro de 2021 a junho de 2023. A análise dos biomarcadores nas larvas de Chironomidae não identificou alterações significativas entre os locais estudados, mesmo aqueles apresentam indícios de degradação ambiental. No capítulo 2, foi realizada a análise das variações sazonais em biomarcadores de neurotoxicidade (Acetilcolinesterase) e do sistema antioxidante (catalase e glutathione-s-transferase) nos crustáceos *Callinectes sapidus* e *Aratus pisonii* coletados no manguezal do rio Perequê. As coletas foram realizadas em diferentes estações do ano. Os tecidos amostrados foram brânquias, hepatopâncreas e gânglio nervoso. Os achados do presente estudo indicaram elevados níveis de catalase e acetilcolinesterase principalmente no outono, em contraste neste período houve a diminuição significativa da enzima glutathione-s-transferase, supondo uma maior concentração de xenobióticos neste período. Além disso, os resultados indicam possíveis sinais de degradação ambiental, que podem causar danos à saúde da biota local. Desta forma, os dados apresentados nesta dissertação fornecem subsídios para comunidade científica acerca da saúde dos ecossistemas estudados, e podem auxiliar no monitoramento e manejo das áreas investigadas.

Palavras-chave: Qualidade Ambiental; Atividade Enzimática; Contaminação Ambiental; Chironomidae; Crustáceos.

ABSTRACT

Aquatic ecosystems represent one of the most threatened portions of the terrestrial biosphere, as they act as final receptors for different types of contaminants arising from the process of industrialization, urbanization and agriculture. These contaminants cause harmful effects on aquatic biota, which can be detected using effect, exposure and susceptibility biomarkers. In environmental monitoring, biomarkers in bioindicator species are often used to assess the impacts of different pollutants on natural ecosystems. In this context, this dissertation had the general objective of analyzing ecotoxicological biomarkers in bioindicator species in two aquatic ecosystems in the State of Santa Catarina. The dissertation was divided into two chapters. In the study presented in the first chapter, biomarkers of the antioxidant system (catalase and glutathione-s-transferase) were analyzed in larvae of Chironomidae (Diptera, Nematocera) collected at five points along the Caveiras River. Among these points, three are located within the RPPN Serra da Farofa complex, and two are located outside the reserve area. Collections were carried out from October 2021 to June 2023. The analysis of biomarkers in Chironomidae larvae did not identify significant changes between the sites studied, even those showing signs of environmental degradation. In chapter 2, the analysis of seasonal variations in biomarkers of neurotoxicity (Acetylcholinesterase) and the antioxidant system (catalase and glutathione-s-transferase) in the crustaceans *Callinectes sapidus* and *Aratus pisonii* collected in the mangrove of the Perequê River was carried out. Collections were carried out in different seasons of the year. The tissues sampled were gills, hepatopancreas and nerve ganglion. The findings of the present study indicated high levels of catalase and acetylcholinesterase mainly in autumn, in contrast, in this period there was a significant decrease in the enzyme glutathione-s-transferase, assuming a higher concentration of xenobiotics in this period. Furthermore, the results indicate possible signs of environmental degradation, which could cause damage to the health of local biota. In this way, the data presented in this dissertation provide support to the scientific community regarding the health of the studied ecosystems, and can assist in the monitoring and management of the investigated areas.

Key-words: Environmental Quality; Enzymatic Activity; Environmental Contamination; Chironomidae; Crustaceans.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Área de estudo e pontos de amostragem.....	21
Figura 2 – Coleta (A), triagem (B) e armazenamento (C) das larvas de quironomídeos.....	22
Figura 3 – Atividade enzimática média da catalase nos pontos de coleta.....	24
Figura 4 - Atividade enzimática média da glutaciona-s-transferase por ponto de coleta.....	25
Figura 5 – Localização do ponto de coleta no manguezal do rio Perequê.....	30
Figura 6 – Exemplar de <i>A. pisonii</i> coletado no manguezal do rio Perequê.....	31
Figura 7 – Exemplar de <i>C. sapidus</i> coletado no manguezal do rio Perequê.....	32
Figura 8 – Atividade enzimática da Acetilcolinesterase do gânglio nervoso de <i>C. sapidus</i>	35
Figura 9 – Atividade enzimática da Acetilcolinesterase do gânglio nervoso de <i>A. pisonii</i>	35
Figura 10 – Atividade enzimática da catalase nas brânquias (I), hepatopâncreas (II) e gânglio nervoso (III) de <i>C. sapidus</i>	37
Figura 11 – Atividade enzimática da catalase nas brânquias (I), hepatopâncreas (II) e gânglio nervoso (III) de <i>A. pisonii</i>	38
Figura 12 – Atividade enzimática da glutaciona-s-transferase nas brânquias (I), hepatopâncreas (II) e gânglio nervoso (III) de <i>C. sapidus</i>	39
Figura 13 – Atividade enzimática da Glutaciona-S-Transferase nas brânquias (I), hepatopâncreas (II) e gânglio nervoso (III) de <i>A. pisonii</i>	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de coletas, estação e período de amostragem	22
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
ANOVA	Análise de variância
CAV/UEDESC	Centro de Ciências Agroveterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina
CAT	Catalase
CDNB	1-cloro-2,4 dinitrobenzeno
DTNB	5-tio-2-nitrobenzoato
EROS	Espécies reativas de oxigênio
GSH	Glutathiona reduzida
GST	Glutathiona-S-Transferase
IBF	Índice Biótico de Família
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
RPPN	Reserva do Particular do Patrimônio Natural

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Geral	18
1.1.2 Específicos	18
1.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	18
2 UTILIZAÇÃO DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM LARVA DE CHIRONOMIDAE (DIPTERA, NEMATOCERA) NA AVALIAÇÃO DE QUALIDADE AMBIENTAL DO RIO CAVEIRAS	Erro! Indicador não definido.
2.1 INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	Erro! Indicador não definido.
2.2.1 Caracterização da área de estudo	Erro! Indicador não definido.
2.2.2 Coleta e triagem do material biológico	Erro! Indicador não definido.
2.2.3 Análise dos Biomarcadores	Erro! Indicador não definido.
2.2.3.1. Atividade da Catalase	Erro! Indicador não definido.
2.2.3.2 Atividade da Glutationa-S-Transferase	Erro! Indicador não definido.
2.2.3.3 Proteínas Totais	Erro! Indicador não definido.
2.2.4 Análise Estatística	Erro! Indicador não definido.
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
2.4 CONCLUSÃO	Erro! Indicador não definido.
3 VARIAÇÃO SAZONAL DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM CRUSTÁCEOS DECÁPODES PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL DO MANGUEZAL DO RIO PEREQUÊ	Erro! Indicador não definido.
3.1 INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	Erro! Indicador não definido.
3.2.1 Caracterização da área de estudo	Erro! Indicador não definido.
3.2.2 Espécies estudadas	Erro! Indicador não definido.
3.2.2.1 <i>Aratus pisonii</i>	Erro! Indicador não definido.
3.2.2.2 <i>Callinectes sapidus</i>	Erro! Indicador não definido.
3.2.3 Coleta dos espécimes	Erro! Indicador não definido.
3.2.4 Coleta de tecidos	Erro! Indicador não definido.
3.2.5 Determinação dos biomarcadores	Erro! Indicador não definido.

3.2.5.1 Atividade da Catalase.....	Erro! Indicador não definido.
3.2.5.2 Atividade da Glutathiona-S-Transferase	Erro! Indicador não definido.
3.2.5.3 Atividade da Acetilcolinesterase	Erro! Indicador não definido.
3.2.5.4 Proteínas Totais	Erro! Indicador não definido.
3.2.6 Análises estatísticas	Erro! Indicador não definido.
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
3.3.1 Biomarcador de neurotoxicidade	Erro! Indicador não definido.
3.3.2 Biomarcadores do sistema de defesa antioxidante	Erro! Indicador não definido.
3.4 CONCLUSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	Erro! Indicador não definido.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A água é um importante componente do meio ambiente, indispensável para a biodiversidade e para os serviços ecossistêmicos (Cantelle; Lima; Borges, 2018). Entretanto, os ecossistemas aquáticos representam uma das porções mais ameaçadas da biosfera terrestre, tendo em vista que atuam como receptores finais de diversos tipos de contaminantes oriundos do processo de industrialização, urbanização e agricultura, causando implicações na biota aquática e conseqüentemente na saúde pública (Bundschuh *et al.*, 2017; Montagnera; Vidala; Acayab, 2017).

Em meados do século XX, a intensificação das atividades antrópicas, induzida pelo rápido desenvolvimento industrial, resultou no surgimento de eventos de poluição atmosférica e aquática que prejudicaram a saúde humana e ambiental em todo o mundo (Vasseur; Masfarau; Blaise, 2021). Diante deste cenário, foi necessário o desenvolvimento de um campo científico que fosse capaz de verificar a qualidade dos ecossistemas afetados por substâncias tóxicas, hoje conhecido como ecotoxicologia (Silva; Pompêo; Paiva, 2015).

Na ecotoxicologia aquática, os estudos centram-se nos efeitos dos poluentes ambientais nas comunidades biológicas do meio aquático, sendo a aplicação de modelos biológicos um meio eficaz para revelar os mecanismos toxicológicos de compostos exógenos (Sparling, 2016; Li *et al.*, 2023). Esta ciência tornou-se bastante relevante em programas de avaliação de contaminação ambiental, tendo em vista que seus instrumentos de análise são capazes de responder preditivamente à toxicidade de compostos químicos, sinalizando os potenciais ecotoxicológicos e seus mecanismos de ação em organismos vivos (Silva; Pompêo; Paiva, 2015; Pompêo; Carlos; Doval, 2022).

Os poluentes ou contaminantes ambientais referem-se a quaisquer compostos químicos naturais ou sintéticos, orgânicos e inorgânicos que podem ser encontrados em matrizes ambientais e biológicas que mesmo em baixas concentrações apresentam risco à população e ao meio ambiente (Branco; Albert; Romão, 2021). Além disso, atualmente há uma grande preocupação com os poluentes considerados emergentes, devido ao comportamento diversificado desses compostos no ambiente aquático, podendo causar efeitos tóxicos e ser bioacumulados em diversos organismos, incluindo os seres humanos (Lopes-Ferreira *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o monitoramento da qualidade da água e do meio ambiente assumem considerável importância e, nessa perspectiva, os estudos ecotoxicológicos desempenham um papel evidente na avaliação dos efeitos dos contaminantes nos habitats aquáticos e na saúde humana (Cechin; Bellini; Scalici, 2021). Além disso, a ecotoxicologia possibilita o pesquisador obter respostas agudas ou crônicas (diferindo na duração da exposição de substâncias aos organismos e as respostas finais obtidas) tendo como principal objetivo impedir, minimizar e prevenir danos ao ecossistema (Silva; Pompêo; Paiva, 2015).

O uso de respostas biológicas para avaliar e monitorar a saúde ambiental, chamado de “biomonitoramento”, tem a vantagem de integrar as respostas dos organismos aos múltiplos efeitos dos xenobióticos e suas interações com fatores ambientais em todas as vias de exposição. Pode ser realizada observando respostas da biota no ambiente (*in situ*) ou expondo organismos a amostras ambientais em laboratório (*ex situ*) aplicando técnicas de microcosmo ou bioensaios de toxicidade aguda e crônica (Magalhães *et al.*, 2015).

As ferramentas ecotoxicológicas incluem a avaliação de parâmetros biológicos medidos em espécies relevantes, denominadas como biomarcadores, que correspondem a quaisquer variações mensuráveis ou observáveis a nível comportamental, fisiológico, bioquímico, molecular ou genético que possam elucidar os efeitos de perigos químicos, físicos ou biológicos (Duarte *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2019). Os biomarcadores, independente da utilização, podem ser classificados em: biomarcadores de exposição, de efeito e de suscetibilidade (Cardoso; Pompêo, 2022).

É importante destacar que as respostas moleculares, bioquímicas e fisiológicas aos estressores ambientais, precedem aquelas que ocorrem em níveis mais altos de organização biológica (populações, comunidades e ecossistemas) (Lionetto *et al.*, 2021). Portanto, a análise de biomarcadores, que trabalha com os níveis basais, fornece um sinal de alerta precoce dos efeitos biológicos significativos de grande importância ao biomonitoramento (Adam *et al.*, 2021).

Na ecotoxicologia aquática, os biomarcadores bioquímicos mais comumente utilizados são as enzimas de detoxificação de xenobióticos e de seus metabólitos, haja vista que atividade enzimática pode ser utilizada para avaliar os efeitos adversos do poluente sobre a integridade dos organismos expostos (Ajima *et al.*, 2021). As enzimas de importância para este tudo são:

Catalase (CAT): é uma enzima oxidoreductase que desempenha papel crucial na eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROS), como o peróxido de hidrogênio (H^2O^2), decompondo-o em água e oxigênio molecular. Atua aliviando o estresse oxidativo e assim como outras enzimas antioxidantes, a catalase também está presente em células vegetais e animais, como eritrócitos, células renais e células hepáticas (Krych-Madej; Gebicka, 2017; Hadwan, 2018; Kaushal *et al.*, 2018). Esta enzima é considerada como um biomarcador importante e sensível do estresse oxidativo, revelando efeitos biológicos sobre o estado redox dos organismos (Cerezer *et al.*, 2020).

Glutathione-S-Transferase (GST): é uma enzima crucial de biotransformação de fase II, que está envolvida na correção dos efeitos deletérios e na detoxificação de contaminantes lipofílicos (Vaish *et al.*, 2020). Esta enzima atua na prevenção de danos oxidativos em organismos aquáticos por meio da conjugação, por isso é utilizada como para avaliar os impactos de diferentes poluentes nos ecossistemas naturais (Cerezer *et al.*, 2020).

Acetilcolinesterase (AChE): é a enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas, nessas sinapses a ACh atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro (Araújo; Santos; Gonsalves, 2016). A AChE é responsável por fechar os canais de sódio entre as membranas nervosas, o não fechamento desses canais, pela inibição da AChE, causa um desequilíbrio, causando distúrbios de ação, gerando descargas descontroladas e repetitivas nos nervos (Walker *et al.*, 2006; Zhang; Greenberg, 2012). A atividade da AChE pode ser inibida na presença de organofosforado, carbamatos e metais, e por isso tem sido amplamente utilizada como biomarcador de neurotoxicidade em organismos vertebrados e invertebrados (Lioneto *et al.*, 2021; Caliani *et al.*, 2023).

A seleção de organismos adequados para um programa de biomonitoramento é uma etapa essencial, pois é necessário escolher organismos adequados para serem utilizados como bioindicadores (Strode *et al.*, 2023). As espécies utilizadas devem ter fisiologia, ecologia, genética e comportamento bem conhecidos, o que pode facilitar a interpretação dos resultados, bem como, apresentar relevância no ecossistema, ser representativo para a matriz de ensaio, fácil manutenção em laboratório e com tempo de geração suficiente para refletir os efeitos das perturbações (Ferreira; Pompêo, 2022).

Para avaliação da qualidade ambiental de ecossistemas aquáticos (lóticos e lênticos) são utilizados organismos bioindicadores incluem algumas espécies de peixes, bem como

invertebrados, incluindo representantes de Crustacea, Annelida, Plecoptera, Trichoptera, Ephemeroptera, Diptera, Odonata e Mollusca (Prat *et al.*, 2013; Colin *et al.*, 2016; Rodrigues *et al.*, 2019).

Os efeitos prejudiciais causados por poluentes ambientais em tais espécies é detectado por meio dos biomarcadores, que podem determinar a extensão dos danos, extremamente relevante para a classificação dos impactos ambientais em uma área ambientalmente perturbada (Adam *et al.*, 2023). Portanto, o monitoramento ambiental, empregando biomarcadores de espécies bioindicadoras possibilita orientar os esforços de conservação ecossistêmica, contribuindo para a tomada de decisões quanto às condições de habitat, proteção das espécies, prestação de serviços ecossistêmicos e adoção de procedimentos de remediação (Hazen *et al.*, 2019; Lionetto *et al.*, 2021).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Analisar biomarcadores bioquímicos em espécies bioindicadoras em dois ecossistemas aquáticos no Estado de Santa Catarina.

1.1.2 Específicos

- I) Analisar biomarcadores bioquímicos em larvas da família Chironomidae para avaliação da qualidade da água do rio Caveiras.
- II) Analisar a variação sazonal de biomarcadores bioquímicos em crustáceos para avaliação da qualidade ambiental do manguezal do rio Perequê.

1.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação foi estruturada em dois capítulos, além desta introdução e das considerações finais, de forma que cada capítulo corresponde a um objetivo específico. O capítulo um é intitulado como “Utilização de biomarcadores bioquímicos em larva de Chironomidae (Diptera, Nematocera) na avaliação de qualidade ambiental do rio Caveiras”. E o capítulo dois tem como título “Variação sazonal de biomarcadores bioquímicos em crustáceos decápodes para avaliação da qualidade ambiental do manguezal do rio Perequê”.