



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

Lígia Sampaio Lanzarin

Associação dos biomarcadores de contaminação aquática em *Poecilia vivipara* (Bloch & Schneider, 1801) com parâmetros de qualidade ambiental da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC)

Florianópolis, Santa Catarina

2024

Lígia Sampaio Lanzarin

Associação dos biomarcadores de contaminação aquática em *Poecilia vivipara* (Bloch & Schneider, 1801) com parâmetros de qualidade ambiental da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy
Coorientadora: Dra. Dafna de Lima

Florianópolis, Santa Catarina

2024

Lanzarin, Lígia Sampaio

Associação dos biomarcadores de contaminação aquática em *Poecilia vivipara* (Bloch & Schneider, 1801) com parâmetros de qualidade ambiental da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC) / Lígia Sampaio Lanzarin ; orientador, Afonso Celso Dias Bainy, coorientador, Daina de Lima, 2024.

79 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Bioquímica. 2. Biomarcadores. 3. Lagoa da Conceição. 4. *Poecilia vivipara*. I. Bainy, Afonso Celso Dias. II. Lima, Daina de. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica. IV. Título.

Lígia Sampaio Lanzarin

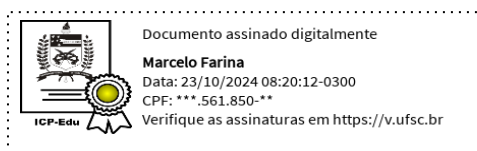
**Associação dos biomarcadores de contaminação aquática em *Poecilia vivipara*
(Bloch & Schneider, 1801) com parâmetros de qualidade ambiental da Lagoa
da Conceição (Florianópolis, SC)**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 31 de julho de 2024,
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

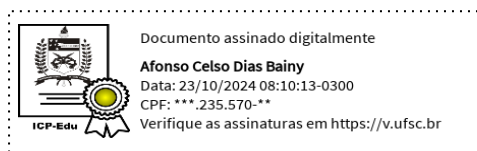
Prof.(a) Gisela de Aragão Umbuzeiro, Dr.(a)
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Prof.(a) Karim Hahn Lüchmann, Dr.(a)
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de Mestra em Bioquímica.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof. Afonso Celso Dias Bairy, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2024.

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuem cientificamente para a
preservação do meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

Me vejo agora ao fim deste trabalho pensando no conhecimento adquirido ao longo da minha trajetória científica, conhecimento que é vasto como um oceano quando comparado ao que eu sabia no início, mas que não chega a uma gota do que existe e do que eu posso ainda aprender. Nessa trajetória, além de aprendizados, colecionei também afetos que mantenho perto de mim neste momento de escrever os agradecimentos.

Agradeço a minha família, que sempre me apoiou mesmo estando distante, à minha mãe agradeço por me dar o que eu acho que tenho de melhor. Agradeço à minha irmã pela convivência e por todas as pequenas ajudas ao longo dos anos que vivemos juntas.

Agradeço ao meu namorado, Manu, que esteve comigo desde o início do mestrado, me apoiando e me amando, da forma como eu precisava, melhor do que eu imaginava.

Aos amigos, agradeço as jantinhas, as conversas profundas, as noites de filmes ruins e bebedeira: Maria, Rossito, Soninha, Felipe, obrigada.

Apesar do contato ter sido perdido, agradeço ao *losers* pelo carinho: Gu, Rafa, Vilms, Garbo, Laura e Alisson, obrigada.

Agradeço ao LABCAI, foi nesse laboratório que pude evoluir, a comunidade que se criou nesse espaço forneceu todo o apoio que eu precisava durante o TCC e o Mestrado. Mesmo que eu vá para a luz um dia, guardarei com carinho na memória os anos que passei como labcaiana.

Queria agradecer aos meus colegas de laboratório: Luiza, Luiz, Thiago, Vanessa, Deivid e Ju pelas risadas, pelo café e pela ocasional ajuda na bancada. Agradeço especialmente à Giulia, Bárbara, Miguel, Duda e Pedro pela ajuda nas coletas.

Agradeço a equipe deste projeto. Ao Jacó, grande pescador de Poecílias, agradeço a ajuda nas coletas. À Camis e ao Clei eu agradeço a ajuda na bancada e na escrita do trabalho.

Quero agradecer ao meu orientador, Prof. Afonso, por me aceitar como orientanda, me dar apoio, compreensão e liberdade para fazer o que eu achava certo.

Agradeço à minha coorientadora Daína, um pilar desse trabalho, ajudando em todas as etapas desde a coleta até a escrita final. Foi colega de trabalho, amiga e psicóloga e por todo esse apoio eu sou muito grata.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida durante o mestrado.

Agradeço a FAPESC e a CASAN pelo financiamento deste projeto

RESUMO

A Lagoa da Conceição, localizada em Florianópolis (SC), é um ambiente de alta relevância econômica, social e ecológica que, historicamente, tem sofrido impacto ambiental, advindo da crescente urbanização e má gestão sanitária. Em estudos ecotoxicológicos e de monitoramento ambiental enzimas do sistema de biotransformação, do sistema de defesa antioxidante e análises de dano celular são usualmente utilizadas como biomarcadores de contaminação. O peixe *Poecilia vivipara* possui ampla distribuição na costa brasileira e é muito utilizado em estudos ecotoxicológicos. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do ambiente em diferentes locais da Lagoa da Conceição utilizando uma abordagem integrada de parâmetros físicos e químicos de água e sedimento, juntamente com biomarcadores de contaminação aquática [atividade das enzimas etoxiresorufina O-deetilase (EROD), glutathione S-transferase (GST), carboxilesterase (CbE), acetilcolinesterase (AChE), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT)] e indicadores de danos celulares [proteínas carboniladas (PCO)] no fígado e brânquias de peixes *P. vivipara*. Foi realizada uma única coleta de animais, água e sedimento em quatro locais da Lagoa: Rio Vermelho (RIO), Rendeiras (REN), Canto da Lagoa (CAN) e Costa da Lagoa (COS) no verão do ano de 2023, entre os meses de janeiro e março. Análises da água apresentaram variações na qualidade entre os locais, sendo a COS o local que apresentou o maior número de coliformes termotolerantes. A região das REN apresentou a maior demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Os peixes coletados na COS apresentaram a maior atividade de enzimas SOD, CAT e GPx no fígado e nas brânquias. Os animais da COS também exibiram maiores atividades hepáticas de CbE em relação aos outros locais estudados. Os animais coletados no CAN apresentaram a maior atividade média da EROD em ambos os tecidos em relação aos animais do RIO. Peixes da COS e do CAN apresentaram maiores níveis de PCO nas brânquias, quando comparado aos do RIO, indicando danos oxidativos nos animais. A Análise de Componentes Principais (PCA) contendo os dados de biomarcadores em fígado demonstra que os animais da COS apresentaram maior resposta a contaminantes. Da mesma forma, o Índice Integrado de Biomarcadores (IBR) indicam o local COS como o mais contaminado dentre os locais analisados. O presente trabalho demonstra que a Lagoa da Conceição apresenta indícios de contaminação associada a

atividades antrópicas e esgoto sanitário, sendo necessário um esforço político para adequar a infraestrutura sanitária de forma que atenda completamente a população. Este trabalho ainda sugere que a contaminação apresentada pela laguna é capaz de causar alterações bioquímicas na ictiofauna local, tornando a contaminação um possível risco à biodiversidade da Lagoa da Conceição.

Palavras-chave: Biomarcadores; Lagoa da Conceição; *Poecilia vivipara*.

ABSTRACT

The Lagoa da Conceição, located in Florianópolis (SC), is an environment of high economic, social, and ecological relevance that has historically suffered environmental impacts due to increasing urbanization and poor sanitary management. In ecotoxicological and environmental monitoring studies, enzymes of the biotransformation system, the antioxidant defense system, and cellular damage analyses are usually used as biomarkers of contamination. The fish *Poecilia vivipara* is a widely distributed animal along the Brazilian coast and is commonly used in ecotoxicological studies. This work aimed to evaluate the quality of the environment at different locations in Lagoa da Conceição using an integrated approach of physical and chemical parameters of water and sediment, along with biomarkers of aquatic contamination [activity of the enzymes ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD), glutathione S-transferase (GST), acetylcholinesterase (AChE), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT)] and indicators of cellular damage [carbonylated proteins (PCO)] in the liver and gills of fish of the species *P. vivipara*. A single collection of animals, water, and sediment was carried out at four locations in the lagoon: Rio Vermelho (RIO), Rendeiras (REN), Canto da Lagoa (CAN), and Costa da Lagoa (COS) during the summer of 2023, between the months of January and March. Water analyses showed variations in quality between the locations, with COS having the highest number of thermotolerant coliforms. The REN region presented the highest biochemical oxygen demand (BOD). Fish collected at COS showed the highest activity of the enzymes SOD, CAT and GPx in the liver and gills. Animals from COS also exhibited higher hepatic CbE activity compared to the other locations studied. Animals collected at CAN showed the highest average EROD activity in both tissues compared to animals from RIO. Fish from COS and CAN showed higher levels of PCO in the gills compared to those from RIO, indicating oxidative damage in the animals. Principal Component Analysis (PCA) of the biomarker data in the liver demonstrates that animals from COS showed a greater response to contaminants. Similarly, the Integrated Biomarker Response (IBR) index indicates COS as the most contaminated location among those. This study demonstrates that the Lagoa da Conceição shows signs of contamination associated with anthropogenic activities and sanitary sewage, requiring political efforts to improve

the sanitary infrastructure to fully serve the population. This work also suggests that the contamination in the lagoon can cause biochemical changes in the local ichthyofauna, making the contamination a potential risk to the biodiversity of Lagoa da Conceição

Keywords: Biomarkers; Conceição Lagoon; *Poecilia vivipara*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Lagoa da Conceição atualmente. Região do centrinho e Avenida das Rendeiras. Imagem de Ricardo Faraco.	23
Figura 2. Lagoa da Conceição na década de 60. Região do centrinho e da Avenida das Rendeiras. Imagem de Maurício Cardoso Bento.	23
Figura 3 Vias de biotransformação de xenobióticos. O composto passa por duas fases principais: a fase I, também chamada de fase de oxidação, mediada por CYPs, onde poderá ir direto para a excreção ou passar pela fase II, também chamada de conjugação, performada pelas GSTs. É possível ocorrer também a reciclagem do composto, com a retirada de seu grupo conjugado via clivagem. Adaptada de Rougée; Richmond; Collier (2014).	26
Figura 4. Representação das vias enzimáticas do sistema de defesa antioxidante. O ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) passa pela transformação mediada pela enzima Superóxido Dismutase (SOD), gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que pode ser convertido em água (H_2O) tanto pela enzima Glutathione Peroxidase (GPx) quanto pela enzima Catalase (CAT). O mecanismo de ação da GPx é dependente de duas glutathionas reduzidas (GSH), que são convertidas em glutathione oxidada (GSSG), que por sua vez dependem da enzima glutathione redutase (GR) e do agente redutor fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida (NADPH) para sua reciclagem, o $NADP^+$ resultante deste processo é, por sua vez, reduzido a NADPH novamente pela ação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH). Adaptado de Bastolla (2017).	27
Figura 5 Peixe da espécie <i>Poecilia vivipara</i> . Imagem por Slaboch R.	29
Figura 6. Mapa da Lagoa da Conceição (Florianópolis, Santa Catarina – Brasil) com indicação dos locais de coleta dos animais (Canto da Lagoa, Rendeiras, Costa da Lagoa e Rio Vermelho) e sua proximidade a áreas urbanizadas.	31
Figura 7. Gráficos de violino mostrando os parâmetros químicos analisados na água dos locais de coleta que possuíam concentração acima do limite de quantificação ($> LQ$). Coliformes termotolerantes (A). Coliformes totais (B). Alcalinidade (C). Carbono orgânico total. (D) Demanda bioquímica de oxigênio (E). Demanda química de oxigênio (F). Nitrogênio amoniacal total (G). Sólidos totais a seco (H). Turbidez (I).	40

Figura 8. Atividade enzimática de acetilcolinesterase (AChE) em cérebro de <i>Poecilia vivipara</i> coletas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.	42
Figura 9. Atividade enzimática de (A) 7-etoxiresorufina O-deetilase (EROD), (B) Glutathione S-transferase (GST), (C) Superóxido dismutase (SOD), (D) Catalase (CAT) e (E) Glutathione peroxidase (GPx) em fígado de <i>Poecilia vivipara</i> coletadas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.	43
Figura 10. Atividade enzimática de (A) 7-etoxiresorufina O-deetilase (EROD), (B) Glutathione S-transferase (GST), (C) Superóxido dismutase (SOD) e (D) Glutathione peroxidase (GPx) em brânquias de <i>Poecilia vivipara</i> coletas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.	45
Figura 11. Atividade enzimática de carboxilesterases (CbE) em fígado de <i>Poecilia vivipara</i> coletadas na região da Lagoa da Conceição. Diferentes substratos foram utilizados, (A) acetato de <i>p</i> -nitrofenila (B) butirato de <i>p</i> -nitrofenila (C) acetato de α naftila (D) butirato de α naftila. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. ...	46
Figura 12. Níveis de proteínas carboniladas em amostras de fígado (A) e brânquias (B) de <i>Poecilia vivipara</i> coletadas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.	48
Figura 13. Análise de componentes principais (PCA) utilizando os dados de atividade de acetilcolinesterase (AChE) e biomarcadores em fígado dos animais coletados (EROD, GST, CbE NA, CbE NB, CbE pNB, CbE pNA, PCO, CAT, GPx e SOD). Os dados foram agrupados por ponto de coleta e os pontos estão sinalizados por símbolos coloridos explicitados na figura.	50
Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) utilizando os dados de biomarcadores das brânquias dos animais coletados (EROD, GST, PCO, GPx e SOD). Os dados foram agrupados por ponto de coleta e os pontos estão sinalizados por símbolos coloridos explicitados na figura.	50
Figura 15. Matriz de correlação de Spearman entre biomarcadores hepáticos e número de coliformes termotolerantes dos diferentes pontos de coleta na Lagoa da Conceição. Correlações positivas figuram na cor azul e correlações negativas figuram na cor vermelha. A intensidade da cor e o tamanho do círculo são proporcionais aos coeficientes de correlação. Apenas correlações significativas ($p < 0,05$) estão apresentadas.	51

Figura 16. Gráfico de radar representando os valores Z dos biomarcadores do fígado de <i>P. vivípara</i> coletados na Lagoa da Conceição (Rio vermelho = RIO, Rendeiras = REN, Canto da lagoa = CAN, Costa da Lagoa = COS). Local de referência (RIO) está representado pela linha pontilhada.	53
Figura 17. Scree plot com os valores de eigen de cada dimensão. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de fígado em <i>P. vivípara</i>	75
Figura 18. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 1. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de fígado em <i>P. vivípara</i>	76
Figura 19. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 2. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de fígado em <i>P. vivípara</i>	76
Figura 20. Scree plot com os valores de eigen de cada dimensão. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de brânquias em <i>P. vivípara</i> . ..	77
Figura 21. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 2. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de brânquias em <i>P. vivípara</i>	78
Figura 22. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 2. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de brânquias em <i>P. vivípara</i>	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados físico-químicos obtidos no momento da coleta dos espécimes de *Poecilia vivipara*. ¹ OD: oxigênio dissolvido². T: temperatura³. PSU: escala prática de salinidade. REN – Rendeiras, CAN – Canto da Lagoa, RIO – Rio Vermelho, COS – Costa da Lagoa. 39

Tabela 2. Níveis de alquilbenzenos lineares (ng.g⁻¹) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ng.g⁻¹) por peso seco detectados em amostras de sedimento e tecido de peixes *Poecilia vivipara* coletados na Lagoa da Conceição. REN- Rendeiras; CAN- Canto da Lagoa; COS – Costa da Lagoa; RIO – Rio Vermelho. 41

Tabela 3. Resultados das análises químicas de água dos pontos estudados. COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho. 69

Tabela 4. Níveis de alquilbenzenos lineares (ng.g-1) por peso seco detectado em peixes *P.vivipara* coletados nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO– Rio vermelho. 71

Tabela 5. Níveis de alquilbenzenos lineares (ng.g⁻¹) por peso seco detectado em amostras de sedimento coletadas nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho.....72

Tabela 6. Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ng.g-1) por peso seco detectados em tecido de peixes *P.vivipara* coletados nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho. 73

Tabela 7. Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ng.g⁻¹) por peso detectados em amostras de sedimento coletadas nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho.....74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C: graus Celsius
%: porcentagem
ABL: alquilbenzenos lineares
AChE: enzima acetilcolinesterase
ATCh: iodeto de acetiltiocolina
BSA: albumina sérica bovina
C.T.: coliformes termotolerantes
CAPES: A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CASAN: Companhia Catarinense De Águas e Saneamento
CAT: enzima catalase
CbE: enzimas carboxilesterases
CDNB: 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
cm: centímetro
DTNB: 5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico)
EROD: 7-etóxi-resorufina O-deetilase
EROs: espécies reativas de oxigênio; do inglês *Reactive Oxygen Species* (ROS)
FAPESC: Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado Santa Catarina
FATMA: Fundação do Meio Ambiente
IMA: Instituto do Meio Ambiente
g: grama
GPx: enzima glutatona peroxidase
GR: enzima glutatona redutase
GSH: Glutatona reduzida
GSSG: Glutatona dissulfeto
GST: enzima glutatona S-transferase
H₂O₂: peróxido de hidrogênio
HPA: hidrocarboneto policíclico aromático
IO-USP: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo
Kg: quilograma
L: litro
LABCAI: Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica
LABQOM: Laboratório de Química Orgânica Marinha
LAHIMAR: Laboratório de Hidráulica Marítima
LEI: Lagoa de Evapoinfiltração
M: molar
nM nanomolar
mM: milimolar
nm: nanômetro
NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato reduzida
n°: número
O² -: ânion superóxido
ONU: Organização das Nações Unidas
p: peso
p: significância estatística
POPs: poluentes orgânicos persistentes
PCB: bifenila policlorada, do inglês polychlorinated biphenyls
pH: potencial hidrogeniônico
PMF: Prefeitura Municipal de Florianópolis
PMSF: fenil-metil-sulfonil-fluoreto

s: segundos
SC: Santa Catarina
SES: Sistema de Esgotamento Sanitário
SLAV: Setor Laboratorial Avançado
SOD: enzima superóxido dismutase
UDESC: Universidade do Estado de Santa Catarina
UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina
UNEP: *United Nations Environment Programme*
USP: Universidade de São Paulo
v: volume
g: força centrífuga aplicada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 CRESCIMENTO URBANO E SEUS IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES COSTEIRAS	19
1.2 BIOMARCADORES E SEU USO EM ESTUDOS AMBIENTAIS.....	25
1.3 OBJETIVO GERAL	29
2 MATERIAIS E MÉTODOS	30
2.1 COLETA	30
2.2 ANÁLISES QUÍMICAS DA ÁGUA	32
2.3 ANÁLISE DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EM PEIXES E SEDIMENTOS.....	32
2.4 BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS	33
2.4.1 HOMOGENEIZAÇÃO DE TECIDOS	33
2.4.2 Determinação da concentração de proteínas.....	34
2.4.3 Análise da atividade acetilcolinesterase (AChE).....	34
2.4.5 Análise de atividade etoxiresorufina o-deetilase (EROD)	35
2.4.6 Análise de atividade glutational s-transferase (GST)	35
2.4.10 Análise de proteínas carboniladas (PCO).....	36
2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	37
4.3 ANÁLISES INTEGRADAS	48
5. CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE A – ANÁLISES QUÍMICAS DE ÁGUA.....	69
APÊNDICE B – NÍVEIS DE ALQUILBENZENOS LINEARES	71
APÊNDICE C – NÍVEIS DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA)	73
APÊNDICE D – DADOS COMPLEMENTARES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA).....	75

1 INTRODUÇÃO

1.1 CRESCIMENTO URBANO E SEUS IMPACTOS AMBIENTAIS EM REGIÕES COSTEIRAS

A população humana tem aumentado consideravelmente ao longo dos anos, com a expectativa de que ela atinja a marca de 9,7 bilhões de habitantes até 2050 (ONU, 2022). Esse aumento populacional gera uma série de problemas ambientais que perpassam desde o nosso sistema de produção e consumo, até a forma como lidamos com a nossa habitação. Atualmente cerca de 2,15 bilhões de pessoas habitam regiões costeiras (Reimann; Vafeidis; Honsel, 2023), mais de metade das megacidades se encontram nessas regiões (Brown et al., 2013) e estudos relatam que a tendência futura é de que a taxa de urbanização no litoral se mantenha ou aumente consideravelmente (Nicholls et al., 2008; Seto et al., 2011).

O aumento populacional em áreas costeiras leva a uma exploração mais intensa desse habitat, o que está relacionado ao declínio na qualidade da água, perda de biodiversidade e à degradação ambiental (Bricker et al., 2008a; Herbert-Read et al., 2022; Millennium Ecosystem Assessment (Program), 2005). Neste contexto, a superexploração de habitat e poluição figuram como fortes ameaças à biodiversidade marinha, com a poluição sendo particularmente preocupante devido ao alto alcance e à persistência dos contaminantes no ambiente (Kappel, 2005; O'Hara; Frazier; Halpern, 2021). Esse cenário é mais preocupante considerando que as espécies marinhas já se encontram em situação de risco maior que as espécies terrestres, com o impacto das atividades humanas sendo um dos principais responsáveis (Borgwardt et al., 2019; O'Hara; Frazier; Halpern, 2021).

A falta de planejamento urbano e de fiscalização da ocupação de áreas costeiras leva ao desmatamento de áreas de restinga, à poluição terrestre e à poluição dos corpos hídricos. Uma das maiores fontes de contaminação advém do esgoto sanitário, que frequentemente é introduzido no ambiente sem o devido tratamento, resultando em um influxo de contaminantes que causa um desequilíbrio da cadeia trófica e gera estresse fisiológico na fauna e flora locais (Bonin-Font et al., 2018; Montesdeoca-Esponda et al., 2019; Tabatabaie; Amiri, 2011). Segundo o relatório da UNEP (2016), o declínio mundial na qualidade da água de bacias de água doce é

devido ao descarte irregular de esgoto sanitário, sendo que cerca de um a cada 7 km de trechos de rio estão comprometidos por severa poluição orgânica.

Conservar os oceanos e garantir água potável e saneamento para todos estão entre as metas da Agenda de 2030 da Organização das Nações Unidas, que visa promover o desenvolvimento sustentável em escala global (UN, 2018). O Brasil também estabeleceu metas de universalização do saneamento básico, com a Lei Federal nº 14.026/2020 (também conhecida como novo Marco Legal do Saneamento), que estabelece o objetivo de prover coleta e tratamento de esgotos para 90% da população brasileira até 31 de dezembro de 2033 (Brasil, 2020).

Infelizmente existe um longo caminho a percorrer antes dessa meta ser atingida nacionalmente. Segundo dados de 2022 apresentados pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), em média somente 56,0% das residências no país possui cobertura de esgoto e apenas 52,2% do esgoto gerado recebe algum tipo de tratamento. A região sul do Brasil dispõe de cerca de 49,7% de tratamento de esgoto. O estado de Santa Catarina possui apenas 36,5% de coleta de esgoto com atendimento total de esgoto de apenas 29,1%.

O tratamento de esgoto tem como objetivo central a retirada de contaminantes da água coletada para devolvê-la ao ambiente purificada. Ele consiste em diferentes etapas, que podem ser divididas em: i) tratamento preliminar, que tem como objetivo a retirada de sólidos grosseiros; ii) tratamento primário que consiste na retirada de matéria orgânica sedimentada do esgoto; iii) tratamento secundário, que principalmente retira os nutrientes orgânicos da água; e iv) tratamento terciário, um tratamento mais avançado que busca remover contaminantes específicos (como contaminantes emergentes e não orgânicos) e o restante dos compostos orgânicos que não foram retirados no tratamento secundário (Von Sperling, 2005). A maior parte das estações de tratamento de esgoto no Brasil se limitam ao tratamento secundário (Von Sperling, 2016), no entanto, estudos mostram que o tratamento secundário é incapaz de retirar boa parte dos compostos orgânicos que contaminam um local, além de não ser efetivo para a retirada de contaminantes emergentes da água (Krzeminski et al., 2019; Walker, 2012). Portanto, mesmo nos locais que possuem sistemas de tratamento de esgoto podem ocorrer danos gerados pela presença dos efluentes.

O lançamento de efluentes de esgoto em corpos hídricos também acarreta um maior aporte de nutrientes na água, o que pode levar à eutrofização, alterando suas características físicas e químicas, desestabilizando processos biogeoquímicos do local. Há estudos em diferentes regiões costeiras urbanizadas do Brasil que correlacionam o estado de eutrofização local com descargas de esgoto (Braga et al., 2000; Carreira; Wagener; Readman, 2004; Sousa et al., 2016). Além disso, a contaminação por esgoto sanitário está relacionada a uma série de distúrbios fisiológicos e comportamentais em organismos expostos, podendo diminuir sua capacidade de alimentação, fuga e desenvolvimento (Babić et al., 2017; Mccallum et al., 2017; Melvin; Buck; Fabbro, 2016; Scott; Sloman, 2004; Willett; Aluru, 2024). Desta forma, tal contaminação figura entre os principais motivos de desaparecimento de espécies marinhas em regiões de alta densidade populacional (O'Hara; Frazier; Halpern, 2021).

O esgoto sanitário também possui uma gama abrangente de outros contaminantes de origem biológica. Em geral ele contém uma grande diversidade de bactérias, vírus e protozoários patogênicos (Abessa et al., 2005; Fumian et al., 2019). A matriz do esgoto também pode comportar contaminantes orgânicos advindos de atividades humanas cotidianas, como alquilbenzenos lineares (ABL) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

Os ABL são compostos químicos utilizados principalmente para a síntese de surfactantes ânionicos, necessários para a produção de detergentes domésticos e industriais. Cerca de 1 a 3% dos ABL se mantém em seu estado original no produto final e são introduzidos ao esgoto por meio do uso destes detergentes. Devido a isso, eles é utilizado como marcador de contaminação por esgoto em estudos ambientais (Eganhouse, 1986; Eganhouse; Blumfield; Kaplan, 1983).

HPAs são compostos químicos formados pela junção de dois ou mais anéis aromáticos condensados (Caruso; Alaburda, 2008) e sua origem antrópica se dá principalmente pela queima incompleta de madeira, óleos, produtos derivados do petróleo e escapamento de veículos automotores. A exposição a estes compostos pode levar a um desequilíbrio fisiológico e uma resposta alterada de enzimas do sistema de biotransformação e do sistema de defesa antioxidante (Santana et al., 2018).

Adicionalmente, efluentes sanitários também podem conter contaminantes emergentes, compostos que podem apresentar risco à saúde humana e ao meio ambiente, mas cuja prevalência nos ambientes naturais ainda não é regulamentada, como medicamentos, produtos de cuidado pessoal e drogas ilícitas (Díaz-Cruz et al., 2009; Zhang; Hibberd; Zhou, 2008). Estudos relacionados aos efeitos decorrentes da exposição a tais compostos têm sido mais investigados recentemente em diferentes espécies aquáticas (Fontes; Maranhão; Pereira, 2020), mas ainda existe uma carência de trabalhos em diversas escalas ecossistêmicas, sendo que seus níveis no ambiente ainda não foram regulamentados (Gil et al., 2017; Martín-Pozo et al., 2019).

Esse acúmulo de contaminantes se torna mais preocupante em ambientes de baixa taxa de renovação de água e alta produtividade, como são os casos das lagunas costeiras (Bricker et al., 2008b; Smith, 2003). Lagunas costeiras são definidas como uma depressão geomorfológica preenchida com água salobra e separada do oceano por uma barreira natural. Elas não são totalmente isoladas e exibem canais de comunicação com o oceano, além de possuírem um influxo de água e nutrientes proveniente de corpos hídricos que as circundam. Por essas características, as lagunas são locais de considerável importância ecológica, com uma grande quantidade de recursos naturais e diversidade de espécies, além de serem considerados berçários naturais para uma grande parcela de espécies marinhas (De Ledo, 1998; Newton et al., 2018).

A Lagoa da Conceição é uma laguna localizada na ilha de Florianópolis, em Santa Catarina, e sua paisagem já mostra sinais de degradação causada pela urbanização (**Figura 1**). Antes da década de 60, a área da Lagoa da Conceição abrigava uma pequena comunidade que tinha como principais formas de subsistência a pesca artesanal e atividades agropecuárias (**Figura 2**). Após esse período o local sofreu com um influxo de novos moradores, evento incentivado por novas políticas de habitação de balneários e pela maior demanda por moradia, seguida da instalação de instituições como a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e a Eletrosul Centrais Elétricas (Vaz, 2008). Como consequência foi observada uma mudança na dinâmica econômica, cultural e ambiental no local.



Figura 1. Lagoa da Conceição atualmente. Região do centrinho e Avenida das Rendeiras. Imagem de Ricardo Faraco.

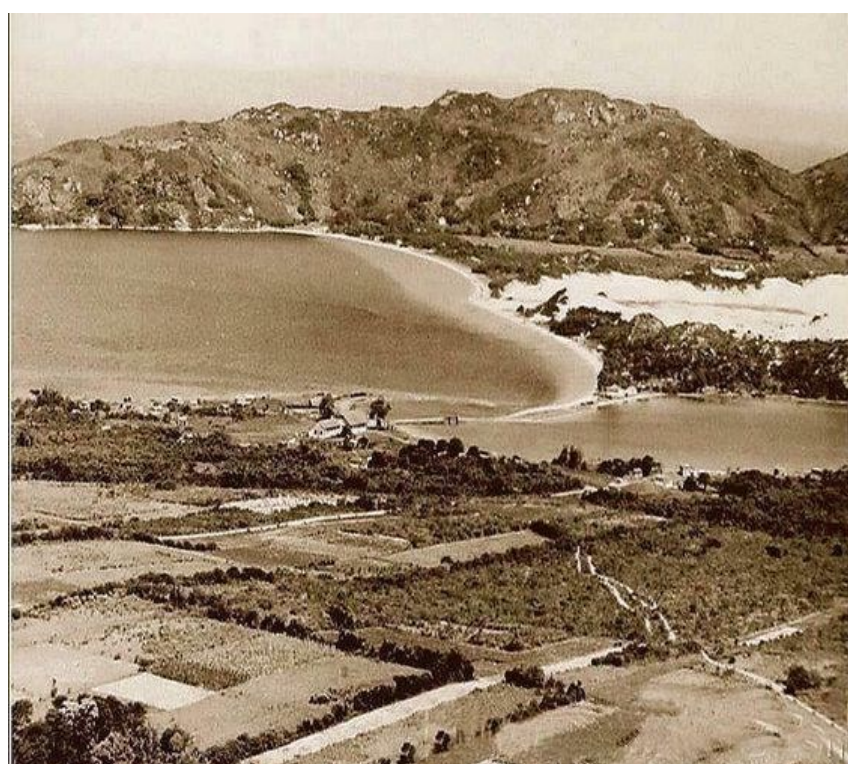


Figura 2. Lagoa da Conceição na década de 60. Região do centrinho e da Avenida das Rendeiras. Imagem de Maurício Cardoso Bento.

A ocupação do distrito da Lagoa, apesar de ter sido incentivada, não ocorreu de forma organizada e com a estrutura necessária. Historicamente, o local apresenta precariedade no saneamento básico, fazendo com que um aporte cada vez maior de efluentes de esgoto seja lançado na laguna. Modificações causadas pela

contaminação foram relatadas por Silva e colaboradores (2017) que mostraram que o índice trófico da Lagoa da Conceição teve uma alteração em 2007, saindo de oligotrófico para eutrófico, com algumas áreas hipertróficas. Cabral e colaboradores (2019b) observaram indícios de vazamento de esgoto na Lagoa da Conceição e demonstram que a urbanização alterou significativamente a qualidade ambiental da lagoa.

Segundo o Instituto Trata Brasil (2024), a cidade de Florianópolis apresentava em 2022 cerca de 64,57% de atendimento total de esgoto, se encontrando na posição 55 do ranking de saneamento básico. A cidade conta com oito Sistemas de Esgotamento Sanitário (SES), sendo que dois deles: SES – Barra da Lagoa e SES – Lagoa da Conceição, cobrem a região deste estudo. Esses dois sistemas, no entanto, não atendem toda a população no entorno da laguna, fazendo com que muitos imóveis da região usem sistemas de coleta e tratamento alternativos (PMF, 2019).

Projeções demográficas de Florianópolis indicam que o Distrito da Lagoa da Conceição sofrerá um aumento populacional de cerca de 74% até 2060 (GUARDA, 2012; PROSUL, 2012). Neste sentido, o sistema de esgoto, que já não supre as necessidades da região, deverá ser expandido e melhorado para prover condições mínimas de saneamento no futuro.

Dados da Prefeitura Municipal de Florianópolis (PMF), por via do programa SE LIGA NA REDE, relatam que 75,1% das casas avaliadas na cidade demonstram irregularidades sanitárias, com muitas não possuindo ligação com a rede de esgoto. No bairro da Lagoa da Conceição, das 177 casas inspecionadas, 133 apresentaram irregularidades. Esse padrão se estende em todos os bairros avaliados, e mesmo as regiões com alta cobertura de coleta e tratamento esgoto possuem uma grande parcela de imóveis irregulares (PMF; CASAN; ECHOA ENGENHARIA, 2024).

Recentemente, o sistema lagunar ainda sofreu com desastres ambientais, como o rompimento da barragem da lagoa de Evapoinfiltração (LEI) da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN), localizado próximo à Avenida das Rendeiras, em 2021. Este acidente levou a um grande influxo de efluentes de esgoto tratado para o local e gerou uma série de impactos urbanos e ecológicos, agravando severamente o estado de degradação ambiental da Lagoa.

Assim, estudos que visem obter informações adicionais sobre o estado de conservação da Lagoa da Conceição são de alta relevância e importância para o estabelecimento de políticas públicas que possam reverter o estado de degradação atual da Lagoa da Conceição.

1.2 BIOMARCADORES E SEU USO EM ESTUDOS AMBIENTAIS

Análises de impacto ambiental podem ser formadas por três componentes principais: físico, biótico e socioeconômico (Bastos; Almeida, 1999). Os contaminantes podem induzir efeitos na fisiologia/metabolismo dos organismos expostos, que podem ser aferidos por meio de análises em parâmetros biológicos, como alterações na atividade de enzimas, transcrição de genes, entre outros, considerados, portanto, biomarcadores.

Os biomarcadores de contaminação aquática em organismos são boas ferramentas para avaliar o nível de degradação ambiental em estudos ecotoxicológicos de um determinado local. Os biomarcadores, particularmente os moleculares e bioquímicos, nos permitem reconhecer sinais de contaminação antes de seus efeitos atingirem níveis maiores de organização biológica, permitindo que ações que visam a conservação ambiental sejam mais efetivas. O uso de biomarcadores também proporciona informações sobre os efeitos deletérios que os contaminantes causam na fisiologia do(s) organismo(s) estudado(s) (Hook; Gallagher; Batley, 2014).

Van der Oost, Beyer e Vermeulen (2003) definem biomarcadores como qualquer alteração fisiológica causada por um xenobiótico. Podemos separar biomarcadores em duas classes distintas: biomarcadores de efeito e biomarcadores de exposição. Biomarcadores de exposição indicam que o organismo foi exposto a algum tipo de xenobiótico, servindo como uma ferramenta para avaliar a contaminação local. Biomarcadores de efeito têm como função indicar os efeitos de um contaminante na fisiologia do organismo estudado.

Uma abordagem com múltiplos biomarcadores permite um entendimento mais claro sobre a contaminação do local estudado e seus efeitos nos organismos residentes (Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003). Alguns biomarcadores podem

estar relacionados a processos de defesa fisiológica, como o sistema de defesa antioxidante e o sistema de biotransformação de xenobióticos.

O processo de biotransformação de xenobióticos é um mecanismo bioquímico que ocorre em diversos órgãos, mas tem sua maior atividade no fígado. Ele consiste em 3 fases e tem como objetivo final a transformação química de um xenobiótico para deixá-lo mais hidrossolúvel e facilitar sua excreção da célula (citação). A fase I consiste na transformação de um composto por reações de oxidação ou redução, realizada principalmente pelas enzimas da família citocromo P450 (CYPs) e as flavinas monooxigenases (FMO), a fase II é caracterizada pela conjugação da molécula exógena com uma molécula endógena e é mediado principalmente pelas enzimas glutathione S-transferase, as sulfotransferases, entre outras. A fase III corresponde à excreção da molécula transformada da célula, mediada por proteínas transportadoras específicas (Rougée; Richmond; Collier, 2014; Schlenk et al., 2008).

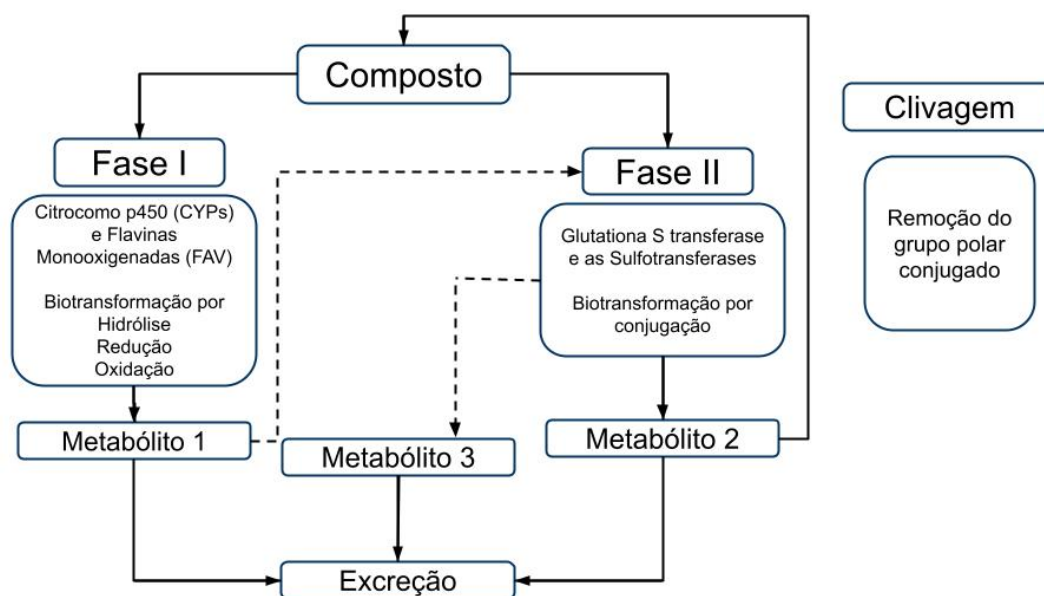


Figura 3 Vias de biotransformação de xenobióticos. O composto passa por duas fases principais: a fase I, também chamada de fase de oxidação, mediada por CYPs, onde poderá ir direto para a excreção ou passar pela fase II, também chamada de conjugação, performada pelas GSTs. É possível ocorrer também a reciclagem do composto, com a retirada de seu grupo conjugado via clivagem. Adaptada de Rougée; Richmond; Collier (2014).

A contaminação por xenobióticos, além de ativar o sistema de biotransformação, também pode resultar no aumento de oxigênio (EROs). O

organismo naturalmente produz EROs durante processos fisiológicos normais (como a respiração celular) e o sistema de defesa antioxidante tem como objetivo impedir os danos causados por essas moléculas. Quando ocorre uma formação exacerbada de EROs, o equilíbrio entre estes pró-oxidantes e os sistemas de defesa antioxidante é alterado, resultando num estado de estresse oxidativo, causando danos em diferentes tecidos e moléculas.

O sistema de defesa antioxidante pode ser classificado em enzimático e não enzimático. O primeiro é constituído principalmente pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR) (Regoli; Giuliani, 2014).

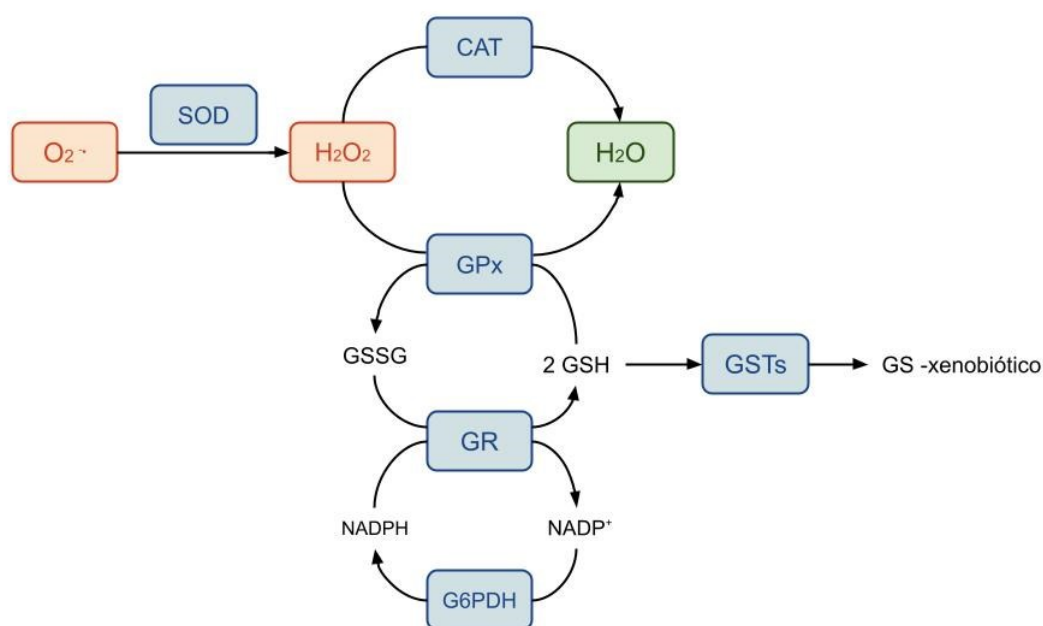


Figura 4. Representação das vias enzimáticas do sistema de defesa antioxidante. O ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) passa pela transformação mediada pela enzima Superóxido Dismutase (SOD), gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que pode ser convertido em água (H_2O) tanto pela enzima Glutathiona Peroxidase (GPx) quanto pela enzima Catalase (CAT). O mecanismo de ação da GPx é dependente de duas glutathionas reduzidas (GSH), que são convertidas em glutathiona oxidada (GSSG), que por sua vez dependem da enzima glutathiona redutase (GR) e do agente redutor fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida (NADPH) para sua reciclagem, o $NADP^+$ resultante deste processo é, por sua vez, reduzido a NADPH novamente pela ação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH). Adaptado de Bastolla (2017).

Enzimas da classe das b-esterases, como é o caso da acetilcolinesterase (AChE) e das carboxilesterases (CbE) também são potenciais biomarcadores de contaminação aquática (Sole; Bassols; Labrada-Martagón, 2022). A AChE é uma enzima amplamente distribuída no cérebro e músculo de peixes e sua função principal é a de regular o sistema de comunicação neuronal colinérgico (Massoulié et al., 1993). As carboxilesterases (CbE), por sua vez, são enzimas de desintoxicação geral que atuam hidrolisando compostos que possuem grupos funcionais como éster, amido, tioéster e ácido carboxílico (Hatfield et al., 2016; Yan, 2014). A atividade de esterases pode ser inibida por pesticidas organofosforados, carbamatos, além de metais e contaminantes emergentes, o que torna estas enzimas bons indicadores de contaminação por estas classes de contaminantes (De Lima; Roque; De Almeida, 2013; Olivares-Rubio; Espinosa-Aguirre, 2021; Solé; Sanchez-Hernandez, 2015).

Por diversas razões é inviável a realização de análises de biomarcadores em todas as classes de organismos que compõem o ecossistema de um determinado local. Assim, estudos ecotoxicológicos fazem uso de organismos modelo e com os resultados obtidos tentam extrapolar os efeitos para os demais dos organismos que habitam o local estudado.

Peixes são amplamente utilizados como organismos modelo em estudos de ecotoxicologia pois podem ser encontrados em quase todos os ambientes aquáticos. Além disso, são animais sensíveis a contaminantes e que exercem um papel importante na manutenção do equilíbrio ecológico do ecossistema que habitam (Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003; Willett; Aluru, 2024).

Peixes da espécie *Poecilia vivipara*, também conhecidos como guarus ou barrigudinhos, são peixes teleósteos, da ordem Cyprinodontiformes, Família Poeciliidae. É um animal de corpo alongado, comprimido lateralmente, caracterizado por uma mancha arredondada escura na região lateral do corpo. Possui dimorfismo sexual, com os machos sendo menores que as fêmeas e o desenvolvimento embrionário é vivíparo (Mendonça; Andreatta, 2001).



Figura 5 Peixe da espécie *Poecilia vivipara*. Imagem por Slaboch R.

Esse poecilídeo é encontrado em ambientes lênticos, eurihalinos e possui ampla distribuição, habitando toda a costa brasileira e parte da Costa Rica. É uma espécie não migratória, que forma populações fixas principalmente onde ocorre encontro de águas. É um animal eurialino, resiliente, euritérico, de fácil captura e manutenção em laboratório (Trexler; Travis, 1990). Estas características o tornam um animal modelo para estudos científicos, principalmente das áreas de bioquímica, embriologia e ecotoxicologia (Mattos et al., 2010; Piazza et al., 2019; Zebral et al., 2020).

Os poecilídeos também são utilizados em trabalhos de avaliação e monitoramento ambiental, devido ao seu potencial como animais bioindicadores (Batista et al., 2024). Diferentes estudos de campo demonstram que a poecília é um animal responsivo à poluição, demonstrando alterações histológicas e genotóxicas em animais provenientes de locais contaminados (Gomes-Silva et al, 2020; Paulo; Fontes; Flores-Lopes, 2012).

OBJETIVOS

1.3 OBJETIVO GERAL

Associar biomarcadores bioquímicos de contaminação aquática em peixes *P. vivipara* com parâmetros de qualidade ambiental na Lagoa da Conceição (Florianópolis – SC).

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar parâmetros químicos associados a qualidade ambiental em diferentes pontos da Lagoa da Conceição
 - Quantificar níveis de contaminantes relacionados a atividade antrópica (ABL, HPA) na Lagoa da Conceição
 - Avaliar a atividade de biomarcadores de contaminação aquática em peixes *P. vivipara* coletados na Lagoa da Conceição.
 - Avaliar biomarcadores de dano oxidativo (PCO) em peixes *P. vivipara* coletados na Lagoa da Conceição.
- Relacionar de forma integrada respostas bioquímicas encontradas em peixes *P. vivipara* coletadas em diferentes pontos da Lagoa da Conceição.
- Associar respostas bioquímicas e parâmetros químicos de qualidade de água nos diferentes locais avaliados

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETA

Para este estudo foram selecionados quatro locais amostrais em áreas com diferentes níveis de urbanização na Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC) (**Figura 6**). Em cada local amostral foram realizadas coletas concomitantes de peixes, água e sedimento. As coletas foram realizadas no verão de 2023 (entre os meses de janeiro e março) de forma pontual, totalizando 4 coletas, uma em cada ponto.

Cada ponto exibe características distintas, variando principalmente na densidade urbana e hidrodinâmica. Avenida das Rendeiras é um local com intenso trânsito de veículos e alta densidade de comércio, dentre os pontos estudados também é o ponto mais próximo ao local de ocorrência do acidente LEI-CASAN de 2021. A Costa da Lagoa, é um local relativamente isolado, de acesso apenas por trilha ou por barco, de baixa densidade urbana, mas muito visitado na temporada. O Canto da Lagoa é um local residencial, populoso e com baixa movimentação de água (Silva et al, 2017). O ponto do Rio Vermelho, por sua vez, é dentro de uma unidade de conservação, o Parque Estadual do Rio Vermelho (PAERVE), portanto dos pontos estudados é aquele que sofre menos com efeitos diretos da urbanização.

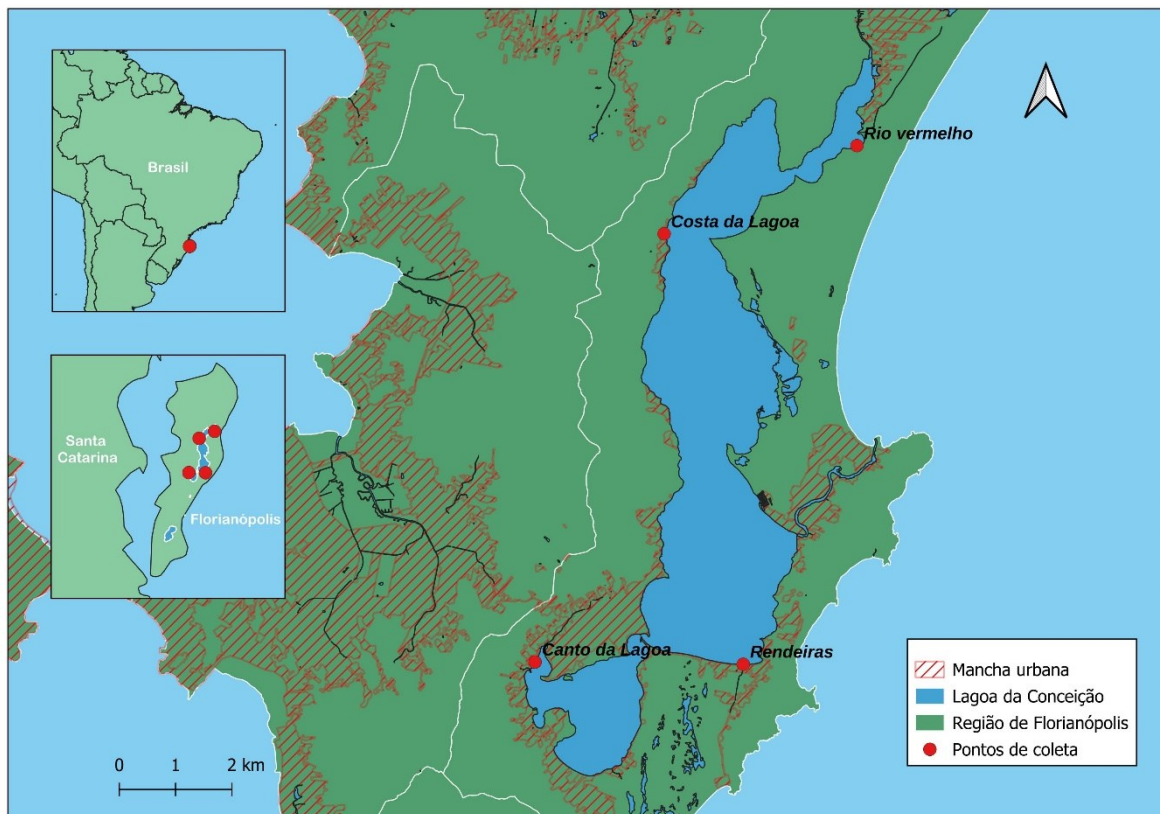


Figura 6. Mapa da Lagoa da Conceição (Florianópolis, Santa Catarina – Brasil) com indicação dos locais de coleta dos animais (Canto da Lagoa, Rendeiras, Costa da Lagoa e Rio Vermelho) e sua proximidade a áreas urbanizadas. Fonte: Elaborado pela autora.

Os espécimes de *P. vivipara* foram coletados fazendo uso de diferentes técnicas que variaram de acordo com as características de cada local de amostragem. A coleta foi realizada principalmente através do uso de redes de pesca, puçás e armadilhas de pesca do tipo *minnow trap*, utilizando ração como isca. Aproximadamente 50 animais foram capturados por local amostral. Em seguida, os animais foram acondicionados em caixa de transporte aerada e foram encaminhados ao Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica (LABCAI).

A biometria de todos os animais, incluindo informações sobre o comprimento total (cm), peso (g), e sexo foi realizada utilizando-se paquímetro, balança semi-analítica e análise macroscópica, respectivamente. Em seguida, os animais foram eutanasiados por dissecação cervical e os tecidos foram acondicionados em

microtubos. Foram coletadas, em *pool* de três indivíduos de cada sexo, separadamente, amostras de cérebro, fígado e brânquias em cada microtubo, totalizando o número amostral de 12 *pools* de cada tecido por local, que foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80°C para a realização das análises. Após a retirada dos tecidos (cérebro, fígado e brânquias) as carcaças foram armazenadas congeladas e encaminhadas para análises de ABLs e HPAs.

Os procedimentos de captura, eutanásia e coleta de tecidos foram previamente autorizados pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade ICMBio/SISBIO nº 82787 e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA-UFSC) nº 9093200422.

2.2 ANÁLISES QUÍMICAS DA ÁGUA

As análises químicas para avaliação da qualidade da água da Lagoa (n = 3 por local) foram realizadas de acordo com os parâmetros descritos nos seguintes documentos: *Standard Methods* 1060, NBR 9898 e NBR 9897 (ABNT, 1987, 2003). Todas as análises químicas foram realizadas pela empresa QMC Saneamento, sediada em Florianópolis, SC.

A preparação de amostras foi realizada acordo com o protocolo *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, Edição 22, (APHA, 2005) com método padronizado para alcalinidade total (SM 2320B), nitrato (SM 4110 B), nitrito (SM 4500-NO₂ B), nitrogênio amoniacal total (EPA 350.2-1974), nitrogênio total (SM 4500 N C), sólido total seco a 104°C (SM 2540 B), turbidez (SM 2130 B), coliformes fecais (SM 9221 E), coliformes totais (SM 9221 B), demanda bioquímica de oxigênio – DBO (SM 5210 B), demanda química de oxigênio - DQO (SM 5220 D), detergente (SM 5540 C), fenóis totais (SM 5530 D), P (SM 4500-P E), Cd, Pb, Cu, Cr, Ni e Zn (SM 3111 B), Hg (Sm 3112 B), óleos e graxas (SM 5520 D).

2.3 ANÁLISE DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EM PEIXES E SEDIMENTOS

As análises de contaminantes orgânicos nos peixes e sedimentos foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica Marinha do Instituto Oceanográfico da

Universidade de São Paulo (LabQOM, IO, USP). Foram utilizados *pools* de amostras de carcaças de *P. vivipara* (n = 1 por local) e de sedimento (n = 3 por local). Em ambos os casos as amostras passaram por um processo de liofilização por 96 h (liofilizador Thermo Savant – modulo D), posteriormente foram maceradas em almofariz com pistilo e armazenadas em frascos de vidro previamente limpos com acetona.

A análise de ABL e HPA foram conduzidas por meio de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS/MS) utilizando o cromatógrafo a gás equipado com espectrômetro de massas triplo quadrupolo (GC/MS/MS) 7890/7010B da Agilent Technologies. O procedimento de extração, condições cromatográficas e quantificação dos analitos foi adaptada de Combi et al. (2013), UNEP (1992) e Macleod et al. (1985).

2.4 BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS

2.4.1 Homogeneização de tecidos

As amostras de fígado e brânquias foram homogeneizadas em tampão de Tris-HCl (50 mM pH 7,4), contendo 150 mM KCl, 1 mM DTT e 0,5 mM do inibidor de proteases fenil-metil-sulfonil-fluoreto (PMSF), na proporção de 1:5 (massa:volume) com pistilo. Em seguida, o homogeneizado foi submetido a uma centrifugação de 9.000 x g por 30 min a 4°C para obtenção da fração sobrenadante (S9). A fração microssomal foi obtida através de uma segunda centrifugação da fração S9 a 100.000 x g por 70 min a 4°C. O sobrenadante dessa segunda centrifugação (fração citosólica) foi acondicionado em novo microtubo e armazenado em ultrafreezer -80°C, e a fração microssomal foi ressuspensa em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4), contendo 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,1 M KCl e glicerol 20%. A fração microssomal também foi armazenada em ultrafreezer a -80°C. A fração microssomal foi utilizada para a determinação de proteínas totais e atividade EROD e na fração citosólica foram determinadas a concentração de proteínas totais, atividade GST, SOD, CAT, GPx e CbE, e níveis de PCO.

As amostras de cérebro foram homogeneizadas da forma descrita acima em tampão Tris-HCl (50 mM pH 7,4), contendo 150 mM KCl. O homogeneizado passou por uma centrifugação de 30 min a 9000 x g a 4°C. A fração sobrenadante foi utilizada para a determinação de proteínas totais e atividade AChE.

2.4.2 Determinação da concentração de proteínas

A determinação de proteínas totais presentes nas frações citosólica e microsomal foi realizada pelo método de Bradford (Bradford, 1976), através de uma leitura pontual a 595 nm no espectrofluorímetro (SpectraMax M5, Molecular Devices). A absorbância das amostras foi comparada com uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) para a obtenção da concentração da massa de proteínas de cada amostra.

2.4.3 Análise da atividade acetilcolinesterase (AChE)

Para a análise da atividade AChE foram utilizadas as frações sobrenadantes de amostras do cérebro dos animais coletados. A atividade foi determinada pelo método colorimétrico de Ellman (1961) adaptado para microplacas, utilizando iodeto de acetiltiocolina (ATCh) (0,5 mM) como substrato e avaliando a conjugação de tiocolina com ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) (0,35 mM) a 412 nm, 25°C. As soluções do ensaio foram preparadas em tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 8,0. Os resultados estão expressos em mU/mg de proteína.

2.4.4 Análise da atividade carboxilesterases (CbE)

Para a análise da atividade de carboxilesterases (CbE) foram utilizadas as frações citosólicas de amostras do fígado dos animais coletados. Foram utilizados quatro substratos comerciais: acetato de *p*-nitrofenila (pNPA), butirato de *p*-nitrofenila (pNPB), acetato de α -naftila (1-NA), butirato de α -naftila (1-NB), para se avaliar a atividade de diferentes isoformas de CbE nas amostras.

Os ensaios utilizando os substratos acetato de *p*-nitrofenila (pNPA), butirato de *p*-nitrofenila (pNPB) foram feitos utilizando o método descrito por Hosokawa e Satoh (2001) adaptado para microplacas. A absorbância do poço foi avaliada a 405 nm, a 25°C, por 5 min. Para ensaios com os substratos acetato de α naftila (1-NA), butirato de α -naftila (1-NB), a absorbância foi medida em placas UV-star, no comprimento de onda de 235 nm, a 25°C, por 5 min (Mastropaolo; Yourno, 1981).

Para todos os ensaios o meio de reação foi preparado utilizando o tampão fosfato de potássio 0,5 M pH 7,4 e os substratos foram utilizados na concentração final de 1 mM. Os resultados estão expressos em mU/mg de proteína

2.4.5 Análise de atividade etoxiresorufina *o*-deetilase (EROD)

A atividade EROD foi analisada utilizando a fração microssomal de amostras de fígado e brânquias dos animais coletados. O ensaio foi realizado analisando o aumento de fluorescência da resorufina no espectrofluorímetro (Ex/Em 530nm/585 nm) (Burke; Mayer, 1974), com NADPH na concentração de 1,67 mM e etoxiresorufina a 2 μ M, com tampão TRIS 50 mM NaCl 0,1 M, pH 7,4 a 25°C. Os resultados estão expressos em pmol/min/mg de proteína.

2.4.6 Análise de atividade glutathiona *s*-transferase (GST)

A atividade de GST foi analisada utilizando a fração citosólica de fígado e brânquias dos animais coletados. O ensaio foi realizado segundo Keen, Habig e Jakoby (1976), em que o aumento da absorbância gerada pela conjugação do 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) com a glutathiona reduzida (GSH) é proporcional à atividade da enzima. A alteração de absorbância foi registrada no espectrofluorímetro no comprimento de onda de 340 nm durante 3 min. As condições do ensaio foram: GSH 1 mM, CDNB 1 mM (5,5% etanol), tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0) e 25°C. Os resultados estão expressos em U/mg de proteína.

2.4.7 Análise de atividade superóxido dismutase (SOD)

A avaliação da atividade superóxido dismutase (SOD) foi realizada utilizando a fração citosólica de fígado e brânquias dos animais coletado. O ensaio foi feito de acordo com o método descrito por McCord e Fridovich (1969), baseado na inibição da redução do citocromo c pelo $O_2^{\cdot-}$ (ânion superóxido), produzido pelo sistema xantina / xantina oxidase. A absorbância das amostras em placa foi registrada a 550 nm na temperatura de 25°C. A concentração final da reação foi: tampão fosfato de potássio

0,05 M (pH 7,8), contendo EDTA 100 μ M, Xantina 50 μ M, KCN 20 μ M, e citocromo c 10 μ M. Os resultados estão expressos em U/mg de proteína.

2.4.8 Análise de atividade catalase (CAT)

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada através degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio. O ensaio foi realizado utilizando a fração citosólica de fígado e brânquias dos animais coletado. A reação foi lida no espectrofotômetro no comprimento de onda de 240 nm, utilizando um meio de reação contendo TRIS 1 M; EDTA 5 mM, pH 8,0 e H_2O_2 10,4 mM. Os resultados estão expressos em U/mg de proteína.

2.4.9 Análise de atividade glutathiona peroxidase (GPx)

A atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx) foi quantificada através da oxidação do NADPH, avaliada espectrofotometricamente no comprimento de onda de 340 nm. A reação consistiu na redução do peróxido de cumeno (Cu-OOH) pela GPx utilizando glutathiona reduzida (GSH). Esse processo gera glutathiona dissulfídica (GSSG), que é reduzida pela glutathiona redutase (GR) em uma reação dependente do doador de elétrons NADPH (Wendel, 1981). As concentrações no ensaio foram: tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), contendo EDTA 0,005 M; GR 1 U/mL; GSH 1 mM; NADPH 0,22 mM e a reação foi iniciada com a adição de Cu-OOH 10 mM. . O ensaio foi realizado utilizando a fração citosólica de fígado e brânquias dos animais coletado. Os resultados estão expressos em mU/mg de proteína

2.4.10 Análise de proteínas carboniladas (PCO)

Foi realizada a análise do nível de proteínas carboniladas nas amostras de sobrenadante das brânquias e do fígado dos animais coletados utilizando o kit OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit da empresa Cell Biolabs, Inc. A quantidade de proteínas carboniladas em cada amostra foi obtida através da derivação do grupo carbonila com o composto dinitrofenilhidrazina, que é detectado pelo anticorpo primário anti-DNP e posteriormente pelo anticorpo secundário anti-HRP. A reação gera uma cor azulada que foi registrada pontualmente a 450nm no espectrofluorímetro

(SpectraMax M5, Molecular Devices). A absorbância da amostra foi comparada com uma curva padrão de BSA oxidado/não oxidado para obtenção do resultado final (Cell Biolabs, 2023). Os dados estão expressos em nmol/mg de proteína.

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados estão apresentados como média e desvio padrão. Os resultados das atividades de biomarcadores enzimáticos (EROD, GST, AChE, CbE, CAT, SOD E GPX) e PCO foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homocedasticidade de Levene. Foi realizada a comparação dos resultados de todos os pontos entre si. Para dados paramétricos foi realizado o teste ANOVA com pós teste de Tukey e para dados não paramétricos o teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunns. Todas as análises citadas acima foram feitas utilizando-se o software Graphpad 9.3.1 assumindo-se diferenças significativas quando $p < 0,05$.

A Análise de Componentes Principais (PCA) e de correlação de Spearman foram realizadas utilizando o software R versão 4.3.2, por meio dos pacotes FactorMine e FactorExtra.

Para este trabalho, calculamos o Índice Integrado de Biomarcadores (IBR) segundo o proposto por Sanchez e Colaboradores (2013) e utilizando os resultados dos biomarcadores avaliados no fígado, uma vez que neste estudo este tecido se mostrou mais responsivo às diferenças em qualidade de água de cada ponto. (Sanchez; Burgeot; Porcher, 2013). RIO foi adotado como área de referência para os cálculos de IBR devido aos resultados das análises químicas e de biomarcadores obtidos neste trabalho, assim como em um estudo prévio realizado por Cabral e colaboradores (2019b) que sugere este local como ponto referência.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES QUÍMICAS

As amostras de água da COS apresentaram os maiores índices de coliformes (termotolerantes e totais) em relação aos demais locais (**Figura 7A**). Essa região também apresentou níveis de alcalinidade menores em relação ao RIO (**Figura 7C**).

O local de coleta nas REN apresentou valores de DBO significativamente maiores em comparação ao RIO (**Figura 7E**).

Segundo a legislação ambiental vigente (CONAMA 357/2005), águas salobras de classe 1 se referem aos corpos hídricos que podem ser destinadas à proteção das comunidades aquáticas, atividades de recreação com contato direto, pesca, abastecimento (após tratamento) e irrigação. Para essa classe de águas, a resolução prevê que o número de coliformes termotolerantes (CT) não pode ultrapassar o valor de 1000 por 100 mililitros em 80% de 6 amostras coletadas ao longo do ano. Nas amostras coletadas neste trabalho, foi observado que os locais COS e REN excederam este valor estabelecido pela legislação brasileira, com o valor médio obtido na água da COS atingindo mais do que o dobro permitido (2.766,67 NMP/100mL) (**APÊNDICE A**).

Segundo relatórios do LAHIMAR (Laboratório de Hidráulica Marítima – UFSC), elaborados no mesmo mês em que foi realizada a coleta nos referidos locais, os rios que desaguam na região central da Lagoa apresentaram valor de CT relativamente próximos aos observados na COS (LAHIMAR, 2023). Um trabalho avaliando dados de balneabilidade da Fundação do Meio Ambiente (FATMA), atualmente Instituto do Meio Ambiente de Santa Catarina (IMA), no período de 2000 a 2018 relacionou maiores números de *Escherichia coli* a regiões com menor movimentação de água e maior densidade populacional (Machado, 2019), e avaliações na região costeira de Florianópolis apresentaram números de CT variando de 9.3×10^1 a 1.58×10^6 NMP/100 mL, com as maiores descargas de coliformes ocorrendo nas áreas mais urbanizadas da ilha (Garbossa et al., 2017).

Os níveis de carbono orgânico total medidos se encontraram acima dos limites permitidos pela CONAMA 357/2005 (3 mg/L) em quase todos os locais estudados, sendo apenas o CAN que apresentou níveis adequados (**APÊNDICE A**). Altos níveis de carbono orgânico podem levar à depleção de oxigênio dissolvido na água, resultando na piora da sua qualidade (Shetty; Goyal, 2022).

As amostras de água das REN apresentaram maior DBO em comparação às do RIO. Alto nível de DBO pode ser um indicativo de poluição orgânica (Jouanneau et al., 2014) associada à urbanização (Xu et al., 2020). No caso da Lagoa da Conceição,

rios próximos às regiões urbanizadas apresentam maiores indícios de contaminação orgânica, apresentando níveis menores de oxigênio dissolvido e altos níveis de nutrientes dissolvidos como fósforo e nitrogênio (Cabral; Bercovich; Fonseca, 2019).

Tabela 1. Dados físico-químicos obtidos no momento da coleta dos espécimes de *Poecilia vivipara*. ¹ OD: oxigênio dissolvido². T: temperatura³. PSU: escala prática de salinidade. REN – Rendeiras, CAN – Canto da Lagoa, RIO – Rio Vermelho, COS – Costa da Lagoa.

	REN	CAN	RIO	COS
pH	6,67	8,3	8,67	6,8
OD%¹	53,4	201	81,3	51,4
T°C²	27,04	31,6	32,4	24,86
PSU³	0,15	10,8	14,81	9,04

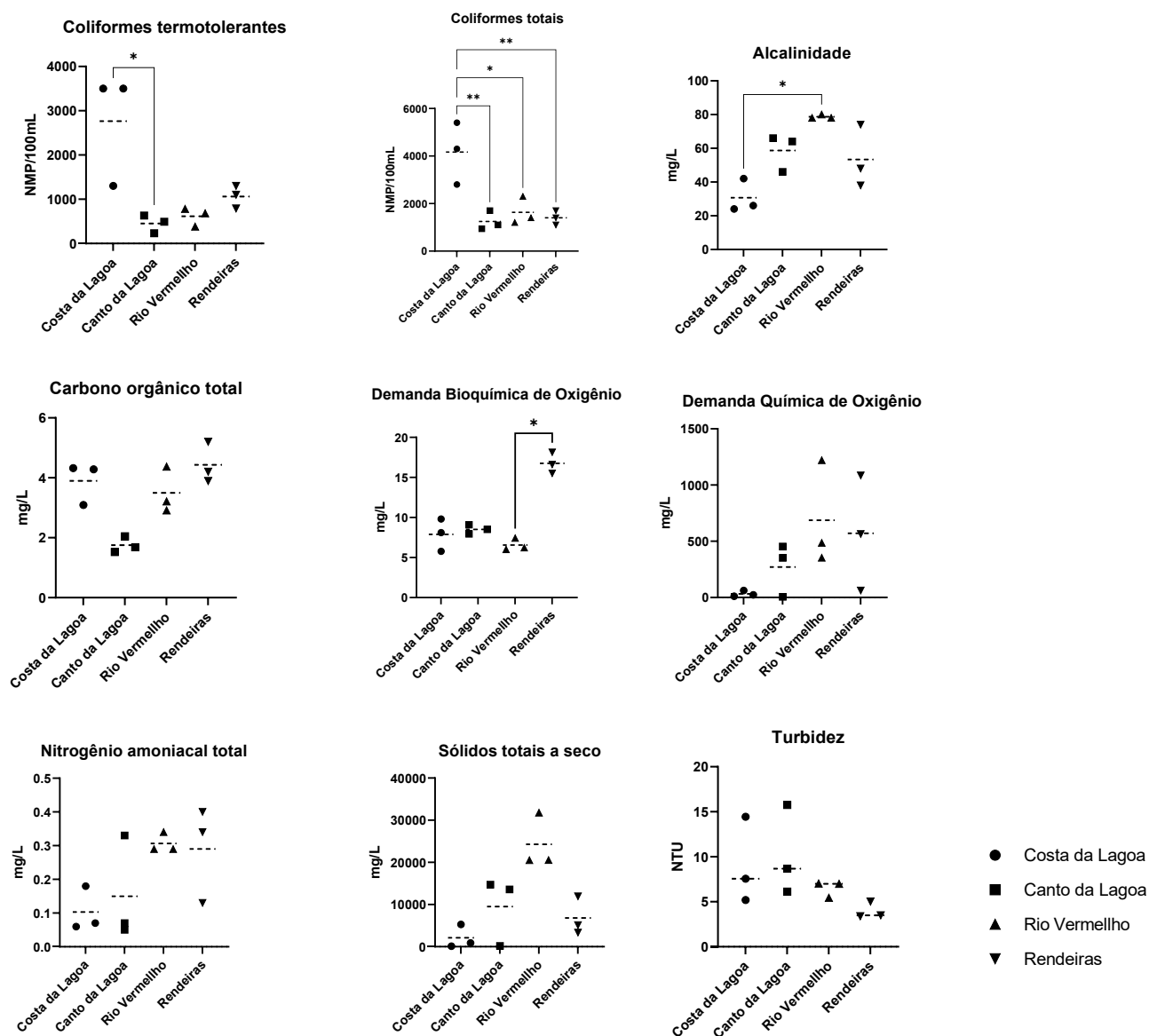


Figura 7. Gráficos mostrando os parâmetros químicos analisados na água dos locais de coleta que possuíam concentração acima do limite de quantificação (> LQ). Coliformes termotolerantes (A). Coliformes totais (B). Alcalinidade (C). Carbono orgânico total. (D) Demanda bioquímica de oxigênio (E). Demanda química de oxigênio (F). Nitrogênio amoniacal total (G). Sólidos totais a seco (H). Turbidez (I). A linha pontilhada indica a média dos pontos, diferenças significativas ($p < 0,05$) entre pontos estão sinalizadas com asteriscos.

Os tecidos dos peixes oriundos da REN e da COS apresentaram os maiores níveis de ABL totais (**Tabela 2**). Os animais do RIO, por sua vez, foram aqueles que apresentaram as menores concentrações de ABL totais. Vale salientar que não foi possível fazer uma comparação estatística dos níveis de ABL no tecido dos peixes, uma vez que as análises foram realizadas em apenas um *pool* de indivíduos por local.

Tabela 2. Níveis de alquibenzenos lineares (ng.g^{-1}) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ng.g^{-1}) por peso seco detectados em amostras de sedimento e tecido de peixes *Poecilia vivipara* coletados na Lagoa da Conceição. REN- Rendeiras; CAN- Canto da Lagoa; COS – Costa da Lagoa; RIO – Rio Vermelho.

		REN	CAN	COS	RIO
Sedimento	ABLs TOTAIS	< 0,5	15,47	26,54	22,73
	HPAs TOTAIS	< 0,125	14,5	31	27,7
<i>P. vivipara</i>	ABLs TOTAIS	234	159	205	58
	HPAs TOTAIS	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5

O nível de HPAs nos tecidos de *P. vivipara* coletados na Lagoa da Conceição não ultrapassou o limite de detecção do método em nenhum dos locais estudados (**Tabela 2**). Nas análises do sedimento (**Tabela 2**), podemos observar concentrações que variaram de abaixo de 0,125 (LD) até 31 ng.g^{-1} , sendo o RIO e COS os locais que apresentaram os maiores níveis. Tal resultado pode estar associado à queima de combustível, uma vez que em ambos os locais foram observados tráfegos frequentes de barcos a motor. Estudos na Baía Norte de Florianópolis relataram níveis de HPA entre 6,5 e 140 ng.g^{-1} (Pessatti et al., 2016), e em regiões de mangue, até 154,85 ng.g^{-1} (Piazza et al., 2019). Um estudo utilizando sedimento proveniente de Áreas de Proteção Permanente no sudeste do país observou níveis de até 576 ng.g^{-1} (Meire et al., 2008), enquanto no Manguezal de Ratonés, situado dentro de uma unidade de conservação de Florianópolis (Estação Ecológica de Carijós), não foram encontrados níveis de HPA, ABL e bifenilas policloradas (BPC) acima dos limites de detecção (Piazza et al., 2019).

4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Os animais provenientes do RIO apresentaram maior atividade da AChE cerebral em relação aos animais coletados no CAN (**Figura 8**). A atividade da enzima AChE é inibida por compostos organofosforados e carbamatos e estudos de exposição em laboratório mostraram uma inibição da atividade desta enzima por alguns HPA, como o tolueno, pireno e fenantreno (Olivares-Rubio; Espinosa-Aguirre, 2021). Em peixes sua atividade foi inibida por contaminação de efluentes de esgoto sanitário, o que torna essa enzima um marcador promissor de contaminação (Al-Ghais, 2013; Bisognin et al., 2020). Assim, os resultados obtidos, sugerem que os animais do CAN foram expostos a contaminantes, possivelmente advindos do esgoto sanitário.

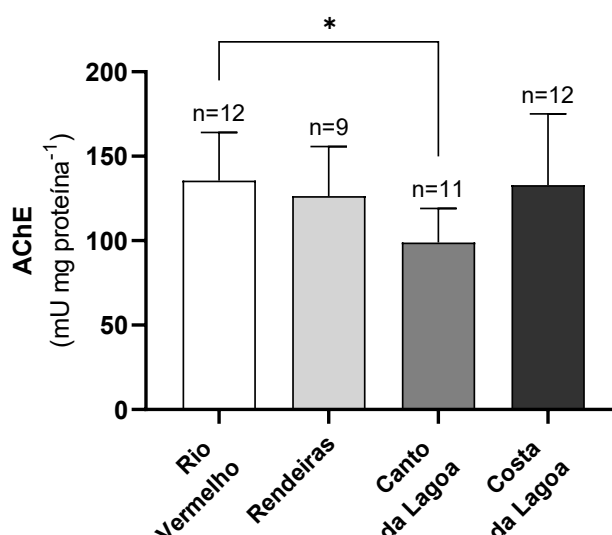


Figura 8. Atividade enzimática de acetilcolinesterase (AChE) em cérebro de *Poecilia vivipara* coletas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

De maneira geral, as atividades enzimáticas avaliadas no tecido hepático de *P. vivipara* foram maiores que as obtidas nas brânquias e demonstraram representar de forma mais explícita possíveis diferenças de resposta entre animais de locais distintos (**Figura 9**). Estudos avaliando respostas transcricionais e enzimáticas de *P. vivipara* expostas a esgoto sanitário também mostraram que o fígado é o órgão mais responsivo à contaminação nesses animais (Piazza et al., 2019, 2024). Apesar das

brânquias terem contato direto com contaminantes, o fígado é o principal órgão responsável pelo acúmulo, biotransformação e desintoxicação de compostos (Apte; Krishnamurthy, 2011; Buhler; Williams, 1988). Portanto, é esperada uma maior atividade de enzimas de biotransformação e de defesa nesse tecido (Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003).

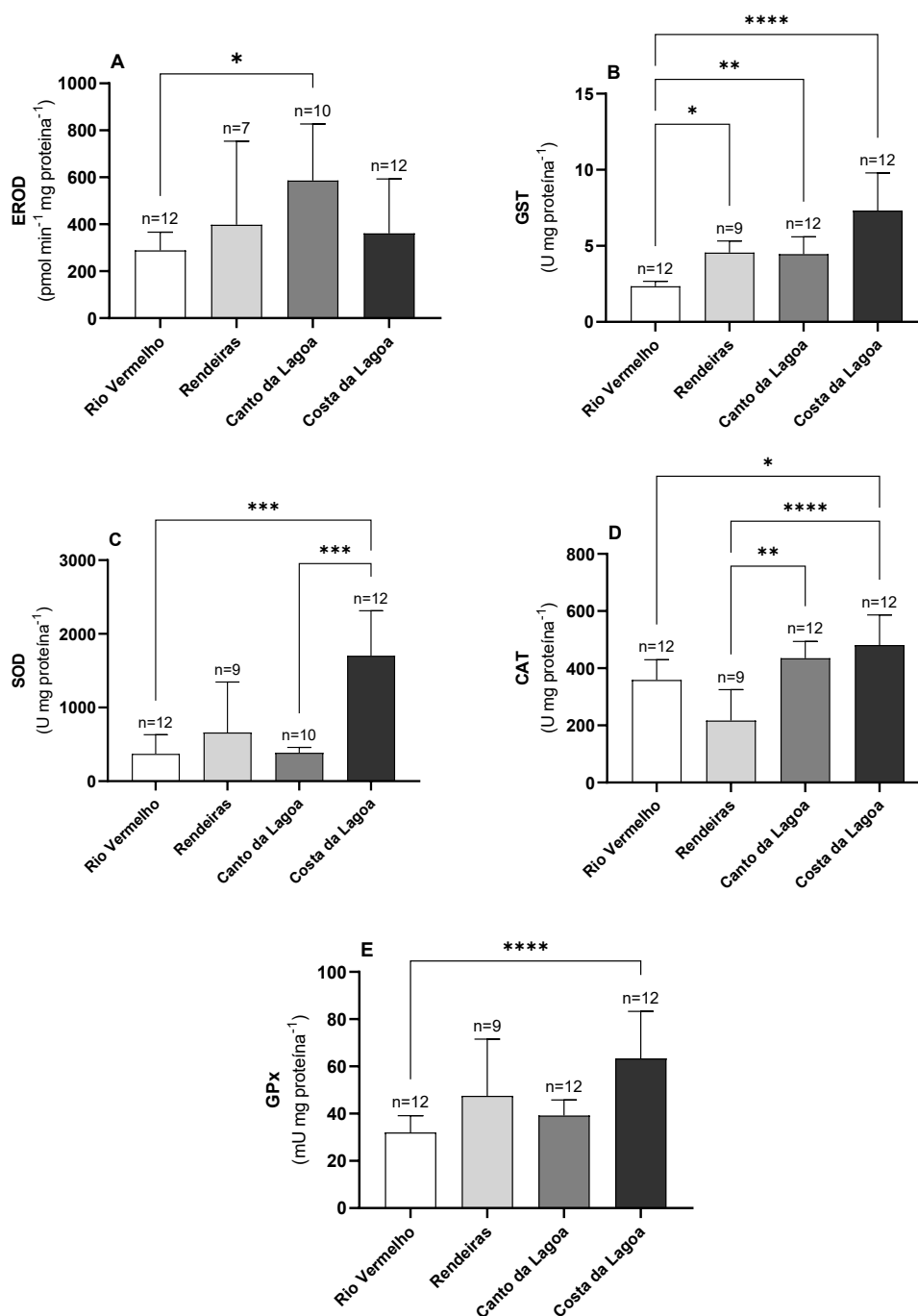


Figura 9. Atividade enzimática de (A) 7-etoxiresorufina O-deetilase (EROD), (B) Glutathione S-transferase (GST), (C) Superóxido dismutase (SOD), (D) Catalase (CAT) e (E) Glutathione peroxidase

(GPx) em fígado de *Poecilia vivipara* coletadas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

Os animais do CAN apresentaram uma maior atividade EROD em relação aos peixes dos outros locais em ambos tecidos estudados (**Figuras 9A e 10A**). A atividade EROD é uma forma de mensurar a indução das enzimas citocromo P4501A (CYP1A), que são responsáveis pela desintoxicação de uma grande gama de compostos exógenos, especialmente HPA, BPC, dioxinas e furanos (Stegeman, 1995). Seu uso em peixes como biomarcador de exposição a contaminantes orgânicos já é bem estabelecido (Whyte et al., 2000). Estudos utilizando *P. vivipara* como modelo relatam que a expressão gênica de *cyp1a* é induzida por óleo diesel e metilcolantreno (Dorrington et al., 2012; Mattos et al., 2010). Esses resultados podem estar indicando uma possível contaminação por HPA na região do CAN (Santana et al., 2018).

As enzimas de biotransformação (EROD e GST) analisadas no fígado dos animais do RIO apresentaram, em geral, menor atividade (**Figuras 9A e B**). O papel das enzimas de biotransformação é o de transformar um xenobiótico para que ele se torne um composto mais facilmente excretável. Espera-se, portanto, que animais coletados em ambientes mais contaminados apresentem uma atividade maior de enzimas de biotransformação (Oost; Beyer; Vermeulen, 2003). O RIO está localizado em uma unidade de conservação de proteção integral (Parque Estadual do Rio Vermelho – PAERVE), portanto, é uma área não urbanizada e espera-se que o menor nível de aporte antrópico cause menor degradação do ambiente. Se retornarmos aos dados químicos, observamos que dentre os locais estudados, RIO foi o que apresentou os menores níveis de ABL em amostras de peixes e menor DBO, indicando melhor qualidade da água (**APÊNDICE A**). Os resultados enzimáticos, portanto, reforçam o que foi sugerido pelos resultados das análises químicas.

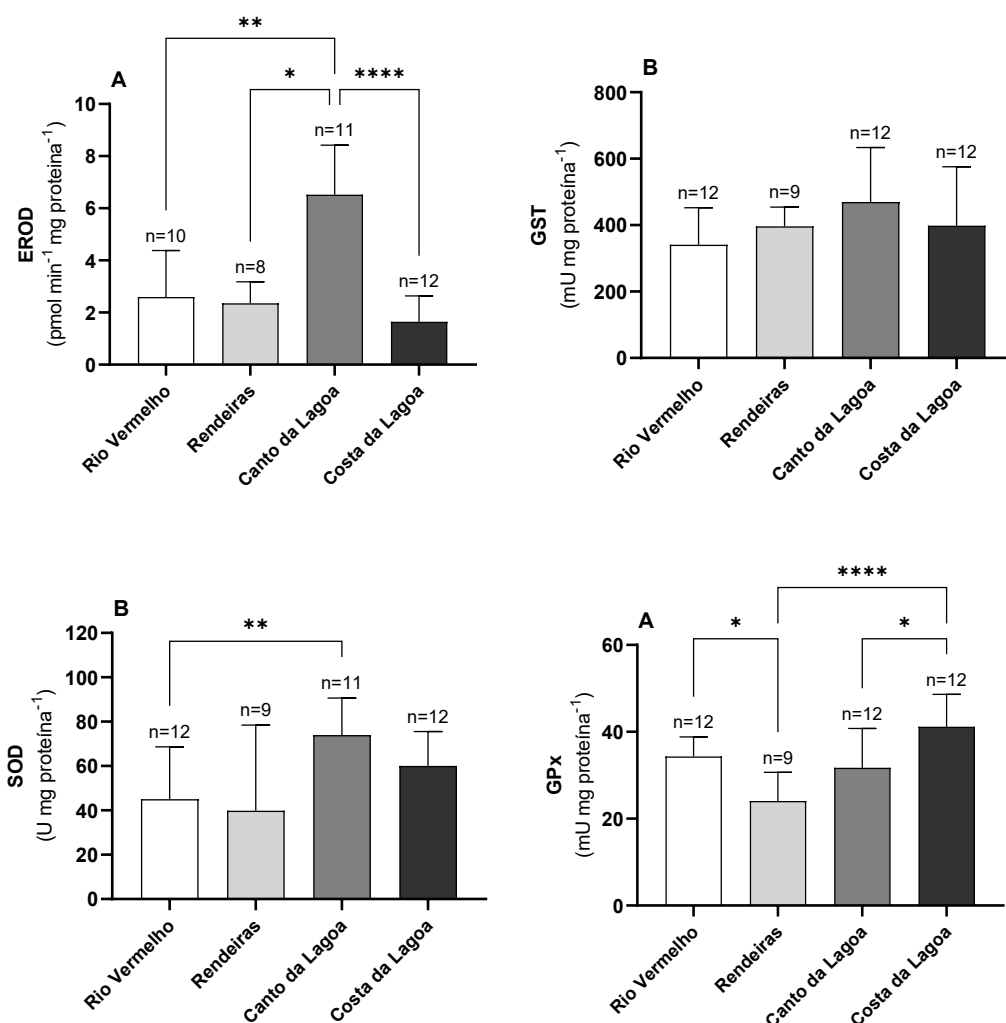


Figura 10. Atividade enzimática de (A) 7-etoxiresorufina O-deetilase (EROD), (B) Glutathione S-transferase (GST), (C) Superóxido dismutase (SOD) e (D) Glutathione peroxidase (GPx) em brânquias de *Poecilia vivipara* coletadas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

O fígado dos peixes coletados na COS apresentou maior atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx) (**Figuras 9C, D e E**). Os peixes da COS também apresentaram uma maior atividade de GPx nas brânquias em relação aos locais CAN e REN (**Figura 10D**). Contaminação por esgoto é um causador de estresse fisiológico em organismos aquáticos, gerando, dentre outras coisas um aumento na produção de EROs. Quando em excesso, EROs podem causar dano tecidual e desbalanços fisiológicos e o aumento de atividade de enzimas do sistema antioxidante é uma forma de prevenir o dano oxidativo. Peixes expostos a esgoto

sanitário demonstram desbalanços no sistema antioxidante, com os efeitos variando por espécie e composição do efluente (Abdel-Khalek, 2015; Rodrigues et al., 2015)

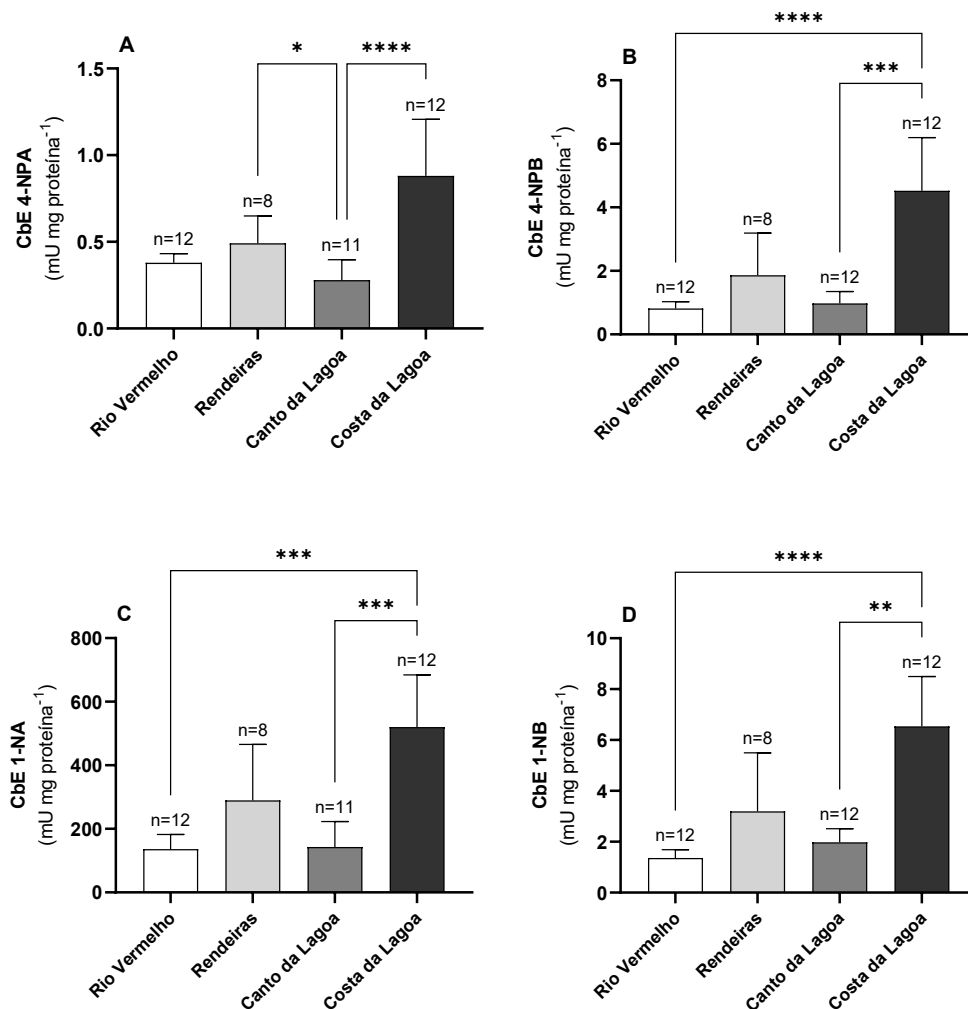


Figura 11. Atividade enzimática de carboxilesterases (CbE) em fígado de *Poecilia vivipara* coletadas na região da Lagoa da Conceição. Diferentes substratos foram utilizados, (A) acetato de *p*-nitrofenila (B) butirato de *p*-nitrofenila (C) acetato de α naftila (D) butirato de α naftila. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

As atividades de CbE foram significativamente maiores nos peixes da COS, quando comparadas às atividades obtidas nas amostras provenientes do CAN e RIO (**Figura 11**). Assim como a AChE, sua atividade é inibida por pesticidas organofosforados e estudos *in vitro* mostram que essa enzima também é sensível a contaminantes emergentes, como o nonilfenol ou triclosan (Solé; Sanchez-Hernandez, 2015). Dos quatro substratos utilizados (1-NA, 4-NPA, 1-NB e 4-NPB), o ensaio com 1-NA foi o que apresentou maior atividade, indicando uma possível

prevalência de uma isoforma da enzima sobre outras no tecido hepático dos animais estudados. A mesma preferência por substrato (1-NA) é relatada por Solé e colaboradores (2012) em experimentos realizados com peixes da espécie *Solea senegalensis*.

Atividades elevadas de carboxilesterases podem ser também um indicativo de uma maior necessidade de detoxificação, sugerindo que os animais provenientes da Costa da Lagoa foram expostos a contaminantes. Isso é reforçado pelo restante dos dados de biomarcadores hepáticos dos animais estudados, onde, no geral, o ponto da Costa da Lagoa também apresentou atividades significativamente maiores.

Quando avaliamos os dados de biomarcadores de fígado em conjunto com os dados de AChE no cérebro, observamos que os animais do CAN apresentaram baixas atividades de esterases (CbE e AChE) (**Figuras 11 e 8**), no entanto, tanto no tecido hepático quanto nas brânquias, os animais do CAN apresentaram maior atividade EROD (**Figuras 9A e 10A**), sugerindo algum nível de contaminação no local. Considerando similaridades no mecanismo catalítico das enzimas AChE e CbE, é possível que neste local (CAN) existam contaminantes com potencial inibidor das esterases.

Um efeito decorrente do aumento na produção de EROs nos tecidos é a formação de proteínas carboniladas e seu uso como biomarcador de dano causado por estresse oxidativo tem sido descrito em diferentes estudos de toxicologia (Almroth; Sturve; Berglund; Förlin, 2005; Parvez; Raisuddin, 2005).

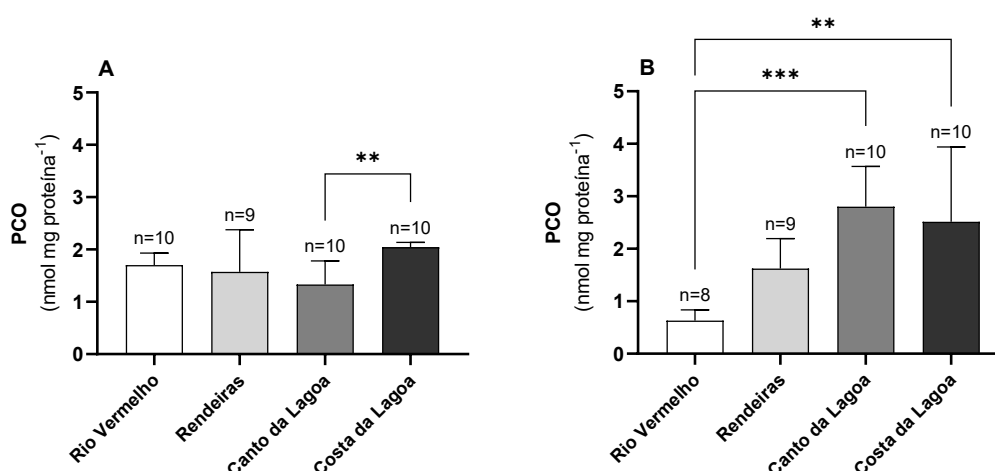


Figura 12. Níveis de proteínas carboniladas em amostras de fígado (A) e brânquias (B) de *Poecilia vivipara* coletadas na região da Lagoa da Conceição. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

As brânquias dos peixes apresentaram maior nível de proteínas carboniladas do que o fígado (**Figura 12**), indicando que este tecido é possivelmente mais sensível a danos decorrentes de estresse oxidativo. Em ambos os tecidos observamos que peixes coletados na COS apresentam indícios de dano causado por estresse oxidativo, o que entra em concordância com os resultados referentes a defesa antioxidante e enzimas de biotransformação.

4.3 ANÁLISES INTEGRADAS

A análise de componentes principais (PCA) é um método de redução de dimensões de dados, que nos permite avaliar relações entre múltiplas variáveis agrupadas. A proximidade dos pontos indica a similaridade das amostras. O gráfico demonstra que as amostras dos locais CAN e REN se sobrepõem enquanto as amostras dos locais RIO (em vermelho) e COS (em verde) formam agrupamentos distintos (**Figura 13**).

Na PCA realizada com os dados de biomarcadores de fígado podemos ver que a dimensão 1 (ou PC 1) é responsável por 53,2 % das respostas do conjunto de dados. Avaliando as variáveis dessa dimensão, vemos que a maior parte das respostas de biomarcadores estão relacionadas entre si e há uma maior resposta dessas variáveis no agrupamento da COS, reiterando a hipótese de um maior nível de contaminação por esgoto neste local em relação aos outros locais estudados. O gráfico de

contribuições dessa dimensão (**APÊNDICE D**) nos mostra que CbE, SOD, GPx e GST são as enzimas responsáveis pela maior contribuição da variabilidade da dimensão e estão fortemente correlacionadas.

O grupo de amostras do RIO demonstra baixa resposta de biomarcadores em ambas as dimensões. Estudos avaliando índice trófico da Lagoa da Conceição demonstraram que áreas não urbanizadas, em especial a região próxima ao ponto de coleta RIO deste estudo apresenta uma boa qualidade de água e seu uso como local de referência é justificado (Cabral; Bercovich; Fonseca, 2019). Os dados integrados apresentados neste trabalho também reforçam seu status como local de referência.

A dimensão 2 (ou PC2) foi responsável por 13,1% da variação total dos dados. Ao se avaliar gráficos de contribuição (**APÊNDICE D**), observamos que EROD e PCO foram as variáveis que mais contribuíram para a variação total dessa dimensão. No gráfico de PCA observa-se uma relação entre AChE e EROD, que, se avaliada em conjunto com os outros dados (**Figuras 8 e 9A**), podemos sugerir que haja alguma relação entre as variações de ambas as enzimas, possivelmente associada a presença de algum contaminante ambiental.

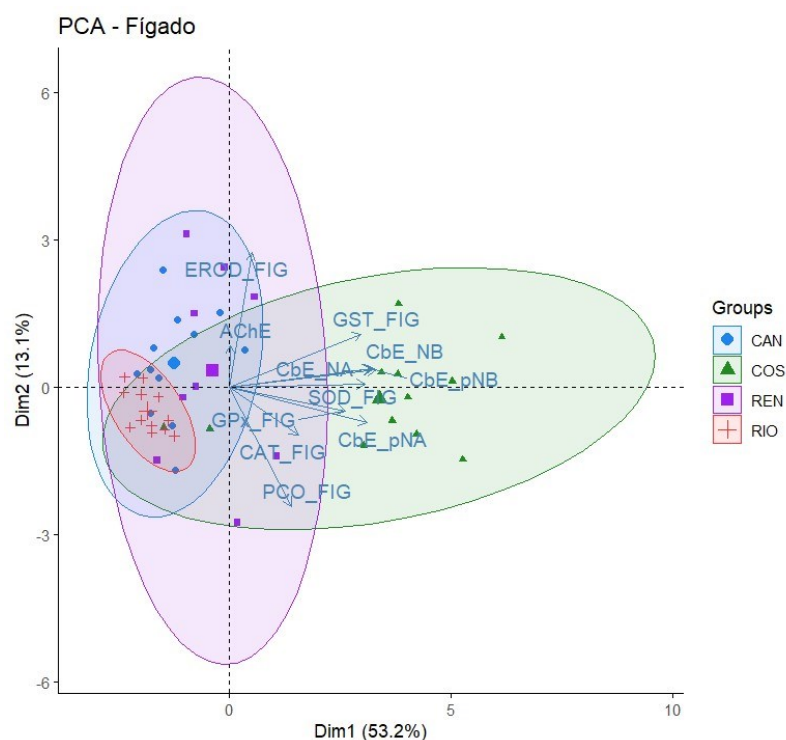


Figura 13. Análise de componentes principais (PCA) utilizando os dados de atividade de acetilcolinesterase (AChE) e biomarcadores em fígado dos animais coletados (EROD, GST, CbE NA, CbE NB, CbE pNB, CbE pNA, PCO, CAT, GPx e SOD). Os dados foram agrupados por ponto de coleta e os pontos estão sinalizados por símbolos coloridos explicitados na figura.

A análise de PCA das brânquias não apresentou as mesmas diferenças observadas no tecido hepático (**Figura 14**). Os agrupamentos não estão tão delimitados, apresentando uma grande sobreposição de grupos. Ao avaliarmos esse resultado com os resultados obtidos na seção de análises bioquímicas podemos confirmar que análises no fígado foram as que possibilitaram uma melhor representação, de forma mais explícita, das diferenças observadas entre os peixes de cada local.

A dimensão 1 (ou PC1) é responsável por 34,8% das respostas observadas e, ao se avaliar o gráfico de contribuições (**APÊNDICE D**), vemos que as variáveis EROD, SOD e GST são as principais dessa dimensão. A dimensão 2 (ou PC2), por sua vez, é responsável por 21,6% das respostas, com GPx sendo a variável que mais contribuiu.

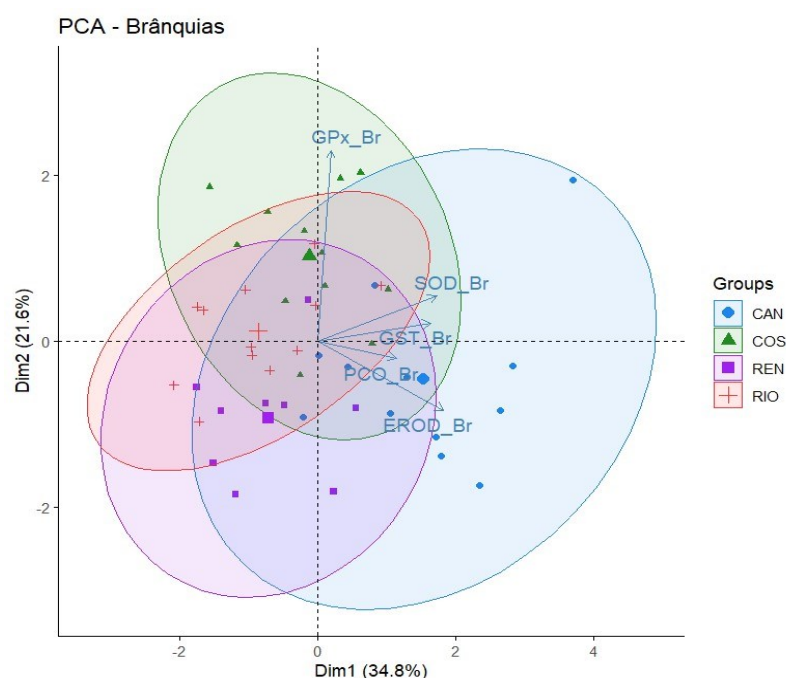


Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) utilizando os dados de biomarcadores das brânquias dos animais coletados (EROD, GST, PCO, GPx e SOD). Os dados foram agrupados por ponto de coleta e os pontos estão sinalizados por símbolos coloridos explicitados na figura.

A matriz de correlação, apresentada na **Figura 15**, indicou correlações positivas entre os biomarcadores de defesa antioxidante (SOD, GPx) e as atividades de enzimas de detoxificação e biotransformação (CbE e GST). Foi possível observar também uma forte correlação positiva entre o nível de coliformes termotolerantes (COLI.T), atividade de CbE e GST, respostas antioxidantes (SOD e GPx) e biomarcadores de dano (PCO). Em casos de exposição a contaminantes pode haver uma ativação conjunta do sistema de biotransformação e do sistema antioxidante, indicando a necessidade de defesa e desintoxicação do organismo frente aos efeitos deletérios da contaminação (Santana et al., 2022). Peixes expostos a efluentes de esgoto exibem sinais de alterações metabólicas, em muitos casos havendo uma indução de enzimas pertencentes ao sistema antioxidante (Bisognin et al., 2020; Rodrigues et al., 2015).

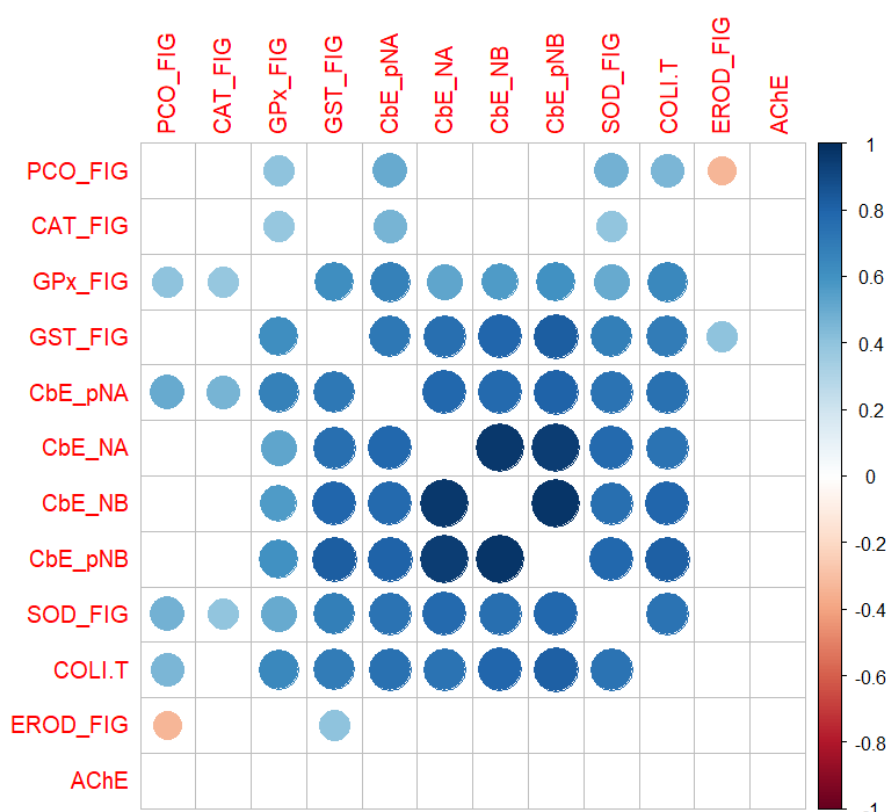


Figura 15. Matriz de correlação de Spearman entre biomarcadores hepáticos e número de coliformes termotolerantes dos diferentes pontos de coleta na Lagoa da Conceição. Correlações positivas figuram na cor azul e correlações negativas figuram na cor vermelha. A intensidade da cor e o tamanho do círculo são proporcionais aos coeficientes de correlação. Apenas correlações significativas ($p < 0,05$) estão apresentadas.

Os resultados indicam que nos ambientes com maiores indícios de contaminação por efluentes sanitários houve uma resposta bioquímica de defesa dos indivíduos analisados, com ativação simultânea dos mecanismos de desintoxicação e defesa antioxidante. Também é possível inferir pelos resultados de PCO que ativação do sistema antioxidante não foi o suficiente para mitigar os efeitos causados por EROs.

Abordagens com múltiplos biomarcadores nos permitem avaliar em diferentes frentes o estresse ao qual o indivíduo está exposto, no entanto, ferramentas se fazem necessárias nesse contexto para integrar as respostas avaliadas, a fim de se obter uma visão geral sobre a vulnerabilidade da área estudada. O IBR é uma forma de integrar respostas de múltiplos biomarcadores, gerando no final um escore que é proporcional ao nível contaminação do local estudado (Beliaeff; Burgeot, 2002).

Para este estudo, utilizamos o modelo de IBR proposto por Sanchez e colaboradores (2013), em que o nível de contaminação de cada local de coleta é comparado com um local de referência não contaminado. Com base em estudos de outros grupos na Lagoa da Conceição (Cabral; Bercovich; Fonseca, 2019; Silva et al., 2017) e nos próprios resultados obtidos neste trabalho, consideramos o RIO como local de referência para os cálculos. Os gráficos de radar com os resultados de IBR estão apresentados na **Figura 16**.

O local que apresentou o maior IBR foi a COS (14,03), seguido pelas REN (9,37) e CAN (9,24) que apresentaram escores semelhantes. O resultado de IBR entra em concordância com os resultados integrados de PCA, que demonstram que a COS foi o mais contaminado dos locais estudados. Pelos dados integrados podemos observar também que, apesar dos locais REN e CAN serem semelhantes em termos de nível de estresse, as respostas de biomarcadores são diferentes, com os animais do CAN apresentando níveis mais elevados de EROD e menores atividades de esterases, ao contrário dos animais das REN, que apresentaram maiores atividades de CbE.

A diferença no perfil das respostas nos indica que, apesar de ambos os locais apresentarem indícios de poluição, a fonte de contaminação ou perfil de contaminação

difere entre si, sendo necessárias mais investigações dos possíveis contaminantes para possibilitar a elaboração de estratégias para recuperação destes locais.

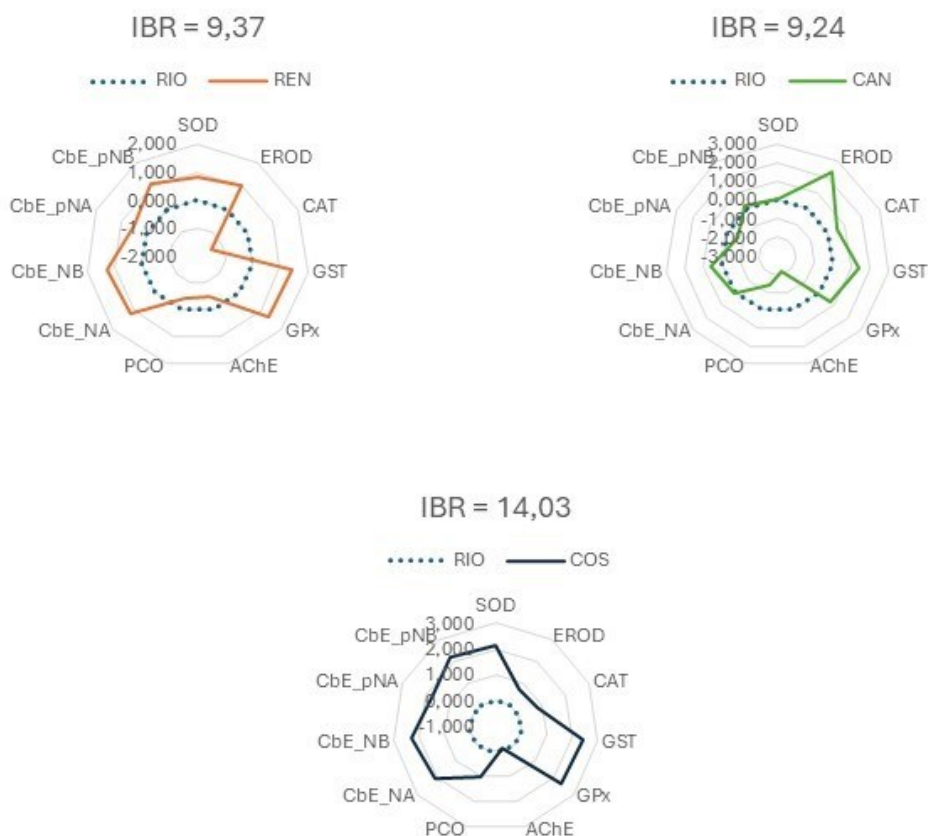


Figura 16. Gráfico de radar representando os valores Z dos biomarcadores do fígado de *P. vivipara* coletados na Lagoa da Conceição (Rio vermelho = RIO, Rendeiras = REN, Canto da lagoa = CAN, Costa da Lagoa = COS). Local de referência (RIO) está representado pela linha pontilhada.

Os dados químicos, bioquímicos e integrados entram em concordância e por meio deles podemos sugerir que, dentre os locais estudados, a COS foi a que apresentou maiores sinais de contaminação, possivelmente advindos de efluentes de esgoto sanitário.

Os resultados observados possivelmente estão associados ao fato de que a COS se trata de um ambiente de difícil acesso, onde há poucos residentes constantes, mas em épocas quentes a região possui um grande fluxo de pessoas devido ao turismo gastronômico do local, às trilhas e paisagens naturais. Prover serviços de

esgotamento sanitário em áreas de baixa renda, difícil acesso e para comunidades isoladas é um dos desafios para universalização do saneamento básico no Brasil (Diep et al., 2021; Narzetti; Marques, 2021). Se retornarmos ao próprio programa SE LIGA NA REDE, vemos que até o momento da escrita deste trabalho, não houve alguma inspeção realizada próximas à região da COS (PMF; CASAN; Echoa Engenharia, 2024), o que acende um alerta para esta necessidade urgente.

5. CONCLUSÃO

Por meio deste trabalho, podemos concluir que a Lagoa da Conceição apresenta alterações na qualidade da água relacionadas à atividade antrópica.

A qualidade da água na Lagoa da conceição não é uniforme, variando de acordo com o local da laguna analisado.

O fígado de *P. vivipara* demonstrou ser o tecido mais sensível a contaminação neste estudo. No entanto, as brânquias demonstraram ser mais responsivas à danos oxidativos.

A contaminação na Lagoa gerou alterações bioquímicas nos animais estudados, demonstrado pela variação na atividade de enzimas do sistema de biotransformação e sistema antioxidante, sugerindo que a poluição na lagoa pode incorrer em risco para ictiofauna local.

COS se apresentou como o local mais contaminado dentre os pontos avaliados neste estudo. A contaminação por efluentes sanitários está intimamente ligada à falta de fiscalização sanitária das residências e comércios da lagoa, problema que aflige a cidade de Florianópolis como um todo, mas que se torna mais grave devido à baixa taxa de renovação de água e alta relevância ecológica.

REFERÊNCIAS

ABDEL-KHALEK, A. A. Antioxidant Responses and Nuclear Deformations in Freshwater Fish, *Oreochromis niloticus*, Facing Degraded Environmental Conditions. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 94, n. 6, p. 701–708, 1 jun. 2015.

ABESSA, D. M. S. et al. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 8, p. 875–885, ago. 2005.

AL-GHAIS, S. M. Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 74, n. 1, p. 183–186, set. 2013.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2005.

APTE, U.; KRISHNAMURTHY, P. Detoxification Functions of the Liver. Em: [s.l: s.n.]. p. 147–163.

BABIĆ, S. et al. Embryotoxic and genotoxic effects of sewage effluents in zebrafish embryo using multiple endpoint testing. **Water Research**, v. 115, p. 9–21, maio 2017.

BASTOS, A. C. S.; ALMEIDA, J. R. D. **Licenciamento ambiental brasileiro no contexto da avaliação de impactos ambientais. Avaliação e perícia ambiental**. Rio de Janeiro: Editora Bertrand Brasil, 1999.

BATISTA, C.P., FERREIRA, A.A. AND SILVA, G.J.C. **Status of studies about Brazilian bioindicator fishes, a review. Acta Limnologica Brasiliensia**, 2024, vol. 36, e14. <https://doi.org/10.1590/S2179975X8723>

BELIAEFF, B.; BURGEOT, T. INTEGRATED BIOMARKER RESPONSE: A USEFUL TOOL FOR ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 1316, 2002.

BISOGNIN, R. P. et al. Potential environmental toxicity of sewage effluent with pharmaceuticals. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 9, p. 1315–1326, 14 nov. 2020.

BONIN-FONT, F. et al. Evaluating the impact of sewage discharges on the marine environment with a lightweight AUV. **Marine Pollution Bulletin**, v. 135, p. 714–722, out. 2018.

BORGWARDT, F. et al. Exploring variability in environmental impact risk from human activities across aquatic ecosystems. **Science of The Total Environment**, v. 652, p. 1396–1408, fev. 2019.

BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, 7 maio 1976.

BRAGA, E. S. et al. Eutrophication and Bacterial Pollution Caused by Industrial and Domestic Wastes at the Baixada Santista Estuarine System – Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 2, p. 165–173, fev. 2000.

BRASIL. **Lei nº 14.026 de 15/07/2020. Diário Oficial da União**, 2020. Disponível em: <<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=515&pagina=1&data=16/07/2020>>. Acesso em: 13 jun. 2024

BRICKER, S. B. et al. Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries: A decade of change. **Harmful Algae**, v. 8, n. 1, p. 21–32, dez. 2008a.

BRICKER, S. B. et al. Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries: A decade of change. **Harmful Algae**, v. 8, n. 1, p. 21–32, dez. 2008b.

BROWN, S. et al. Sea-Level Rise Impacts and Responses: A Global Perspective. Em: [s.l: s.n.]. p. 117–149.

BUHLER, D. R.; WILLIAMS, D. E. The role of biotransformation in the toxicity of chemicals. **Aquatic Toxicology**, v. 11, n. 1–2, p. 19–28, jan. 1988.

BURKE, M. D.; MAYER, R. T. Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**, v. 2, n. 6, 1974.

CABRAL, A.; BERCOVICH, M. V.; FONSECA, A. Implications of poor-regulated wastewater treatment systems in the water quality and nutrient fluxes of a subtropical coastal lagoon. **Regional Studies in Marine Science**, v. 29, p. 100672, maio 2019.

CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R.; READMAN, J. W. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space–time variations. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 60, n. 4, p. 587–598, ago. 2004.

CARUSO, M. S. F.; ALABURDA, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 1, p. 1–27, 1 jan. 2008.

CELL BIOLABS, INC. **OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit**. , 2023.

CETESB. **Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo - 2021**. [s.l: s.n.]. . Acesso em: 13 jun. 2024.

CETESB. **QUALIDADE NO ESTADO DE SÃO PAULO DAS ÁGUAS COSTEIRAS**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/aguas-costeiras/publicacoes-e-relatorios/>>. Acesso em: 24 jun. 2024.

COMBI, T. et al. Sources and Temporal Patterns of Polychlorinated Biphenyls Around a Large South American Grain-Shipping Port (Paranaguá Estuarine System, Brazil).

Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 64, n. 4, p. 573–582, 26 maio 2013.

COMISSÃO ESPECIAL PARA PLANEJAMENTO DA CONCEPÇÃO GERAL DOS SISTEMAS DE ABASTECIMENTO DE ÁGUA E ESGOTAMENTO SANITÁRIO DO MUNICÍPIO DE FLORIANÓPOLIS. **ESTUDO DE CONCEPÇÃO DO ESGOTAMENTO SANITÁRIO DE FLORIANÓPOLIS**. PMFFlorianópolis, 2019.

DE LEDO, B. S. Conceição Lagoon: a critical habitat for migrant species of fish. **SIL Proceedings, 1922-2010**, v. 26, n. 3, mar. 1998.

DE LIMA, D.; ROQUE, G. M.; DE ALMEIDA, E. A. Invitro and invivo inhibition of acetylcholinesterase and carboxylesterase by metals in zebrafish (*Danio rerio*). **Marine Environmental Research**, v. 91, p. 45–51, out. 2013.

DÍAZ-CRUZ, M. S. et al. Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1263–1275, dez. 2009.

DIEP, L. et al. Linkages between sanitation and the sustainable development goals: A case study of Brazil. **Sustainable Development**, v. 29, n. 2, p. 339–352, 23 mar. 2021.

DORRINGTON, T. et al. Basal and 3-methylcholanthrene-induced expression of cytochrome P450 1A, 1B and 1C genes in the Brazilian guppy, *Poecilia vivipara*. **Aquatic Toxicology**, v. 124–125, p. 106–113, nov. 2012.

DUH, J.-D. et al. Rates of urbanisation and the resiliency of air and water quality. **Science of The Total Environment**, v. 400, n. 1–3, p. 238–256, ago. 2008.

EGANHOUSE, R. P. Long-Chain Alkylbenzenes: Their Analytical Chemistry, Environmental Occurrence and Fate. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3–4, p. 241–263, set. 1986.

EGANHOUSE, R. P.; BLUMFIELD, D. L.; KAPLAN, I. R. Long-chain alkylbenzenes as molecular tracers of domestic wastes in the marine environment. **Environmental Science & Technology**, v. 17, n. 9, p. 523–530, 1 set. 1983.

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, jul. 1961.

FONTES, M. K.; MARANHO, L. A.; PEREIRA, C. D. S. Review on the occurrence and biological effects of illicit drugs in aquatic ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 25, p. 30998–31034, 2 set. 2020.

FUMIAN, T. M. et al. Detection of norovirus epidemic genotypes in raw sewage using next generation sequencing. **Environment International**, v. 123, p. 282–291, fev. 2019.

GARBOSSA, L. H. P. et al. Thermotolerant coliform loadings to coastal areas of Santa Catarina (Brazil) evidence the effect of growing urbanisation and insufficient provision of sewerage infrastructure. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 1, p. 27, 20 jan. 2017.

GIL, A. et al. Effect of dopants on the structure of titanium oxide used as a photocatalyst for the removal of emergent contaminants. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 53, p. 183–191, set. 2017.

GOMES-SILVA, Guilherme; PEREIRA, Boscolli Barbosa; LIU, Kai; CHEN, Bojian; SANTOS, Vanessa Santana Vieira; MENEZES, Guilherme Henrique Targino de; PIRES, Luís Paulo; SANTOS, Bruna Mohn Terra; OLIVEIRA, Danyele Mendes; MACHADO, Pedro Henrique Alves. Using native and invasive livebearing fishes (Poeciliidae, Teleostei) for the integrated biological assessment of pollution in urban streams. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 698, p. 134336, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134336>.

GUARDA, A. **Gestão urbana: projeção da população flutuante. CONGRESSO BRASILEIRO DE CADASTRO TÉCNICO FINALITÁRIO (COBRAC)** Florianópolis, 2012.

HATFIELD, M. J. et al. Carboxylesterases: General detoxifying enzymes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 259, p. 327–331, nov. 2016.

HERBERT-READ, J. E. et al. A global horizon scan of issues impacting marine and coastal biodiversity conservation. **Nature Ecology and Evolution**, v. 6, n. 9, p. 1262–1270, 1 set. 2022.

HOFF, R. B. et al. Determination of 62 veterinary drugs in feedingstuffs by novel pressurized liquid extraction methods and LC-MS/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 1152, p. 122232, set. 2020.

HOOK, S. E.; GALLAGHER, E. P.; BATLEY, G. E. The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 10, n. 3, p. 327–341, 12 jul. 2014.

HOSOKAWA, M.; SATOH, T. Measurement of Carboxylesterase (<scp>CES</scp>) Activities. **Current Protocols in Toxicology**, v. 10, n. 1, nov. 2001.

INSTITUTO TRATA BRASIL. **Coleta de esgoto sobe apenas 0,2 ponto percentual no país. Veja os melhores e os piores municípios destacados pelo Ranking do Saneamento 2024** . , 2024.

JANK, L. et al. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, n. 10, p. 1013–1037, 9 ago. 2014.

JOUANNEAU, S. et al. Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): A review. **Water Research**, v. 49, p. 62–82, fev. 2014.

KAPPEL, C. V. Threats to marine species. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 3, n. 5, p. 275–282, 2005.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **The Journal of biological chemistry**, v. 251, n. 20, 25 out. 1976.

KRZEMINSKI, P. et al. Performance of secondary wastewater treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern implicated in crop uptake and antibiotic resistance spread: A review. **Science of The Total Environment**, v. 648, p. 1052–1081, jan. 2019.

LABORATÓRIO DE HIDRÁULICA MARÍTIMA. **BOLETIM DA QUALIDADE DAS ÁGUAS - Monitoramento mensal das águas dos rios João Gualberto, Apa e Porto da Lagoa (março/2023)**. Florianópolis: [s.n.]. Disponível em: <<https://lahimar.ufsc.br/projetos-de-extensao/boletins-mensais/>>. Acesso em: 13 jun. 2024.

MACHADO, M. A. **AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CRESCIMENTO POPULACIONAL NA BALNEABILIDADE DA LAGOA DA CONCEIÇÃO, FLORIANÓPOLIS-SC**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

MACLEOD, W. D. et al. **NOAA Technical Memorandum NMFS F/NWC-92**. 1985.

MARTÍN-POZO, L. et al. Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review. **Talanta**, v. 192, p. 508–533, jan. 2019.

MASSOULIÉ, J. et al. Molecular and cellular biology of cholinesterases. **Progress in Neurobiology**, v. 41, n. 1, p. 31–91, 1993.

MASTROPAOLO, W.; YOURNO, J. An ultraviolet spectrophotometric assay for α -naphthyl acetate and α -naphthyl butyrate esterases. **Analytical Biochemistry**, v. 115, n. 1, p. 188–193, jul. 1981.

MATTOS, J. J. et al. Differential gene expression in *Poecilia vivipara* exposed to diesel oil water accommodated fraction. **Marine Environmental Research**, v. 69, p. S31–S33, 2010.

MCCALLUM, E. S. et al. Exposure to wastewater effluent affects fish behaviour and tissue-specific uptake of pharmaceuticals. **Science of The Total Environment**, v. 605–606, p. 578–588, dez. 2017.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 244, n. 22, p. 6049–6055, nov. 1969.

MEIRE, R. O. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in sediment of national parks in southeast Brazil. **Chemosphere**, v. 73, n. 1, p. S180–S185, ago. 2008.

MELVIN, S. D.; BUCK, D. R.; FABBRO, L. D. Diurnal activity patterns as a sensitive behavioural outcome in fish: effect of short-term exposure to treated sewage and a sub-lethal PPCP mixture. **Journal of Applied Toxicology**, v. 36, n. 9, p. 1173–1182, 9 set. 2016.

MENDONÇA, J. P.; ANDREATA, J. V. Aspectos reprodutivos de *Poecilia vivipara* (Bloch & Schneider) (Poeciliidae) da Lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 4, p. 1041–1047, dez. 2001.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT (PROGRAM). **Ecosystems and human well-being : synthesis**. [s.l.] Island Press, 2005.

MONTESDEOCA-ESPONDA, S. et al. Monitoring and environmental risk assessment of benzotriazole UV stabilizers in the sewage and coastal environment of Gran Canaria (Canary Islands, Spain). **Journal of Environmental Management**, v. 233, p. 567–575, mar. 2019.

NARZETTI, D. A.; MARQUES, R. C. Access to Water and Sanitation Services in Brazilian Vulnerable Areas: The Role of Regulation and Recent Institutional Reform. **Water**, v. 13, n. 6, p. 787, 13 mar. 2021.

NEWTON, A. et al. Assessing, quantifying and valuing the ecosystem services of coastal lagoons. **Journal for Nature Conservation**, v. 44, p. 50–65, jul. 2018.

NICHOLLS, R. J. et al. Climate change and coastal vulnerability assessment: scenarios for integrated assessment. **Sustainability Science**, v. 3, n. 1, p. 89–102, 1 abr. 2008.

O'HARA, C. C.; FRAZIER, M.; HALPERN, B. S. At-risk marine biodiversity faces extensive, expanding, and intensifying human impacts. **Science**, v. 372, n. 6537, p. 84–87, 2 abr. 2021.

OLIVARES-RUBIO, H. F.; ESPINOSA-AGUIRRE, J. J. Acetylcholinesterase activity in fish species exposed to crude oil hydrocarbons: A review and new perspectives. **Chemosphere**, v. 264, p. 128401, fev. 2021.

PAULO, Dv; FONTES, Fm; FLORES-LOPES, F. Histopathological alterations observed in the liver of *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: poeciliidae) as a tool for the environmental quality assessment of the cachoeira river, ba. **Brazilian Journal Of Biology**, [S.L.], v. 72, n. 1, p. 131-140, fev. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-69842012000100015>.

PESSATTI, T. B. et al. Upregulation of biotransformation genes in gills of oyster *Crassostrea brasiliensis* exposed in situ to urban effluents, Florianópolis Bay, Southern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 131, p. 172–180, set. 2016.

PIAZZA, C. E. et al. Transcriptional effects in the estuarine guppy *Poecilia vivipara* exposed to sanitary sewage in laboratory and in situ. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, out. 2019.

PIAZZA, C. E. et al. Hepatic transcriptome, transcriptional effects and antioxidant responses in *Poecilia vivipara* exposed to sanitary sewage. **Marine Pollution Bulletin**, v. 203, p. 116426, jun. 2024.

PMF; CASAN; ECHOA ENGENHARIA. **Dados SANEAR Floripa - Se Liga Na Rede**. Disponível em: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjojY2M4ZDIODctMWUzNS00NzFjLTlkYzEtYzg5OWM1MzlkYjA3IiwidCI6IjdmNmM1M2I4LWU3YTYtNGEyZi1iNTY5LWVjOTgzOTBiMmZiOSJ9&pa>. Acesso em: 11 jun. 2024.

PROSUL. **Vol. I: Memorial de projeto estudos demográficos - área de projeto atualização. Companhia Catarinense de Água e Saneamento (CASAN)**, 2012.

REGOLI, F.; GIULIANI, M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. **Marine Environmental Research**, v. 93, fev. 2014.

REIMANN, L.; VAFEIDIS, A. T.; HONSEL, L. E. Population development as a driver of coastal risk: Current trends and future pathways. **Cambridge Prisms: Coastal Futures**, v. 1, p. e14, 31 jan. 2023.

REN, L.; CUI, E.; SUN, H. Temporal and spatial variations in the relationship between urbanization and water quality. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 23, p. 13646–13655, 1 dez. 2014.

RODRIGUES, E. et al. Metabolic responses of the Antarctic fishes *Notothenia rossii* and *Notothenia coriiceps* to sewage pollution. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, n. 5, p. 1205–1220, 2 out. 2015.

ROUGÉE, L. R. A.; RICHMOND, R. H.; COLLIER, A. C. Natural variations in xenobiotic-metabolizing enzymes: developing tools for coral monitoring. **Coral Reefs**, v. 33, n. 2, p. 523–535, 13 jun. 2014.

SANCHEZ, W.; BURGEOT, T.; PORCHER, J.-M. A novel “Integrated Biomarker Response” calculation based on reference deviation concept. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 5, p. 2721–2725, 4 maio 2013.

SANTANA, M. S. et al. Biomarker responses in fish exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Systematic review and meta-analysis. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 449–461, nov. 2018.

SANTANA, M. S. et al. A meta-analytic review of fish antioxidant defense and biotransformation systems following pesticide exposure. **Chemosphere**, v. 291, p. 132730, mar. 2022.

SCHLENK, D. et al. Biotransformation in Fishes. Em: **The Toxicology of Fishes**. [s.l.] CRC Press, 2008.

SCOTT, G. R.; SLOMAN, K. A. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. **Aquatic Toxicology**, v. 68, n. 4, p. 369–392, jul. 2004.

SECRETARIA EXECUTIVA DO MEIO AMBIENTE - SEMA; SECRETARIA DE ESTADO DO DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO SUSTENTÁVEL - SDE. **Monitoramento da Qualidade das Águas vertente litorânea de Santa Catarina**. [s.l: s.n.].

SETO, K. C. et al. A Meta-Analysis of Global Urban Land Expansion. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. e23777, 18 ago. 2011.

SHETTY, A.; GOYAL, A. Total organic carbon analysis in water – A review of current methods. **Materials Today: Proceedings**, v. 65, p. 3881–3886, 2022.

SILVA, V. E. C. et al. Space time evolution of the trophic state of a subtropical lagoon: Lagoa da Conceição, Florianópolis Island of Santa Catarina, Brazil. **RBRH**, v. 22, n. 0, 27 mar. 2017.

SMITH, V. H. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 10, n. 2, p. 126–139, mar. 2003.

SOLE, M.; BASSOLS, A.; LABRADA-MARTAGÓN, V. Plasmatic B-esterases as potential biomarkers of exposure to marine plastics in loggerhead turtles. **Environmental Research**, v. 213, p. 113639, out. 2022.

SOLÉ, M.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C. An in vitro screening with emerging contaminants reveals inhibition of carboxylesterase activity in aquatic organisms. **Aquatic Toxicology**, v. 169, p. 215–222, dez. 2015.

SOLÉ, M.; VEGA, S.; VARÓ, I. Characterization of type “B” esterases and hepatic CYP450 isoenzymes in Senegalese sole for their further application in monitoring studies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 72–79, abr. 2012.

SOUSA, N. S. S. et al. Effects of Sewage on Natural Environments of the Amazon Region (Pará-Brazil). **Journal of Coastal Research**, v. 75, n. sp1, p. 158–162, 3 mar. 2016.

STEGEMAN, J. J. Diversity and Regulation of Cytochromes P450 in Aquatic Species. Em: **Molecular Aspects of Oxidative Drug Metabolizing Enzymes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995. p. 135–158.

TABATABAIE, T.; AMIRI, F. Evaluation of the impact of industrial sewage pollution on marine benthic communities. **Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua**, v. 60, n. 6, p. 364–374, set. 2011.

TREXLER, J. C.; TRAVIS, J. PHENOTYPIC PLASTICITY IN THE SAILFIN MOLLY, *POECILIA LATIPINNA* (PISCES: POECILIIDAE). I. FIELD EXPERIMENTS. **Evolution**, v. 44, n. 1, 31 fev. 1990.

UNEP. Determinations of Petroleum Hydrocarbons in Sediments, Reference Methods for Marine Pollution studies No 20. p. 0–77, 1992.

UNEP. **A Snapshot of the World's Water Quality: Towards a global assessment**. Nairobi, Kenya: [s.n.]. Disponível em: <www.unep.org>.

UNITED NATIONS; DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, P. D. **World Population Prospects 2022 Data Sources (UN DESA/POP/2022/DC/nº9)**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://population.un.org/wpp/>>. Acesso em: 24 jun. 2024.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 2, fev. 2003.

VAZ, M. C. **Lagoa da Conceição: a metamorfose de uma paisagem**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, jun. 2008.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2005.

VON SPERLING, M. **Urban Wastewater Treatment in Brazil**. Washington, D. C.: 2016.

WALKER, S. D. . **Environmental risk assessment and human pharmaceuticals: limitations and future improvements**. Londres: University Of Westminster, 2012.

WENDEL, A. [44] Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, n. C, p. 325–333, 1 jan. 1981.

WHYTE, J. J. et al. Ethoxyresorufin- O -deethylase (EROD) Activity in Fish as a Biomarker of Chemical Exposure. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 347–570, 29 jan. 2000.

WILLETT, K. L.; ALURU, N. **Toxicology of Fishes**. Boca Raton: CRC Press, 2024.

XU, J. et al. Assessing Anthropogenic Impacts on Chemical and Biochemical Oxygen Demand in Different Spatial Scales with Bayesian Networks. **Water**, v. 12, n. 1, p. 246, 15 jan. 2020.

YAN, B. Carboxylesterases. Em: **Encyclopedia of Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2014. p. 695–698.

ZEBRAL, Y. D. et al. Combining elevated temperature with waterborne copper: Impacts on the energy metabolism of the killifish *Poecilia vivipara*. **Chemosphere**, v. 253, ago. 2020.

ZHANG, Z.; HIBBERD, A.; ZHOU, J. L. Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling. **Analytica Chimica Acta**, v. 607, n. 1, p. 37–44, jan. 2008.

APÊNDICE A – ANÁLISES QUÍMICAS DE ÁGUA

Tabela 3. Resultados das análises químicas de água dos pontos estudados. COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho.

PARÂMETRO	COS	CAN	REN	RIO	UNIDADE
Alcalinidade Total	30,7	58,7	53,3	78,7	mg/L
Cádmio Total	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	mg/L
Carbono Orgânico Total	3,9	1,75	4,43	3,50	mg/L
Chumbo Total	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	mg/L
Cobre Total	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	mg/L
Coliforme Fecal	2.766,67	450,00	1.063,33	613,33	NMP/100mL
Coliforme Total	4.166,67	1.246,67	1.400,00	1.633,33	NMP/100mL
Cromo Total	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	mg/L
Demanda Bioquímica de Oxigênio	7,9	8,51	16,75	6,55	mg/L
Demanda Química de Oxigênio	31,7	402,5	570,67	686,33	mg/L

Detergente	0,24	0,44	0,63	<0,10	mg/L
Fenóis Totais	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	mg/L
Fósforo Total	0,034	0,069	0,05	0,088	mg/L
Mercúrio Total	<0,0002	<0,0002	<0,0002	<0,0002	mg/L
Níquel Total	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	mg/L
Nitrato (N-N03)	<0,12	1,57	<0,12	<0,12	mg/L
Nitrito (N-N02)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	mg/L
Nitrogênio Amoniacal Total	0,103	0,15	0,29	0,31	mg/L N
Nitrogênio Total	<0,20	2,54	1,00	<0,20	mg/L
Sólido Total Seco à 104 C	2.101,07	14.155,00	6.803,07	24.290,00	mg/L
Turbidez	9,06	10,19	3,97	6,48	NTU
Zinco Total	<0,04	0,04	<0,04	<0,04	mg/L

APÊNDICE B – NÍVEIS DE ALQUILBENZENOS LINEARES

Tabela 4. Níveis de alquilbenzenos lineares (ng.g-1) por peso seco detectado em peixes *P.vivipara* coletados nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO– Rio vermelho.

ABL Isômeros	COS	CAN	REN	RIO
5-C10	<10	<10	<10	<10
4-C10	<10	<10	<10	<10
3-C10	<10	<10	<10	<10
2-C10	<10	<10	<10	<10
6+5-C11	<10	<10	<10	<10
4-C11	<10	<10	<10	<10
3-C11	<10	<10	<10	<10
2- C11	<10	<10	<10	<10
6-C12	<10	<10	<10	<10
5-C12	33,5	19,3	38,1	10,2
4-C12	24,7	14,2	25,5	<10
3-C12	22,1	10,2	16,0	<10
2- C12	<10	<10	<10	<10
7+6-C13	35,3	29,1	45,6	19,2
5-C13	27,1	26,9	29,8	11,8
4-C13	37,1	24,3	33,1	<10
3-C13	25,7	35,1	46,3	16,8
2- C13	<10	<10	<10	<10
6-C14	<10	<10	<10	<10
5-C14	<10	<10	<10	<10
4-C14	<10	<10	<10	<10
3-C14	<10	<10	<10	<10
2- C14	<10	<10	<10	<10
ABL totais	205	159	234	58,0

Tabela 5. Níveis de alquilbenzenos lineares (ng.g⁻¹) por peso seco detectado em amostras de sedimento coletadas nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho.

ABL Isômeros	COS	CAN	REN	RIO
5-C10	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
4-C10	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
3-C10	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
2-C10	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
6+5-C11	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
4-C11	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
3-C11	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
2- C11	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
6-C12	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
5-C12	4,78	2,57	<0,5	2,59
4-C12	2,14	1,5	<0,5	1,73
3-C12	1,88	0,94	<0,5	1,17
2- C12	0,76	<0,5	<0,5	0,70
7+6-C13	3,54	1,92	<0,5	5,92
5-C13	3,16	1,88	<0,5	2,64
4-C13	2,28	1,47	<0,5	2,15
3-C13	4,01	1,18	<0,5	1,96
2- C13	0,49	<0,5	<0,5	0,38
6-C14	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
5-C14	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
4-C14	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
3-C14	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
2- C14	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
ABL totais	26,54	15,47	<0,5	22,73

APÊNDICE C – NÍVEIS DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS

AROMÁTICOS (HPA)

Tabela 6. Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ng.g-1) por peso seco detectados em tecido de peixes *P.vivipara* coletados nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho.

	COS	CAN	REN	RIO
Naftaleno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C1-Naftaleno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C2-Naftaleno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Acenaftileno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Acenafteno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C3-Naftaleno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Fluoreno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C1-Fluoreno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Dibenzotiofeno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Fenantreno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Antraceno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C1-Fenantreno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C1-Dibenzotiofeno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C2-Dibenzotiofeno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C2-Fenantreno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C2-Fluoreno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Fluoranteno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Pireno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C1-Pireno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C2-Pireno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Benz[a]antraceno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Criseno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C1 Criseno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
C2 Criseno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Benzo[b]fluoranteno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Benzo[k]fluoranteno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Benzo[e]pireno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Benzo[a]pireno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Perileno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Indeno[123cd]pireno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Dibenz[ah]antraceno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Benzo[ghi]perileno	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
HPA total	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
%lipídios	2,51	1,25	1,24	0,61

Tabela 7. Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ng.g⁻¹) por peso detectados em amostras de sedimento coletadas nos pontos estudados. . COS – Costa da Lagoa; CAN- Canto da Lagoa; REN- Rendeiras; RIO – Rio vermelho.

	COS	CAN	REN	RIO
Naftaleno	2,44	<0,125	<0,125	1,08
C1-Naftaleno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C2-Naftaleno	4,77	<0,125	<0,125	3,12
Acenaftileno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
Acenafteno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C3-Naftaleno	0,55	<0,125	<0,125	<0,125
Fluoreno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C1-Fluoreno	0,72	<0,125	<0,125	<0,125
Dibenzotiofeno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
Fenantreno	1,04	<0,125	<0,125	0,75
Antraceno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C1-Fenantreno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C1-Dibenzotiofeno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C2-Dibenzotiofeno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C2-Fenantreno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C2-Fluoreno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
Fluoranteno	2,03	<0,125	<0,125	2,47
Pireno	3,66	1,77	<0,125	2,43
C1-Pireno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C2-Pireno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
Benz[a]antraceno	0,55	<0,125	<0,125	0,80
Criseno	1,53	2,11	<0,125	1,45
C1 Criseno	<0,125	<0,125	<0,125	<0,125
C2 Criseno	<0,125	0,50	<0,125	<0,125
Benzo[b]fluoranteno	1,00	0,54	<0,125	1,17
Benzo[k]fluoranteno	1,02	<0,125	<0,125	1,34
Benzo[e]pireno	1,58	5,64	<0,125	1,67
Benzo[a]pireno	0,84	1,37	<0,125	1,60
Perileno	6,11	0,51	<0,125	6,72
Indeno[123cd]pireno	0,84	<0,125	<0,125	0,70
Dibenz[ah]antraceno	<0,125	<0,125	<0,125	0,62
Benzo[ghi]perileno	0,83	0,53	<0,125	0,69
HPA total	31	14,5	<0,125	27,7

APÊNDICE D – DADOS COMPLEMENTARES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

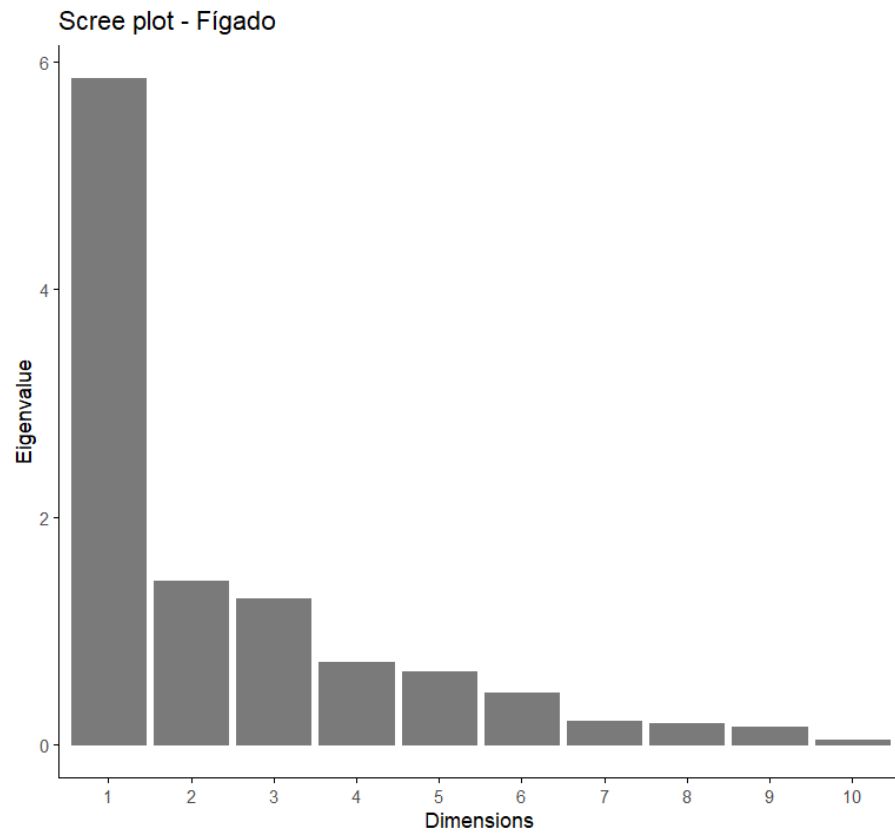


Figura 17. Scree plot com os valores de eigen de cada dimensão. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de fígado em *P. vivipara*.

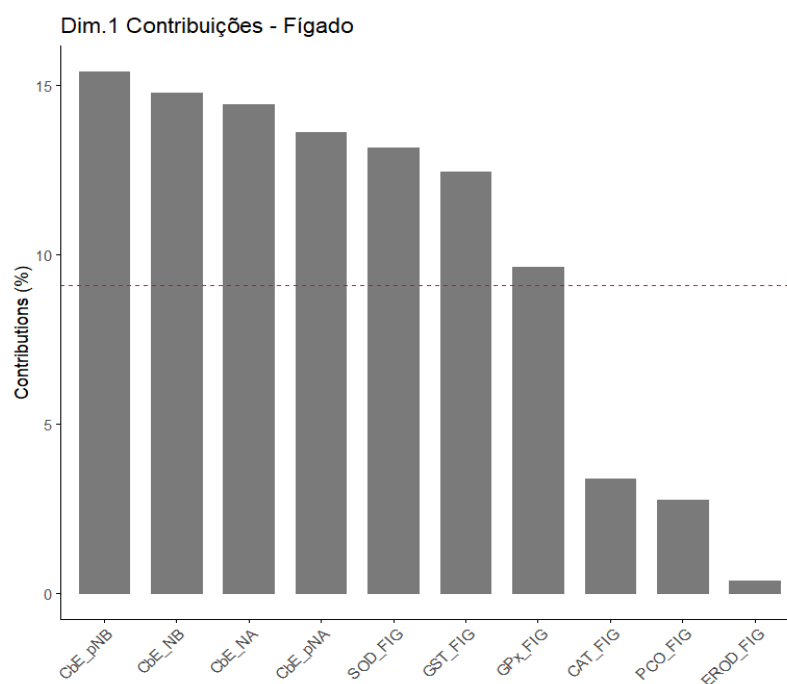


Figura 18. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 1. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de fígado em *P. vivípara*.

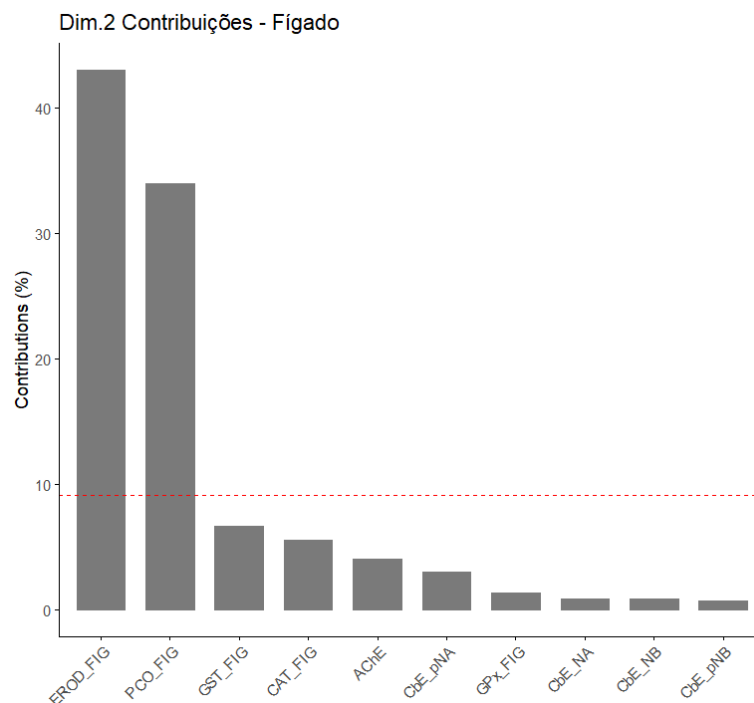


Figura 19. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 2. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de fígado em *P. vivípara*.

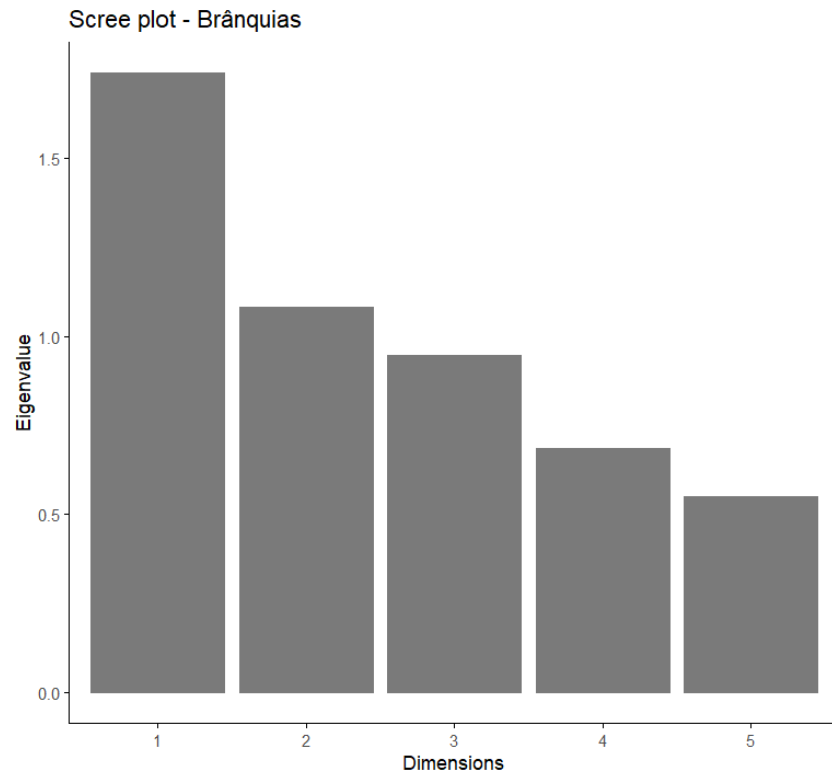


Figura 20. Scree plot com os valores de eigen de cada dimensão. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de brânquias em *P. vivípara*.

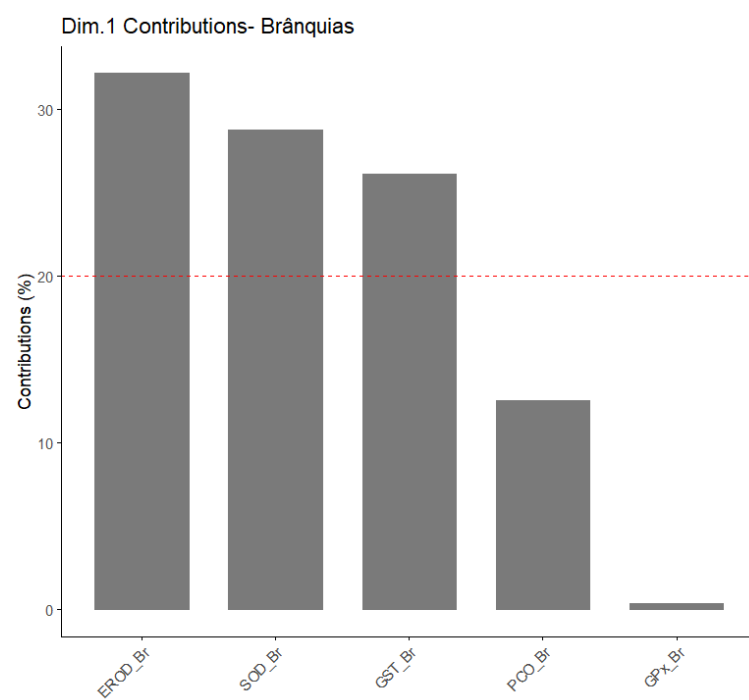


Figura 21. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 2. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de brânquias em *P. vivipara*.

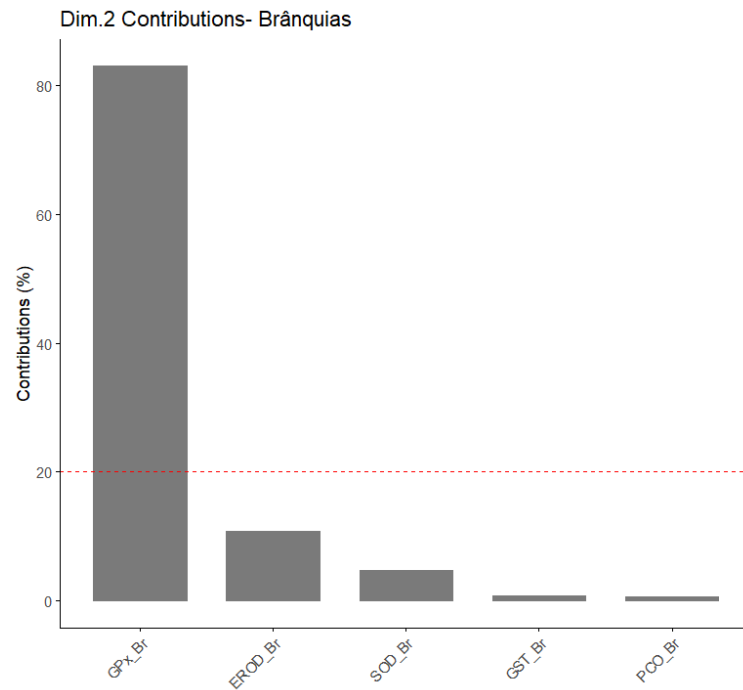


Figura 22. Gráfico de contribuições proporcionais a cada variável da dimensão 2. Gráfico referente a PCA feita com dados de biomarcadores de brânquias em *P. vivipara*.

