

O uso da microanálise em otólitos de bagres bioindicadores em estudos de biomonitoramento ambiental

Igor Souza de Moraes¹ e Juliana de Souza Azevedo²

1. Bacharel em Ciências Ambientais (Universidade Federal de São Paulo).

2. Bióloga (Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro). Doutora em Oceanografia Química e Geológica (Universidade de São Paulo).

Pós-doutora em Química Ambiental (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares). Professora da Universidade Federal de São Paulo, Brasil.

*Autor para correspondência: igorsdmorais@gmail.com; juliana_azevedo@msn.com

RESUMO

O presente estudo tem por objetivos aprimorar os conhecimentos acerca da determinação da idade/longevidade a partir da análise dos anéis etários nos otólitos de peixes bioindicadores com potencial uso em programas de monitoramento ambiental, considerando uma abordagem regional, nacional e internacional. Neste sentido, propõe-se como ferramenta adicional, a determinação de metais traço com potencial tóxico a partir da aplicação de técnicas analíticas voltadas a microanálise em estruturas calcificadas como os otólitos. Embora na última década alguns representantes da família Ariidae tenham sido validados e utilizados como espécies bioindicadoras ao longo da costa brasileira, a análise integrada quanto aos processos de exposição e respostas crônicas, com conhecimentos acerca da idade dos indivíduos ainda não é considerado. Em conjunto, a análise integrada dos fatores abióticos e bióticos, como caracterização física e química do meio aquático, determinação dos teores de metais nas diferentes matrizes ambientais, assim como a utilização de biomarcadores em associação com a estimativa da idade/longevidade nas espécies bioindicadoras poderão auxiliar na compreensão quanto aos processos de exposição a contaminantes orgânicos e inorgânicos aos quais a biota está exposta, auxiliando os gestores ambientais na tomada de decisões.

Palavras chave: Indicador ambiental, estruturas calcificadas, metais traço, peixes, poluição.

The use of microanalysis in otoliths of bioindicator catfish in environmental biomonitoring

ABSTRACT

The aims of this study was to improve the knowledge about the determination of age/longevity by the analysis of the age rings in otoliths of bioindicator fish with potential use in environmental monitoring programs, considering a regional, national and international approach. In this sense, it is proposed as an additional tool the determination of trace metals with toxic potential by the using of analytical techniques applied to microanalysis in calcified structures such as otoliths. Although in recent decade, some individuals of the Ariidae family have been validated and used as bioindicators species along the Brazilian coast, integrated analysis of exposure processes and chronic responses, with knowledge about the age of individuals, is still not considered. Together, the integrated analysis of abiotic and biotic factors, for instance physical and chemical characterization of the aquatic environment, determination of the metal content in the different environmental matrices, as well as the use of biomarkers in association with age/longevity estimates in bioindicator species may assist to understand the processes of exposure to organic and inorganic contaminants to which the biota is exposed, assisting environmental managers in decision making.

Keywords: Environmental indicator; otoliths; trace metals; fish; pollution.

Introdução

O monitoramento ambiental consiste na coleta de informações, acompanhamento contínuo e sistemático das variáveis ambientais, devido à alteração significativa do meio em função dos impactos das diferentes atividades antrópicas, sendo aplicado por exemplo a avaliação da qualidade de sistemas fluvio-marinhos (CETESB, 2001; PEVETTA et al., 2001; GADZALA-KOPCIUCH et al., 2004).

Desta forma, a utilização de indicadores físicos e químicos fornecem algumas vantagens, tais como a identificação imediata de modificações nas propriedades químicas da água e a detecção precisa da variável que foi modificada. No entanto, a descontinuidade temporal e espacial das amostras são alguns pontos negativos destes indicadores, o que têm sido considerados insuficientes, uma vez que dependendo das concentrações e da capacidade de autodepuração dos ambientes aquáticos pode ocorrer uma diluição ou modificação da espécie química antes da efetivação da coleta. Assim, o mascaramento, isto é a não identificação do real estresse abiótico, da situação ambiental de uma determinada área pode acontecer (PIMENTA et al., 2009; CUNHA et al., 2012).

Para tal, aplica-se o diagnóstico ambiental, o qual pode ser definido como a caracterização integrada de todos os componentes ambientais, isto é, físicos, químicos e biológicos,

assim fornecendo informações suficientes para avaliar a situação ambiental de uma determinada área (DEGÓRSKI et al., 2015).

Biomonitoramento ambiental

A ecotoxicologia representa uma área multidisciplinar voltada ao estudo dos efeitos causados por agentes físicos e químicos, tais como os diferentes contaminantes e poluentes, aos componentes ecossistêmicos da fauna e flora, incluindo assim as interações entre a biota e os interferentes (IUPAC, 2007).

Em estudos ecotoxicológicos, voltados a bioensaios que visam atender as normas de regulamentação, já é categorizado e estabelecido o uso de organismos testes tanto dulcícolas quanto marinhos, tais como peixes (Osteichthyes: *Danio rerio* Hamilton 1822) – lacustre; *Cyprinodon variegatus* Hubbs 1936 - marinho), moluscos marinhos (Bivalvia: *Mytilus edulis*), ouriços (Echinoidea: *Lytechinus variegatus* e *Arbacia punctulata*), algas (Chlorophyceae: *Pseudokirchneriella subcapitata* – lacustre; *Dunadiella tertiolecta* - marinha) e microcrustáceos (Branchiopoda: *Daphnia magna*, *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, Malacostraca: *Hyalella azteca* - lacustre; Branchiopoda: *Artemia salina* - marinho) (ZAGATO, BERTOLETTI, 2006; ABNT, 2011, 2012; OECD guidelines, 2013; ABNT, 2016). Entretanto,

embora vantajoso, os estudos em laboratório não refletem as condições reais aos quais os organismos estão expostos no ambiente, uma vez que uma miríade de interações químicas pode ocorrer entre os diferentes contaminantes/poluentes no meio aquático, tais como as interações sinérgicas, antagônicas, de potencialização e/ou adição (COSTA et al., 2008), que afetam direta ou indiretamente as respostas bioquímicas e celulares nos organismos.

Diferentes autores vêm testando, validando e utilizando organismos em diferentes táxons em estudos de biomonitoramento, tais como espécies do plâncton (Euglenophyceae: *Euglena gracilis* Klebs, 1883) (GARCIA et al., 2011), necton (Osteichthyes: *Mugil curema* Valenciennes 1836, *Cathorops spixii* Agassiz 1829, *Odontesthes argentinensis* Valenciennes 1835) (ARAÚJO et al., 2011; GUSMÃO et al., 2012; AZEVEDO et al., 2012b), bentos (Bivalvia: *Corbicula fluminea* Müller, 1774) (GUIMARÃES et al., 2008), perifiton (Bacillariophyceae: *Achnanthes minutissimum* Czarneski 1994) (FERRAGUT et al., 2009; CANTONATI et al., 2014) e macrófitas aquáticas (Eudicotiledonea: *Ceratophyllum demersum*) (ILYASHENKO et al., 2014).

Algumas espécies de macroinvertebrados e peixes são comumente utilizados para monitoramento biológico, principalmente as espécies com hábito e/ou habitat bentônico, como por exemplo o mexilhão *Perna perna* Linnaeus 1758 e o bagre *Cathorops spixii* Agassiz 1829 (AZEVEDO et al., 2012a; FERREIRA et al., 2013), importante quando se quer avaliar a bioacumulação, uma vez que o sedimento tem a capacidade de retenção de contaminação, o que influencia na alta biodisponibilidade de contaminantes como os metais (BUSS et al., 2003; LANA et al., 2006; CHIBA et al., 2011).

De maneira geral, os macroinvertebrados bentônicos adequam-se aos critérios pré-estabelecidos como espécies bioindicadoras de contaminação, uma vez que apresentam facilidade de amostragem, são sésseis ou possuem baixa frequência de locomoção, ampla distribuição geográfica, presença ao longo de todo o ano e possuem ainda capacidade de responder as variações de diferentes estressores ambientais (FRANZLE, 2003; REZENDE; LACERDA, 1986). Assim, estes organismos apresentam respostas relativamente rápidas às mudanças ambientais. Por exemplo, os moluscos bivalves (mexilhões e ostras) de coleta simples e barata, são organismos filtradores utilizados para identificar a localização de um determinado estresse ambiental (REZENDE; LACERDA, 1986; BARRETO et al., 2008). Alguns estudos corroboram a capacidade de utilização destes organismos em programas de biomonitoramento ambiental, como o estudo de Rezende e Lacerda (1986) que analisaram o padrão de bioacumulação dos metais zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), ferro (Fe), chumbo (Pb) e níquel (Ni) na espécie *Perna perna* Linnaeus 1758 em diferentes praias do Estado do Rio de Janeiro. Machado et al. (2002) avaliaram os teores dos metais chumbo (Pb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e cobre (Cu) em ostras da espécie *Crassostrea brasiliiana* Lamarck 1819 oriundas de uma área de manguezal no entorno do estuário de Cananéia (SP). No entanto, o uso de macroinvertebrados bentônicos como espécies bioindicadoras de contaminação, apresentam desvantagens tanto logísticas quanto ecológicas, uma vez que o trabalho em laboratório é moroso e a distribuição de algumas espécies pode representar problemas de amostragem, assim como a abundância dos indivíduos pode ser confundida por

outros fatores como variação sazonal ou disponibilidade do substrato (GERHARDT, 2009).

Além dos macroinvertebrados bentônicos, os peixes têm potencial como candidatos para monitoramento biológico visto sua diversidade de espécies, tempo de vida, estilo de vida, hábito alimentar e sua relação intrínseca com o nível trófico inferior, além de apresentarem alterações metabólicas frente as modificações abióticas do meio, visto serem organismos pecilotérmicos. Deste modo, a utilização de peixes como espécies bioindicadores pode fornecer informações quanto as respostas de efeitos crônicos, que são acumulativos e persistentes, além de efeitos agudos e quanto o estado de todo o ecossistema, principalmente quando algum distúrbio ambiental ocorre nos produtores ou consumidores secundários (CHOVANEC, 2003; FRANZLE, 2003; GADZALA-KOPCIUCH et al., 2004). Além disso, a variação em tamanho dos peixes, assim como a dimensão de seus órgãos são aspectos que facilitam os ensaios analíticos, não sendo necessário, na maioria das vezes, a realização de *pool* amostral para análise química, como determinação dos teores de metais ou bioquímica, como os ensaios enzimáticos.

Peixes como bioindicadores

Como forma de compreender e avaliar a integridade ecológica de uma determinada área, têm sido utilizados organismos bioindicadores em estudos e programas de monitoramento e diagnóstico ambiental. O termo bioindicador pode ser compreendido a partir da sua aplicabilidade, sendo distinguido três categorias: os Indicadores Ambientais, indicadores ecológicos e os indicadores de biodiversidade (GERHARDT, 2009). O **Indicador Ambiental** se aplica a uma espécie ou grupo de espécies que respondem a perturbações ou alterações ambientais, tais como os peixes que respondem, por exemplo, alterando a taxa de crescimento, maturação sexual ou ainda modificações na estrutura da comunidade quando submetido a perturbação no meio aquático, seja ela a construção de uma barragem ou a poluição. O **Indicador Ecológico** por sua vez, refere-se a uma espécie já conhecida por ser sensível ao estresse ambiental, como a poluição, fragmentação de habitat e outros. Os bagres *Cathorops spixii* Agassiz 1829 são bons exemplos de espécies sensíveis a poluição, assim como alguns grupos são bons indicadores ecológicos frente a introdução de espécies exóticas, tal como acontecem com a diminuição gradativa do grupo populacional de ciclídeos *Geophagus sp.* em relação a introdução de *Tilapia rendalli* Boulenger 1896 e outros bagres em relação a introdução de *Clarias sp.* (Siluriformes). Tal alteração da estrutura de comunidade deve-se principalmente por competição por recursos e predação de jovens. Deste modo, as respostas dos indicadores ecológicos são representativas para toda comunidade. Por fim, o **Indicador de Biodiversidade**, quando a riqueza de um táxon representa a riqueza de outros mais difíceis de medir (GERHARDT, 2009), como por exemplo a dominância de alguns Poecílídeos por consequência no declínio de seus predadores não adaptados ao novo ambiente modificado.

No contexto dos indicadores ambientais e ecológicos, a busca e a identificação de espécies com potencial de utilização como bioindicadores merece especial atenção, uma vez que com a intensificação das ações antropogênicas e consequente modificação do meio abiótico tem-se verificado uma perda de

equilíbrio ecossistêmico. Assim, o conceito de bioindicador estende-se a uma espécie ou grupo de espécies com capacidade de refletir o estado abiótico e/ou biótico de um ambiente, fornecendo informações importantes quanto aos níveis de poluição, uma vez o estresse provado pela poluição pode levar a modificações na maturidade sexual, taxa de crescimento, abundância e densidade populacional, diminuição do sucesso reprodutivo, além de alterações modificações no nível ecofisiológico (FRANZLE, 2003; GADZALA-KOPCIUCH et al., 2004).

Os organismos a serem considerados candidatos para monitoramento em ecossistemas aquáticos devem apresentar uma sensibilidade ao agente químico, acumulando contaminantes/poluentes em diferentes tecidos/órgão e compartimentos celulares, seja de detoxificação como fígado e rim como de estocagem como músculo e tecido adiposo (FRANZLE, 2003, participando assim da dinâmica do agente tóxico (ARAI et al., 2007).

A utilização de organismos bioindicadores em programas de monitoramento ambiental é vantajosa em três situações: 1^o - quando não é possível medir o fator ambiental; por exemplo, em estudos de paleobiomonиторamento; 2^o - quando há dificuldade de mensurar o fator ambiental; por exemplo, as complexas interações químicas dos poluentes; e 3^o - quando é possível mensurar o fator ambiental, porém há dificuldade de interpreta-lo, caso as mudanças observadas seja ecologicamente significativas (GERHARDT, 2009).

Os peixes teleósteos marinhos que habitam e/ou se alimentam no fundo ou ao menos passam parte do tempo na coluna d'água próxima ao fundo são considerados demersais (FROESE; PAULY, 2000). Estes peixes geralmente possuem uma dieta composta por bivalves, poliquetas e crustáceos como decapodas (camarões) e isopodas (MENDES, 2010). Haimovici et al. (1999) reuniram as principais famílias (espécies), com características biomonitoras, de peixes demersais distribuídos no Brasil, sendo alguns deles os representantes da família Albulidae (*Albula nemoptera* Fowler 1911 e *Albula vulpes* Linnaeus 1758), Notacanthidae (*Notacanthus sexspinis* Richardson 1846), Chlopsidade (*Chilorhinus suenonii* Lütken 1852 e *Chlopsis bicolor* Rafinesque 1810), Ariidae (*Genidens genidens* Cuvier 1829 e *Cathorops spixii* Agassiz 1829), Argentinidae (*Glossanodon pygmaeus* Cohen 1958), Ipnopidae (*Bathymicrops regis* Hjort e Koefoed 1912), entre outros.

Neste cenário, diferentes abordagens têm sido conduzidas no âmbito do estudo da avaliação de efeitos em peixes quando expostos a contaminantes orgânicos e/ou inorgânicos. Alguns trabalhos realizados no Brasil, como o de Bucker et al. (2006) utilizaram a técnica de micronúcleo *pisceo* e avaliaram a mutagênese e genotoxicidade do benzeno em exemplares de *Eigenmannia virescens* Valenciennes 1836 (Osteichthyes: Gymnotiformes) amostrados na Ilha de Xiborena, Manaus-AM e expostos em laboratório a diferentes concentrações de benzeno. Castro et al. (2014) utilizaram a espécie *Hoplias malabaricus* Bloch 1794 (Osteichthyes: Characiformes) para validar as lesões branquiais e hepáticas como biomarcadores de contaminação aquática, e diagnosticar efeitos tóxicos e indiretos que afetam as brânquias e o fígado. Repula et al. (2012) analisaram o tecido muscular e hepático das espécies *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758 e *Bagre marinus* Mitchill 1815, amostrados próximo a zonas rurais em Pitanga (PR) com o objetivo de obter respostas quanto aos efeitos acumulativos de Pb e Cr.

É importante ressaltar que devido ao hábito migratório de muitas espécies de peixes, estes passam a não ser bons bioindicadores de contaminação, uma vez que a identificação da fonte da poluição torna-se difícil (CHOVANEC et al., 2003; FLORES-LOPES et al., 2007). Além disso, a pesca demasiada pode causar alterações da abundância, riqueza e distribuição das espécies (SANTOS et al., 2005).

Bagres da Família Ariidae como espécies bioindicadoras

Os bagres da família Ariidae são comumente encontrados na costa brasileira, em ambientes dulcícolas, marinhos e estuarinos, apresentando ampla distribuição geográfica (FIGUEIREDO; MENEZES, 1978). Por apresentarem hábito bentônico, estes indivíduos apresentam um grande potencial de uso como espécies bioindicadoras de contaminação, uma vez que grande parte dos contaminantes e poluentes ficam adsorvidos no sedimento.

A maioria dos estudos com bagres concentra-se em aspectos relacionados a distribuição de espécies, reprodução, idade, crescimento e estrutura de comunidade, tais como o trabalho de Previero et al. (2013) sobre distribuição de espécies que encontraram os Ariídeos *Bagre bagre* Linnaeus 1766 e *Bagre marinus* Mitchill 1815 próximo ao litoral Espírito Santo (ES). Araújo et al. (1998) e Azevedo et al. (1999) também estudaram a distribuição do *Bagre marinus* Mitchill 1815, *Cathorops spixii* Agassiz 1829, *Genidens genidens* Cuvier 1829, *Netuma barba* Lacepède 1803 e *Sciadeichthys luniscutis* Valenciennes, 1840 porém na Baía de Sepetiba (RJ). As espécies *Bagre bagre* Linnaeus 1766, *Genidens genidens* Cuvier 1829 e *Netuma barba* Lacepède 1803 também foram encontrados próximos de Ubatuba, no litoral norte do Estado de São Paulo (NONATO et al., 1983). Mishima e Tanji (1981) estudaram a distribuição de bagres marinhos da família Ariidae, assim como das famílias Bagridae, Siluridae e Tashysuridae ao longo do estuário de Cananéia (SP). Menezes et al. (2011) fizeram um *checklist* dos peixes marinhos encontrados na costa litorânea de São Paulo e dentre eles membros da família Ariidae tiveram uma considerável ocorrência, tais como as espécies *Bagre bagre* Linnaeus 1766, *Bagre marinus* Mitchill 1815, *Cathorops agassizii* Eigenmann & Eigenmann 1888, *Genidens genidens* Cuvier 1829 e *Genidens machadoi* Miranda Ribeiro 1918.

Os bagres da família Ariidae têm sido amplamente estudados quanto a sua alimentação (ARAÚJO, 1984; REIS, 1986; PEDRA et al., 2006; SANDOVAL-LONDOÑO et al., 2013; PINHEIRO-SOUSA et al., 2016), distribuição (CRAIG, 1980; MISHIMA; TANJI, 1981; ARAÚJO, 1988; AZEVEDO et al., 1999; DANTAS et al., 2010; SANDOVAL-LONDOÑO et al., 2013; RAJAGOPAL; PRIYA DAVIDAR, 2013) e reprodução (BARBIERI et al., 1992; GOMES; ARAÚJO, 2004; FÁVARO et al., 2005; CANTANHÊDE, 2007; QUEIROGA et al., 2012; MAT ISA et al., 2012; SEGURA-BERTTOLINI et al., 2013; LIMA et al., 2016).

Ayala-Perez et al. (2008) analisaram a distribuição da espécie *Cathorops melanopus* Günther 1864 em paralelo com a variação da salinidade e temperatura da água em indivíduos da Costa oeste de Campeche (México). Ainda no México, Mendoza-Carranza (2003) estudaram os hábitos alimentares do *Bagre marinus* Mitchill 1815 na Costa do Paraíso e verificam estes peixes que consomem majoritariamente crustáceos e outros peixes menores. Mat Isa et al. (2012) analisaram os processos reprodutivos do bagre estuarino *Arius argyropleuron* Valenciennes 1840 na parte norte da Península da Malásia.

Em uma abordagem para a costa brasileira, Araújo (1988) analisou a distribuição dos bagres *Netuma barba* Lacepède 1803, *Netuma planifrons* Higuchi, Reis & Araújo 1982 e *Genidens genidens* Cuvier 1829, oriundos na Lagoa dos Patos (RS). Quanto a alimentação dos bagres da costa do Brasil, Ribeiro et al. (2012) analisaram o hábito alimentar do bagre *Sciades herzbergii* Bloch 1794 amostrados na ilha dos Caranguejos (MA) e constaram que sua dieta consiste basicamente em crustáceos. Na mesma região, Cantanhêde (2007) analisou a época de reprodução da espécie *Hexanematichthys proops* Valenciennes 1840, amostrados no litoral ocidental maranhense, a partir da análise da variação mensal do fator de condição dos indivíduos machos e fêmeas. Na região norte, Queiroga et al. (2012) analisaram a biologia reprodutiva da espécie *Sciades herzbergii* Bloch 1794 amostrados no estuário do rio Paraíba do Norte entre os municípios de Bayeux e João Pessoa, no estado da Paraíba.

No litoral sudeste, Azevedo et al. (1999) registraram a distribuição e abundância de cinco espécies de Ariídeos, na seguinte ordem decrescente de abundância numérica: *Genidens genidens* Cuvier 1829, *Cathorops spixii* Agassiz 1829, *Sciadeichthys luniscutis* Valenciennes 1840, *Netuma barba* Lacepède 1803 e *Bagre marinus* Mitchill 1815 amostrados na Baía de Sepetiba (RJ), e Shmidt et al. (2008) verificaram a presença das espécies *Cathorops spixii* Agassiz 1829, *Genidens genidens* Cuvier 1829, *Genidens barbatus* Lacepède 1803, *Notarius grandicassis* Valenciennes 1840 e *Bagre bagre* Linnaeus 1766 na região interna do estuário de São Vicente no litoral do estado de São Paulo.

Ainda na costa do Estado de São Paulo, especificamente no Complexo estuarino-lagunar de Cananéia, Mishima e Tanjii (1981) encontraram os Ariídeos *Arius spixii* Agassiz 1829, *Netuma barba* Lacepède 1803, *Genidens genidens* Cuvier 1829, *Sciadeichthys luniscutis* Valenciennes 1840, *Bagre marinus* Mitchill 1815, *Bagre bagre* Linnaeus 1766 e *Notarius grandicassis* Valenciennes 1840, e concluíram que a distribuição geográfica dos bagres no estuário varia conforme a espécie e tamanho dos indivíduos.

Barbanti et al. (2013) estudaram a ictiofauna do canal de Bertioxa no litoral de São Paulo e encontraram, dentre outras espécies, vários Ariídeos *Aspistor luniscutis* Valenciennes 1840, *Bagre bagre* Linnaeus 1766, *Genidens barbatus* Lacepède 1803, *Genidens genidens* Cuvier 1829 e *Cathorops spixii* Agassiz 1829. Esta última espécie (*C. spixii* Agassiz 1829) também foi avaliada quanto a estrutura dos grupos tróficos de peixes demersais, variação temporal e espacial dos hábitos alimentares, porém em indivíduos amostrados na Baía de Santos (SP) (MUTO et al., 2014). Hanazaki et al. (2009) estudaram as preferências alimentares das comunidades próximas do sistema estuarino-lagunar de Cananéia-Iguapé (SP) e constataram que os bagres *Cathorops spixii* Agassiz 1829, *Bagre bagre* Linnaeus 1766, *Genidens genidens* Cuvier 1829 e *Sciadeichthys luniscutis* Valenciennes 1840 estavam entre as utilizadas como meio de subsistência.

Nos últimos anos, alguns estudos vêm sendo conduzidos com representantes da família Arridae, no âmbito da validação e aplicabilidade de espécies bioindicadoras em estudos de monitoramento e diagnóstico ambiental, com grande parte dos trabalhos sendo conduzidos com espécies do Sudeste brasileiro. Silva-Júnior et al. (2013), por exemplo, avaliaram a capacidade do bagre *Genidens genidens* Cuvier 1829 em responder como espécie bioindicadora para a Baía de Guanabara (RJ).

Em estudos conduzidos no litoral do estado de São Paulo

(SP), foi verificada a capacidade de utilização dos Ariídeos como bioindicadores de contaminação ambiental, sendo validada as espécies *Cathorops spixii* Agassiz 1829 e *Genidens genidens* Cuvier 1829 para este fim (AZEVEDO et al., 2009; AZEVEDO et al., 2012a). Além de participar da dinâmica de metais traço essenciais e não essenciais (AZEVEDO et al., 2011; 2012b; 2012c), os bagres *C. spixii* Agassiz 1829 apresentaram respostas no nível bioquímico, como modificações nos teores de metalotioneína, δ -aminolevulinato desidratase (ALAD) e stress oxidativo em indivíduos oriundos de áreas impactadas como o estuário de Santos e São Vicente, SP (AZEVEDO et al., 2009b); genotóxicas, com uma maior frequência de peixes com eritrócitos apresentando micronúcleos e indicando assim os efeitos aneugênicos e clastogênicos onde se evidencia dano no material genético nos peixes das áreas mais impactadas (AZEVEDO et al., 2012d); e histopatológicas refletindo processos de exposição aguda e crônica a partir de alterações morfológicas em estruturas branquiais e no tecido hepático (AZEVEDO et al., 2013).

Santos et al. (2014) também utilizaram a espécie *C. spixii* Agassiz 1829, porém no intuito de avaliar o impacto dos compostos de butil-estanho em exemplares amostrados na Baía de Paranaguá (PR), um importante sistema estuarino localizado no sul do Brasil. Neste estudo, os autores utilizaram o fígado dos indivíduos para fazer uma análise química da hepatotoxicidade por meio de biomarcadores genéticos, enzimáticos e histopatológicos.

Sousa et al. (2013) concluíram que a espécie *Sciades herzbergii* Bloch 1794 mostrou ser um bioindicador apropriado para avaliar a qualidade ambiental da Unidade de Conservação Ilha dos Caranguejos (MA) e indicar impacto ambiental na área de influência do complexo portuário instalado na Baía de São Marcos (MA). Ainda sobre a mesma espécie *S. herzbergii* Bloch 1794, Carvalho-Neta et al. (2010) estudaram os efeitos da contaminação ambiental em dois locais na Baía de São Marcos (MA), uma área denominada como referência e a outra contaminada. Neste estudo, os autores compararam dados da atividade da enzima de defesa antioxidante catalase (CAT) e da glutathione S-transferase (GST) com os dados biométricos e o índice gonadossomático (GSI) dos exemplares capturados nas duas áreas. Os autores observaram uma boa correlação da GST/CAT e GSI poderia estar relacionada à reprodução dos animais no local de referência, mas não no local potencialmente contaminado, sugerindo ainda que tais enzimas poderiam ser utilizadas como bons biomarcadores em estudos posteriores de biomonitoramento, uma vez que a expressão dos teores de CAT e GST mostraram uma resposta significativa ao estresse oxidativo dos bagres amostrados no local contaminado em comparação aqueles capturados na região controle, especialmente os teores de GST.

Determinação da idade e estimativa da longevidade a partir da análise de otólitos

Estruturas como otólitos têm sido utilizadas como uma importante ferramenta em estudos biológicos como forma de auxiliar na proteção dos estoques naturais de peixes, a partir da diferenciação de espécies, determinação da idade, assim como em estudos de modelos de crescimento e avaliação de padrões de migração de peixes em diferentes ambientes (CAMPANA, 1999; BEGG et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2014).

Otólitos são estruturas calcificadas, acelulares e metabolicamente inerte presentes na cápsula auditiva dos peixes

teleosteos, os quais encontra-se três pares simétricos chamados de *sagittae*, *lapilli* e *asteriscus* (Figura 1).

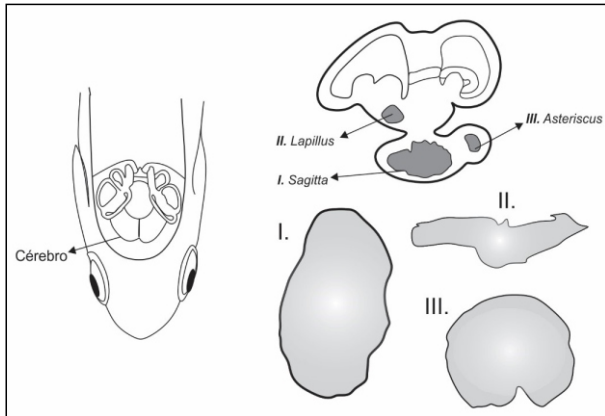


Figura 1. Visão dorsal de um peixe, com a representação do cérebro e identificação dos três tipos de otólitos I. *Sagitta*, II. *Lapillus* e III. *Asteriscus*. Modificado de SECOR et al. (1991). / **Figure 1.** Dorsal view of a fish, with representation of the brain and identification of the three types of otoliths I. *Sagitta*, II. *Lapillus* and III. *Asteriscus*. Modified from SECOR et al. (1991).

Tais otólitos diferenciam-se na sua morfologia (MUGIYA et al., 1991; CAMPANA, 1999; PÉREZ; FABRÉ, 2003), são resultantes de uma cristalização, compostas principalmente por carbonato de cálcio (CaCO_3) junto com outros elementos inseridos numa matriz proteica (CAMPANA, 1999). Elementos ou compostos acrescidos em sua superfície são permanentemente retidos na época da sua formação, crescimento e época da morte, ou seja, toda a vida da maioria das estruturas biológicas e mineralógicas do peixe encontrasse registrada nos otólitos (DEGENS; DEUSER, 1969; CAMPANA, 1999).

A determinação da idade a partir da leitura dos anéis de crescimento em otólitos só era possível em peixes de regiões temperadas, tanto marinhos quanto dulcícolas. Atualmente é possível o uso dessas estruturas em peixes que habitam ambientes tropicais, como concluiu uma revisão realizada com 42 estudos sobre otólitos em peixes marinhos (OLIVEIRA et al., 2014), assim como em peixes dulcícolas (GIAMAS et al., 1992; CUTRIM, 2005; SOARES et al., 2013).

Ainda no estudo de Olivera et al. (2014), os autores observaram que tanto o otólito *sagittae* quanto o *lapilli* podem ser utilizados para estimativa da idade. Entretanto, o primeiro (*sagittae*) tende a ser o mais utilizado, uma vez que na maioria das espécies esse par de otólitos apresenta uma maior facilidade de manuseio, coleta e análise dos anéis etários (OLIVEIRA et al., 2014). Por outro lado, o estudo realizado por Cutrim et al (2005) avaliaram os otólitos *asteriscos*, uma vez que estes foram o melhor par de otólitos para determinação da idade do mapará (*Hypophthalmus marginatus* Valenciennes 1840). Deste modo, a seleção do otólito para determinação da idade, de maneira geral, dependerá da espécie em estudo.

Para os estudos de estimativa da idade e crescimento em peixes são utilizados modelos de crescimento como a curva de Von Bertalanffy (SCAPIM et al., 2008). Este modelo que expressa o comprimento (L) em função da idade do peixe (t), parte do pressuposto que a taxa de crescimento (k) diminui à medida que o tamanho do peixe aumenta, sendo este decréscimo linear. Deste modo, a taxa de crescimento é uma função linear do comprimento do peixe, que diminui com o tempo.

$$1. L(t) = L_{\infty} * [1 - \exp(-k * (t - t_0))]$$

sendo, L_{∞} = comprimento máximo teórico (tamanho máximo teórico que o peixe pode atingir), k = taxa de crescimento (incremento de tamanho por unidade de tempo) e t_0 = idade

teórica no comprimento zero.

Os valores de k , L_{∞} e t_0 podem ser estimados a partir, por exemplo, do método ELEFAN I (*Electronic Lengths-Frequency Analysis*) (PAULY; DAVID, 1981). Existem três formas de obter os dados de entrada para o modelo na estimação dos parâmetros, tais como: leitura de idades combinados com medições de comprimento, só medição de comprimento e experiência de marcação e recaptura, onde duas (ou mais) medidas de comprimento são obtidas.

A validação metodológica para utilização das estruturas calcificadas (otólitos, vértebras, escamas, espinhos e opérculos) visando a determinação e estimativa da idade, requer a utilização de métodos concisos que permitam a correta identificação dos anéis de crescimento, uma vez que estas são geralmente opacas. Como exemplo, no estudo conduzido por Perez e Fabre (2003), os autores tiveram dificuldades na análise na verificação de um padrão de anéis duplos estáveis nas vértebras, onde só foi possível distinguir as marcas principais das intermediárias ao aplicar a técnica de Hiperoxidação e Descalcificação química.

Deste modo, diversos métodos têm sido aplicados a fim de garantir a correta análise e interpretação dos anéis etários, dentre eles o chamuscamento (CHLITON et al., 1982), a hiperoxidação e descálificação química (PÉREZ; FABRÉ, 2013), a microtomia e clarificação (DAIBER, 1960) e por fim, a coloração (LA MARCA, 1966). Um esquema simplificado representativo de cada um desses métodos é apresentado na figura 2.

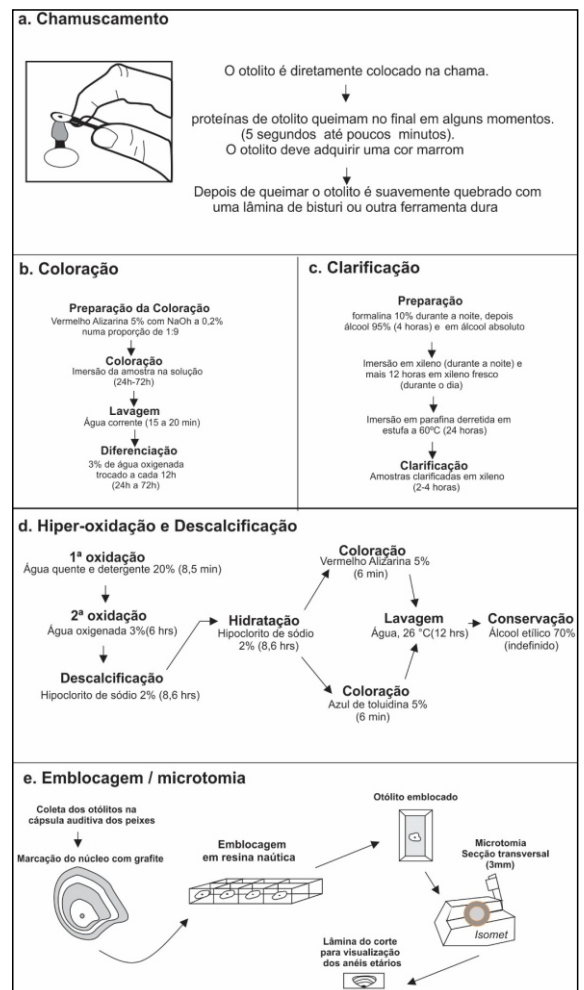


Figura 2. Esquema representativo das técnicas mais comumente utilizadas no processamento de otólitos. a. Chamuscamento; b. Coloração; c. Clarificação; d. Hiperoxidação e descálificação; e. Embocagem/microtomia. / **Figure 2.** Schematic representation of the most commonly used techniques in otolith processing. The. Scoring; B. Coloring; w. Clarification; D. Hyperoxidation and descaling; and. Embedding / microtomity.

Em alguns estudos realizados no Brasil, como o do Pérez e Fabrè (2003), os autores tiveram dificuldades na leitura dos anéis etários do otólito *asteriscus* de *Calophysus macropterus* Lichtenstein 1819 (Siluriformes, Pimelodidae), amostrados no lago Catalão na Amazônia Central (Amazonas). Após o tratamento com benzoato, o otólito ainda se apresentou opaco, não sendo possível identificar claramente as marcas de crescimento.

Cutrim e Batista (2005) identificaram o par de otólito *asteriscos* como o mais adequado para leitura dos anéis etários e determinar os parâmetros de crescimento para *Hypophthalmus marginatus* Valenciennes 1840 (Siluriformes, Hypophthalmidae) oriunda da Amazônia Central (Amazonas). Andrade et al. (2004) determinaram a idade de exemplares de *Urophycis brasiliensis* Kaup 1858 (Gadiformes, Phycidae) a partir da análise dos otólitos *asteriscus* em peixes amostrados em Itajaí (SC).

Na costa Sudeste do Brasil, Vaz-dos-Santos e Rossi-Wongtschowski (2007) determinou a idade de espécimens de *Merluccius hubbsi* Marini 1933 (Gadiformes: Merlucciidae) a partir da análise dos otólitos *sagitta*. Neste estudo, os autores realizaram cortes transversais dos otólitos para melhor visualização dos anéis etários. Ainda na costa Sudeste, Costa et al. (2011) validaram a determinação da idade de *Epinephelus niveatus* Valenciennes 1828 (Perciformes, Serranidae) coletados ao longo da costa do ES, RJ e SP, a partir da análise dos anéis etários dos otólitos *sagittae* e a partir dos dados de idade, juntamente com os dados de comprimento, foi possível calcular os parâmetros de crescimento.

Além dos otólitos, estruturas como vértebras, escamas e espinhos são comumente utilizadas para determinação da idade em peixes. Feitoza et al. (2004), por exemplo, validaram a utilização das vértebras para estimar a idade da espécie *Pterodoras granulosus* Valenciennes 1821 (Siluriformes, Doradidae) em indivíduos amostrados no reservatório de Itaipu (PR). Soares et al. (2013) também utilizaram as vértebras para determinar a idade de *Iheringichthys labrosus* Lütken 1874 (Siluriformes, Pimelodidae) amostrados no curso médio do Rio Uruguai, na localidade de São Marcos (RS).

Uma das vantagens relacionadas ao uso de escamas para determinação da idade em peixes, deve-se ao fato da não necessidade de sacrificar o animal para coleta das escamas, sendo esta de fácil obtenção e preparo. Contudo, a aplicação desta técnica só é possível em peixes com escamas. Assim, a utilização de otólitos permite que possa ser aplicado uma padronização de análise do material, permitindo a comparação entre grandes grupos taxonômicos. Como outra desvantagem associada a utilização tanto de escamas quanto espinhos para determinação da idade, deve-se ao fato de não revelar a verdadeira idade em peixes mais longevos, uma vez que com o crescimento destas estruturas pode ocorrer uma sobreposição nas antigas (BORKHOLDER; EDWARDS, 2001). Vale ressaltar que as escamas devem ser retiradas de zonas protegidas e evitar a coleta de forma aleatória ao longo do corpo do peixe (SCHNEIDER et al., 2000; CAMPANA, 2001).

Estudos de otólitos em Ariídeos

Considerando a pressão da pesca sobre os estoques dos bagres, assim como a degradação ambiental nos ambientes aquáticos com possíveis efeitos ecológicos e econômicos, tornam-se necessários estudos, dentre os já anteriormente

supracitados sobre alimentação, reprodução, distribuição, estrutura de comunidade dentre outros, trabalhos que versem sobre a determinação da idade e a estimativa dos parâmetros de crescimento, uma vez que poucos trabalhos consideram os representantes da família Ariidae.

Por exemplo, Conand et al. (1995) estimaram em 6-7 anos a idade nas três espécies de Ariídeos *Arius heudelotii* Valenciennes 1840, *Arius parkii* Günther 1864 e *Arius latiscutatus* Günther 1864 amostradas na costa da Guiné (África). Os autores utilizaram espinho para determinar a idade dos indivíduos, e discutiram algumas hipóteses referentes ao período de reprodução e movimento sazonal dos peixes para compreender o crescimento dos anéis etários nestas estruturas. Em outro estudo também realizado com espinhos, porém para a espécie *Arius proops* Valenciennes 1840 amostrados no estuário do rio Sinnamary (Guiana Francesa), Lecomte et al. (1989) estimaram em 3-4 anos a idade destes indivíduos.

No Brasil, Oliveira e Novelli (2005) analisaram os otólitos *lapilli* de bagres *Genidens genidens* Cuvier 1829, coletados na lagoa do Açú, região norte do Estado do Rio de Janeiro e concluíram que a população de *G. genidens* Cuvier 1829 era composta por indivíduos de 2 a 4 anos, com espécimens mais velhos apresentando 5 anos, tanto para machos quanto fêmeas.

Na região sul foram realizados estudos por Reis (1986), que estimou em 36 anos a idade média dos Ariídeos *Netuma barba* Lacepède 1803 amostrados no estuário da Lagoa dos Patos, na região Sul do Brasil. Ainda na mesma região, o estudo de Velasco et al. (2007) aplicou dados de idade para estimar parâmetros de crescimento para a espécie *Genidens barbatus* Lacepède 1803.

Os estudos de idade/crescimento em bagres apresentam grande relevância científica, uma vez que espécies como *C. spixii* Agassiz 1829, *G. genidens* Cuvier 1829 (AZEVEDO et al., 2009, 2012a; SANTOS et al., 2014) e *S. herzbergii* Bloch 1794 (CARVALHO-NETA et al., 2010; SOUSA et al., 2013) já foram validadas como bioindicadoras de contaminação, sendo utilizadas em estudos de monitoramento e diagnóstico ambiental. Assim, a partir dos dados de idade e crescimento destes organismos, é possível realizar uma análise integrada com biomarcadores de exposição, efeito e susceptibilidade, o que pode auxiliar na elucidação, por exemplo, nos processos de exposição crônica aos diferentes xenobióticos presentes em ambientes aquáticos. Desta forma, a utilização conjunta dos dados de idade e crescimento com biomarcadores bioquímicos, genotóxicos e/ou histopatológicos, surge como uma abordagem a fim de otimizar os estudos nesta área, fornecendo informações mais concisas quanto a saúde de indivíduos já validados como bioindicadoras.

Microanálise de metais em otólitos

Uma vez em contato com os diferentes contaminantes e/ou poluentes que ingressam no meio aquático, organismos como os peixes responderão a esta exposição por diferentes vias de metabolização. O xenobiótico, composto que não ocorre naturalmente no sistema biológico e normalmente introduzido no ambiente por diferentes atividades humanas, ao chegar na corrente sanguínea será atribuído para os diferentes sítios de estocagem e/ou detoxificação a depender da espécie química e grau de toxicidade. Tecido adiposo,

muscular e estruturas calcificadas configuram-se normalmente como sítios de estocagem, principalmente em eventos de exposição crônica.

Elementos inorgânicos como estrôncio (Sr) e cálcio (Ca) passam por duas etapas antes de serem inseridos/cristalizados nos otólitos: primeiro estes elementos entram no organismo a partir da água para o sangue, por meio das brânquias ou intestino e em seguida seguem até a região de cristalização, na endolinfa, presente na capsula auditiva (CAMPANA, 1999). Desse modo, os otólitos podem conter um registro completo de exposição de compostos inorgânicos presentes na água. Neste sentido, a microanálise de estruturas calcificadas, tal como os otólitos, é importante quando se deseja verificar, por exemplo, o padrão de migração da espécie (relação Sr:Ca) e especialmente para detectar e quantificar a exposição de outros metais traços inseridos nesta estrutura como forma de fomento nos programas de monitoramento ambiental.

A microanálise ou caracterização química é um procedimento químico para detectar elementos em materiais (AFONSO et al., 2004). Para tal, são utilizadas técnicas analíticas como a espectrometria de absorção atômica (AAS) ou em chama (FAAS), a absorção atômica com forno de grafite (GFASS), a espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDX), a emissão de raios X induzida por partículas (PIXE), a espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP MS) e a técnica de ablação a laser acoplado ao espectrômetro de massas com fonte de plasma indutivo (LA ICP MS).

A técnica de espectrometria de absorção atômica (AAS), tem como princípio a conversão do aerossol da amostra em vapor atômico, que pode então absorver a luz proveniente de uma fonte primária. Desta forma, a quantidade de radiação absorvida está relacionada com a concentração do elemento de interesse na solução. As vantagens desta técnica é o menor tempo de análise possível, menor custo do equipamento, menor custo operacional e facilidade de uso. Entretanto, além de ser um método destrutivo, onde a amostra deve ser submetida a um pré-tratamento visando a dissolução dos íons, a análise mono-elementar, configura-se como uma desvantagem desta técnica (TYLER, 1994).

Na espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS), por sua vez, é utilizado uma chama de ar para evaporar o solvente e dissociar a amostra em seus componentes. Quando a luz passa pela nuvem de átomos, estes absorvem a luz da lâmpada de cátodo oco (o cátodo é feito do elemento de interesse). Isto é medido por um detector e usado para calcular a concentração desse elemento na amostra na ordem de ppm (mg Kg^{-1}). Alguns problemas relacionados a esta técnica são: a ionização parcial de alguns elementos na chama, tais como metais alcalinos e metais alcalino-terrosos; e as interferências químicas induzidas pela matriz da amostra, resultando na atomização incompleta do analito (por exemplo, o cálcio na presença de alumínio, titânio, fosfatos, silicatos, etc).

O princípio da técnica de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) é semelhante a FAAS em chama, onde a diferença reside na substituição por um pequeno tubo de grafite que executa a pirólise da amostra. Em comparação com a FAAS, o limite de detecção é menor, na ordem de sub-ppb (TYLER, 1994). Algumas desvantagens dessa técnica estão

relacionadas ao grande número de interferências, que a depender do elemento a ser determinado, pode acarretar em uma diminuição da sensibilidade analítica, e as faixas de trabalho de concentração limitada.

Nos estudos com peixes, diversos trabalhos têm utilizado a técnica de AAS para determinação de metais em diferentes tecidos (FÁVARO et al., 2011; AJIMA et al., 2011; VOIGHT et al., 2015; YAMAN; YAMAN, 2017). Entretanto, devido ao seu limite de detecção, estruturas como brânquias e pele podem apresentar concentrações abaixo do limite da técnica, o que inviabiliza a aplicação deste método analítico. Além disso, as baixas concentrações de metais encontradas em otólitos, na ordem de ppb/ppt ($\mu\text{g Kg}^{-1}/\text{ng Kg}^{-1}$), associado ao elevando conteúdo de Ca, que se configura como um interferente para a maioria das técnicas analíticas, a AAS não se apresenta como a estratégia analítica mais utilizada para análise nestas matrizes. Neste cenário, não foram encontrados trabalhos que utilizaram a técnica AAS para análise elementar em otólitos.

A técnica EDX baseia-se no princípio de incidência do feixe de elétrons sobre a amostra, onde os elétrons mais externos dos átomos e os íons são excitados, fazendo com que mudem níveis energéticos. Desta forma, ao retornarem para sua posição, liberam energia que emitida em comprimento de onda no espectro de raio-x é detectada por um equipamento na câmara de vácuo que mede a energia associada a esse elétron (DEDAVID et al., 2007). A EDX configura-se como uma técnica não destrutiva, o que possibilita sua aplicação em pesquisas e controle de qualidade em várias áreas. Além disso, é rápida e não requer o uso de reagente e vidrarias especiais, além de não produzir uma quantidade significativa de resíduos (DEDAVID et al., 2007).

Uma vez que EDX apresenta maior limites de detecção para uma grande variedade de metais, poucos trabalhos têm utilizado esta técnica em estudos de microanálise de otólitos. Entretanto, Herrera-Reveles et al. (2013) analisam os metais traços Ca, Cd, Cu, Hg, Pb e Zn na camada externa de cada otólito *sagittae* do peixe *Abudefduf saxatilis* coletados em sete localidades dos mais importantes recifes de coral do leste da Venezuela, por uma espectroscopia de raios X de dispersão de energia (EDS) fixado a microscopia eletrônica de varredura (MEV). O estudo concluiu que a presença dos metais nas camadas externas dos otólitos de *A. saxatilis* mostra a biodisponibilidade destes metais no Parque Nacional de Mochima e na ilha de La Torturra, onde chumbo (Pb) e mercúrio (Hg) têm as maiores concentrações. Já as variações espaciais evidenciam diferentes concentrações de cádmio (Cd), Hg e Pb na água e/ou sedimento, enquanto as diferenças espaciais de cobre (Cu) e zinco (Zn) podem ser indicativas das bioacumulações dietéticas em algumas localidades.

A técnica PIXE, por sua vez, baseia-se na produção de raio X característicos induzidos pela interação dos átomos da amostra com um íon que passa pela sua vizinhança. A amostra a ser analisada é irradiada por partículas carregadas aceleradas e os raios X emitidos pela desexcitação dos átomos da amostra são analisados com auxílio de um sistema de detecção (CAMPBELL; TEESDALE, 1995). As vantagens da técnica PIXE são: detecta todos os elementos mais pesados do que o sódio; rápido, a irradiação de um minuto é suficiente; é sensível, o que permite medir níveis de algumas partes por milhão (CAMPBELL; TEESDALE, 1995).

Halden et al. (1996) utilizaram a técnica Micro-PIXE para verificar variações de metais como estrôncio (Sr) ($0-200 \text{ mg Kg}^{-1}$) inseridos nos otólitos de *Salvelinus alpinus* (Salmoniformes, Salmonidae) amostrados no Canadá, Rio Halovik, a fim de obter informações sobre a migração destes peixes entre os ambientes fluvial e marinho. Poucas técnicas analíticas não destrutivas possuem a capacidade de analisar diversos elementos a níveis de traços simultaneamente como PIXE.

A técnica ICP OES, às vezes referida simplesmente como ICP, é uma técnica de análise multielementar que utiliza uma fonte de plasma acoplada indutivamente para dissociar a amostra em seus átomos ou íons constituintes, excitando-os a um nível onde eles emitem luz de um comprimento de onda característico (TYLER, 1994; MICHALKE, 2002). Um detector mede a intensidade da luz emitida e calcula a concentração desse elemento particular na amostra. Por sua vez, a técnica ICP-MS, também multielementar, os próprios íons são detectados, ao invés da luz que eles emitem. Por fim, estes íons são extraídos do plasma e passados para o espectrômetro de massa, sendo separados com base na sua massa atômica por um analisador ou por um setor magnético (TYLER, 1994). Na técnica ICP MS, cerca de 90% dos elementos da tabela periódica podem ser determinados, com limites de detecção na ordem de ppt (ng Kg^{-1}) a depender do elemento (TYLER, 1994). Entretanto, esta técnica apresenta como interferentes as interações poliatômicas e isobáricas que ocorrem quando uma espécie tem uma massa semelhante ao analito. As interferências poliatômicas são causadas por íons Cl⁺, P⁺, S⁺ em conjunto com outros elementos da matriz como Ar⁺, O⁺, H⁺. Além disso ácidos como HCl, HClO₄, H₃PO₄ e H₂SO₄ podem causar consideráveis problemas espectrais, devendo seu uso nos procedimentos de preparo de amostra ser avaliado com cuidado.

Considerando ainda as interferências, espectrais e íons de carga dupla, facilidade de uso, tempo de análise, operação e custo, assim como o limite de detecção, o ICP MS além de permitir um amplo espectro de análise elementar, possui um limite de detecção com ordem de grandeza de duas a três vezes menor que o ICP OES, uma vez que o primeiro permite a detecção da maioria dos elementos em até ppt (ng Kg^{-1}) e o ICP OES possui limites de detecção para a maioria dos elementos na faixa de ppb ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) (TYLER, 1994). Isto quando se trata de soluções com baixos níveis de outro material dissolvido. O custo de uso das técnicas dependerá da quantidade de amostras a serem analisadas como parte da rotina analítica, da automação do processo de análise, dos acessórios e do fornecedor. Um ICP OES, por exemplo, custará o dobro de um GFAAS e 2-3x menos que um ICP-MS. Além destes, outros custos são relevantes e devem ser considerados ao se estabelecer um procedimento para microanálise de metais traços em matrizes como otólitos, tais como a utilização de laboratório limpo e produtos químicos ultrapuros a fim de evitar contaminação da amostra. Em trabalhos sobre avaliações ambientais onde processa-se centenas de amostras, as determinações por ICP são muito vantajosas, sobrepujando assim o custo operacional.

A aplicação das técnicas de ICP para análise de metais em peixes cresceu muito na última década (CULHA et al., 2016; SILVA et al., 2016; GRIBOFF et al., 2017; YAMAN; YAMAN, 2017), uma vez que devido aos baixos limites de detecção para a maioria dos metais analisados por ICP MS, diferentes tecidos

de peixes podem ser analisados com bastante precisão. Com relação à análise de metais em otólitos, a aplicação do ICP MS apresenta limitações relacionadas à presença de cálcio (Ca), uma vez que este representa cerca de 95% dos elementos presentes nos otólitos, havendo assim a necessidade de uma etapa adicional de preparação da amostra, como por exemplo, a aplicação da cromatografia de troca iônica, a fim de eliminar e/ou reduzir os efeitos de matriz provocados pelos altos teores de Ca.

Com o objetivo de verificar a exposição aos metais traços no primeiro ano de vida de exemplares da espécie *Thunnus atlanticus* (Siluriformes, Scombridae), coletados no Golfo do México, Arslan e Secor (2008) analisaram o núcleo dos otólitos *sagittae* destes peixes. A partir da aplicação do método de *micromilling*, os autores obtiveram concentrações na ordem de ppb ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) para os elementos alumínio (Al) ($32 \mu\text{g Kg}^{-1}$), bismuto (Bi) ($26 \mu\text{g Kg}^{-1}$), cádmio (Cd) ($2,5 \mu\text{g Kg}^{-1}$), cobalto (Co) ($3,2 \mu\text{g Kg}^{-1}$), cobre (Cu) ($660 \mu\text{g Kg}^{-1}$), gálio (Ga) ($1,4 \mu\text{g Kg}^{-1}$), manganês (Mn) ($54 \mu\text{g Kg}^{-1}$), níquel (Ni) ($23 \mu\text{g Kg}^{-1}$), chumbo (Pb) ($29 \mu\text{g Kg}^{-1}$), vanádio (V) ($0,95 \mu\text{g Kg}^{-1}$) e zinco (Zn) ($449 \mu\text{g Kg}^{-1}$).

A combinação de técnicas analíticas pode fornecer ampla variabilidade e aplicabilidade de análises, aumentando, porém, a complexidade e riscos de não confiabilidades das técnicas, tal como problemas de interferências (MICHALKE, 2002). O acoplamento da ablação a laser (LA) ao ICP MS é uma técnica analítica que permite a caracterização química isotópica altamente sensível diretamente em amostras sólidas. Por ser um acoplamento ao ICP MS, o LA também apresenta como desvantagens as interferências poliatômicas, que aumentam o ruído de detecção (MICHALKE, 2002), além da pequena massa ablada, que pode não ser representativa da amostra como um todo. Entretanto, devido à alta sensibilidade, o LA ICP MS tem sido amplamente utilizado nos últimos anos para análises de metais incorporados nos anéis etários dos otólitos.

A partir da aplicação das técnicas ICP MS e LA ICP MS, Arai et al. (2007) determinaram as concentrações de ²⁴Mg, ⁴³Ca, ⁵²Cr, ⁵⁵Mn, ⁶⁴Zn, ⁸⁶Sr e ¹³⁸Ba nos otólitos de indivíduos da espécie *Oncorhynchus keta* (Salmoniformes, Salmonidae), amostrados nos rios Otsuchi e Tsugaruishi (Japão). Os autores utilizaram o ICP MS para análise dos otólitos inteiros e LA ICP MS para verificar a concentração dos metais por época de nascimento (núcleo) até a morte (borda), os quais sugeriram que esta última poderia ser utilizada para distinguir as fases de habitat marinho e água doce dos peixes, uma vez que as relações Sr:Ca encontradas nos otólitos foram consistentes com os padrões de migração do Salmão-chum.

No estudo de Ranaldi e Gagnon (2009) os níveis de alumínio (Al), cálcio (Ca), manganês (Mn), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), arsênio (As), selênio (Se), estrôncio (Sr), cádmio (Cd), estanho (Sn), bário (Ba), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) nas seções transversais dos otólitos de *Pagrus auratus* (Perciformes, Sparidae) foram medidos pela técnica LA ICP MS a fim de verificar se a incorporação do Zn foi influenciada pela concentração deste metal na água e/ou alimentos. Para tal, os peixes foram expostos a diferentes concentrações de Zn, na dieta e na água variando respectivamente de 6000 mg kg^{-1} a 9000 mg kg^{-1} de Zn na dieta e 50 a $200 \mu\text{g L}^{-1}$ na água. Os autores concluíram que a espécie acumula Zn nos seus otólitos predominantemente através da exposição à dieta e não através da exposição à água, ou seja, as concentrações de Zn em otólitos

podem refletir a bioacumulação deste metal a partir da dieta dos organismos em ambientes aquáticos.

Lill et al. (2014) utilizaram as técnicas LA ICP MS e PIXE para quantificar Sr e Zn nos otólitos de indivíduos das espécies *Perca fluviatilis* (Perciformes, Percidae), *Esox lucius* (Esociformes, Esocidae) e *Coregonus lavaretus* (Salmoniformes, Salmonidae) amostradas no Golfo de Bótnia, situado entre a costa ocidental da Finlândia e a costa oriental da Suécia. Os autores verificaram um padrão de diminuição dos metais, principalmente do estrôncio (Sr), a partir de um gradiente decrescente de salinidade.

Embora as técnicas analíticas para microanálise de metais traço tenham sido conduzidas em otólitos recentemente, grande parte dos trabalhos não têm como foco principal o monitoramento e diagnóstico ambiental, mas sim a elucidação de aspectos biológicos das espécies, tais como o estudo de padrão de migração a partir da análise da relação Sr:Ca e Sr:Ba, uma vez que a salinidade e a temperatura influenciam na deposição destes metais nas estruturas calcificadas como os otólitos (SECOR et al., 1995; CAMPANA, 1999; STURROCK et al., 2012).

Lindsay et al. (2015) utilizaram os otólitos *sagittae* de Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*), coletados no rio Egegik (Alaska) para investigar a ecologia e o padrão de migração desta espécie. Por este trabalho, os autores concluíram que a história de vida de *Oncorhynchus nerka* no rio Egegik consiste em migrações facultativas, associadas a períodos curtos de forrageamento para o mar com posterior retorno para a água doce no final do verão a fim de realizar a desova.

Secor et al. (1995) verificaram a relação da temperatura e salinidade com o crescimento do otólito e concluíram que a aplicação de métodos de microanálise de otólitos para estimar o habitat dos indivíduos pode responder importantes questões ecológicas e de gestão, principalmente para peixes anádromos e estuarinos. Em outro trabalho, Hamer et al. (2006) investigaram se a composição química do otólito poderia fornecer informações quanto ao deslocamento da *Pagrus auratus* (Sparidae) em Victoria, sudeste da Austrália. Para tal, compararam os elementos magnésio (Mg), cálcio (Ca), manganês (Mn), bário (Ba) e estrôncio (Sr) na água do ambiente entre o porto e outras duas baías onde essa espécie adulta habita e as águas costeiras. Com isto, identificaram o Ba como indicador da migração, sugerindo o uso do otólito para indicar o deslocamento entre os ambientes, assim como o conhecimento da variação espacial e temporal do ambiente pode ser usado para interpretar a história de migração.

Ainda são poucos os trabalhos conduzidos no Brasil sobre microanálise de otólitos. Avigliano et al. (2015) realizaram a microanálise dos otólitos *lapilli* dos bagres *Genidens barbatus* oriundos do rio Bravo e do rio Uruguai (Rio Grande do Sul – Argentina), onde foi verificada a relação do estrôncio (Sr) e do bário (Ba) com o cálcio (Ca). Os autores observaram um aumento na relação Sr:Ca e uma diminuição na relação Ba:Ca durante o primeiro ano de vida dos peixes, indicando deslocamento dos indivíduos em ambientes com gradiente crescente de salinidade. Ainda neste estudo, os autores sugerem que o padrão de migração observado se relaciona com fatores abióticos do meio aquático e bióticos como alimentação, predação e evolução da espécie.

Microanálise em otólitos como fomento de diagnóstico ambiental em peixes bioindicadores

A maioria dos estudos utilizam os otólitos para determinar/

estimar a idade e o crescimento dos peixes (CUTRIM et al., 2005; ARAÚJO et al., 2002; HARTZ et al., 1998; CARVALHO et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2014; PÉREZ; FABRÉ, 2003). Os trabalhos desenvolvidos com a microanálise de metais têm como foco principal a verificação dos padrões de migração destes organismos, a partir da análise da relação Sr:Ca e Ba:Ca nessas estruturas, como citados anteriormente. Ainda existe uma escassez de dados voltados para aplicação da caracterização química/microanálise em otólitos com foco ao monitoramento e diagnóstico de ambientes marinhos a partir da aplicação de peixes bioindicadores, que englobe não só os elementos estrôncio (Sr), bário (Ba) e cálcio (Ca), mas também outros metais com potencial tóxico e acumulativo, tais como chumbo (Pb), cádmio (Cd), cromo (Cr) e cobre (Cu). Entretanto, esta é uma abordagem que tem crescido nos últimos anos, na medida que já se tem surgido alguns trabalhos que abordam a quantificação de metais tóxicos nessas estruturas (HERRERA-REVELES et al., 2013; SAQUET et al., 2002).

O trabalho de Herrera-Reveles et al. (2013) representa uma contribuição ao estudo em ambientes marinhos venezuelanos. Os autores analisaram os metais zinco (Zn), cádmio (Cd), chumbo (Pb), mercúrio (Hg) e cobre (Cu) em otólitos de indivíduos da espécie *Abudefduf saxatilis* (Perciformes, Pomacentridae) oriundos de sete localidades dos mais importantes recifes de corais do leste da Venezuela, três pontos localizados no Parque Nacional de Mochima e quatro na Ilha de La Tortuga. Os metais foram determinados na camada externa de cada otólito, a partir da técnica de espectroscopia de raios X de dispersão de energia (EDX) fixado ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). Com os dados obtidos, os autores concluíram que a presença dos metais nas camadas externas dos otólitos reflete a biodisponibilidades destes elementos nos peixes do Parque Nacional Mochinna e La Tortuga.

Ranaldi e Gagnon (2008) analisaram a incorporação de metais traços nos otólitos de indivíduos da espécie *Pagrus auratus* Forster 1801 (Perciformes, Sparidae), validada como bioindicadora de contaminação (TUGIYONO et al., 2001). A partir da aplicação da técnica LA ICP MS os autores concluíram que esta técnica fornece informações precisas com o potencial de auxiliar na reconstrução química do ambiente onde os peixes habitam. Além disso, com a utilização de otólitos de uma espécie bioindicadora, os autores consideram que o uso dos otólitos tem potencial para monitorar exposições passadas, principalmente para metais como cádmio (Cd) e chumbo (Pb) que podem ser incorporados aos otólitos como via final do processo de biotransformação, com ingresso pelas brânquias ou alimentação.

Os estudos realizados por Traina et al. (2015) com exemplares da espécie bioindicadora *Dicentrarchus labrax* Linnaeus 1758 (Perciformes, Moronidae), oriundos da costa da Sicília (Itália), trouxe informações quanto a importância da investigação aprofundada da composição química dos otólitos, sendo estes uma ferramenta valiosa de exposição de metais em ambientes marinhos. Neste estudo, os autores compararam peixes de dois lugares na costa da Sicília, um situado mais ao norte e outro mais ao sul, que devido à sua posição geográfica, os organismos são expostos a diferentes características hidroquímicas e hidrofísicas. Assim, supôs-se que a razão Sr:Ca no otólito não depende de variáveis abióticas, enquanto a razão Ba:Ca, Mg:Ca, Fe:Ca, Mn:Ca, Cd:Ca e Zn:Ca pode variar significativamente em relação às condições das massas d'água que os organismos habitam ou em relação aos alimentos que ingerem.

Os trabalhos citados anteriormente buscam englobar ferramentas que possam ser utilizadas como fomento, nesse caso a microanálise em otólitos, nos programas de monitoramento ambiental em ambientes aquáticos.

Considerações Finais

A análise química, a partir da determinação dos teores dos contaminantes e poluentes, como por exemplo, metais tóxicos, em diferentes tecidos, em associação com a análise de biomarcadores de exposição, efeito e susceptibilidade, assim como a caracterização abiótica do meio aquático, por meio da determinação dos indicadores clássicos de qualidade da água, pode se configurar como uma eficiente estratégia aplicada ao monitoramento e diagnóstico ambiental. Contudo, ainda existe uma escassez de trabalhos voltados a utilização da microanálise em otólitos de peixes com foco a avaliação de respostas crônica, em peixes bioindicadores expostos a processos de poluição durante o seu ciclo de vida. Assim, o conhecimento acerca da idade/longevidade dos organismos bioindicadores pode auxiliar na compreensão quanto aos processos de exposição a contaminantes orgânicos e inorgânicos aos quais a biota está exposta.

Neste cenário, a microanálise de metais traços em estruturas calcificadas como os otólitos, configura-se como uma ferramenta adicional em estudos de monitoramento e diagnóstico ambiental de ambientes aquáticos, que pode fornecer importantes respostas quanto ao processo de exposições crônicas, refletindo assim a história dos ambientes aquáticos e suas modificações a partir da inclusão de poluentes como os metais traço.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de iniciação científica a Morais, I.S. (Proc. 2015/11474-9), ao Dr. Vitor Chiozzini pela revisão dos métodos químicos para microanálise e a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)-campus Diadema.

Referências Bibliográficas

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Ecotoxicologia aquática-Toxicidade crônica de curta duração-método de ensaio com peixes**. Norma ABNT-NBR 15499. Rio de Janeiro, 21p, 2016.

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Ecotoxicologia aquática- Toxicidade crônica de curta duração-Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea)**, 21p, 2012.

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Ecotoxicologia aquática- Toxicidade aguda- Método de ensaio com *Dephnia spp* (Crustacea, Cladocera) - Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea)**, 33p, 2016.

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **Ecotoxicologia aquática-Toxicidade crônica - Método de ensaio algas (Chlorophyceae)**, 34p, 2011.

AFONSO, C. J.; SILVA, M. R. A Evolução da Balança Analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1021-1027, 2004.

AJIMA, M. N. O.; NNODI, C.; OGO, O. A.; ADAKA, G. S.; OSUIGWE, D. I.; NJOKU, D. C. Bioaccumulation of heavy metals in Mbaa River and the impact on aquatic ecosystem. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 187: 768, 2015.

ANDRADE, H. A.; DUARTE-PEREIRA, M.; ABREU-SILVA, J.L. Idade e Crescimento da Abrótea (*Urophycis brasiliensis*) Capturada no Sul do Brasil. **Notas Técnicas Facimas**, v. 8, p. 107-117, 2004.

ARAI, T.; HIRATA, T.; TAKAGI, Y. Application of laser ablation ICPMS to trace the environmental history of chum salmon *Oncorhynchus keta*. **Marine Environmental Research**, v. 63, p. 55-66, 2007.

ARAÚJO, F. G. Hábitos alimentares de três bagres marinhos (Ariidae) no estuário de Lagoa dos Patos (RS), Brasil. **Atlântica**, v. 7, p. 47-63, 1984.

ARAÚJO, F. G. Abundância relativa, distribuição e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário de Lagoa dos Patos, RS. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 5, n. 4, p. 509-543, 1988.

ARAÚJO, N. J.; MARTINS, S. A. COSTA, G. K. Idades e crescimento da cioba, *Ocyurus chrysurus*, da Costa Central do Brasil. **Revista Brasileira**, v. 50(único), p. 47-57, 2002.

ARAÚJO, C. C.; FLYNN, M.; PEREIRA, W. R. L. Fator de condição e relação peso-comprimento de *Mugil curema* Valenciennes, 1836 (Pisces, Mugilidae) como indicadores de estresse ambiental. **Revinter: Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v.4, n.4, p. 54-64, 2011.

ARSLAN, Z.; SECOR, H.D. High resolution micromill sampling for analysis of fish otoliths by ICP-MS: Effects of sampling and specimen preparation on trace element fingerprints. **Marine Environmental Research**, v. 66, p. 364-371, 2008.

AVIGLIANO, E.; VELASCO, G.; VOLPEDO, A.V. Use of lapillus otolith microchemistry as an indicator of the habitat of *Genidens barbatus* from different estuarine. **Biology Fish**, v. 98, p. 1623-1632, 2015.

AYLA-PEREZ, L. A.; RAMOS-MIRANDA, J.; FLORES-HERNADEZ, D.; VEJA-RODRIGUEZ, BI.; MOREO-MEDINA, UC. Biological and ecological characterization of the catfish *Cathorops melanopus* off the west coast of Campeche, Mexico. **Ciências Marinas**, v. 31, n. 4, p. 453-465, 2008.

AZEVEDO, M. C. C.; ARAÚJO, F. G.; CRUZ-FILHO, A. G.; GOMES, I. D.; PESANHA, A.L.G. Variação espacial e temporal de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 3, p. 443-454, 1999.

AZEVEDO, J. S.; FERNANDEZ, W. S.; FARIAS, L. A.; FÁVARO, D. T.; BRAGA, E. S. Use of *Cathorops spixii* as bioindicator of pollution of trace metals in the Santos Bay, Brazil. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 5, p. 577-86, 2009.

AZEVEDO, J. S.; BRAGA, BRAGA, E. S.; FAVARO, D. I. T.; PERRETTI, A. R.; REZENDE, C. E.; SOUZA, C. M. M. Total mercury in sediments and in Brazilian Ariidae catfish from two estuaries under different anthropogenic influence. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 2724-2731, 2011.

AZEVEDO, J. S.; BRAGA, E. S.; SILVA DE ASSIS, H. C.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 96, p. 220-230, 2013.

BARBANTI, B.; CAIRES, R.; MARCENIUK, A.P. A ictiofauna do Canal de Bertioaga, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 1, p. 16, 2013.

BARBIERI, G.; SANTOS, R. P.; ANDREATA, J. V. Reproductive biology of the marine catfish, *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae), in the Jacarepaguá Lagoon system, Rio de Janeiro, Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 35, p. 23-35, 1992.

BARRETO, N.E.; SOUSA, O.V.; VIEIRA, R.V.S.F. Moluscos bivalves: Organismos Bioindicadores da Qualidade Microbiológica das Águas: Uma Revisão. **Revista Brasileiro de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p. 18-31, 2008.

BEGG, G. A.; CAMPANA, S. E.; FOWLER, A. J.; SUTHERS, I. M. Otolith research and application: current directions in innovation and implementation. **Marine and Freshwater Research**, v. 56, p. 477-483, 2005.

BORKHOLDER, B. D.; EDWARDS, A. J. Comparing the Use of Dorsal Fin Spines with Scales to Back Calculate Length-at-Age Estimates in Walleyes North American. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 21, p. 935-942, 2001.

BUCKER, A.; CARVALHO, W.; ALVEZ-GOMES, J. A. Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmannia Virescens* (Teleostei: Gymnothiformes) expostos ao benzeno. **Revista Acta Amazônica**, v.36, n.3, p. 8, 2006.

BUSS, D. F.; OLIVEIRA, R. B.; BAPTISTA, D. F. Monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos continentais. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n.3, p. 339-345, 2008.

CAMPANA, S. E. Química e composição dos otólitos: caminhos, mecanismos e aplicações. **Marine Ecology Progress Series**, v. 188, p. 263-297, 1999.

CAMPANA, S. E. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. **Journal of Fish Biology**, v. 59, p. 197-242, 2001.

CAMPBELL, L. J.; TEESDALE, J. W. Theory, Practice and Application of Micro-Pixe analysis and element Distribution Maps. **The Canadian Mineralogist**, v. 33, p. 279-292, 1995.

CANTANHÊDE, G.; CASTRO, A.C.L.; GUBIANI, E.A. Biologia reprodutiva de *Hexanematichthys proops* (Siluriformes, Ariidae) no litoral ocidental maranhense. Iheringia, **Série Zoologia**, v. 97, n. 4, p. 498-504, 2007.

- CANTONATI, M.; ANGELI, N.; VIRTANEN, L.; WOJTAŁ, A. Z.; GABRIELO, J.; FALASCO, E.; LAVOIE, I.; MORIN, S.; MARCHETTO, A.; FORTIN, C.; SMIRNOVA, S. *Achnanthydium minutissimum* (Bacillariophyta) valve deformities as indicators of metal enrichment in diverse widely-distributed freshwater habitats. **Science of the Total Environment**, v. 475, p. 201-215, 2014.
- CARVALHO, M. O. X.; TUBINO, R. A.; PAIVA, M. P.; ANDRADE-TUBINO, M. F.; FONTELES-FILHO, A. A. Idade e crescimento de *Lopholatilus villarii* Ribeiro no Sudeste do Brasil (Osteichthyes, Malacanthidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.15, n.4, p. 899-906, 1998.
- CARVALHO-NETA, R.N.F.; ABREU-SILVA, A.L. *Sciades herzbergii* oxidative stress biomarkers: an in situ study of an estuarine ecosystem (São Marcos Bay, Maranhão, Brazil). **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 58, p. 11-17, 2010.
- CASTRO, J. S.; SILVA, J. S.; FREITAS, L. C.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Biomarcadores histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma Unidade de Conservação de São Luís (MA). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.6, p.1687-1694, 2014.
- CETESB. **Sistema estuarino de Santos e São Vicente: Relatório Técnico**. 178p. 2001.
- CHIBA, W. A. C.; PASSERINI, M. D.; TUNDISI, J. G. Metal contamination in benthic macroinvertebrates in a sub-basin in the southeast of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, n.2, p. 391-399, 2011.
- CHLITON, D. E.; BEAMISH, R. J. Age Determination Methods for Fishes Studied by the Ground fish Program at the Pacific Biological Station. **Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences**. v. 60, p. 102, 1982.
- CHOVANEC, A.; HOFER, R.; SCHIEMER, F. Chapter 18. Fish as bioindicators. **Bioindicators & Biomonitoring: Principles, Concepts and Applications. Trace Metals and other Contaminants in the Environment**. v. 6., p. 639-676, 2003.
- COSTA, C. R.; OLIVI, P.; PASCHOAL, C. M.; ESPINDOLA, E. L. G. R. B. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.
- CONAND, F.; CAMARA, S. B.; DOMAIN, F. Age and Growth of three species of Ariidae (Siluriformes) in Coastal waters of Guinea. **Bulletin of Marine Science**, v.56, n. 1, p. 58-67, 1995.
- COSTA, P. A. S.; BRAGA, A. C.; RUBINICH, J. P.; ÁVILA-DA-SILVA; NETO, C. M. Age and growth of the snowy grouper, *Epinephelus niveatus*, of the Brazilian coast. **Journal of the Biological Association of the United Kingdom**. v. 92, n. 3, p. 633-641, 2011.
- CRAIG, I. D. H. Contribuição ao conhecimento da fauna íctica costeira da região de Peruíbe, SP. I: Família Ariidae. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 40, n. 4, p. 755-758, 1980.
- CULHA, S. T.; YABANH, M.; BAKI, B.; YOZUKMAZ, A. Heavy metals in tissues of scorpionfish (*Scorpaena porcus*) caught from Black Sea (Turkey) and potential risks to human health. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 20882-20892, 2016.
- CUNHA, H.F.A.; LIMA, D.C.I.; BRITO, P.N.F.; CUNHA, A.C.; JÚNIOR, A.M.S.; BRITO, D.C. Qualidade físico-química e microbiologia de água mineral e padrões da legislação. **Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 7, n.3, p. 155-165, 2012.
- CUTRIM, L.; BATISTA, S. V. Determinação de idade e crescimento do mapará (*Hypophthalmus marginatus*) na Amazônia Central. **Revista Acta Amazonica**, v. 35, p. 85-92, 2005.
- DAIBER, F. C. A technique for age determination in the skate *Raja eglanteria*. **Copeia**, v. 3, p. 258-260, 1960.
- DANTAS, D. V.; BARLETTA, M.; COSTA, M. F.; SAINT-PAUL, U. Movement patterns of catfishes (Ariidae) in a tropical semi-arid estuary. **Journal of Fish Biology**, v. 76, n. 10, p. 2540-57, 2010.
- DEDAVID, B.; GOMES, I. C.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 60 p, 2007.
- DEGENS E, W.; DEUSER, R. H. Estrutura molecular e composição dos otólitos. **Biologia Marinha**, v. 2, p. 105-113, 1969.
- DEGÓRSKI, M.; ROO-ZIELINSKA, E.; SOLON, J. **Ecological indicators for environmental diagnosis and monitoring**. In: Churski. (eds). Contemporary issues in Polish Geography, Publisher: Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań, pp.29-64, 2015.
- FÁVARO, L. F.; FREHSE, F. A.; OLIVEIRA, R. N.; JÚNIOR, R. Reprodução do bagre amarelo, *Cathorops spixii* (Siluriformes, Ariidae), da Baía de Pinheiros, região estuarina do litoral do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 4, p. 1022-1029, 2005.
- FÁVARO, D. I. T.; FARIAS, L. A.; BRAGA, E.S.; Avaliação dos metais Cd, Hg, e Pb em peixes comercializados em Cananéia, Estado de São Paulo. **XII Encontro Nacional sobre contaminantes inorgânicos**, 5pp, 2011.
- FEITOZA, L. A.; OKADA, E. K.; AMBROSIO, A. M. Idade e crescimento de *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1833) (Siluriformes, Doradidae) no reservatório da Itaipu, estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, v. 26, n. 1, p. 47-53, 2004.
- FERRAGUT, C.; BICUDO, D. C. Efeito de diferentes níveis de enriquecimento por fósforo sobre a estrutura da comunidade perifítica em represa oligotrófica tropical (São Paulo, Brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n.3, p.571-585, 2009.
- FRANZLE, O. Chapter 2. **Bioindicators and environmental stress assessment. Bioindicators & Biomonitoring - Principles, Concepts and Applications**. In: Trace Metals and other Contaminants in the Environment, v. 6, p. 41-84, 2003.
- FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. Em **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II. Teleostei (1)**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 111p., 1978.
- FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Revisão de alguns aspectos da Assembléia de peixes utilizados em programas de monitoramento ambiental. **Vittale, Revista de Ciências da Saúde**, v. 19, n.1, p. 45-58, 2007.
- FROESE, R.; PAULY, D. (eds) **FishBase: Concepts, Design and Data Sources** (distributed with four CD-ROMs; updates available at <http://www.fishbase.org>) (ICLARM, Los Baños, Philippines, 2000.
- GADZALA-KOPCIUCH, R.; BERECKA, B.; BARTOSZEWCZ, J.; BUSZEWSKI, B. Some Considerations About Bioindicators in Environmental Monitoring. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 13, n. 5, p. 453-462, 2004.
- GARCIA, D. C.; GONZÁLEZ-MENDOZA, D.; CERVANTES-DIAZ, L.; TREJO, A. M.; JUÁREZ, O. G. Respuesta Fisiológica de *Euglena gracilis* Al Estrés por Cobre. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1211-1214, 2011.
- GERHARDT, A. **Bioindicator species and their use in biomonitoring**. 77-123p. In: Inyang, H.I. & Daniels, J. L. (Eds). Environmental Monitoring. EOLSS Publishers/UNESCO, Oxford, United Kingdom, vol. 1, 2009.
- GIAMAS, M. T. D.; SANTOS, R. A.; VERMULM JUNIOR, H.; CAMPOS, E. C.; CAMARA, J. J. C. Determinação da curva de crescimento através da lepidologia em diferentes áreas do corpo de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces, characidae), na Represa de Ibitinga, SP. **Brazilian Journal of Veterinary Reserach Animal Science**. v.29, n.2, p.185-192, 1992.
- GOMES, I.D.; ARAUJO, F.G. Reproductive biology of two marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba Bay, Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, v. 52, n. 1, p. 143-156, 2004.
- GRIBOFF, J.; WUNDERLIN, D. A.; MONFERRAN, M. V. Metals, As and S determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in edible fish collected from three eutrophic reservoirs. Their consumption represents a risk for human health? **Microchemical Journal**, v. 130, p. 236-24, 2017.
- GUIMARÃES, V.; SÍGOLO, J. B. Detecção de Contaminantes em espécie bioindicadora (*Corbicula flaminea*) - Rio Ribeira de Iguape -SP. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1696-1698, 2008.
- GUSMÃO, L. F. M.; MCKINNON, A. D. The effect of food type and quantity on egg production and nucleic acid content of *Acartia sinjiensis*. **Aquaculture**, v. 296, n. 1, p. 71-80, 2009.
- HAIMOVICI, M.; KLIPPEL, S. **Diagnóstico da Biodiversidade dos Peixes Teleósteos Demersais Marinhos e Estuarinos do Brasil**. PROBIO/Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, p. 69, 1999.
- HALDEN, N. M.; BABALUK, J. A.; KRISTOFFERSON, A. H.; CAMPBELL, TEESDALE, W. J.; MAXWELL, J. A.; REIST, J. D. Micro-PIXE studies of Sr zoning in Arctic charr otoliths: migratory behavior and stock discrimination. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 109/110, p. 592-597, 1996.
- HAMER, P.; JENKINS, G.; COUTIN, P. Barium variation in *Pagrus auratus* (Sparidae) otoliths: A potential indicator of migration between an embayment and ocean waters in south-eastern Australia. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 68, p. 686-702, 2006.
- HANAZAKI, N.; ALVES, R. R.N.; BEGOSSI, A. Hunting and use of terrestrial fauna used by Caiçaras from the Atlantic Forest coast (Brazil). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 5, p. 1-36, 2009.
- HARTZ, S. M.; JUNIOR, W. B.; FORMEHL, M. V. Idade e Crescimento de *Gymnogepphagus Lacustris*, um Cichlidae endêmico da Bacia Hidrográfica do Rio Tramandá, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, n. 3, p. 605 - 612, 1998.

- HERRERA-REVELES, A. T.; LEMUS, M.; MARÍN, B.; PRIN, J. L. Trace metal incorporation in otoliths of a territorial coral reef fish (*Abudefduf saxatilis*) as an environmental monitoring tool. *EDP Sciences*, v. 1, p.4, 2013.
- ILYASHENKE, N. V.; PETROVA, M. B.; PAVIOVA, N. V.; KHARITONOVA, E. A.; KURBATOVA, L. A. New Data on the *Ceratophyllum demersum* L. as an Environmental Pollution Bioindicator. **Annual Research & Review in Biology**, v. 4, n. 2, p. 366-377, 2014.
- IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). **IUPAC Glossary of terms used in toxicology**, 2nd Ed., IUPAC Recommendations, 2007. Published in Pure Appl. Chem., Vol. 79, No. 7, pp. 1153-1344, 2007. Disponível em: <http://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossary.html>. Acesso em: 13.03.2017.
- LAMARCA, M. J. A simple technique for demonstrating calcified annuli in the vertebrae of large elasmobranchs. **Copeia**, v. 2, p. 51-352, 1966.
- LANA, P. C.; BIANCHINI, A.; OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A.; NIENCHESKI, F. L. H.; FILLMANN, G.; SANTOS, G. S. C. **Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros: Diretrizes Metodológicas**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 156p. (Série Livros, 22), 2006.
- LECOMTE, F.; MEUNIER, F. J.; ROJAS-BELTRAN, R. Some data on the growth of *Arius proops* (Ariidae, Siluriforme) in the estuaries of French Guyana. **Aquatic Living Resources**, v. 2, n. 1, p. 63-68, 1989.
- LILL, J. O.; HIMBERG, M.; HARJU, J.; EK, P.; LINDROOS, A.; WIKLUNG, T.; GUNNELIUS, K.; SMATT, H.; HESELIUS, S. J.; HAGERSTRAND, H. Strontium and zinc concentrations in otoliths of common fish species in the northern Baltic Sea. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 318, p: 109–112, 2014.
- LIMA, L. T. B.; OLIVEIRA, M. R.; NÓBREGA, M. F.; CARVALHO, M. M.; CHELLAPPA, S.; OLIVEIRA, J. E. L. Biologia Reprodutiva de *Bagre marinus* (Mitchill, 1915) (Siluriformes: Ariidae) das águas costeiras do Rio Grande do Norte, Brasil. **Bioa Amazônia**, v. 6, n. 4, 2016.
- LINDSAY, H. M.; BOND, M. H.; MAY-MCNATHY, S. L.; MILLER, J. A.; QUINN, T. P. Use of otolith microchemistry and stable isotopes to investigate the ecology and anadromous migrations of Northern Dolly Varden from the Egegik River, Bristol Bay, Alaska. **Environmental Biology of Fishes**, v. 98, p. 633-1643, 2015.
- MACHADO, I. C.; FRANCA, D.; KIRA, C. S.; CARVALHO, M. F. H. Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue *Crassostrea brasiliiana* do estuário de Cananéia-SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 61, n. 1, p. 13-18, 2002.
- MAT ISA, M.; NOOR, N. S. M.; YAHYA, K.; NOR, S. A. M. Reproductive biology of estuarine catfish, *Arius argyropleuron* (Siluriformes: Ariidae) in the northern part of Peninsular Malaysia. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 2, n. 3, p. 1-15, 2012.
- MENDES, F. L. S.; BARTHEN, R. B.; Hábitos Alimentares de Bagres Marinhos (Siluriformes: Ariidae) do Estuário Amazônico. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, v. 5, n. 10, pag. 1-11, 2010.
- MENDOZA-CARRANZA, M. The feeding habits of gafftopsail catfish *Bagre marinus* (Ariidae) in Paraiso Coast, Tabasco, Mexico. **Hidrobiológica**, v. 13, n. 2, p. 19-126, 2003.
- MENEZES, N. A. Checklist dos peixes marinhos do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, supl. 1, p. 33-46, 2011.
- MICHALKE, B. The coupling of LC to ICP-MS in element speciation: I. General aspects speciation: I. General aspects. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 12, 2002.
- MISHIMA, M.; TANJI, S. Distribuição geográfica dos bagres marinhos (Osteichthyes, Ariidae) no complexo estuarino lagunar de Cananéia (25°S, 48°W). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 8, p. 157-172, 1981.
- MUGIYA, Y.; HAKOMORI, T.; HATSUTORI, K. Trace metal incorporation into otolith and scales in the goldfish, *Caracassius auratus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 99, p 327-332, 1991.
- MUTO, E. Y.; CARBISTER, T. N.; COELHO, L. I.; ARANTES, L. P. L.; CHALOM, A.; SOARES, S. H. Trophic Groups of Demersal Fish of Santos Bay and Adjacent Continental Shelf, São Paulo State, Brazil: Temporal and Spatial Comparisons. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 62, n. 2, p. 89-102, 2014.
- OECD guidelines. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 2, OECD Publishing, (July), 1–22. 10.1787/9789264203709-em, 2013.
- OLIVEIRA, M. A.; NOVELLI, R. Idade e crescimento do bagre *Genidens genidens* na Barra do Açú, Norte do Estado do Rio de Janeiro. **Tropical Oceanography**, v. 33, n. 1, p. 57-66, 2005.
- OLIVEIRA, R.M.; HAWKINS, S.J.; TRUEMAN, C.; YAMAMOTO, M.E.; CHELLAPPA, S. Revisão de Estudos sobre Determinação da Idade Através de Otólitos dos Peixes Marinhos Brasileiros. **Revista Biota Amazônia**, v. 4, n. 3, p. 125-131, 2014.
- PAULY, D.; DAVID, N. ELEFAN I, a BASIC program for the objective extraction of growth parameters from length-frequency data. **Meeresforschung**, v.28, n.4, p. 205-211, 1981.
- PEDRA, M. L. R.; OLIVEIRA, M. A.; NOVELLI, R. Biologia alimentar do bagre *Genidens genidens* (Valenciennes, 1839) na Barra da Lagoa do Açú, norte do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Acta Biologica Leopoldensia**, v. 28, p. 39-42, 2006.
- PÉREZ, A.; FABRÉ, N. N. Seleção das Estruturas calcificadas para a determinação da Idade da Piracatinga *Calophrys macropterus* Lichtenstein (Siluriformes: Pimelodidae) na Amazônia Central, Brasil. Determinação da idade da piracatinga. **Acta Amazônica**, v. 33, n. 3, p.499-514, 2003.
- PEREZ, A.; FABRÉ, N. N. Spatial population structure of the Neotropical tiger catfish *Pseudoplatystoma metaense*: skull and otolith shape variation. **Journal of Fish Biology**, v. 82, p. 1453-1468, 2013.
- PIMENTA, S. M.; PENA, A. P.; GOMES, P. S. Aplicação de métodos físicos, químicos e biológicos na avaliação da qualidade das águas em áreas de aproveitamento hidroelétrico da bacia do rio São Tomás, município de Rio Verde - Goiás. **Sociedade & Natureza**, v. 21, n. 3, p. 393-412, 2009.
- PINHEIRO-SOUSA, D. B.; SILVA, N. K.; PIOSKI, N. M.; ROCHA, A. C. G.; CARVALHO-NETA, R. N. F.; ALEMIRA, Z. S. Aspectos Alimentares e Reprodutivos de *Bagre bagre* (Pisces, Ariidae) em um estuário da Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 8, n. 2, p. 01-12, 2015.
- PIVETTA, F.; MACHADO, M. H.; ARAÚJO, C. U.; MOREIRA, R. F. M.; APOSTOLI, P. Monitoramento biológico: conceitos e aplicações em saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 545-554, 2001.
- PREVIERO, M.; MINTE-VERA, C. V.; LEÃO DE MOURA, R. Fisheries monitoring in Babel: fish ethnotaxonomy in a hotspot of common names. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 2, p. 467-476, 2013.
- QUEIROGA, F. R.; GOLZIO, J. E.; SANTOS, R. B.; MARTINS, T. O.; VENDEL, A. L. Reproductive biology of *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) in a tropical estuary in Brazil. **Zoologia**, v. 29, n. 5, p. 397-404, 2012.
- RAIJAGOPAL, B.; PRIYA, D. Distribution of catfishes in wetlands of two flood plain districts in Tamil Nadu, India. **Journal of Threatened Taxa**, v. 5, n. 17, p. 139-148, 2017.
- RANALDI, M. M.; GAGNON, M. M. Zinc incorporation in the otoliths of juvenile pink snapper (*Pagrus auratus* Forster): The influence of dietary versus waterborne sources. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 360, p. 56-62, 2008.
- REIS, E. G. Reproduction and feeding habits of the marine catfish *Netuma barba* (Siluriformes, Ariidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, Brazil. **Atlântica**, v. 8, p. 35-55, 1986.
- REPULA, M. M. C.; CAMPOS, B. K.; GANZAROLLI, E. M.; LOPES, M. C.; QUINÁIA, P. S. Biomonitoramento de Cr e Pb em peixes de Água Doce. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 905-909, 2012.
- REZENDE, C. E.; LACERDA, L. D. Metais pesados em mexilhões (*Perna perna* L.) no Litoral do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 46, n. 1, p. 239 – 247, 1986.
- SAQUET, M.; HALDEN, N. M.; BABALIK, J.; CAMPBELL, J. L.; NEJEDLY, Z. Micro-PIXE analysis of trace element variation in otoliths from fish collected near acid mine tailings: Potential for monitoring contaminant dispersal. **Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 189, p. 196-201, 2002.
- SANDOVAL-LONDOÑO, L. Hábitos alimenticios y aspectos del uso del hábitat por el chivo cabezón *Ariopsis sp.* (aff. assimilis) (Siluriformes: Ariidae), en una laguna costera neotropical (Ecorregión Darién, Colombia). **Actualidades Biológicas**, v. 37, n. 102, p. 295-306, 2015.
- SANTOS, G. M.; SANTOS, A. C. M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, n. 54, p. 165-182, 2005.
- SANTOS, D. M.; SANTOS, G. S.; CESTARI, M. M.; OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A.; ASSIS, H. C. S.; YAMAMOTO, F.; GUILOSKI, I. C.; MARCHI, M. R. R. Bioaccumulation of butyltins and liver damage in the demersal fish *Cathorops spixii* (Siluriformes, Ariidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 4, p. 3166–3174, 2014.
- SCAPIM, J.; BASSANEZI, R. C.; Modelo de von Bertalanffy generalizado aplicado às curvas de crescimento animal. **Biomatemática**, v. 18, p. 1-14, 2008.
- SCHNEIDER, J. C.; LAARMAN, P. W.; GOWING, H. **Chapter 9: Age and Growth Methods and State Averages**. Manual of fisheries survey methods II: with periodic updates. Michigan Department of Natural Resources, Fisheries, p. 1-16, 2000.
- SECOR, D. H.; HENDERSON-ARZAPALOB, A.; PICCOLI, P. M. Can otolith microchemistry chart patterns of migration and habitat utilization in anadromous fishes? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 192:15-33, 1995.

- SECOR, D. H.; DEAN, J. M.; LABAN, E. H. Manual for otolith removal and preparation for microstructure examination: a users manual. **Baruch Institute Technical Report**, 91-1, 2011 Disponível em: <http://cbl.umces.edu/~secor/otolith-manual.html>.
- SEGURA-BERTTOLINI, E. C.; MENDOZA-CARRANZA, M. Importance of male gafftopsail catfish, *Bagre marinus* (Pisces: Ariidae), in the reproductive process. **Ciencias Marinas**, v. 39, n. 1, p. 29-39, 2013.
- SHMIDT, T. C. S.; MARTINS, I. A. Taxocenose de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da região estuarina de São Vicente, SP, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 4, 2008.
- SILVA-JÚNIOR, D. R.; CARVALHO, D. M. T.; VIANNA, M. The catfish *Genidens genidens* (Cuvier, 1829) as a potential sentinel species in Brazilian estuarine waters. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 1297-1303, 2013.
- SILVA, E.; VIANA, Z. C. V.; SOUZA, N. F. A.; KORN, M. G. A.; SANTOS, V. L. C. S. Assessment of essential elements and chemical contaminants in thirteen fish species from the Bay Aratu, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 4, p. 871-877, 2016.
- SOARES, H. J.; QUEROL, M. V. M.; FIDELIS, E. M.; GRALHA, T.; PESSANO, E. Idade e Crescimento de *Iheringichthys labrosos* (Lütken, 1874), na Bacia do Rio Uruguai Médio, Pampa Brasileiro. **Resumos Expandidos do I CONICBIO / II CONABIO / VI SIMCBIO** (v. 2), 2013.
- SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Biomarcadores histopatológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 369-376, 2013.
- STURROCK, A. M.; TRUEMAN, C. M.; DAMAUDE, A. M. Can otolith elemental chemistry retrospectively track migrations in fully marine fishes? **Journal of Fish Biology**, v. 81, p. 766-795, 2012.
- TRAINA, A.; OLIVERI, E.; SALVAGIO MANTA, D.; BARRA, M.; MAZZOLA, S.; CUTTITTA, A. Metals content in otoliths of *Dicentrarchus labrax* from two fish farms of Sicily. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, 360-360, 2015.
- TUGIYONO, M. M. G.; Pink snapper (*Pagrus auratus*) as a bioindicator of aquatic environmental health in Western Australia. **Environmental Toxicology**. **Environmental Toxicology**, v. 16, p. 449-454, 2001.
- TYLER, G. ICP-MS, or ICP-AES and AAS?—a comparison. **ICP-MS: Instruments at work**. Varian, ICP-MS, v. 1, p. 1-7, 1994.
- VAZ-DOS-SANTOS, A. M.; Rossi-Wongtschowski, C. L. D. B. Age and growth of the Argentine hake *Merluccius hubbsi* Marini, 1933 in the Brazilian South-Southeast Region during 1996-2000. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 375-386, 2007.
- VELASCO, G.; REIS, E. G.; VIEIRA, J. P. Calculating growth parameters of *Genidens barbatus* (Siluriformes, Ariidae) using length composition and age data. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 23, p. 64-69, 2007.
- VOIGHT, C. L.; DA SILVA, P.; DORIA, H. B. Bioconcentration and bioaccumulation of metal in freshwater neotropical fish *Geophagus brasiliensis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 8242-8252, 2015.
- YAMAN, B.; YAMAN, M. Seasonal Variations in Concentrations of Toxic Trace Metals in Deep-Sea Fish, Identified with Stat-AAS and ICP-AES. **Journal of Elementology**, v. 22, n. 1, p. 127-142, 2017.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Rima Editora. São Carlos. 464p, 2006.