

LETÍCIA VALADARES BALLOTIN

**NÍVEIS DE METAIS PESADOS E HISTOPATOLOGIAS NAS BRÂNQUIAS DE
DUAS ESPÉCIES DE PEIXES DA BACIA DO RIO DOCE APÓS ROMPIMENTO DA
BARRAGEM EM MARIANA - MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori

Coorientadores: Reggiani Vilela Gonçalves
Sérgio Luis Pinto da Matta
Carlos Frankl Sperber
Jener Alexandre Sampaio Zuanon
Reggiani Vilela Gonçalves
Katiane de Oliveira Pinto C. Nogueira
Mariella Bontempo Duca de Freitas
Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

B193n
2019 Ballotin, Leticia Valadares, 1992-
Níveis de metais pesados e histopatologias nas brânquias de
duas espécies de peixes da Bacia do Rio Doce após rompimento
da barragem em Mariana - MG / Leticia Valadares Ballotin. –
Viçosa, MG, 2019.

77 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Cichlidae* - Efeito dos metais pesados. 2. Brânquias -
Efeito dos metais pesados. 3. Tecidos (Anatomia e fisiologia) -
Efeito dos metais pesados. 4. Toxicologia ambiental - Mariana
(MG). I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia
Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 597.74


LETÍCIA VALADARES BALLOTIN

**NIVEIS DE METAIS PESADOS E HISTOPATOLOGIA NAS BRÂNQUIAS DE DUAS
ESPÉCIES DE PEIXES DA BACIA DO RIO DOCE APÓS ROMPIMENTO DA
BARRAGEM EM MARIANA - MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 06 de setembro de 2019.

Assentimento:


Leticia Valadares Ballotin
Autora


Sirlene Souza Rodrigues Sartori
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Por trás dessa conquista está uma grande equipe que o tornou possível. A eles sou imensamente grata. Agradeço a Deus, meus pais, Enedina e Luiz Antônio, pelo amor e por todos os sacrifícios que fizeram por mim e ainda fazem. Aos meus irmãos, Lucília e Luiz Eduardo, pelo carinho e incentivo. Aos meus familiares, que são minha base fortificante e meu exemplo, em especial aos meus avôs e avós, que foram os responsáveis por constituir essa família maravilhosa que eu faço parte.

Aos ausentes, Vó Maria, Vô Jesus, Vô Ballotin e ao meu querido e inesquecível Gú, e ao meu padrinho amado, Tio Chiquinho. Aos meus amigos de São João Del-Rei que carrego no meu coração, em especial ao Jockson pelos conselhos e incentivos, a Rosi e Bruninha, pela preocupação e conversas, a Susu e Raísa pelas boas lembranças. A minha amiga Jessiquinha, por me escutar e apoiar.

Viçosa não trouxe somente conhecimento, mas também grandes amigos. Agradeço em especial à minha orientadora, professora Sirlene, pela confiança, paciência, dedicação e conhecimento transmitido. À Jheneze (J), por sempre estar ao meu lado, principalmente nas noites no DBA e nos apertos. À Deh, por me escutar e pelas saídas. Às primas Amandinha, Didi, Ana Lu e Jana, pelo auxílio e conversas. Ao Luan, pela ajuda no projeto. Aos manos, Alex e Maria, pela convivência e risadas no campo. À Andréia e Marcela, por aceitarem a participar do projeto. À Ana Luiza, pelas conversas e companhia aos finais de semana. À Lu e Raul, meus vizinhos do lab, pelas conversas e amizade. À Polly pela calma no zap. À Renata e Bárbara pela convivência, e ao Luiz, pela ajuda na estatística e por estar sempre disposto a me ajudar.

Agradeço também aos professores Reggiani e Sérgio, pela coorientação, boa vontade e disposição no projeto. Aos professores Juraci, Jenner, Ana Lúcia, Mariáurea, Dergam, Mariela, e aos técnicos Donizete, Taline e Lúcia, por ajudarem no desenvolvimento do projeto.

Ao Juliano e toda sua família, pela hospitalidade e ajuda na coleta dos animais.

À Simone e ao Adnilson, por sempre me socorrerem, principalmente aos finais de de períodos.

Ao professor Sperber e ao Frederico, pela parceria na coleta e estudos.

Aos professores Reggiani e Laércio, por aceitarem participar da banca examinadora.

A todos os laboratórios e suas respectivas equipes que foram parceiros no desenvolvimento do projeto, em especial o Laboratório de Morfologia Animal, Laboratório de

Patologia Experimental, Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura, Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros, Laboratório de Biofísica Ambiental, Laboratório de Sistemática Molecular, Laboratório de Biologia Celular, Laboratório de Ultraestrutura Celular, Laboratório de Anatomia Vegetal e Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“A vida é como andar de bicicleta. Para manter o equilíbrio é preciso se manter em movimento”.

Albert Einstein

RESUMO

BALLOTIN, Leticia Valadares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2019. **Níveis de metais pesados e histopatologias nas brânquias de duas espécies de peixes da Bacia do rio Doce após rompimento da barragem em Mariana - MG.** Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Reggiani Vilela Gonçalves, Sérgio Luis Pinto da Matta, Carlos Frankl Sperber, Jener Alexandre Sampaio Zuanon, Reggiani Vilela Gonçalves, Katiane de Oliveira Pinto C. Nogueira, Mariella Bontempo Duca de Freitas e Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo.

O ecossistema aquático é o principal receptor de efluentes e resíduos oriundos das atividades antropogênicas, que contribui para o aumento da poluição através de diversos compostos poluentes, principalmente tóxicos, como os metais pesados, que podem desencadear diversas alterações fisiológicas nos organismos aquáticos, como os peixes, comprometendo toda a sua homeostase. Este trabalho propõe realizar análises de bioacúmulo e histopatologias branquiais de duas espécies de peixes, *Geophagus brasiliensis* (cará) e *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo), em duas áreas na bacia do rio Doce após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG. Para as análises, fragmentos branquiais foram usados para quantificação de metais pesados por espectrofotometria de massa atômica, e processados histologicamente para avaliar alterações teciduais e celulares. Houve presença de metais pesados em ambas as áreas, com maior acúmulo na área afetada, destacando-se alumínio e ferro. As seguintes alterações histológicas foram observadas: hiperplasias lamelares e filamentosas, hipertrofia, deformações lamelares e filamentosas, encurtamento lamelar, deleção lamelar, fusões lamelar e filamentar, elevação do epitélio lamelar, aneurismas e congestão, estando quase todas as alterações nos animais da área afetada, ressaltando-se as hiperplasias e a deformação lamelar como alterações predominantes. O índice de alteração histológica (IAH) indicou funcionamento normal das brânquias, apesar das modificações histopatológicas presentes, fato este confirmado pelas medições histométricas, mostrando o aumento do diâmetro filamentar e lamelar, e altura do epitélio filamentar. Em relação aos tipos celulares mensurados, as células mucosas nas brânquias da tilápia mostraram diferença percentual significativa, sendo maior na área afetada, o que não ocorreu com o cará. Quanto às células de cloreto, não houve diferença significativa entre as áreas para ambas espécies. Em ambas espécies a maior área da célula de cloreto e mucosa foi na área afetada. Os resultados indicam que a exposição a metais pesados causou modificações na estrutura branquial, entretanto tais alterações não comprometeram a funcionalidade do órgão, indicando que respostas adaptativas ou

compensatórias podem ter ocorrido, protegendo o organismo e evitando maiores complicações.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. *Geophagus brasiliensis*. *Oreochromis niloticus*. Rio Doce. Rio Piranga.

ABSTRACT

BALLOTIN, Leticia Valadares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2019. **Levels of heavy metals and histopathologies in the two fish species of the rio Doce Basin after break of the dam in Mariana - MG.** Advisor: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisors: Reggiani Vilela Gonçalves, Sergio Luis Pinto da Matta, Carlos Frankl Sperber, Jener Alexandre Sampaio Zuanon, Reggiani Vilela Gonçalves, Katiane de Oliveira Pinto C. Nogueira, Mariella Bontempo Duca de Freitas and Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo.

The aquatic ecosystem is the main recipient of effluents and residues from anthropogenic activities, which contributes to the increase of pollution through various polluting compounds, mainly toxic, such as heavy metals, which can trigger various physiological changes in aquatic organisms, such as fish, compromising all your homeostasis. This work proposes to carry out bioaccumulation analysis and gill histopathologies of two fish specimens, *Geophagus brasiliensis* (yam) and *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia), in two areas in the Doce River basin after the tailings dam rupture in Mariana-MG. For the analysis, gill fragments were used for quantification of heavy metals by atomic mass spectrophotometry, and processed histologically to evaluate tissue and cellular changes. Heavy metals were present in both areas, with greater accumulation in the affected area, with emphasis on aluminum and iron. The following histological changes were observed: lamellar and filamentary hyperplasia, hypertrophy, lamellar and filamentary deformations, lamellar shortening, lamellar deletion, lamellar and filamentary fusions, elevation of the lamellar epithelium, aneurysms and congestion, with almost all changes in animals in the affected area, emphasizing hyperplasia and lamellar deformation as predominant changes. The histological alteration index (AHI) indicated normal functioning of the gills, despite the histopathological changes present, a fact confirmed by histometric measurements, showing an increase in the filament and lamellar diameter, and height of the filament epithelium. Regarding the cell types measured, the mucous cells in the tilapia gills showed a significant percentage difference, being greater in the affected area, which did not occur with the yam. As for the chloride cells, there was no significant difference between areas for both species. In both species the largest area of the chloride and mucous cell was in the affected area. The results indicate that exposure to heavy metals caused changes in the branchial structure, however such changes did not compromise the organ's functionality, indicating that adaptive or compensatory responses may have occurred, protecting the organism and preventing further complications

Keywords: Ecotoxicology. *Geophagus brasiliensis*. *Oreochromis niloticus*. Doce River. Piranga River.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Localização Geográfica da Bacia do rio Doce, Fonte: ANA, 2016.....	18
Figura 2: Produção dos principais minérios na Bacia do rio Doce, Fonte: ANA, 2016.....	20
Figura 3: Produção estimada de sedimentos na Bacia do rio Doce. Fonte: ANA, 2016.....	20
Figura 4. Exemplar de (<i>Geophagus brasiliensis</i>) e tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>), respectivamente. Fonte: NUNES, 2012.....	23

CAPÍTULO:

Figura 1. Locais de coleta. A. Área não afetada (em Ponte Nova-MG) e B. Área afetada (em Santa Cruz do Escavaldo-MG).....	49
Figura 2. Concentração de metais pesados nas brânquias de cará e tilápia coletados em área não afetada (NAFC e NAFT, respectivamente) e área afetada (AFC e AFT, respectivamente).....	54
Figura 3. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as alterações branquiais encontradas no cará <i>Geophagus brasiliensis</i> , coletado em área não afetada (A,B e C) e afetada (D, E e F) pelo rompimento da barragem de Mariana-MG. Coloração azul de toluidina. A): Demonstrando estrutura branquial normal, F: filamento e L: lamela. DLA: deformação lamelar, DF: deformação filamentar, HF: hiperplasia filamentar, HL: hiperplasia lamelar, EL: encurtamento lamelar, DLT: destruição lamelar total, FF: fusão filamentar.....	55
Figura 4. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as alterações branquiais encontradas na tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> , coletado em área não afetada (A,B e C) e afetada (D, E e F) pelo rompimento da barragem de Mariana-MG. Coloração azul de toluidina. A): Demonstrando estrutura branquial normal, F: filamento e L: lamela. CO: congestão, DLA: deformação lamelar, DF: deformação filamentar, HF: hiperplasia filamentar, HL: hiperplasia lamelar, EL: encurtamento lamelar, NA: aneurisma, DLT: destruição lamelar total.....	56
Figura 5. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as células mucosas (setas) de cará <i>Geophagus brasiliensis</i> (A-área não afetada; B=Área afetada) e em tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> (C-área afetada; D=Área afetada), Coloração: PAS+AB.....	57
Figura 6. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as células de cloreto (círculos) em cará <i>Geophagus brasiliensis</i> (A-área não afetada; B=Área afetada) e em tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> (C-área afetada; D=Área afetada), Coloração: azul de toluidina.....	57

Figura 7. Percentual de células mucosas e células de cloreto nas brânquias de cará e tilápia, coletados em área não afetada (NAFC/NAFT) e área afetada (AFC/AFT) pelo rompimento da barragem Mariana-MG. Dados expressos em média \pm erro-padrão. Não houve diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância..... 59

Figura 8. Percentual de células de cloreto e mucosas nas brânquias de cará e tilápia, respectivamente, coletados em área não afetada (NAFC/NAFT) e área afetada (AFC/AFT) pelo rompimento da barragem Mariana-MG. Dados expressos em média \pm erro-padrão. Não houve diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância.. 60

Figura 9. Dados histométricos do cará nas brânquias de cará coletados em área não afetada (NAFC) e área afetada (AFC) pelo rompimento da barragem de rejeitos de mineração em Mariana-MG. Dados em médias \pm erro padrão. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância..... 61

Figura 10. Dados histométricos de células mucosas nas brânquias de cará coletados em área não afetada (NAFC) e área afetada (AFC) pelo rompimento da barragem de rejeitos de mineração em Mariana-MG. Dados em médias \pm erro padrão. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância..... 62

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO:

Tabela 1. Classificação das alterações histopatológicas das brânquias e dos estágios de acordo com POLEKSIX e MITROVIC-TUTUNDZIC (1994) 51

Tabela 2. Comprimento total e peso de cará e tilápia coletados em área não afetada (NAFC e NAFT, respectivamente) e área afetada (AFC e AFT, respectivamente) pelo rompimento da barragem de Mariana - MG..... 52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 A Bacia do rio Doce, rio Doce e a extração de minério	17
2.2 Ictiofauna da Bacia do rio Doce e as espécies em estudo	21
2.2.1 Cará, <i>Geophagus brasiliensis</i> (Qouy e Gaimard, 1824)	22
2.2.2 Tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1757).....	23
2.3 Rompimento da barragem de Mariana e as áreas em estudo.....	23
2.3.1 Rompimento da barragem de Mariana	23
2.3.1.1 Área não afetada pelo rompimento da barragem	26
2.3.1.2 Área afetada pelo rompimento da barragem.....	26
2.4 Metais pesados.....	27
2.4.1 Metais pesados em estudo.....	28
2.4.1.1 Alumínio	28
2.4.1.2 Cádmio.....	29
2.4.1.3 Chumbo.....	29
2.4.1.4 Cobalto.....	30
2.4.1.5 Cobre.....	30
2.4.1.6 Cromo	31
2.4.1.7 Ferro.....	31
2.4.1.8 Manganês	32
2.4.1.9 Níquel.....	32
2.4.1.10 Zinco	33
2.5 Brânquias	33
3. OBJETIVOS	34
3.1 Geral	34
3.2 Específicos.....	34
4. REFERÊNCIAS	35
NÍVEIS DE METAIS PESADOS E HISTOPATOLOGIA EM BRÂNQUIAS DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES DA BACIA DO RIO DOCE APÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM EM MARIANA - MG.	44
1. Introdução	47
2. Materiais e métodos	48

3. Resultados	52
3.1 Dados biométricos corporais	52
3.2 Concentração de metais pesados no sedimento e nas brânquias	52
4. Discussão	63
5. Conclusão	67
6. Agradecimentos	67
7. Referências	67
Anexos.....	74

1. INTRODUÇÃO GERAL

O ecossistema aquático é constantemente atingido diretamente ou indiretamente pela ação antrópica, influenciando todo o desenvolvimento e equilíbrio da biota local. Atividades antropogênicas promovem a contaminação deste ambiente por meio da dispersão de agentes tóxicos da água e do solo, tornando-os biodisponíveis no ambiente (Muñoz-Nájera *et al.*, 2018; Lushchak, 2011). Os efeitos dos poluentes nos organismos dependem de características que influenciam na sua toxicidade, como a concentração e o modo de dispersão dos compostos tóxicos, que podem provocar alterações agudas e/ou crônicas (Muñoz-Nájera *et al.*, 2018).

Dentre os poluentes aquáticos, os metais pesados são caracterizados por terem grande impacto no meio ambiente, principalmente devido a ação bioacumulativa no ecossistema aquático (Javed e Usmani, 2014; Mukherjee e Bhattacharya, 2001; Shah *et al.*, 2009). O metal pesado é um potencial elemento tóxico, que possui uma densidade maior que a água (5g/cm^3), efeitos deletérios em baixas ou altas concentrações (Gheorghe *et al.*, 2017), além de relacionado com a ecotoxicidade (Alloway, B e Ayres, D, 1997; Duffus, 2002; Lenntech, 2004). Os organismos aquáticos são constantemente expostos à poluição ambiental por vários metais pesados devido à facilidade e diversidade da contaminação do ecossistema aquático (Ali, Khan e Ilahi, 2019). Dentre os organismos aquáticos, os peixes estão sujeitos a um estado de multipoluição, e por isso são indicados para avaliar o nível da poluição por compostos tóxicos como os metais pesados (Kalyoncu, Kalyoncu e Arslan, 2012). A absorção dos metais pesados nos peixes pode ocorrer por vários meios, principalmente através das brânquias, pela contaminação direta da água, e pelo trato digestivo, através da alimentação (Jinadasa e Edirisinghe, 2014). Os peixes acumulam e eliminam os metais pesados em ambientes poluídos por diferentes processos de acordo com a forma de contaminação e a sua posição trófica (Asuquo *et al.*, 2004; Peakall e Burger, 2003; Voigt *et al.*, 2015).

A biomagnificação e a bioacumulação de metais pesados em peixes são indicativos de poluição ambiental, e dependem de fatores que influenciam estes processos internamente e externamente, tais como; características específicas do organismo, incluindo as espécies de peixes e a sua posição trófica; hábitos alimentares da espécie; a forma de absorção dos metais pesados pelo indivíduo, além dos fatores ambientais, como o local de coleta e as

propriedades físico-químico do metal (Ali, Khan e Ilahi, 2019; Asuquo *et al.*, 2004; Shah *et al.*, 2009; Voigt *et al.*, 2015).

Os metais pesados são analisados principalmente na água e sedimento, entretanto, na avaliação toxicológica, é difícil detectar as influências interativas e o real impacto de contaminantes ambientais sobre a biota aquática apenas por análises físico-químicas (Maceda-Veiga, Monroy e Sostoa., 2012; Monferrán *et al.*, 2011). Assim, o uso de biomarcadores tornou-se uma ferramenta valiosa no diagnóstico e monitoramento da qualidade ambiental, sobre a saúde dos organismos, como os peixes, que habitam os ecossistemas poluídos, em uma relação de causa e efeito (Bucheli e Fent, 1995; Maria *et al.*, 2009). Os biomarcadores é a unidade mensurável, indicando modificações bioquímicas ou estruturais nos sistemas biológicos, como níveis de estresse oxidativo e histopatologias, devido à presença e magnitude de substâncias tóxicas (Ameur, Ben *et al.*, 2012; Dyk, van, Cochrane e Wagenaar, 2012; Lukin *et al.*, 2011; Maria *et al.*, 2009; Oliva *et al.*, 2013; Sevcikova *et al.*, 2011).

O iminente impacto no meio ambiente pela poluição por metais pesados é de grande interesse público, pois nem sempre têm-se conhecimento sobre os efeitos e intensidade dos metais no ambiente, já que se trata da contaminação do ar, água e solo, podendo ser bioacumulado por ecossistemas e organismos, inclusive os seres humanos (Muñoz-Nájera *et al.*, 2018). As atividades antrópicas em expansão e a relação de uso e descarte de substâncias tóxicas, têm-se intensificado os problemas ambientais, especialmente em relação ao ecossistema aquático, havendo necessidade crescente de monitorar os poluentes ambientais (Carvalho *et al.*, 2012; Clemente *et al.*, 2010; Doria *et al.*, 2017; Voigt *et al.*, 2015).

O rompimento da barragem de rejeitos em Mariana - MG, desencadeou danos inestimáveis ao meio ambiente, especialmente no ecossistema aquático. A enxurrada da lama, atingiu aproximadamente 78,5% dos recursos hídricos da Bacia do rio Doce, sendo a comunidade ictiofaunística totalmente afetada (Sánchez *et al.*, 2018). Devido a isso e outros problemas ambientais, são necessários mais estudos que atribuem especificamente os efeitos do rompimento da barragem de rejeitos em Mariana - MG à ictiofauna, e também a contaminação crônica dos poluentes tóxicos na Bacia do rio Doce ao longo dos anos. Com isso, avaliações do impacto ambiental ocasionado por problemas socioambientais torna-se necessário a fim de diagnosticar, monitorar e planejar a recuperação de áreas degradadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Bacia do rio Doce, rio Doce e a extração de minério

A Bacia do rio Doce está localizada nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, na região Sudeste do Brasil, estando a maior parte no estado de Minas Gerais (Figura 1) (ANA, 2016). O rio Doce possui este nome devido a confluência do rio Carmo e do rio Piranga, nas cidades de Santa Cruz do Escalvado e Ponte Nova, no estado de Minas Gerais (Lume, 2010). A nascente do rio Doce encontra-se nas serras da Mantiqueira e do Espinhaço (Minas Gerais) e percorrem até desaguar em Regência, no estado do Espírito Santo, no Oceano Atlântico, percorrendo uma distância de aproximadamente 888 Km (ANA, 2016; Lume, 2010). A bacia hidrográfica é constituída por 225 municípios; 200 pertencentes ao estado de Minas Gerais e 25 ao estado do Espírito Santo, com um total de aproximadamente 3,6 milhões de habitantes (ANA, 2016; Lume, 2010). Devido a declividade das regiões que englobam a bacia, a população se concentrou próximo aos cursos d'água (ANA, 2016). A Bacia do rio Doce possui uma área de drenagem de aproximadamente de 84 mil km², sendo a maior parte (86%), correspondente na região mineira, e a menor quantidade (14%), na região capixaba (ANA, 2016; Lume, 2010).

No aspecto climático da Bacia do rio Doce, ela é dividida em três tipos: tropical de altitude com chuvas de características de verão, apresentando clima ameno, sendo este clima presente desde as serras da Mantiqueira e do Espinhaço, até a nascente do rio Doce; tropical de altitude caracterizado por chuvas de verão e temperaturas elevadas, clima presente nas nascentes de seus afluentes; e clima quente com chuvas de verão, estando presente nos trechos médio e baixo do rio Doce e também nos seus afluentes (Lume, 2010). A bacia possui o regime pluviométrico pelo período chuvoso, de outubro a março, e pelo período seco, de abril a setembro. A vegetação da bacia é caracterizada principalmente pelos biomas da Mata Atlântica e Cerrado (Lume, 2010).

Em relação aos tipos de solos existentes na Bacia do rio Doce, os predominantes são os latossolos vermelhos amarelos e argissolos vermelhos, sendo o primeiro caracterizado por alta saturação de alumínio, referente aos solos profundos, estando presente em planaltos (Lume, 2010). Já o segundo está presente em áreas que possui forte relevo montanhoso, que limita seu uso as atividade como pastagens (Lume, 2010).

As características dos solos e relevo adicionado com as atividades antrópicas, como o desmatamento, contribui na remoção dos solos e proporciona uma susceptibilidade de erosões (ANA, 2016). Dentre esses fatores, 58% da área da bacia possui forte susceptibilidade e 30% susceptibilidade média (ANA, 2016).

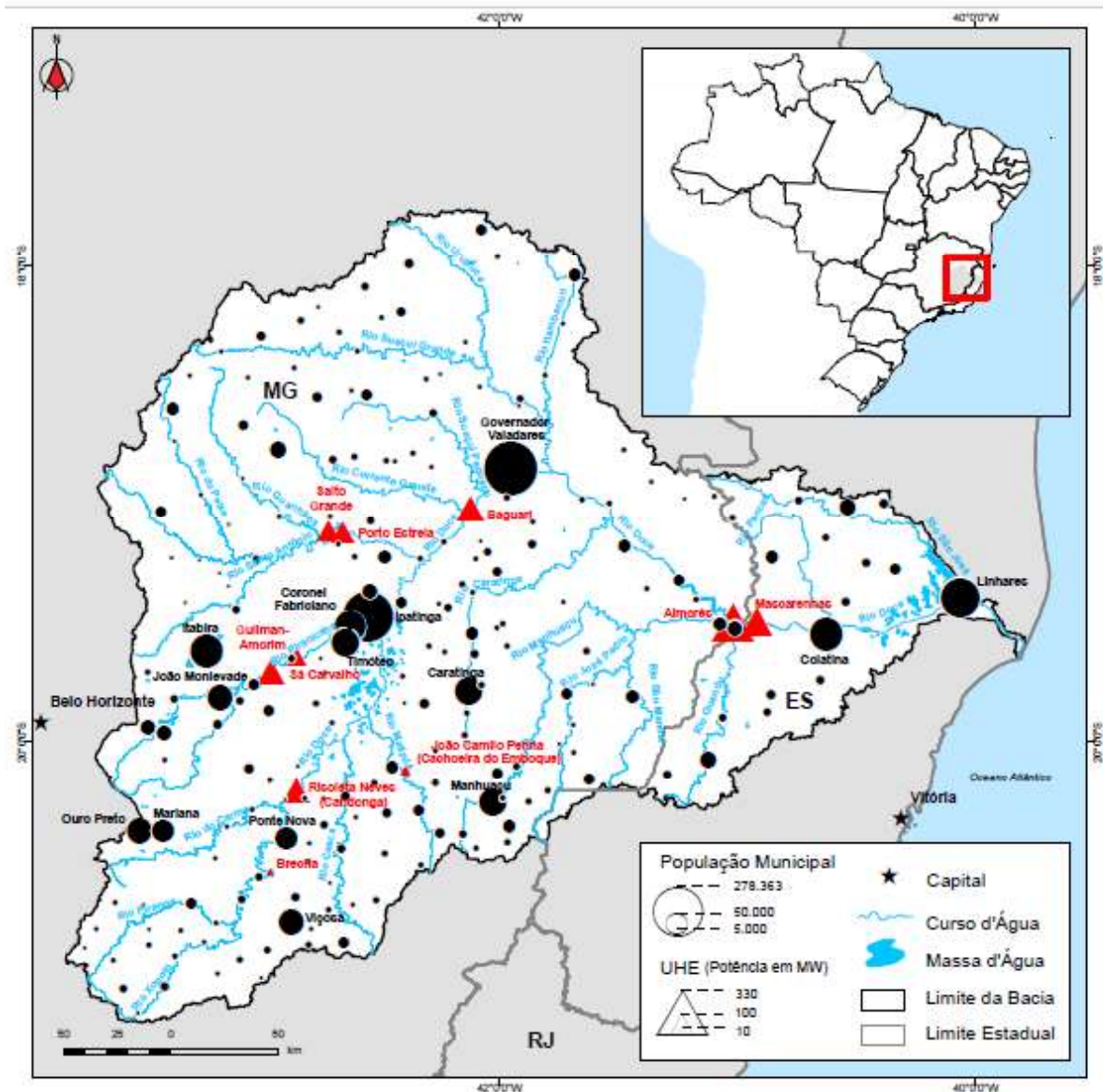


Figura 1. Localização Geográfica da Bacia do rio Doce, Fonte: ANA, 2016.

Nos aspectos físicos e econômicos da Bacia do rio Doce, os recursos hídricos possuem uma grande importância na economia da região que a engloba, sendo a água utilizada na agropecuária, podendo ser esta de pequena ou grande expansão, industrial, como mineradores e produção de celulose, e nas atividades de geração de energia elétrica (ANA, 2016; Lume, 2010).

A expansão econômica sobre a exploração de matérias primas nos recursos naturais da Bacia do rio Doce, principalmente sobre reservas minerais, coloca em risco o equilíbrio entre crescimento e sustentabilidade. De acordo com o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), há 366 áreas de concessão de lavra localizadas na Bacia do rio Doce (Figura 2). A extração de ferro e minério de ferro representa 31,4% das atividades minerárias dentro das concessões. Essas ações estão localizadas principalmente nas cabeceiras do rio Piracicaba e do rio Carmo, uns dos principais formadores do rio Doce (ANA, 2016; Lume, 2010). Toda esta atividade, assim como outras explorações da mineração, produz toneladas de descartes de resíduos de minério como mostrado na figura 3. Os cursos d'água da bacia são receptores e transportadores de todas estas atividades (Lume, 2010).

Os principais resíduos provocados pela atividade mineradora são o estéril e o rejeito (IBRAM, 2016). As pilhas de minérios, rochas, sedimentos, solos, sobras da mineração artesanal são alguns exemplos de resíduos minerários. Ressaltando que, estéril refere-se ao minério com nenhuma ou pouco minério útil e que tenha valor econômico, e o rejeito é o produto final após passar pelo processo de tratamento de extração dos minérios economicamente importantes (IBRAM, 2016). Dentre as atividades minerárias, principalmente a exploração de minério de ferro, tem gerado potenciais impactos sobre a qualidade de água, seja pelo aumento de sólidos suspensos, quanto pela alteração química da água nas lagoas de decantação utilizadas no processo de beneficiamento do minério (barragens)(Hernandez *et al.*, 2005; IBRAM, 2016). As águas de decantação evapora e os materiais sólidos sedimentam, sendo processados como rejeitos (Hernandez *et al.*, 2005). Segundo Aristimunho e Bertocini, 2012, na extração de ferro, a porcentagem do volume de água utilizado no processo de lavagem é 60% reciclado e 40% lançado nas bacias de decantação, na forma de lama (rejeitos). De acordo com a Companhia Vale (Mina Urucum), a lama de rejeitos é constituída de 40% de materiais sólidos e 60% de água, aproximadamente. Anualmente, 11 milhões m³ de sedimentos são descarregados na foz do rio Doce pelas ações humanas (Sánchez *et al.*, 2018).

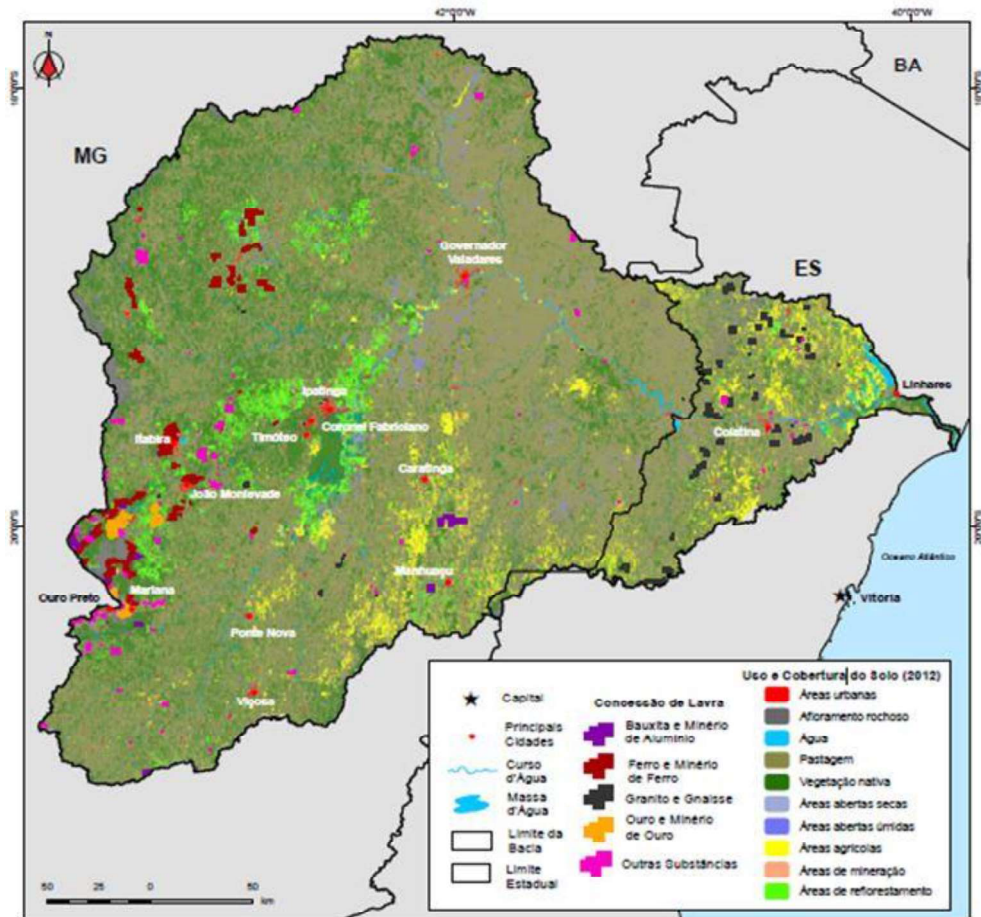


Figura 2. Extração dos principais minérios na Bacia do rio Doce, Fonte: ANA, 2016.

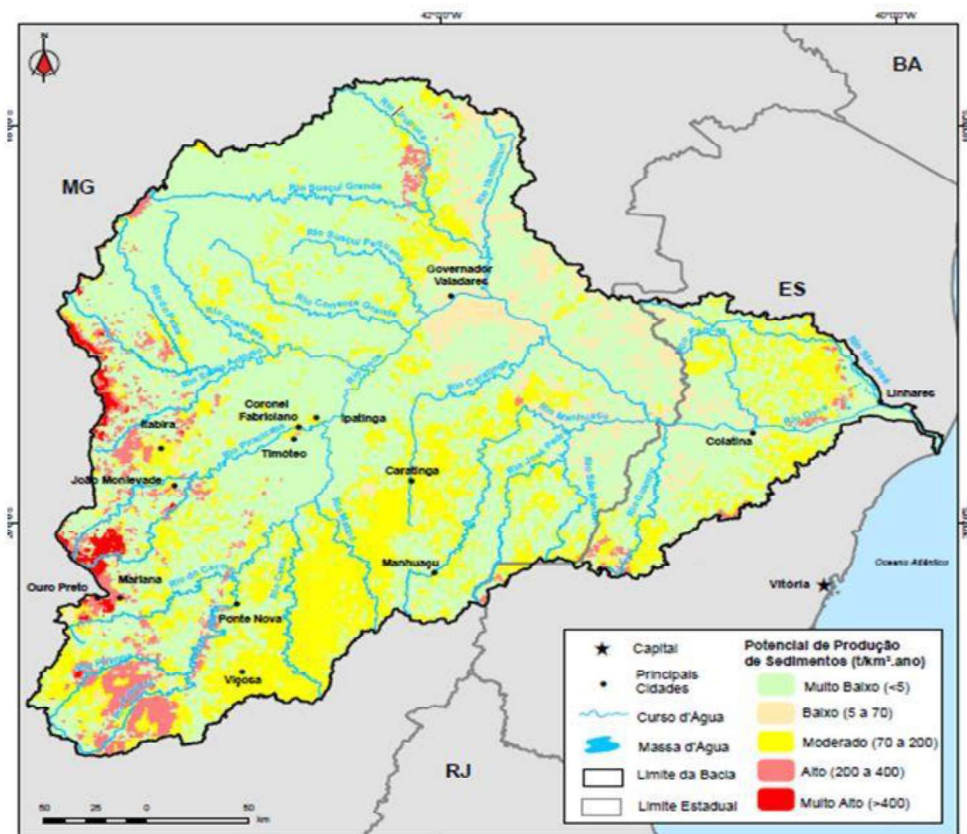


Figura 3. Produção estimada de sedimentos na Bacia do rio Doce. Fonte: ANA, 2016

2.2 Ictiofauna da Bacia do rio Doce e as espécies em estudo

A bacia hidrográfica do rio Doce é dividida em três regiões, alto, médio e baixo curso. O alto curso está localizado desde as cabeceiras até a foz do rio Matipó, o médio se estende desde a confluência desse rio até a divisa dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, e o baixo, da divisa dos estados até a foz do rio (Vieira, 2009a).

O conhecimento sobre a composição e distribuição da ictiofauna da bacia é escasso (Vieira, 2009a). Os estudos disponíveis na literatura foram concentrados no seu curso médio, provavelmente devido a proximidade do Parque Estadual do Rio Doce (Vieira, 1994). De acordo com a literatura, há mais de 100 espécies de peixes nativos na Bacia do rio Doce (Fernandes *et al.*, 2016). O curso alto do rio Doce possui aproximadamente 70 espécies de peixes, sendo 19 espécies exóticas. A maioria de espécies que constitui a ictiofauna desta região é de pequeno a médio porte, encontrados em regiões lóxicas. A ordem Siluriformes é a mais diversificada neste trecho, dentre as quais encontram-se as famílias Loricariidae (9 sp.), Trichomycteridae (5 sp.) e Pimelodidae (4 sp.). Dentre as espécies nativas, destaca-se os Characiformes (20 sp). Nessa ordem, a família com maior número de espécies é Characidae (11 sp.), seguida de Anostomidae (4 sp.). Espécies exóticas como o dourado (*Salminus brasiliensis*) e nativas endêmicas como o surubim-do-rio-Doce (*Steindachneridion doceanum*) que possuem portes maiores, se encontram especificamente nas calhas centrais dos rios de maiores expansões (Vieira, 2009).

O curso médio possui registros de mais de 70 espécies de peixes, onde a grande maioria é representada por espécies exóticas, sendo os siluriformes o grupo mais diversos (21 sp nativas), e espécies endêmicas como o surubim-do-rio-Doce (*Steindachneridion doceanum*), além da crumatã (*Prochilodus vimboides*) e o piau-vermelho (*Leporinus copelandii*). Quase todos os cascudos são encontrados neste trecho pela exceção de *Hypostomus affinis* e *Loricariichthys castaneus*. Os peixes que habitam o curso médio também são de pequeno a médio porte (Lume, 2010; Vieira, 2009b). Assim como neste trecho e do alto rio Doce, três espécies são endêmicas, o andirá (*Hemichilus wheatlandii*), o timburé (*Leporinus thayeri*) (Vieira, 2009).

O baixo rio Doce possui o trecho menos estudado sobre a ictiofauna. Aproximadamente 70 espécies nativas e exóticas, dentre as espécies de água doce e marinhas compõe a ictiofauna. Também nesta região também possui peixes economicamente e localmente importantes como pacumã (*Lophiosilurus alexandrii*), tucunarés (*Cichla spp.*), piranha (*Pygocentrus nattereri*), apaiari (*Astronotus ocellatus*), tilápias (*Oreochromis e*

Tilapia) (Vieira, 2009a). Uma das espécies importantes para a pesca é o robalo, que inclui duas espécies principais (*Centropomus parallelus* e *C. undecimalis*) (Lume, 2010).

Dentre a diversidade da ictiofauna da Bacia do rio Doce, os ciclídeos possuem importância no desenvolvimento do local, pois são fonte alimentar e de renda para os pescadores. Possuem também importância ecológica e científica, servindo de modelo para diversos estudos como bioindicadores ambientais (El-Demerdash e Elagamy, 1999). A família Cichlidae, pertencente à ordem Perciformes, é constituída pelo menos de 1300 espécies no mundo, sendo que aproximadamente 35% destas espécies ocorrem somente na América do Sul (Sampaio e Goular, 2011). Apresentam características morfológicas específicas que possibilita a sobrevivência em variadas condições ambientais (Meyer, 1993). Os membros desta família apresentam a linha lateral dividida em dois ramos, boca protrátil, podendo ser inferior, subterminal, terminal e superior (Bond, 1979; Kullander, 2003), podem ser classificados quanto o hábito alimentar (insetívoras, onívoras, carnívoras e detritívoras). As estruturas morfológicas da boca são correspondentes ao hábito alimentar, correlacionando com suas categorias tróficas (Sampaio e Goular, 2011). Além de apresentarem características comportamentais, como cuidado parental, forrageamento e territorialista (Kullander, 2003). Devido a essas razões, e por serem uma espécie nativa (cará) e exótica (tilápia), as duas foram escolhidas para avaliar os efeitos da contaminação aquática sobre a ictiofauna da bacia do rio Doce.

2.2.1 Cará, *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824)

Dentre os ciclídeos, o cará, ou acará (Figura 4), é uma espécie amplamente distribuído no Brasil, sendo encontrado desde a Bacia Amazônica até o Norte da Argentina e Uruguai (Benincá *et al.*, 2012; Kullander, 2003). Habitam fundos de lagos, rios, lagoas, reservatórios e riachos (Agostinho, Vazzoler e Thomaz, 1995). Possuem características morfológicas como o corpo comprimido lateralmente, boca terminal protrátil e coloração castanha-escura com faixas transversais (Langeani e Rêgo, 2014). A espécie possui fecundação externa com desova parcelada e cuidado parental (incubação dos ovos na boca pela fêmea). Na desova os ovos são alojados em ninhos construídos em fundos de rios e lagos (Suzuki *et al.*, 2005). A espécie apresenta dimorfismo sexual, sendo os machos maiores e mais coloridos que as fêmeas. São agressivos e territorialistas durante a fase reprodutiva (Cemig e Cetec, 2000). Possuem dieta flexível, alimentando-se principalmente de detritos, vegetais, insetos, moluscos e algas (Abelha e Goulart, 2004; Kullander, 2003) Apresentam importância na pesca artesanal e no aquarismo (Cemig e Cetec, 2000). Além de ser usado como biomarcador em vários

estudos de campo, exibindo alterações teciduais e moleculares como respostas a presença de contaminantes no ambiente, como hiperplasia branquial, fusão lamelar e necrose (Benincá *et al.*, 2012; Clemente *et al.*, 2010; Doria *et al.*, 2017; Merçon *et al.*, 2019; Osório *et al.*, 2013; Ruas *et al.*, 2008; Wilhelm Filho *et al.*, 2001).

2.2.2 Tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)

A tilápia do nilo (Figura 4) apresenta características semelhantes ao cará, como a morfologia e comportamento, possuindo o corpo comprimido lateralmente, com boca portátil e coloração castanho-claro. Habitam preferencialmente lagos e reservatórios (Langeani e Rêgo, 2014). Possuem fecundação externa, desova parcelada e cuidado parental. A dieta se baseia de sedimentos, matéria vegetal, algas e insetos (Suzuki *et al.*, 2005). É uma espécie africana (exótica), introduzida no Brasil em 1971 nos açudes do Nordeste, espalhando-se para todo o território brasileiro (Bozano *et al.*, 1999). É altamente cultivado para o consumo, por ter sucesso na ocupação de reservatórios e devido à sua facilidade e sucesso em adaptar em diferentes ambientes (Schulter e Vieira, 2017). Por isso apresentam importância na pesca e piscicultura (Langeani e Rêgo 2014). A espécie é usada também em pesquisas científicas, como na toxicologia, demonstrando ser sensível a contaminação ambiental, por meio de alterações teciduais e celulares (Benli, Köksal e Özkul, 2008; Elghobashy, Zaghoul e Metwally, 2001; Mohamed e Osman, 2014a).

Figura 4. Exemplar de (*Geophagus brasiliensis*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*),



respectivamente. Fonte: NUNES, 2012. Escala: 1 cm.

2.3 Rompimento da barragem de Mariana e as áreas em estudo

2.3.1 Rompimento da barragem de Mariana

Vários municípios brasileiros possuem como atividade econômica central à extração de minérios, incluindo a região da bacia do rio Doce, que compõe o quadrilátero ferrífero,

possuindo uma intensa e histórica atividade mineradora (Lume, 2010). Entretanto, a superexploração progressiva destes recursos naturais gera uma quantidade significativa de resíduos minerários (Bezerra, 2017; IPEA, 2012). As barragens de rejeitos na mineração é uma das formas de conter esses resíduos (Machado, 2007; Mello e Piasentin, 2011). Quando as barragens são mal elaboradas e não possuem um planejamento de monitoração adequada, essas estruturas podem romper-se, causando danos ambientais e sociais de proporções inestimáveis (Duarte, 2008; Machado, 2007).

Em novembro de 2015 ocorreu o maior desastre ambiental do Brasil, na cidade de Mariana no estado de Minas Gerais, com o rompimento da barragem do Fundão (controlada pela Samarco Mineração SA) no distrito de Bento Rodrigues, que acomodava rejeitos da extração de minério de ferro (Sánchez *et al.*, 2018).

O rompimento da barragem de rejeitos do Fundão trouxe uma enxurrada de lama que se deslocou até o mar, no Espírito Santo, causando impactos agudos e crônicos pela contaminação, principalmente por metais pesados, nas áreas afetadas (Espindola *et al.*, 2016). Estes compostos são nocivos aos seres vivos, gerando desequilíbrio na homeostase dos organismos e ecossistemas da bacia do rio Doce (Carvalho *et al.*, 2017; Espindola *et al.*, 2016).

Os principais impactos causado nos organismos aquáticos, especificamente na ictiofauna, são mortandade de espécimes, perda de espécies com hábitat específico, modificações dos cursos d'água, destruição das áreas de reprodução, incluindo as áreas de reposição dos peixes, e principalmente, contaminação hídrica pela lama do rejeito, provocada não somente pela toxicidade dos rejeitos, mas também pela concentração extremamente elevada de sedimentos (turbidez) na água, durante a passagem da lama, o que reduz a concentração de oxigênio dissolvido na água e provoca obstrução nas brânquias dos peixes, ocorrendo a asfixia (IBAMA, 2015).

Após o rompimento da barragem, foram realizadas análises de teores dos metais Pb, As, Ni, Cu, Al e Mn, por meio de coletas de água na Bacia do rio Doce em três diferentes pontos: Na nascente, localizada em uma área que não foi afetada pela lama, à montante do dique de retenção dos rejeitos, ou seja, área contaminada, e à jusante do dique de retenção de rejeitos, área também contaminada. Elevadas concentrações em mg/L dos metais foram observadas na montante (em mg/L): Pb (0,097); As (0,911); Ni (1,078); Cu (1,115); Al (9,432) e Mn (1,638), sendo a concentração de cobre, nesse ponto, 86 vezes maior que o valor máximo permitido (VMP) pela legislação brasileira. Na nascente, as concentrações de Ni (0,051 mg/L), Cu (0,062 mg/L) e Al (0,465 mg/L) apresentaram-se 2,0; 4,8 e 2,3 vezes maiores que

os VMP's, respectivamente, podendo-se relacionar esses resultados à natureza mineralógica da área. O alumínio foi o metal que apresentou as maiores concentrações à jusante, assim como nos outros pontos (Carvalho *et al.*, 2017).

De acordo com a literatura, devido a passagem acentuada da lama que provocou o revolvimento e suspendeu os sedimentos contaminados pelas atividades minerárias depositados ao longo dos anos, contribuiu para aumentos consideráveis nos níveis de metais pesados como alumínio, arsênio, cádmio, cobre, cromo, manganês e níquel, destacando o chumbo e mercúrio, com concentrações maiores que o permitido pela legislação (165 e 1465 vezes, respectivamente) (ANA, 2016; Hatje *et al.*, 2017; IBAMA, 2015). De acordo com Freitas, Silva e Menezes, (2016), análises comprovaram que o bioacúmulo de metais nos zooplânctons é compatível com o padrão das taxas de contaminação da água. Os zooplânctons estão na base da cadeia alimentar, organismos que deles se alimentam acumularão os compostos tóxicos, desencadeando um efeito sucessivo, contaminando todos os seres envolvidos (Freitas, Silva e Menezes, 2016).

Segundo relatórios emitidos em 2016, até meados do mesmo ano, aproximadamente mais de 2 toneladas de peixes mortos foram recolhidas, das quais 90 espécies (8 ordens e 27 famílias); 4 herbívoras, 28 carnívoras e 39 onívoras; 69 nativas e 28 exóticas; 12 ameaçadas de extinção e 11 endêmicas do rio Doce (SEMAD, 2016).

Devido a biodiversidade aquática na bacia do rio Doce ser pouco estudada, o real impacto do desastre sobre a ictiofauna pode ser incompleta e incerta, visto que espécies endêmicas não descritas podem ter sido extinguidas, e espécies sub-existentes como *Brycon devilleis* (piabanha), *Oligosarcus solitariu* (lambari-bocarra) e *Steindachneridion doceanum* (surubim do rio Doce), representam uma preocupação quanto a sua existência e permanência na bacia (SEMAD, 2016; Vieira, 2009).

Assim como nos zooplânctons análises realizadas em peixes, enfatiza que um único grupo de organismo é suficiente para que a cadeia trófica seja contaminada, interferindo na homeostase do ecossistema aquático (IBAMA, 2016).

Ribeiro, (2016), ao analisar o Rio Doce um ano após o desastre ambiental, constatou que a contaminação não havia cessado e o arrasto de sedimentos pela bacia continuava, de modo que o rio ainda se encontrava sem condições de uso. Devido a isso e ao grande número de mortalidade aguda dos organismos aquáticos, confirma-se que a contaminação dos cursos d'água é o principal efeito catastrófico, mas apenas um dos impactos causados pelo desastre. Os processos ecológicos foram modificados, e os efeitos da contaminação no ecossistema aquático podem ser mais expansivos, à exemplo da extinção de espécies endêmicas não

descritas, sendo necessário longas décadas para a restauração de toda a ictiofauna e consequentemente, biodiversidade da bacia do rio Doce (ANA, 2016; IBAMA, 2015; Sánchez *et al.*, 2018; SEMAD, 2016).

2.3.2 Área não afetada pelo rompimento da barragem

O rio Piranga está inserido dentro do Comitê de Bacia Hidrográfica do rio Piranga. A bacia possui aproximadamente 77 cidades mineiras, sendo a maior unidade da Bacia do rio Doce em número de municípios e pessoas, aproximadamente 700 mil, onde a maioria se concentra nas áreas urbanas (aproximadamente 64%, segundo o Plano Integrado de Recursos Hídricos-PIRH, 2010). Uma dessas cidades é Ponte Nova, localizada na zona da Mata Mineira, que integra a sub-bacia do rio Piranga (Lume, 2010).

O rio Piranga possui os rios São Bernardo, Xopotó, Turvo Limpo e Oratórios como rios tributários. Caracteriza-se por ter a quarta posição em relação à área de drenagem da bacia do rio Doce (6,607 Km²), e a segunda região com maior recurso hídrico da bacia do rio Doce, com 108 m³/s (11%). O rio Piranga apresenta a maior parte do seu leito corredeiras extensas com substrato rochoso (Lume, 2010).

O rio Piranga compõe aproximadamente 45 espécies de peixes nativos e exóticos, o maior registro da ictiofauna (Lume, 2010). É nessa sub-bacia que existe os maiores registros de ocorrência do surubim-do-rio-Doce (*Steindachneridion doceanum*) e numerosos cardumes de piau-vermelho, piau-branco e curumatã. Essas evidências demonstram que esta região é fundamental para o recrutamento e preservação da ictiofauna da bacia do rio Doce (Drummond *et al.*, 2005; Lume, 2010)

A sub-bacia do rio Piranga possui problemas ambientais como poluição, mineração em pequena escala, lançamento de produtos agrícolas, industriais e esgotos domésticos, inadequação de estradas rurais, extrativismo ambiental por desmatamento e produção de carvão (Lume, 2010).

2.3.3 Área afetada pelo rompimento da barragem

O rio Doce é formado a partir da confluência do rio Piranga e do rio Carmo. Está incluído no Comitê de Bacia Hidrográfica do rio Piranga, rio Piracicaba, Santo Antônio e Suaçuí. Apresenta um complexo contingente populacional, urbano e rural. A atividade econômica do rio Doce é bastante diversificada, destacando-se: a agropecuária, atividade minerária e construção de minerodutos, diversas atividades industriais, principalmente hidrelétrica (Lume, 2010).

O rio Doce apresenta o registro de 70 espécies aproximadamente (alto rio Doce), sendo a ictiofauna similar à do rio Piranga. Possui substrato arenoso e baixas extensões de corredeiras nos cursos d'água. Essa divisão fisiográfica entre os dois rios ocorre devido a construção da barragem da usina hidrelétrica Risoleta Neves, popularmente conhecida como Candonga. Este aspecto também contribuiu para a distinção na composição da biodiversidade de peixes no rio (Lume, 2010).

Problemas semelhantes ao do rio Piranga poluem os cursos d'água do rio Doce, podemos destacar atividades industriais, como mineradoras, lançamento de esgotos domésticos, além do desmatamento e drenagem (Lume, 2010).

2.4 Metais pesados

Os metais pesados são assim denominados por apresentarem uma densidade superior a da água, e estão amplamente distribuídos pela crosta terrestre (Fergusson, 1990; Koller e Saleh, 2018). Eles podem ser liberados de forma natural, como a deposição atmosférica direta, ou por meio de atividades antrópicas, à exemplo das indústrias (Ajima *et al.*, 2015). Dentre as atividades antrópicas, a mineração, que historicamente é o principal agente poluidor das bacias hidrográficas. Principalmente a extração e processamento dos metais, gera uma enorme quantidade de rejeitos, elevando a concentração de vários metais pesados no ambiente e contribuindo na contaminação do ecossistema aquático (Hatje *et al.*, 2017).

Embora alguns metais apresentem funções biológicas no organismo, geralmente os metais pesados são tóxicos mesmo em níveis baixos, pois apresentam características acumulativas ao longo da cadeia alimentar, causando efeitos no ecossistema e organismo de acordo com a quantidade, concentrações e com o tempo de exposição dos compostos tóxicos (Agah *et al.*, 2009; Ali, Khan e Ilahi, 2019; Lenntech, 2004; Muñoz-Nájera *et al.*, 2018; Shah *et al.*, 2009). A bioacumulação ocorre quando um organismo absorve uma substância química em uma taxa superior àquela em que a substância é eliminada, envolvendo vários processos, como absorção, biotransformação, armazenamento e eliminação (Rainbow, 2007). Nos peixes, o acúmulo de metais pesados pode resultar em modificações a níveis celular e tecidual, desencadeando bioacúmulo em órgãos alvos e conseqüentemente alterações celulares. A presença de metais pesados pode induzir o estresse oxidativo e proliferação de determinadas moléculas, como metalotioneínas (Ali, Khan e Ilahi, 2019; Doria *et al.*, 2017; Sevcikova *et al.*, 2011).

Em organismos aquáticos como os peixes, os contaminantes tóxicos são absorvidos principalmente do meio ambiente pela água, ou são adquiridos pela ingestão de alimentos

contaminados, acumulando-se em seus tecidos e ao longo da cadeia trófica (Mansour e Sidky, 2002; Mohamed e Osman, 2014b). Pelo alto consumo humano de peixes no mundo, o acúmulo de metais pesados nestes organismos se tornou uma questão de saúde pública em nível mundial (Ali, Khan e Ilahi, 2019).

As modificações no meio ambiente afeta todo o equilíbrio ecológico, variando de pequenas a expressivas alterações e, no caso do rompimento de barragens de rejeitos, as consequências são grandes e complexas (Hatje *et al.*, 2017). A água exerce o papel de transportadora dos elementos no meio aquático, e conseqüentemente receptora e transmissora de contaminação para toda a biota aquática. Por isso é fundamental o monitoramento dos níveis desses poluentes tóxicos a fim de avaliar o real impacto e riscos que eles provocam no ecossistema aquático (ANA, 2016; Magalhães, Danielly *et al.*, 2015).

2.4.1 Metais pesados em estudo

2.4.1.1 Alumínio

O alumínio é extraído de rochas e minerais, sendo constituída principalmente de bauxita. Não é encontrado naturalmente em sua forma metálica, necessitando de uma combinação com outro composto, como o oxigênio. Ocupa a posição do metal mais abundante e o segundo mais produzido no mundo (Mártires, 2001). No Brasil, de acordo com a Produção Mineral Mundial de 2014, o país está na terceira posição de bauxita no mundo (Brown *et al.*, 2016). Devido o crescimento da indústria moderna, possui ampla aplicação no mercado mundial devido as suas características específicas, como baixo peso em comparação com outros metais com elevada demanda. É empregado no setor automotivo, construção civil, agroindústria e urbanização, como agente de floculação no tratamento de água (Mártires, 2001, 2009).

Há trabalhos referindo-se ao alumínio como o principal composto pela toxicidade de peixes, sendo o principal responsável pelo declínio da ictiofauna (Dickson, 1978; Schofield, 1976). O efeito tóxico do alumínio depende de características físico-químicas do meio, como o pH, onde em ambientes ácidos a toxicidade aumenta e são mais deletérios para os peixes (Exley, Chappell e Birchall, 1991). As principais alterações fisiológicas demonstradas em peixes devido a toxicidade do alumínio foram as modificações cardiovasculares (Laitinen e Valtonen, 1995), reprodutivos (Vuorinen *et al.*, 2003), endócrinos (Waring *et al.*, 1996), além de redução no crescimento do peixe (Bjerknes *et al.*, 2003). Os efeitos do alumínio nas brânquias resultam em alterações estruturais branquiais como fusão lamelar e filamentar, e

modificações fisiológicas, á exemplo de produção excessiva de muco. Todas essas alterações compromete o funcionamento do órgão, principalmente em processos respiratórios e regulação iônica (Abdel-Latif, 2008).

2.4.1.2 Cádmio

O cádmio é classificado como metal perigoso devido sua alta toxicidade e por ser amplamente utilizado no ambiente, sendo provenientes das atividades antrópicas como mineração, galvanização de produtos e fabricação de pesticidas. O descarte indevido desses processos e produtos aumentam as concentrações deste metal pesado no ambiente aquático (Chowdhury, McDonald e Wood, 2004; Melgar *et al.*, 1997).

A exposição de cádmio em pequenas concentrações e em um curto período pode provocar alterações moleculares no hepatopâncreas, danificando o DNA de peixes (Zhang *et al.*, 2008), além de induzir a proliferação das células de cloreto (Authman, 2015). O cádmio pode afetar diversos órgãos, incluindo, fígado, rins, intestino e brânquias, entretanto estudos indicam que entre os principais órgãos afetados por este metal pesado está o rim, provocando patologias renais como hipertrofia glomerular, hemorragia nos túbulos renais, desorganização do túbulo glomerular, acúmulo de gotículas de lipídeos, necrose e aumento na depleção de carboidratos. (Kumar e Singh, 2010; Mekkawy *et al.*, 2013). O aumento nas concentrações de cádmio em peixes pode provocar alterações no metabolismo do cálcio, resultando em hipocalcemia e/ou hiperglicemia (Kumar e Singh, 2010). Maiores concentrações de cádmio também pode ser encontrado no intestino de peixes, isto porque este órgão seria a primeira barreira no transporte de cádmio para o sangue, além das paredes intestinais serem eficazes no armazenamento de cádmio, assim estes aspectos contribuem na proteção da entrada deste composto nos tecidos de peixes (Chowdhury, McDonald e Wood, 2004).

2.4.1.3 Chumbo

O chumbo é um metal pesado proveniente de diversas atividades, tais como a mineração, desde o processamento até o descarte, aditivos de gasolina, revestimento de cabos, talheres, tubos para a distribuição de água e são utilizados como compostos em alguns remédios (“International Programme on Chemical Safety”, 1995). É intensamente utilizado na indústria como na fabricação de TV, montagem de baterias e tubos eletrônicos, o descarte indevido de todo este material eletrônico adicionado com os outros processos e produtos, elevam os níveis de cádmio no ambiente aquático e é a principal forma de contaminação de

peixes por este metal (Habuer, Nakatani e Moriguchi, 2014; Sorensen, E, M, 1991; Tsydenova e Bengtsson, 2011).

O cádmio afeta principalmente as brânquias, fígado e rim (Rogers, Richards e Wood, 2003). A toxicidade aguda provoca desregulação iônica-regulatória nas brânquias e aumento do cortisol (indução de estresse oxidativo) (Kim e Kang, 2016; Rogers, Richards e Wood, 2003). Os efeitos tóxicos branquiais do chumbo inclui alterações histológicas como hiperplasia, fusão lamelar e filamentar, destacamento do epitélio branquial e aneurisma (Martinez *et al.*, 2004). Além de proliferação das células de cloreto e migração dessas células nas brânquias (Ribeiro *et al.*, 2014). Essas respostas branquiais reduzem a difusão de oxigênio, uma vez que aumentam a distância água-sangue para difusão de gás (Mallatt, 1985). Também pode provocar alterações nos parâmetros sanguíneos como aumento da glicose no sangue e diminuição de proteínas sanguíneas (Martinez *et al.*, 2004). Estudos indicam que a exposição de chumbo altera o desenvolvimento embrionário de peixes (Authman, 2015).

2.4.1.4 Cobalto

O cobalto é utilizado em diversos produtos como fertilizantes, aditivos agrícolas e farmacêuticos, tintas e cerâmica (ATSDR, 2004). Este composto pode ser encontrado em níveis baixos no ambiente aquático, mas quando essas concentrações são elevadas provocam alterações nos órgãos, principalmente brânquias e fígado (Suganthi *et al.*, 2015). Os efeitos da toxicidade nas brânquias de peixes podem provocar hiperplasia, hipertrofia, fusão lamelar, destacamento do epitélio, aneurisma branquial e necrose, além de proliferação de muco e células de cloreto (Mansouri *et al.*, 2015; Suganthi *et al.*, 2015). Já no fígado provocam principalmente vacuolização e necrose hepática (Suganthi *et al.*, 2015).

2.4.1.5 Cobre

O cobre é um elemento essencial no crescimento e metabolismo dos seres vivos e está presente na fabricação de peças industriais, como fios e tubos para TV, tubulação de água, além da mineração (Habuer, Nakatani e Moriguchi, 2014; Padrihah *et al.*, 2018; Sampaio, Boijink e Rantin, 2013). Características físico-químicas do ambiente podem alterar a toxicidade do elemento, como o pH (Sampaio, Boijink e Rantin, 2013). O cobre e o pH baixo são semelhantes nos efeitos tóxicos, induzindo proliferação de muco e causando como consequência a morte por asfixia (Alvarado *et al.*, 2006; Sampaio, Boijink e Rantin, 2013)

A toxicidade do cobre pode provocar proliferação das células de cloreto e a migração da região interlamelar para a lamelar (Alvarado *et al.*, 2006). Além de alterações histológicas

como hiperplasia, fusão lamelar, edema, congestão e aneurisma (Alvarado *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2016). No fígado, estudos relatam que o cobre provoca necrose, congestão, núcleo picnótico e intensa vacuolização (Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2007; Gupta *et al.*, 2016).

2.4.1.6 Cromo

O cromo é um metal de transição, abundante na crosta terrestre, é essencial para os seres vivos. A poluição dos cursos d'água é principalmente através das diversas atividades e produtos industriais como tratamento de efluentes, galvanoplastia e indústria metalúrgica (Palmer e Wittbrodt, 1991; Velma e Tchounwou, 2011).

O cromo acumula principalmente nas brânquias, fígado e rim, afetando as atividades metabólicas e fisiológicas (Mishra e Mohanty, 2009). Os efeitos tóxicos incluem produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), alterações histológicas branquiais como hiperplasia, hipertrofia, encurtamento, edema, fusão e necrose lamelar; histopatologias hepáticas como vacuolização intensa, núcleo picnótico e necrose, e histologias renais como núcleo picnótico, hipertrofia epitelial e atrofia das células renais (Mishra e Mohanty, 2009; Velma e Tchounwou, 2011).

2.4.1.7 Ferro

O ferro está presente naturalmente no ecossistema aquático em suas diversas formas químicas, e também por meio de atividades antrópicas como mineração, descarte indevido de efluentes doméstico e indústrias (Raju, 2006). É fundamental para a sobrevivência dos indivíduos, pois é essencial para múltiplos processos metabólicos como, por exemplo transporte de oxigênio, transporte de elétrons e cofator para muitas proteínas, mas em excesso este elemento pode causar danos ao organismo (Bury, Walker e Glover, 2003).

O excesso dos níveis de ferro nos peixes provoca a formação de flocos de ferro nas brânquias dos peixes ocasionando sua obstrução e provocando conseqüentemente, perturbações respiratórias (Authman, 2015; Bury, Walker e Glover, 2003). Relatam-se, ainda, histopatologias branquiais como hiperplasia, destacamento do epitélio, fusão lamelar, redução do espaço interlamelar, congestão e proliferação das células mucosas, já no fígado e rim provoca intensa vacuolização, hemorragia, degeneração dos hepatócitos e necrose glomerular e hepática (Abalaka, 2015; Singh *et al.*, 2019). A presença deste composto também induz o estresse oxidativo e alterações hematológicas, como aumento nos níveis de hemoglobina e hematócrito (Singh *et al.*, 2019).

2.4.1.8 Manganês

O manganês é um metal de transição, importante para a economia global e intensamente utilizado na indústria química, siderúrgica, eletrônica, na agricultura e também em produtos médicos (Li *et al.*, 2019). O Brasil, juntamente com a Ucrânia e África do Sul possuem mais de 60% das reservas de manganês do mundo e estão entre os mais produtores (Brown *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019). O consumo de manganês é direcionado para a indústria siderúrgica (Li *et al.*, 2019).

O manganês é um elemento comum e essencial para os peixes desenvolverem certas funções, entretanto elevados níveis pode ser prejudicial aos organismos aquáticos (Hedayati, Hoseini e Ghelichpour, 2014; Vieira *et al.*, 2012). A contaminação dos recurso hídricos ocorre principalmente por meio das atividades antropogênicas, destacando a mineração e industrial (McNeely e Dwyer L, 1979). A toxicidade do manganês pode indução de estresse oxidativo, com o aumento da catalase, malondialdeído e superóxido dismutase, além de histopatologias branquiais como, destacamento do epitélio lamelar, hiperplasia, fusão lamelar e aneurisma (Hedayati, Hoseini e Ghelichpour, 2014; Vieira *et al.*, 2012). Estudos indicam que parâmetros químicos como aumento da temperatura influencia na toxicidade, temperaturas maiores aumentam os efeitos tóxicos do manganês, induzindo o estresse oxidativo e também danos genotóxicos (Tuzuki *et al.*, 2017).

2.4.1.9 Níquel

O níquel está presente na água, no ar e no solo (Authman, 2015). Caracteriza-se por ser muito resistente à corrosão e por isso é amplamente utilizado na fabricação de peças que utilizam o aço inoxidável como produto, dentre eles temos materiais magnéticos, catalisadores e produtos químicos (Subagja, 2018). A extração minerária de níquel assim como os resíduos das atividades industriais que o utilizam como matéria prima, atingem os corpos d'água e afetam todo o ecossistema aquático (Al-Attar, 2007).

A toxicidade do níquel provoca alterações hepáticas, pancreáticas e branquiais. Peixes expostos ao níquel apresentaram níveis elevados de glicose, colesterol e enzimas pancreáticas, além de histopatologias branquiais como hiperplasia, hipertrofia, fusão lamelar parcial ou total, que resultam em modificações no sistema respiratório e osmorregulatório de peixes (Al-Attar, 2007).

2.4.1.10 Zinco

Uma alta quantidade de zinco é introduzida no ambiente aquático pelas atividades antropogênicas como a mineração, produtos agrícolas, farmacêuticas e cosmética (Beegam *et al.*, 2019).

A poluição por zinco nos ecossistemas aquáticos pode afetar os peixes, principalmente os órgãos alvos como brânquias, fígado e músculo (Beegam *et al.*, 2019). Provocam hiperplasia, hipertrofia, encurtamento, fusão lamelar, congestão e edema branquial, além do aumento das células de cloreto (Alvarado *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2012). No fígado o acúmulo de zinco pode provocar vacuolização intensa, núcleo picnótico, congestão e degeneração hepática (Beegam *et al.*, 2019). A presença deste metal pode provocar mortalidade, atraso no desenvolvimento e alterações cardíacas em peixes (Authman, 2015).

2.5 Brânquias

As brânquias são fundamentais em diversas funções nos peixes e são o local onde ocorre as trocas gasosas, participando de processos como a respiração, osmorregulação e secreção (Poleksic e Mitrovic-Tutundzic, 1994; Wegner, 2011). São constituídas por quatro arcos branquiais dispostos lateralmente na cavidade faríngea, que possuem expansões denominados rastros branquiais, que pode variar em forma, localização, quantidade e tamanho (Machado, 1999; Silva, 1997). Cada arco possui uma fileira dupla de filamentos branquiais, e a partir desses filamentos, origina-se as lamelas dispostas dorso-ventralmente da estrutura filamentar (Silva, 1997; Wegner, 2011)

O arco, filamento e região interlamelar branquial são revestidos pelo epitélio branquial e constituído por diversos tipos celulares específicas, entre elas as células mucosas e células de cloreto (Machado, 1999). Também há o epitélio respiratório recobrimdo as lamelas respiratória, responsável pelas trocas gasosas entre o sangue e o meio ambiente (Evans *et al.*, 1982; Machado, 1999). Dentre as células específicas, as células secretoras de muco são células grandes e encontradas nos filamentos ou bases das lamelas branquiais, possui a função de proteção das superfícies lamelares contra a ação de poluentes, como metais pesados, além de participação em processos vitais no funcionamento do órgão, como auxílio na regulação osmótica, equilíbrio ácido-base e regulação iônica (Díaz *et al.*, 2001; Garcia-Reyero *et al.*, 2015; Ingram, 1980; Machado, 1999). Já as células de cloreto possuem núcleo evidente e nucléolo visível, ricas em mitocôndrias, grandes e geralmente estão distribuídas na região filamentar interlamelar, entretanto quando em ambientes contaminados por compostos

tóxicos, as células de cloreto possuem a tendência de migrar para as lamelas. Também participam no transportes ativo de íons e conseqüentemente em processos como a osmorregulação e equilíbrio ácido-base (Machado, 1999; Ribeiro *et al.*, 2014; Rogers, Richards e Wood, 2003).

Os peixes, de uma forma geral, possuem a capacidade de estabilizar e manter constante a concentração osmótica de seu fluido corporal, visto que a concentração do meio externo é diferente da interna. Os peixes dulcícolas são hiperosmóticos, ou seja, ocorre o influxo de água por meio das brânquias. Essa necessidade iônica é compensada por dois mecanismos, principalmente pela entrada ativa iônica pelas células de cloreto no epitélio branquial, e também por meio da alimentação (Machado, 1999). Estes dois aspectos contribuem para ligação e absorção de metais pesados nas brânquias, favorecendo o aumento dos níveis destes compostos tóxicos e modificações na estrutura branquial, como deslocamento e hiperplasia células (Evans, 1987; Ribeiro *et al.*, 2014).

Por estarem em contato direto com a água e os poluentes, e por apresentarem diversas funções, as brânquias são o órgão alvo dos compostos químicos e o primeiro em responder à uma condição ambiental desfavorável (Poleksic e Mitrovic-Tutundzic, 1994). Por isso são utilizados em estudos toxicológicos (Abdel-Moneim *et al.*, 2012; Alvarado *et al.*, 2006; Ribeiro *et al.*, 2014; Sales *et al.*, 2017).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Determinar as concentrações de metais pesados e avaliar os efeitos em brânquias de duas espécies de peixes na bacia do rio Doce, após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG.

3.2 Específicos

- Determinar as concentrações de metais pesados nas brânquias de cará e da tilápia na área não afetada e afetada pelo rompimento da barragem.
- Avaliar histopatologias quali-quantitativas da brânquia do cará e da tilápia nas duas áreas de estudo.
- Determinar o índice de Alteração Histopatológica branquial (IAH) por meio de análises específicas nas duas espécies em ambas as áreas.

4. REFERÊNCIAS

- ABALAKA, S. E. Heavy metals bioaccumulation and histopathological changes in *Auchenoglanis occidentalis* fish from Tiga dam, Nigeria. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 13, n. 1, p. 67, 6 dez. 2015.
- ABDEL-LATIF, H. A. The Influence of Calcium and Sodium on Aluminum Toxicity in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, p. 747–751, 2008.
- ABDEL-MONEIM, A. M. *et al.* Gill Oxidative Stress and Histopathological Biomarkers of Pollution Impacts in Nile Tilapia from Lake Mariut and Lake Edku, Egypt. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 24, n. 3, p. 148–160, set. 2012.
- ABELHA, M. C. F.; GOULART, E. Oportunismo trófico de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes, Cichlidae) no reservatório de Capivari, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 1, 1 abr. 2004.
- AGAH, H. *et al.* Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 157, n. 1–4, p. 499–514, 11 out. 2009.
- AGOSTINHO, A. A.; VAZZOLER, A. E. A. M.; THOMAZ, S. M. The High River Paraná Basin: Limnological and Ichthyological Aspects. In: Tundisi, J. G.; Bicudo, C. E. M. and Matsumura-Tundisi, T. (eds.). **Limnology in Brazil**, p. 59–103, 1995.
- AJIMA, M. N. O. *et al.* Bioaccumulation of heavy metals in Mbaa River and the impact on aquatic ecosystem. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 12, p. 768, 23 dez. 2015.
- AL-ATTAR, A. M. **The influences of nickel exposure on selected physiological parameters and gill structure in the teleost fish, *Oreochromis niloticus*** *Journal of Biological Sciences*, 2007.
- ALI, H.; KHAN, E.; ILAHI, I. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. **Journal of Chemistry**, v. 2019, p. 1–14, 5 mar. 2019.
- ALLOWAY, B. J.; AYRES, D. C. *Chemical Principles of Environmental Pollution*. p. 417, 1997.
- ALVARADO, N. E. *et al.* Quantitative changes in metallothionein expression in target cell-types in the gills of turbot (*Scophthalmus maximus*) exposed to Cd, Cu, Zn and after a depuration treatment. **Aquatic Toxicology**, v. 77, n. 1, p. 64–77, abr. 2006.
- AMEUR, W. BEN *et al.* Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 2, p. 241–251, 2012.
- ANA. Agência Nacional de Águas. Encarte Especial sobre a Bacia do Rio Doce Rompimento da Barragem em Mariana/MG. **Cunjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil**, v. 1, p. 1–50, 2016.
- ARISTIMUNHO, P. B.; BERTOCINI, S. R. Application of iron ore mud in powder form in portland cement presence. **Revista IBRACON de Estruturas e Materiais**, v. 5, n. 2, p. 153–165, 2012.

ASUQUO, F. E. *et al.* Fish Species Used as Biomarker for Heavy Metal and Hydrocarbon Contamination for Cross River, Nigeria. **The Environmentalist**, v. 24, n. 1, p. 29–37, mar. 2004.

ATSDR. **Toxicological Profile for Cobalt. Public Health Service, U.S.** [s.l: s.n.].

AUTHMAN, M. M. Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution. **Journal of Aquaculture Research & Development**, v. 06, n. 04, 2015.

BEEGAM, A. *et al.* Multiorgan histopathological changes in the juvenile seabream *Sparus aurata* as a biomarker for zinc oxide particles toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, 3 ago. 2019.

BENINCÁ, C. *et al.* Chronic genetic damages in *Geophagus brasiliensis* exposed to anthropic impact in Estuarine Lakes at Santa Catarina Coast–Southern of Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 4, p. 2045–2056, 15 abr. 2012.

BENLI, A. Ç. K.; KÖKSAL, G.; ÖZKUL, A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. **Chemosphere**, v. 72, n. 9, p. 1355–1358, jul. 2008.

BEZERRA, C. G. **Caracterização do rejeito de minério de ferro (IOT) e avaliação da sua influência no comportamento físico-químico e mecânico de pastas de cimento.** [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.

BJERKNES, V. *et al.* Aluminium in acidic river water causes mortality of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in Norwegian fjords. **Marine Chemistry**, v. 83, n. 3–4, p. 169–174, nov. 2003.

BOND, C. E. **Biology of fishes.** Saunders C ed. Philadelphia: [s.n.].

BOZANO, G. L. N. *et al.* Desempenho da tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* (L.) em gaiolas de pequeno volume. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 819–825, out. 1999.

BROWN, T. J. *et al.* **World mineral production 2010-2014.** [s.l: s.n.].

BUCHELI, T. D.; FENT, K. Induction of cytochrome P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 201–268, ago. 1995.

BURY, N. R.; WALKER, P. A.; GLOVER, C. N. Nutritive metal uptake in teleost fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 1, p. 11–23, 2003.

CARVALHO, C. DOS S. *et al.* Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**, v. 89, n. 1, p. 60–69, set. 2012.

CARVALHO, M. S. DE *et al.* Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 37, 2017.

CEMIG; CETEC. **Guia ilustrado de peixes da bacia do Rio Grande.** Fundação C ed. Belo Horizonte: [s.n.].

CHOWDHURY, M. .; MCDONALD, D. .; WOOD, C. . Gastrointestinal uptake and fate of cadmium in rainbow trout acclimated to sublethal dietary cadmium. **Aquatic Toxicology**, v. 69, n. 2, p. 149–163, ago. 2004.

CLEMENTE, Z. *et al.* Analyses of paralytic shellfish toxins and biomarkers in a southern

Brazilian reservoir. **Toxicon**, v. 55, n. 2–3, p. 396–406, 2010.

DÍAZ, A. O. *et al.* Mucous Cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and Ultrastructure. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 30, n. 3, p. 135–139, jun. 2001.

DICKSON, W. Some effects of the acidification of Swedish lakes. **SIL Proceedings, 1922-2010**, v. 20, n. 2, p. 851–856, out. 1978.

DORIA, H. B. *et al.* How and where to perform biomonitoring studies: different levels of toxic metal pollution are detected in the Alagados Reservoir in Southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 14, p. 13080–13094, 5 maio 2017.

DRUMMOND, G. M. *et al.* Síntese da Áreas Prioritárias de Minas Gerais. **Biodiversidade em Minas Gerais**, p. 17, 2005.

DUARTE, A. P. **Classificação das barragens de contenção de rejeitos de mineração e de resíduos industriais no estado de minas gerais em relação ao potencial de risco.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

DUFFUS, J. H. “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 793–807, 1 jan. 2002.

DYK, J. C. VAN; COCHRANE, M. J.; WAGENAAR, G. M. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. **Chemosphere**, v. 87, n. 4, p. 301–311, abr. 2012.

EL-DEMERDASH, F. M.; ELAGAMY, E. I. Biological effects in *Tilapia nilotica* fish as indicators of pollution by cadmium and mercury. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 9, n. 3, p. 173–186, set. 1999.

ELGHOBASHY, H.; ZAGHLOUL, K.; METWALLY, M. Effect of some water pollutants on the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* collected from the River Nile and some Egyptian lakes. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 5, n. 4, p. 251–279, 1 set. 2001.

ESPINDOLA, H. S. *et al.* Desastre da Samarco no Brasil: desafios para a conservação da biodiversidade. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 5, n. 3, p. 72, 19 dez. 2016.

EVANS, D. H. *et al.* FISH GILL IONIC TRANSPORT: METHODS AND MODELS. **The Biological Bulletin**, v. 163, n. 1, p. 108–130, ago. 1982.

EVANS, D. H. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. **Environmental Health Perspectives**, v. 71, p. 47–58, abr. 1987.

EXLEY, C.; CHAPPELL, J. S.; BIRCHALL, J. D. A mechanism for acute aluminium toxicity in fish. **Journal of Theoretical Biology**, v. 151, n. 3, p. 417–428, ago. 1991.

FERGUSON, J. E. *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects.* **Oxford: Pergamon Press**, 1990.

FERNANDES, G. W. *et al.* Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza & Conservação**, v. 14, n. 2, p. 35–45, jul. 2016.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A. *et al.* Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 103–109, 2007.

FREITAS, C. M. DE; SILVA, M. A. DA; MENEZES, F. C. DE. O desastre na barragem de mineração da Samarco: fratura exposta dos limites do Brasil na redução de risco de desastres. **Ciência e Cultura**, v. 68, n. 3, p. 25–30, set. 2016.

FRICKE, N. F. *et al.* Liver histopathology in Baltic eelpout (*Zoarces viviparus*) – A baseline study for use in marine environmental monitoring. **Marine Environmental Research**, v. 82, p. 1–14, dez. 2012.

GARCIA-REYERO, N. *et al.* Assessing the exposure to nanosilver and silver nitrate on fathead minnow gill gene expression and mucus production. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 4, p. 58–66, 2015.

GHEORGHE, S. *et al.* Metals Toxic Effects in Aquatic Ecosystems: Modulators of Water Quality. *In: Water Quality*. [s.l.] InTech, 2017. .

GUPTA, Y. R. *et al.* Effect of copper nanoparticles exposure in the physiology of the common carp (*Cyprinus carpio*): Biochemical, histological and proteomic approaches. **Aquaculture and Fisheries**, v. 1, p. 15–23, dez. 2016.

HABUER; NAKATANI, J.; MORIGUCHI, Y. Time-series product and substance flow analyses of end-of-life electrical and electronic equipment in China. **Waste Management**, v. 34, n. 2, p. 489–497, fev. 2014.

HATJE, V. *et al.* The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10706, 6 dez. 2017.

HEDAYATI, A.; HOSEINI, S. M.; GHELICHPOUR, M. Acute toxicity of waterborne manganese to *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) – gill histopathology, immune indices, oxidative condition, and saltwater resistance. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 96, n. 10, p. 1535–1545, 26 nov. 2014.

HERNANDEZ, C. A. O. *et al.* Pasting characteristics of hematite/quartz systems. **Minerals Engineering**, v. 18, n. 9, p. 935–939, ago. 2005.

IBAMA. **Resultados preliminares da avaliação do impacto do acidente da Samarco no ambiente marinho-IBAMA.pdf**, 2016.

IBAMA, I. B. D. M. A. E. R. N. R. Laudo técnico preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Maria-na, Minas Gerais. p. 1–38, 2015.

IBRAM. **Gestão e Manejo de Rejeitos da Mineração Instituto Brasileiro de Mineração (IBRAM)**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00006222.pdf>>.

INGRAM, G. A. Substances involved in the natural resistance of fish to infection-A review. **Journal of Fish Biology**, v. 16, n. 1, p. 23–60, jan. 1980.

International Programme on Chemical Safety. **Organization, World Health Health, Environmental 165, Criteria.**, 1995.

IPEA, I. DE P. E. A. Diagnóstico dos Resíduos Sólidos da Atividade de Mineração de Substâncias Não Energéticas - Relatório de Pesquisa. **IPEA (Instituto de PEsquisa Econômica Aplicada)**, p. 1–46, 2012.

JAVED, M.; USMANI, N. Assessment of heavy metals (Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr, Zn) in rivulet water, their accumulations and alterations in hematology of fish *Channa punctatus*.

African Journal of Biotechnology, v. 13, n. 3, p. 492–501, 15 jan. 2014.

JINADASA, B. K. K. K.; EDIRISINGHE, E. M. R. K. B. Cadmium, lead and total mercury in *Tilapia* sp. in Sri Lankan reservoirs. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 7, n. 2, p. 90–94, 3 abr. 2014.

KALYONCU, L.; KALYONCU, H.; ARSLAN, G. Determination of heavy metals and metals levels in five fish species from Işıklı Dam Lake and Karacaören Dam Lake (Turkey). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 4, p. 2231–2235, 17 abr. 2012.

KIM, J.-H.; KANG, J.-C. The immune responses in juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii* for the stress by the exposure to the dietary lead (II). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 46, p. 211–216, set. 2016.

KOLLER, M.; SALEH, H. M. Introductory Chapter: Introducing Heavy Metals. *In: Heavy Metals*. [s.l.] InTech, 2018. .

KULLANDER, S. O. Family Cichlidae (Cichlids). *In: Reis, R. E.; Kullander, S. O. & Ferraris Jr., C. J. eds. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. In: EDIPUCRS*. [s.l.: s.n.]. p. 605–654.

KUMAR, P.; SINGH, A. Cadmium toxicity in fish: An overview. **GERF Bulletin of Biosciences**, v. 1, n. 1, p. 41–47, 2010.

LAITINEN, M.; VALTONEN, T. Cardiovascular, ventilatory and haematological responses of brown trout (*Salmo trutta* L.), to the combined effects of acidity and aluminium in humic water at winter temperatures. **Aquatic Toxicology**, v. 31, n. 2, p. 99–112, fev. 1995.

LANGANI, F.; RÊGO A, C, L. **Guia ilustrado dos peixes da bacia do rio Araguari**. Uberlândia: [s.n.].

LENNTech. Lenntech Water Treatment and Air Purification. *In: Water Treatment*. [s.l.: s.n.]. .

LI, S. *et al.* Risk identification and evaluation of the long-term supply of manganese mines in China based on the VW-BGR method. **Sustainability (Switzerland)**, v. 11, n. 9, p. 1–23, 2019.

LIMA, J. E. F. W. *et al.* Suspended sediments fluxes in the large river basins of Brazil. **Sediments Budgets (Proceedings, of symposium S1 held during the seventh IAHS Scientific Assembly at Foz do Iguaçu, Brasil**, p. 355–364, 2005.

LUKIN, A. *et al.* Assessment of fish health status in the Pechora River: Effects of contamination. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 3, p. 355–365, mar. 2011.

LUME, E. Bacia Hidrográfica Do Rio Doce E Planos Hídricos No Âmbito Da Bacia Do Rio Doce Volume I Relatório Final. v. I, p. 1–472, 2010.

LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 13–30, 17 jan. 2011.

MACEDA-VEIGA, A.; MONROY, M.; SOSTOA, A. DE. Metal bioaccumulation in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) in a Mediterranean River receiving effluents from urban and industrial wastewater treatment plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 93–101, fev. 2012.

- MACHADO, M. R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde**, v. 1, p. 63–76, 1999.
- MACHADO, W. G. DE F. Monitoramento de barragens de contenção de rejeitos da mineração. - WILLIAM GLADSTONE DE FREITAS MACHADO. 2007.
- MAGALHÃES, DANIELLY, P. *et al.* Metal bioavailability and toxicity in freshwaters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, n. 1, p. 69–87, 25 mar. 2015.
- MALLATT, J. Fish Gill Structural Changes Induced by Toxicants and Other Irritants: A Statistical Review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, n. 4, p. 630–648, abr. 1985.
- MANSOUR, S. A.; SIDKY, M. M. Ecotoxicological Studies. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. **Food Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 15–22, jul. 2002.
- MANSOURI, B. *et al.* Effects of cobalt oxide nanoparticles and cobalt ions on gill histopathology of zebrafish (*Danio rerio*). **AAFL Bioflux**, v. 8, n. 3, p. 438–444, 2015.
- MARIA, V. L. *et al.* Wild juvenile *Dicentrarchus labrax* L. liver antioxidant and damage responses at Aveiro Lagoon, Portugal. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 7, p. 1861–1870, out. 2009.
- MARTINEZ, C. B. R. *et al.* Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 4, p. 797–807, nov. 2004.
- MÁRTIRES, R. A. C. Alumínio. **Balanço Mineral Brasileiro 2001**, p. 1–31, 2001.
- MÁRTIRES, R. A. C. Alumínio. **Departamento Nacional de Produção Mineral**, n. 91, p. 179–197, 2009.
- MCNEELY, R.; DWYER L, N. V. **Water Quality Sourcebook: a guide to water quality parameters**. Ottawa: Environment Canada, Inland Waters Directorate, Water Quality. 1979.
- MEKKAWY, I. A. A. *et al.* Effects of Cadmium on Some Histopathological and Histochemical Characteristics of the Kidney and Gills Tissues of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Dietary Supplemented with Tomato Paste and Vitamin E. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 8, n. 5, p. 553–580, 1 maio 2013.
- MELGAR, M. J. *et al.* The toxic and accumulative effects of short-term exposure to cadmium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinary and Human Toxicology**, v. 39, n. 2, p. 79–83, 1997.
- MELLO, F. M.; PIASENTIN, C. A história das barragens no Brasil. *In*: CBDB ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 524.
- MERÇON, J. *et al.* Temperature affects the toxicity of lead-contaminated food in *Geophagus brasiliensis* (QUOY & GAIMARD, 1824). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 66, p. 75–82, fev. 2019.
- MEYER, A. Phylogenetic relationships and evolutionary processes in East African cichlid fishes. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 8, n. 8, p. 279–284, ago. 1993.
- MISHRA, A. K.; MOHANTY, B. Chronic exposure to sublethal hexavalent chromium affects

organ histopathology and serum cortisol profile of a teleost, *Channa punctatus* (Bloch). **Science of The Total Environment**, v. 407, n. 18, p. 5031–5038, set. 2009.

MOHAMED, E. H. A.; OSMAN, A.-R. Heavy Metals Concentration in Water, Muscles and Gills of *Oreochromis niloticus* Collected from the Sewage-Treated Water and the White Nile. **International Journal of Aquaculture**, n. February 2014, 2014a.

MONFERRÁN, M. V. *et al.* Integrated survey of water pollution in the Suquía River basin (Córdoba, Argentina). **J. Environ. Monit.**, v. 13, n. 2, p. 398–409, 2011.

MUKHERJEE, A. B.; BHATTACHARYA, P. Arsenic in groundwater in the Bengal Delta Plain: slow poisoning in Bangladesh. **Environmental Reviews**, v. 9, n. 3, p. 189–220, 2001.

MUÑOZ-NÁJERA, M. A. *et al.* Heavy metal bioaccumulation in *Oreochromis niloticus* from Tenango Dam, Puebla, Mexico. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 5, p. 280, 14 maio 2018.

OLIVA, M. *et al.* Histopathological alterations in Senegal sole, *Solea Senegalensis*, from a polluted Huelva estuary (SW, Spain). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 39, n. 3, p. 523–545, 26 jun. 2013.

OSÓRIO, F. H. T. *et al.* Water quality assessment of the Tubarão River through chemical analysis and biomarkers in the Neotropical fish *Geophagus brasiliensis*. **Environmental Science and Pollution Research**, 9 fev. 2013.

PADRILAH, S. N. *et al.* Toxicity effects of fish histopathology on copper accumulation. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 41, n. 2, p. 519–540, 2018.

PALMER, C. D.; WITTBRODT, P. R. Processes affecting the remediation of chromium-contaminated sites. **Environmental Health Perspectives**, v. 92, p. 25–40, maio 1991.

PEAKALL, D.; BURGER, J. Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, n. 1, p. 110–121, set. 2003.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: *Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish*. **Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish**, n. August, p. 339–352, 1994.

RAINBOW, P. S. Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. **Environment International**, v. 33, n. 4, p. 576–582, maio 2007.

RAJU, N. J. Iron contamination in groundwater: A case from Tirumala–Tirupati environs, India. **The Researcher**, v. 1, n. 1, p. 28–31, 2006.

RIBEIRO, A. M. *et al.* Lead accumulation and its effects on the branchial physiology of *Prochilodus lineatus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 3, p. 645–657, 2014.

RIBEIRO, M. **Rio Doce, um ano após tragédia, sem condições de uso ou sem vida.** [s.l: s.n.].

RICART, M. *et al.* Primary and complex stressors in polluted mediterranean rivers: Pesticide effects on biological communities. **Journal of Hydrology**, v. 383, n. 1–2, p. 52–61, mar. 2010.

ROGERS, J. .; RICHARDS, J. .; WOOD, C. . Ionoregulatory disruption as the acute toxic

mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, v. 64, n. 2, p. 215–234, jul. 2003.

RUAS, C. B. G. *et al.* Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 1, p. 86–93, set. 2008.

SALES, C. F. *et al.* Proliferation, survival and cell death in fish gills remodeling: From injury to recovery. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 68, p. 10–18, set. 2017.

SAMPAIO, A. L. A.; GOULAR, E. Ciclídeos neotropicais: Ecomorfologia trófica. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 4, p. 775–798, 2011.

SAMPAIO, F. G.; BOIJINK, C. D. L.; RANTIN, F. T. O Uso do Sulfato de Cobre em Ecossistemas Aquáticos: fatores que afetam sua toxicidade em peixes de água doce. **Embrapa**, v. 1, n. 91, p. 102, 2013.

SÁNCHEZ, L. *et al.* **Os impactos do rompimento da Barragem de Fundão: o caminho para uma mitigação sustentável e resiliente**. [s.l.] IUCN, International Union for Conservation of Nature, 2018.

SANTOS, D. C. M. DOS *et al.* Histological alterations in gills of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute exposition to zinc. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 7–8, p. 861–866, 2012.

SCHOFIELD, C. L. Acid precipitation: effects on fish. **Ambio**, p. 228–230, 1976.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. [s.l.: s.n.].

SEMAD. Mortandade de peixes na Bacia do Rio Doce após rompimento da barragem da Samarco no distrito de Bento Rodrigues (Mariana/MG), em 05/11/2015. n. October, 2016.

SEVCIKOVA, M. *et al.* Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. **Veterinárni Medicina**, v. 56, n. No. 11, p. 537–546, 12 dez. 2011.

SHAH, A. Q. *et al.* Accumulation of arsenic in different fresh water fish species – potential contribution to high arsenic intakes. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 520–524, jan. 2009.

SILVA, S. O. DA. **Estudo comparativo da morfologia das brânquias de *Salminus maxillosus Valenciennes, 1840* e *Prochilodus scrofa Steindachner, 1881*, da Bacia do Rio Mogi Guaçu, região de Pirassununga, São Paulo**. [s.l.: s.n.].

SINGH, M. *et al.* Iron mediated hematological, oxidative and histological alterations in freshwater fish *Labeo rohita*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 170, p. 87–97, abr. 2019.

SORENSEN, E, M, B. Lead. In: **Metal Poisoning in Fish**. CRC Press, Boca Raton, p. 95–118, 1991.

SUBAGJA, R. Nickel extraction from nickel matte. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 285, p. 012001, jan. 2018.

SUGANTHI, P. *et al.* Toxicological effect of cobalt chloride on freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. **International Journal of Applied Research**, p. 331–340, 2015.

SUZUKI, H. I. *et al.* Estratégias reprodutivas de assembléias de peixes em reservatórios.

Biocenoses Em Reservatórios. Padrões Espaciais E Temporais, p. 223–242, 2005.

TSYDENOVA, O.; BENGTTSSON, M. Chemical hazards associated with treatment of waste electrical and electronic equipment. **Waste Management**, v. 31, n. 1, p. 45–58, jan. 2011.

TUZUKI, B. L. L. *et al.* Effects of manganese on fat snook *Centropomus parallelus* (Carangaria: Centropomidae) exposed to different temperatures. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, n. 4, 18 dez. 2017.

VELMA, V.; TCHOUNWOU, P. B. Hexavalent chromium-induced multiple biomarker responses in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. **Environmental Toxicology**, v. 26, n. 6, p. 649–656, nov. 2011.

VIEIRA, F. **Estrutura de comunidades e aspectos da alimentação e reprodução dos peixes em dois lagos do médio rio Doce, MG**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1994.

VIEIRA, F. Distribuição, impactos ambientais e conservação da fauna de peixes da

VIEIRA, M. C. *et al.* Acute toxicity of manganese in goldfish *Carassius auratus* is associated with oxidative stress and organ specific antioxidant responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 212–217, abr. 2012.

VOIGT, C. L. *et al.* Bioconcentration and bioaccumulation of metal in freshwater Neotropical fish *Geophagus brasiliensis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 11, p. 8242–8252, 19 jun. 2015.

VUORINEN, P. J. *et al.* Reproduction, blood and plasma parameters and gill histology of vendace (*Coregonus albula* L.) in long-term exposure to acidity and aluminum. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, n. 3, p. 255–276, mar. 2003.

WARING, C. P. *et al.* Plasma Prolactin, Cortisol, and Thyroid Responses of the Brown Trout (*Salmo trutta*) Exposed to Lethal and Sublethal Aluminium in Acidic Soft Waters. **General and Comparative Endocrinology**, v. 102, n. 3, p. 377–385, jun. 1996.

WEGNER, N. **Gill Respiratory Morphometrics**. [s.l.] Elsevier Inc., 2011. v. 2

WILHELM FILHO, D. *et al.* Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 6, p. 719–726, jun. 2001.

ZHANG, Y. *et al.* Effects of heavy metals Cd²⁺, Pb²⁺ and Zn²⁺ on DNA damage of loach *Misgurnus anguillicaudatus*. **Frontiers of Biology in China**, v. 3, n. 1, p. 50–54, jan. 2008.

**NÍVEIS DE METAIS PESADOS E HISTOPATOLOGIA EM BRÂNQUIAS DE DUAS
ESPÉCIES DE PEIXES DA BACIA DO RIO DOCE APÓS ROMPIMENTO DA
BARRAGEM EM MARIANA - MG.**

RESUMO

O rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG, além do impacto imediato sobre o ecossistema aquático da bacia do Rio Doce, também acarretou efeitos de longo prazo, devido à contaminação ambiental por agentes tóxicos, como os metais pesados. Assim, o objetivo central deste estudo foi avaliar as concentrações de metais pesados nas brânquias de duas espécies de peixes, o cará *Geophagus brasiliensis* e a tilápia *Oreochromis niloticus*, coletados em área não atingida, no rio Piranga em Ponte Nova-MG, e em área atingida pelo rompimento da barragem no rio Doce em Santa Cruz do Escalvado-MG, na estação chuvosa de 2018. Fragmentos branquiais foram usados para quantificação de metais por espectrofotometria de absorção atômica, e também processados histologicamente para avaliação das alterações teciduais. Para ambas as espécies, maiores concentrações dos metais pesados foram encontradas nos animais da área afetada. Várias alterações histológicas foram observadas: congestão, deformações lamelares e filamentosas, destruição lamelar parcial e total, encurtamento lamelar, fusões lamelares e filamentosas, hiperplasias lamelares e filamentosas, e aneurismas, estando em maior frequência geralmente nos animais da área afetada, ressaltando as hiperplasias e a deformação lamelar como alterações predominantes, resultado coincidente com análises histométricas, como o aumento do diâmetro filamentar e lamelar, e altura do epitélio filamentar. O índice de alteração histológica (IAH) foi baixo (<10) para as duas espécies em ambas as áreas, indicando funcionamento normal das brânquias, apesar das alterações histológicas presentes. Em relação aos tipos celulares importantes no funcionamento normal das brânquias e homeostase do organismo, houve diferença significativa no percentual de células mucosas nas brânquias da tilápia, sendo maior na área afetada, o que não aconteceu para o cará, mas em ambas espécies houve aumento da área celular da célula mucosa e de cloreto na área afetada. A presença dessas alterações pode indicar a presença de contaminantes e estágios do processo de contaminação sobre o organismo, além de um mecanismo de defesa e conservação do órgão ao ambiente poluído.

Palavras chaves: Bioacúmulo. Aparelho branquial. Alterações teciduais. Ciclídeos.

ABSTRACT

The disruption of the tailings dam in Mariana-MG, in addition to the immediate impact on the Rio Doce basin aquatic ecosystem, also has long-term effects due to environmental contamination by toxic agents such as used metals. Thus, the main objective of this study was to evaluate how to control heavy metals in the gills of two fish species, the geophagus *brasiliensis* and the tilapia *Oreochromis niloticus*, collected in the unaffected area, in the Piranga river in Ponte Nova-MG, and in the area affected by the disruption of the Doce River dam in Santa Cruz do Escalvado-MG, in the rainy season of 2018. Gill fragments were used to quantify metals by atomic absorption spectrophotometry and also processed histologically to evaluate tissue alterations. For areas such as species, larger amounts of heavy metals were found in animals in the affected area. Several histological changes were observed: congestion, lamellar and filament deformations, partial and total lamellar destruction, lamellar lamination, lamellar and filament fusions, lamellar and filament hyperplasias, and aneurysms, minor in average frequency in the animals of the affected area, highlighting as hyperplasias and deformation. lamellar as predominant alterations, a result that coincides with historical analyzes, such as increased filament and lamellar diameter, and height of the filament epithelium. The histological change index (AHI) was low (<10) for two species in areas such as areas, functioning normally from the gills, despite the present histological changes. Regarding the types of cells that are important in the normal functioning of the body's gills and homeostasis, there was a significant difference in the percentage of mucous cells in the tilapia gills, being higher in the affected area, or not in the test, but in companies that suffered some Cell area damage of mucous cell and chloride in the affected area. The presence of these changes may indicate the presence of contaminants and contamination processes on the organism, as well as a defense mechanism and conservation of the organ and polluted environment.

Keywords: Bioaccumulation. Gill apparatus. Tissue changes. Cichlids.

1. Introdução

A crescente expansão das ações antrópicas envolvendo diversas atividades econômicas como a mineração, contribui na elevação dos níveis de poluentes que afetam o ecossistema aquático (Muñoz-Nájera et al., 2018; Sales et al., 2017). Dentre estes poluentes estão os metais pesados, que são conhecidos por sua densidade maior que a da água e por serem bioacumulados, podendo causar toxicidade no ambiente e organismos (Ajima et al., 2015; Lenntech, 2004; Malik et al., 2010).

Com o aumento e preocupação dos compostos tóxicos, vários estudos vêm sendo realizados na área de toxicologia aquática a fim de avaliar as consequências desta contaminação (Ajima et al., 2015; Monferrán et al., 2011). No ecossistema aquático existem organismos que possuem características do seu hábitat, e respondem aos efeitos agudos e crônicos dos compostos tóxicos no ambiente, denominados organismos bioindicadores ambientais, e dentre a biota aquática, o peixe é amplamente utilizado em estudos toxicológicos (Abdel-Moneim et al., 2012a; Carvalho et al., 2012; Li et al., 2010; Muñoz-Nájera et al., 2018; Peakall and Burger, 2003). Em análises sobre as substâncias químicas, muitos trabalhos abrangem parâmetros físico-químicos que não preveem assertivamente os reais efeitos biológicos nos seres vivos (Monferrán et al., 2011). Por isso, a utilização de biomarcadores morfofisiológicos nos organismos é uma ferramenta confiável para avaliar o impacto dos poluentes em ambientes aquáticos (Au, 2004; Benincá et al., 2012; Santos et al., 2012; van der Oost et al., 2003).

As alterações teciduais podem ser usadas como potentes biomarcadores a fim de determinar o efeito da poluição no organismo, e avaliações em órgãos alvos como brânquias é fundamental na ação e resposta dos poluentes em peixes (Gomes et al., 2012; Liebel et al., 2013; Nascimento et al., 2012; Schwaiger et al., 1997; van der Oost et al., 2003). A brânquia participa de diversos processos essenciais para a homeostase do organismo como respiração, osmorregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção de compostos nitrogenados (Goss et al., 1992; Hughes, G et al., 1982; Sayer and Davenport, 1987; Verbost et al., 1994). Devido a sua função e contato direto com os poluentes (Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994), vários estudos têm mostrado que agentes tóxicos provocam alterações na estrutura e composição branquial (Abdel-Moneim et al., 2012b; Doria et al., 2017; Ribeiro et al., 2014; Santos et al., 2012).

Em novembro de 2015 houve o rompimento da barragem do Fundão no distrito de Bento Rodrigues no estado de Minas Gerais, Brasil, que acomodava rejeitos da extração de

minério de ferro (Sánchez et al., 2018), liberando compostos tóxicos e causando impactos agudos e crônicos pela contaminação, principalmente por metais pesados, nas áreas afetadas (Espindola et al., 2016). Estes compostos nocivos aos seres vivos acarretam no desequilíbrio da homeostase dos organismos e afeta todo o ecossistema aquático da bacia do rio Doce, incluindo a ictiofauna (Carvalho et al., 2017a; Espindola et al., 2016; Weber et al., 2020).

A avaliação dos efeitos do impacto ambiental sobre o ecossistema é imprescindível no diagnóstico, planejamento e monitoramento para o real perigo e ação nos organismos e biota aquática (Doria et al., 2017; Terra et al., 2007).

Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos desse ambiente contaminado em brânquias de peixes ciclídeos (*Geophagus brasilienses* e *Oreochromis niloticus*), coletados em duas áreas da Bacia do rio Doce, cerca de dois anos após o rompimento da barragem do Fundão.

2. Materiais e métodos

2.1 Coleta e eutanásia dos animais

Foram escolhidas duas áreas de coleta na Bacia do rio Doce, uma área afetada pelo rompimento da barragem de rejeitos em Mariana - MG, no município de Santa Cruz do Escalvado e a outra área não afetada em Ponte Nova - MG (figura 1), sendo a distância entre as duas áreas de aproximadamente 17 quilômetros (Km²). Um total de 60 exemplares de tilápia *Oreochromis niloticus* e cará *Geophagus brasiliensis* (30 de cada espécie, sendo 15 de cada área) foram utilizados no desenvolvimento do projeto. Este trabalho era atribuído pela licença de captura de animais silvestres com número de protocolo 55430-2, além da aprovação ao Comitê de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV), com número de protocolo 101-2019.

Os animais foram coletados em março de 2018 por meio de tarrafas de pescador malha 3. Os animais capturados foram mantidos em bombonas de 50 litros com aeradores até o momento da eutanásia. A fim de amenizar o sofrimento do animal e do estresse, a eutanásia foi realizada em campo, com a utilização do anestésico eugenol (óleo de cravo), diluído em álcool absoluto (1:9), e misturado na água (400 mg/L de água). Os animais, após verificação de anestesia total, por meio da imobilização dos opérculos, foram eutanasiados. Logo após, foram medidos e pesados para obtenção dos dados biométricos, e sequencialmente dissecados para retirada das brânquias.



Figura 1. Locais de coleta. A: Área não afetada (em Ponte Nova-MG) e B: Área afetada (em Santa Cruz do Escavado-MG). Fonte: Google Maps e Earth.

2.2 Quantificação de metais pesados no sedimento e nas brânquias

Amostras branquiais foram pesadas na balança analítica digital com precisão de 0,0001g - BEL Mark 210A, e mantidas em estufa a 60°C até atingirem o peso constante. As amostras secas foram armazenadas em tubos de digestão, adicionando-se 1,5 mL de HNO₃ e HClO₄ (digestão nítrica-perclórica), colocadas na placa digestora dentro da estufa. A temperatura do bloco digestor foi elevada gradualmente até atingir 180°C, de forma a proporcionar a digestão completa. As amostras foram transferidas dos tubos digestores para balões volumétricos de 10 mL. A seguir, as amostras foram diluídas em água deionizada e filtradas em papel filtro qualitativo. As soluções foram armazenadas em potes de teflon estéreis. Realizou-se a determinação das concentrações dos metais pesados por meio do espectrofotômetro de absorção atômica (SpectrAA 220 FS Varian). Os metais analisados foram alumínio, cádmio, chumbo, cromo, cobalto, cobre, ferro, manganês, níquel e zinco.

2.3 Análise Histológica

Para análise histológica foram utilizados fragmentos da região mediana do arco branquial de cada espécime. Os fragmentos foram fixados em solução de formol tamponado 4%, sendo realizada uma troca após 24 horas, totalizando de 48 horas de fixação, logo após os fragmentos foram transferidos para álcool 70%. Para inclusão em glicol-metacrilato (Historesina, Leica), os fragmentos branquiais foram colocados em série etanólica gradual crescente. Após o emblocamento em resina, foram realizadas secções semi-seriadas de 2 µm de espessura, em micrótomo rotativo (RM 2155-Leica), utilizando-se navalhas de vidro. As secções foram coradas com azul de toluidina, para análise histológica e quantificação de células de cloreto, e Ácido Periódico de Schiff (PAS) conjugado com Alcian Blue (AB) para quantificação das células mucosas, todas as lâminas montadas com Entellan® (Merck) e analisadas sob microscopia de luz (microscópico Olympus BX-50). As imagens digitais foram capturadas por meio de fotomicroscópico (Olympus AX70 TRF), sendo dez campos aleatórios obtidos a partir de dez secções de cada fragmento branquial (n=10 por animal), e analisadas utilizando os softwares Image J (National Institute of Health, EUA) e Image Pro-Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, EUA).

Para as análises histopatológicas, as seguintes alterações branquiais foram quantificadas: congestão (CO), deformação filментар (DF), deformação lamelar (DL), destruição lamelar parcial (DLP), encurtamento lamelar (EL), fusão lamelar (FL), hiperplasia filментар (HF), hiperplasia lamelar (HL), aneurisma (NA), destruição lamelar total (DLT), fusão filментар (FF) e necrose (NE). As alterações foram contadas em 150 campos (10 campos x 15 animais) de cada espécie em cada área, obtendo-se o percentual para cada alteração. Uma escala foi usada para facilitar a representação do percentual de ocorrência das alterações, sendo (0) nenhuma ocorrência, (+) ocorrência de 1 a 20%, (++) ocorrência de 21 a 50%, e (+++) ocorrência de 51 a 100%.

Também foi obtido o IAH (Índice de Alteração Histológica), que leva em consideração a ocorrência de alterações e seu grau de severidade, conforme Poleksic e Mitrovic-Tutundzic, (1994). O cálculo é feito usando a fórmula: $IAH = 1.\sum A1 + 10.\sum A2 + 100.\sum A3$, onde A1 são alterações do primeiro estágio, A2 são do segundo estágio e A3 do terceiro estágio (Tabela 1). Os valores de IAH entre 0 e 10 indicam funcionamento normal do órgão, entre 11 e 20 indicam alterações leves, entre 21 e 50 alterações moderadas, entre 51 e 100 alterações severas, e acima de 100 alterações irreversíveis.

As células mucosas e de cloreto foram quantificadas utilizando-se uma gradícula de 768 pontos, contando-se os pontos coincidentes sobre cada tipo celular na brânquia como um todo e dividindo-se pelos pontos totais coincidentes sobre o tecido branquial, para obtenção

do percentual total de cada tipo celular; e contando-se os pontos coincidentes sobre cada tipo celular nos filamentos e nas lamelas branquais de forma independente, e dividindo-se pelos pontos coincidentes sobre filamentos e lamelas, respectivamente, para obtenção dos percentuais de cada tipo celular por estrutura branquial.

As seguintes histometrias foram realizadas: área decélula mucosa e área de célula de cloreto, em que aleatoriamente 300 células de cada tipo (Pittman et al., 2011) foram mensuradas, sendo expressa em μm^2 ; comprimento lamelar; diâmetro filamentar; diâmetro da lamela e altura do epitélio filamentar, expressos em μm .

Tabela 1. Classificação das alterações histopatológicas das brânquias conforme com o grau de severidade de acordo com POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDZIC (1994).

Alterações Histopatológicas	Estádios
Congestão (CO) Deformação filamentar (DF) Deformação lamelar (DL) Destruição lamelar parcial (DLP) Encurtamento lamelar (EL) Fusão lamelar (FL) Hiperplasia filamentar (HF) Hiperplasia lamelar (HL)	I
Aneurisma (AN) Destruição lamelar Total (DLT) Fusão filamentar (FF)	II
Necrose (NE)	III

2.4 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Graphpad Prism (versão 6.0, Graph Pad Software Inc., San Diego, CA, EUA). O teste D'Agostino-Pearson foi utilizado para verificar a normalidade dos dados, e quando ocorreu distribuição normal, foi realizada a comparação das médias por meio do teste t não pareado, e quando a distribuição dos dados não atendeu a normalidade, foi realizado o teste t com correção de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância ($P < 0,05$). Os dados expressados em porcentagem foram calculados pela transformação angular depois da quantificação. Para análise estatística de

frequência foi realizado o teste de Fisher. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (Mean \pm SEM).

3. Resultados

3.1 Dados biométricos corporais

Os dados biométricos são apresentados na tabela 1. A média do comprimento total do cará na área não afetada foi $14,6 \pm 0,5$ cm, e na área afetada foi $14,9 \pm 0,6$ cm. O peso médio foi $51,9 \pm 26,8$ g na área não afetada, e na área afetada foi $62,3 \pm 34,3$ g. A tilápia apresentou comprimento total na área não afetada de $17,5 \pm 3,3$ cm, e na área afetada foi $26,2 \pm 4,8$ cm, já o peso na área não afetada foi $125,9 \pm 19,4$ g e na área não afetada $326,5 \pm 36,0$ g.

Tabela 2. Comprimento total e peso de cará e tilápia coletados em área não afetada (NAFC e NAFT, respectivamente) e área afetada (AFC e AFT, respectivamente) pelo rompimento da barragem de Mariana - MG.

	<i>Comprimento</i>		<i>Peso</i>	
	NAF	AF	NAF	AF
<i>Cará</i>	14,6	14,9	51,9	62,3*
<i>Tilápia</i>	17,5	26,2	125,9	326,6*

Dados biométricos de cará e tilápia. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância.

3.2 Concentração de metais pesados no sedimento e nas brânquias

Houve presença de metais pesados nas brânquias dos animais de ambas as áreas e as maiores concentrações foram detectadas nos animais da área afetada (Figura 2). A ordem decrescente das concentrações de metais pesados nas brânquias do cará na área não afetada foi: Fe > Al > Zn > Mn > Pb > Ni > Cd > Cu > Cr > Co; e na área afetada foi: Fe > Al > Mn > Zn > Ni > Cu > Pb > Cd > Cr > Co. Em relação à tilápia teve-se Al > Fe > Zn > Mn > Pb > Ni > Cd > Cr > Cu > Co na área não afetada; e Al > Fe > Mn > Zn > Ni > Pb > Cd > Cr > Cu > Co na área afetada.

3.3 Histopatologias

Tanto o cará quanto a tilápia apresentaram alterações patológicas nas brânquias. Entre elas destacam-se congestão, deformação filamentar e lamelar, destruição lamelar parcial, encurtamento lamelar, fusão lamelar, hiperplasia filamentar e lamelar, aneurisma, destruição

lamelar total e fusão filamentar (Figuras 3 e 4). As alterações mais comuns e suas respectivas frequências são mostradas nas tabelas 2 e 3. As mais frequentes no cará, em ambas as áreas, foram deformação lamelar e hiperplasia lamelar, com frequência superior a 80%, sendo mais significativas na área afetada. Na tilápia os valores foram menores, mas também predominaram a hiperplasia e deformação lamelares, além da hiperplasia e deformação filamentosas, em ambas as áreas, com maior frequência na área afetada. O Índice de Alteração Histológica (IAH) indicou funcionamento normal das brânquias de ambas espécies nas duas áreas, entretanto este índice foi maior para a tilápia da área afetada, com diferença significativa (Tabela 4).

As células mucosas e as células de cloreto foram observadas nas brânquias dos peixes de ambas as áreas, especialmente no epitélio filamentar (Figuras 5 e 6). O percentual total de células mucosas foi diferente somente para a tilápia, com percentual maior naquelas da área afetada (Figura 7); e para as células de cloreto não houve diferença entre as áreas para ambas espécies (Figura 8). Em relação à quantificação dos tipos celulares em cada estrutura, filamento e lamela, observou-se que as células mucosas foram mais numerosas no filamento da tilápia da área afetada, comparada com a não afetada, e em menor número na lamela do cará da área afetada (Figura 7). Já em relação às células de cloreto não houve diferença significativa no percentual por estrutura branquial em ambas espécies (Figura 8). As medições histométricas demonstraram maior área de célula mucosa no cará da área afetada (Figura 9). Não houve diferença significativa da área de célula de cloreto em ambas espécies nas duas áreas, assim como para o comprimento da lamela (Figuras 9 e 10). O diâmetro do filamento e a altura do epitélio filamentar do cará foram maiores na área afetada (Figura 9). Para a tilápia, a análise demonstrou diâmetro filamentar também maior na área afetada, entretanto o diâmetro lamelar e a altura do epitélio filamentar foram menores (Figura 10).

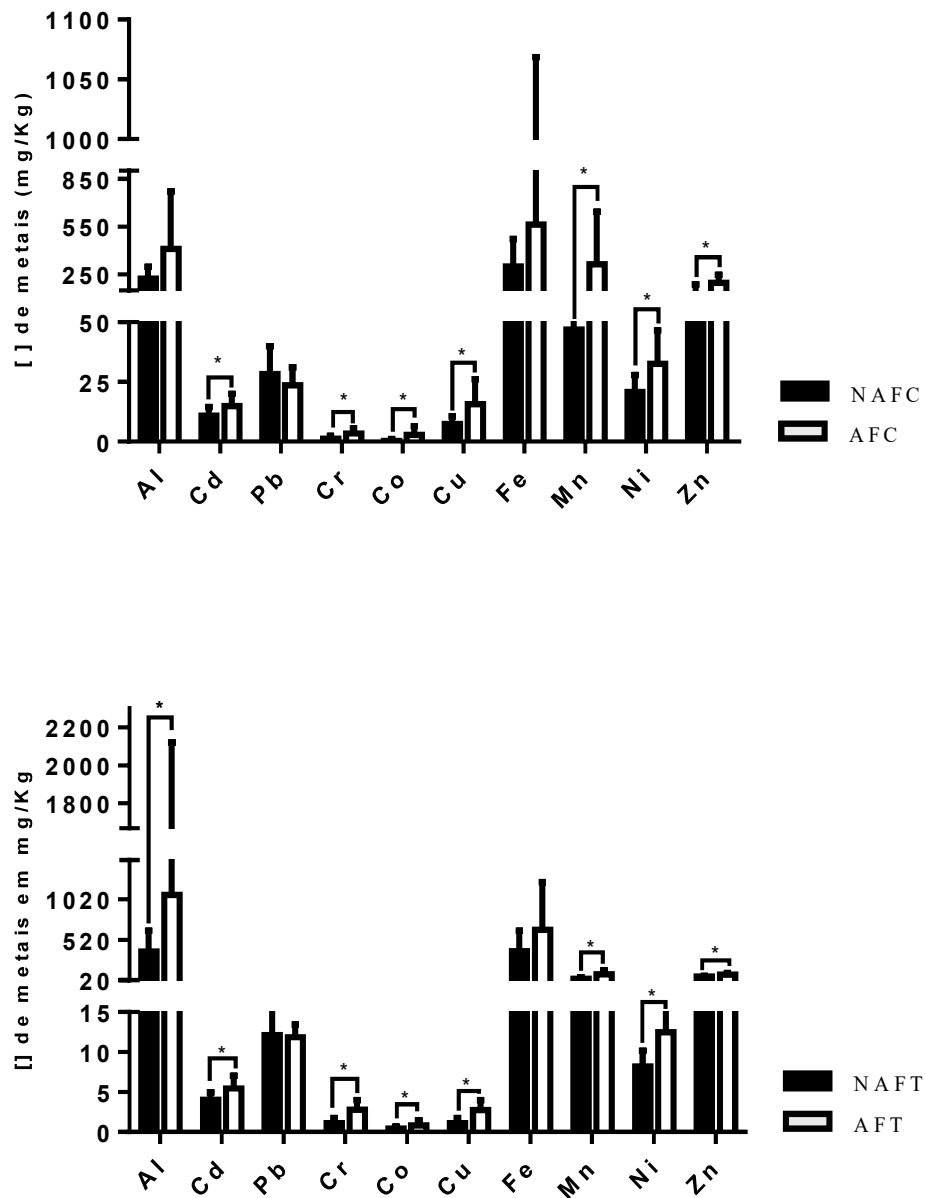


Figura 2. Concentração de metais pesados nas brânquias de Cará e Tilápia coletados em área não afetada (NAFC e NAFT, respectivamente) e área afetada (AFC e AFT, respectivamente) pelo rompimento da barragem de Mariana-MG. Dados em média \pm desvio-padrão. * Indica diferença significativa, pelo teste t ou teste Mann-Whitney, ao nível de 5% de significância.

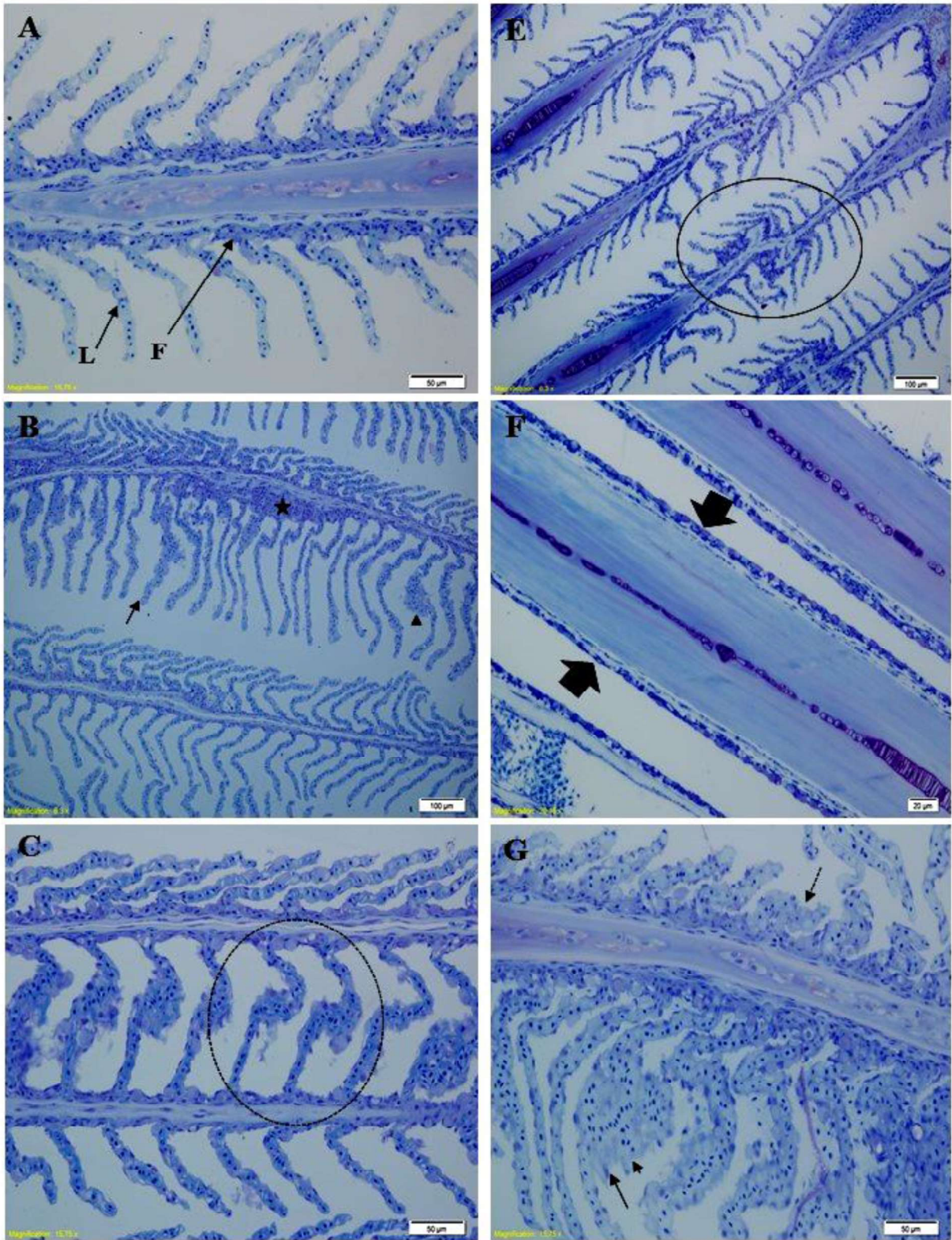


Figura 3. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as alterações branquiais encontradas no cará *Geophagus brasiliensis*, coletado na área não afetada (A, B e C), e afetada (D, E e F) pelo rompimento da barragem de Mariana-MG. Coloração azul de toluidina. A) Demonstrando estrutura branquial normal, F: filamento e L: lamela. Deformação lamelar (seta), deformação filamentar (círculo), hiperplasia filamentar (estrela), hiperplasia amelar (cabeça da seta), encurtamento lamelar (seta pontilhada), destruição lamelar total (seta preenchida grande), fusão filamentar (círculo pontilhada).

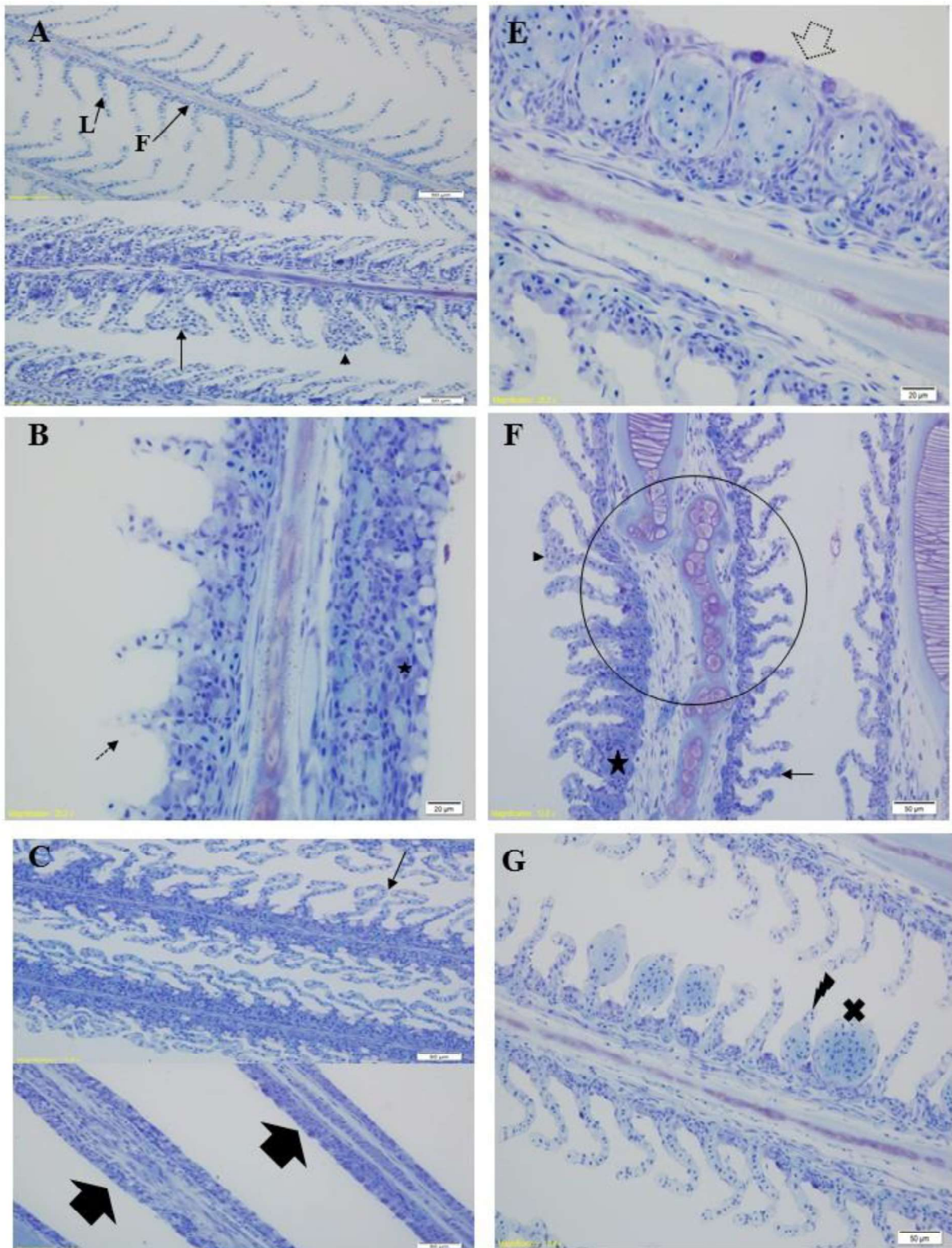


Figura 4. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as alterações branquiais encontradas na tilápia *Oreochromis niloticus*, coletado na áreas não afetada (A), e afetada (B, C, D, E e F) pelo rompimento da barragem de Mariana-MG. Coloração azul de toluidina. A) Demonstrando estrutura branquial normal, F: filamento e L: lamela. Congestão (raio), deformação lamelar (seta), deformação filamental (círculo), hiperplasia filamental (estrela), hiperplasia lamelar (cabeça da seta), encurtamento lamelar (seta pontilhada), fusão lamelar (seta pontilhada grande), aneurisma (cruz).

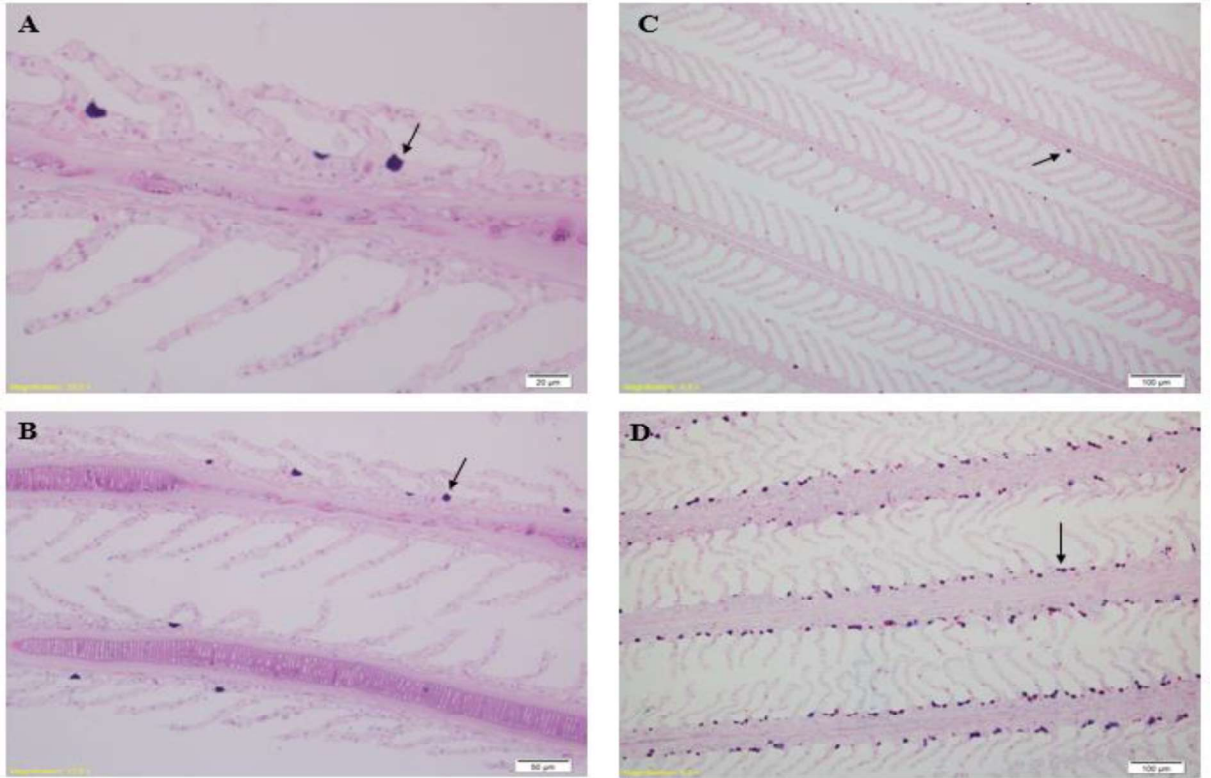


Figura 5. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as células mucosas (setas) de cará *Geophagus brasiliensis* (A-área não afetada; B=Área afetada) e em tilápia *Oreochromis niloticus* (C-área não afetada; D=Área afetada), Coloração: PAS+AB.

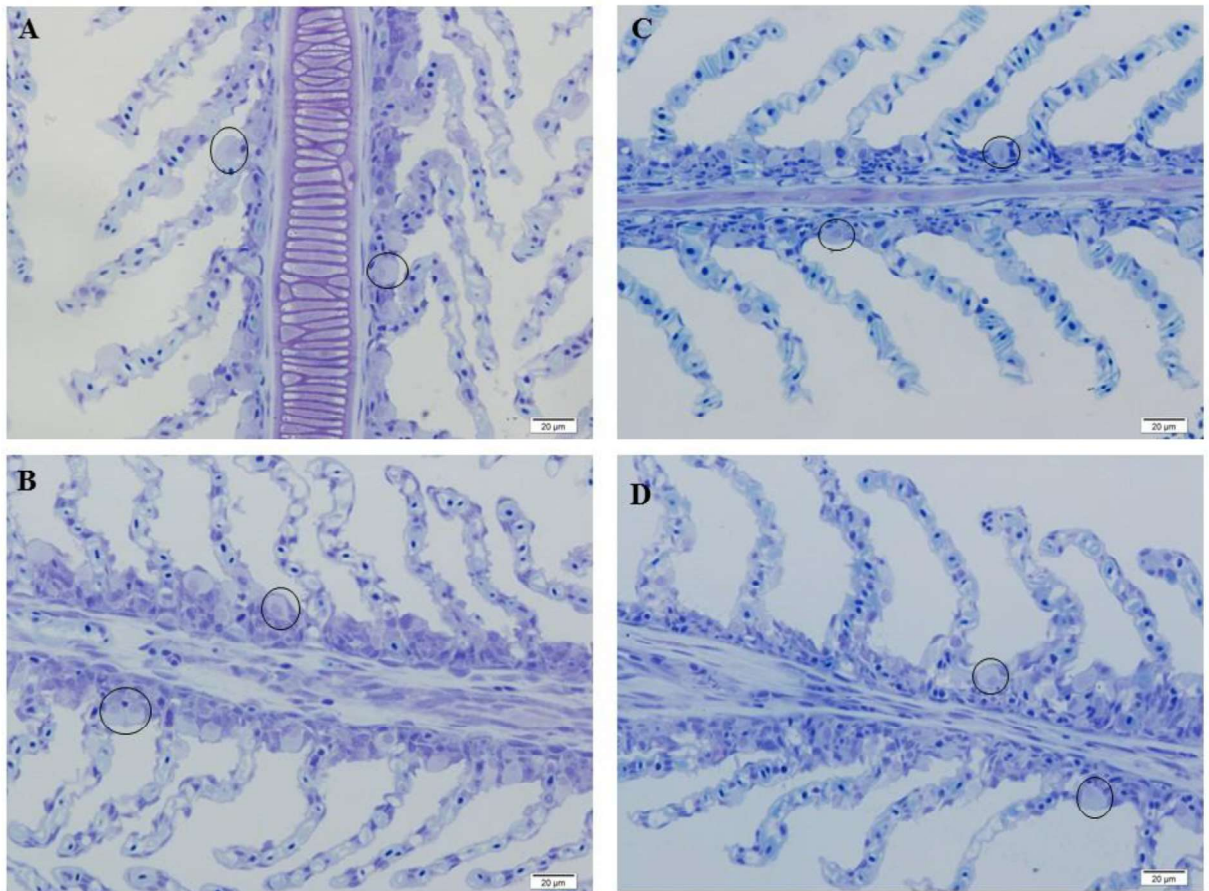


Figura 6. Fotomicrografias de secções histológicas evidenciando as células de cloreto (círculo) em cará *Geophagus brasiliensis* (A-área não afetada; B=Área afetada) e em tilápia *Oreochromis niloticus* (C-área não afetada; D=Área afetada), Coloração: azul de toluidina.

Tabela 2. Frequência de histopatologia branquiais de cará e tilápia coletados em área não afetada (NAFC e NAFT, respectivamente) e área afetada (AFC e AFT, respectivamente) pelo rompimento da barragem de Mariana - MG.

<i>Histopatologia</i>	<i>NAFC</i>	<i>AFC</i>	<i>NAFT</i>	<i>AFT</i>
<i>CO</i>	0	0	0	+
<i>DF</i>	++	++	+	+++*
<i>DLA</i>	+++	+++*	++	+++*
<i>DL</i>	+	++	0	+
<i>EL</i>	++	+++*	0	+
<i>FL</i>	+	+	+	+
<i>HL</i>	+++	+++*	++	+++
<i>HF</i>	++	++	++	+++
<i>NA</i>	0	+	0	+
<i>DLT</i>	+	+	0	0
<i>FF</i>	0	+	0	0
<i>NE</i>	0	0	0	0
<i>Média</i>	3,62	4,28	1,09	2,82*

Congestão (CO), deformação filamentar (DF), deformação lamelar (DLA), destruição lamelar parcial (DL), encurtamento lamelar (EL), fusão lamelar (FL), hiperplasia lamelar (HL), hiperplasia filamentar (HF), aneurisma (NA), destruição lamelar total (DLT), fusão filamentar (FF) e necrose (NE). 0 = nenhuma, + = frequência de 1 a 20%, ++ = frequência de 21 a 50%, +++ = frequência de 51 a 100%. Os estágios de classificação foram baseados em Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), conforme a severidade das histopatologias. *Indica diferença significativa pelo teste de Fisher ao nível de 5% de significância.

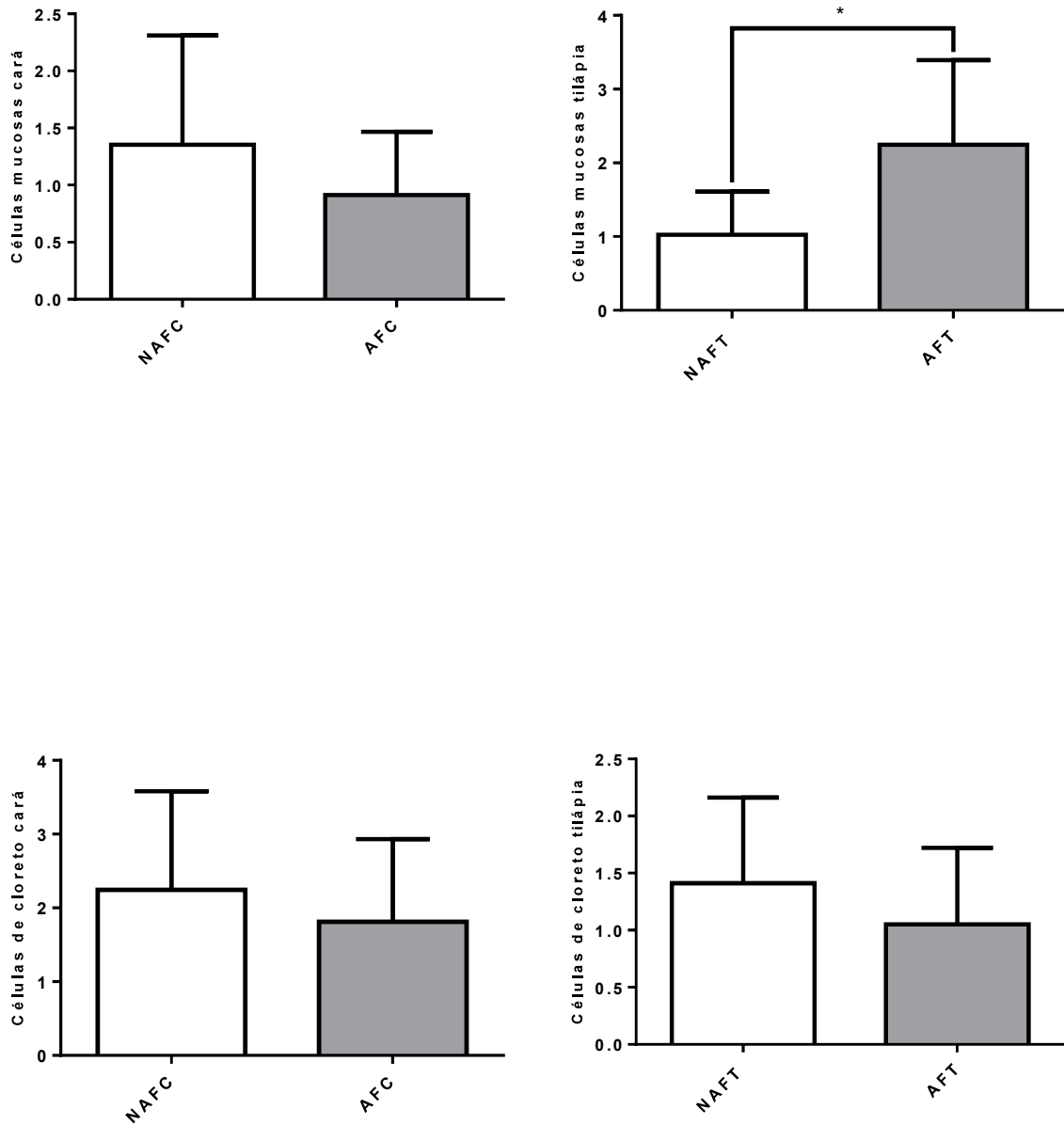


Figura 7. Percentual de células mucosas e de cloreto em brânquias de Cará e Tilápia, respectivamente, coletados em área não afetada (NAFC/NAFT) e área afetada (AFC/AFT) pelo rompimento da barragem Mariana-MG. Dados expressos em média \pm desvio-padrão. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância.

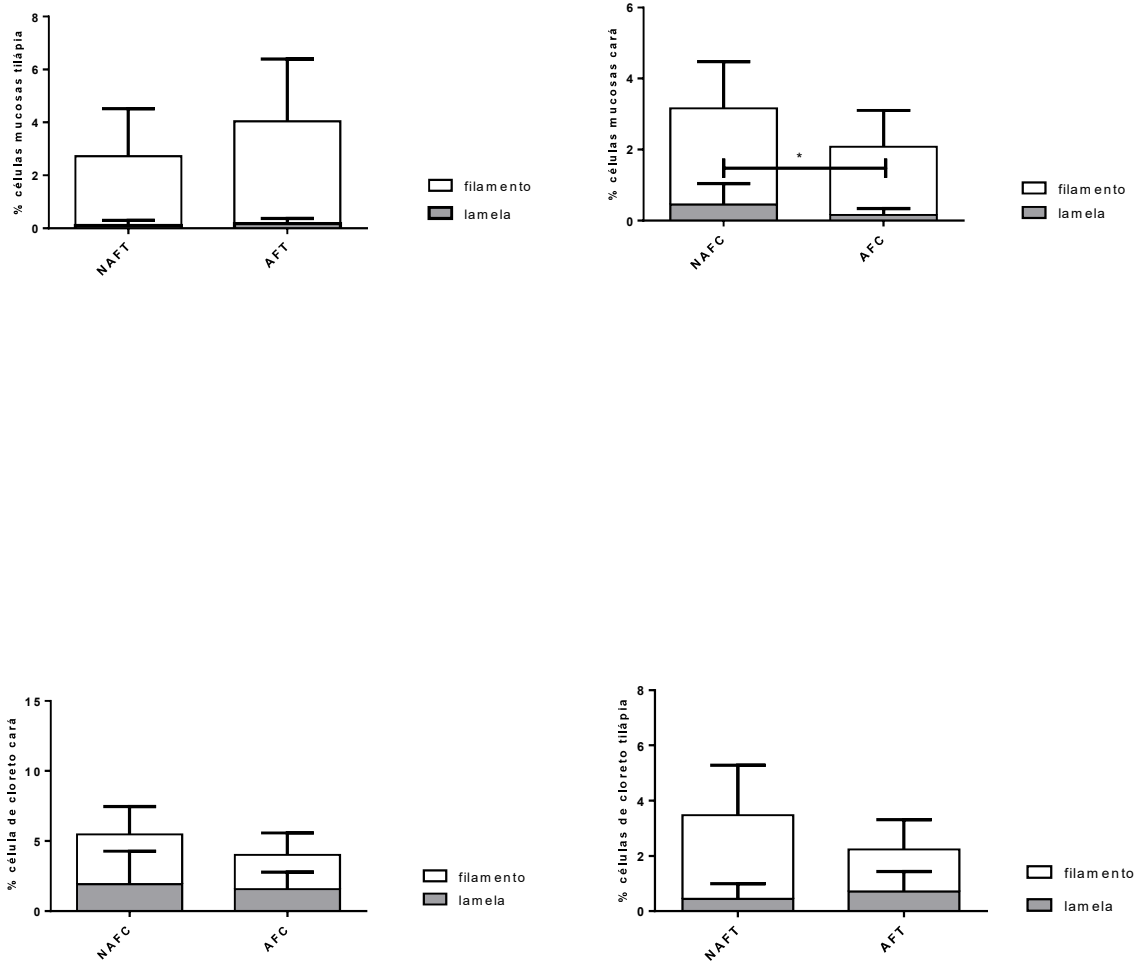


Figura 8. Percentual de células mucosas e de cloreto em filamentos e lamelas branquiais de Cará e Tilápiá, respectivamente, coletados em área não afetada (NAFC/NAFT) e área afetada (AFC/AFT) pelo rompimento da barragem Mariana-MG. Dados expressos em média \pm desvio-padrão. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância.

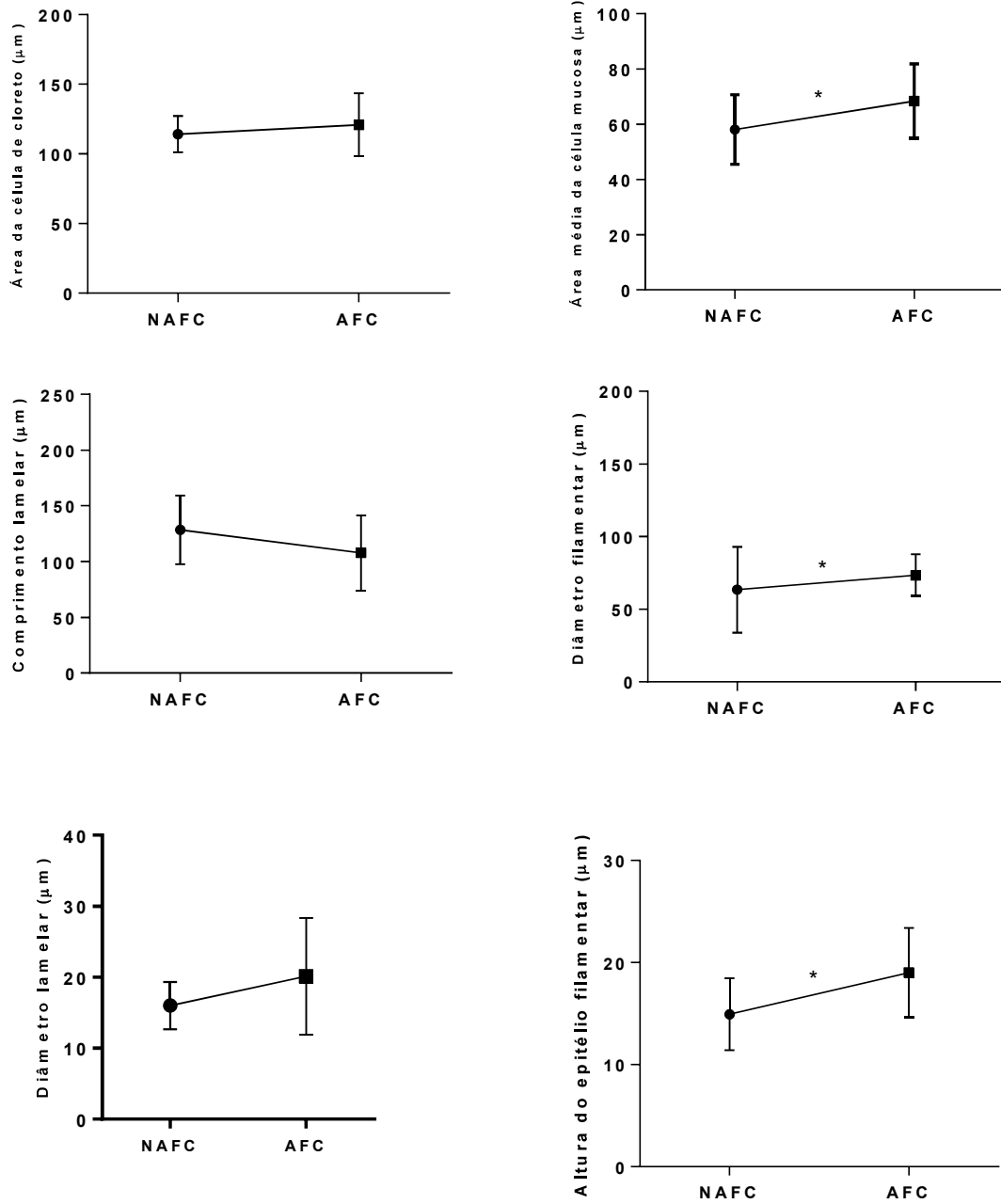


Figura 9. Dados histométricos de estruturas branquiais do cará coletados em área não afetada (NAFC) e área afetada (AFC) pelo rompimento da barragem de rejeitos de mineração em Mariana-MG. Dados em médias \pm desvio padrão. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância.

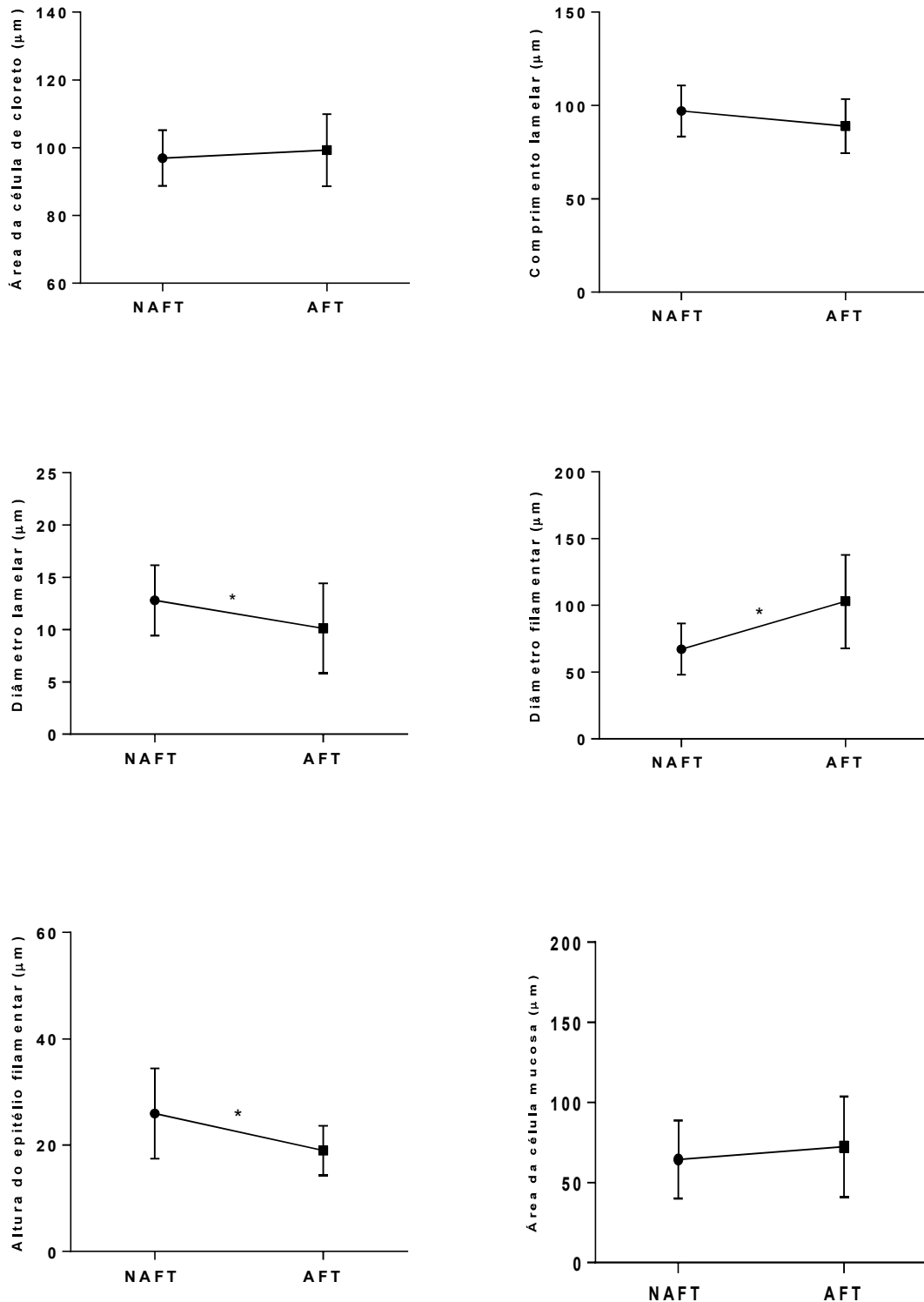


Figura 10. Dados histométricos de estruturas branquiais de Tilápias coletadas em área não afetada (NAFT) e área afetada (AFT) pelo rompimento da barragem de rejeitos de mineração em Mariana-MG. Dados em médias \pm desvio padrão. *Indica diferença significativa pelo test t ao nível de 5% de significância.

4. Discussão

De acordo com os resultados biométricos de comprimento e peso, não houve diferença significativa entre os carás das áreas afetada e não afetada pelo rompimento da barragem. Para a tilápia foram encontrados maiores valores de comprimento e peso corporal na área afetada. De qualquer forma, os carás coletados neste trabalho, em ambas as áreas, apresentaram comprimento total aquém do esperado para um adulto, podendo se tratar de um indivíduo jovem ou de um adulto pouco desenvolvido, já as tilápias tiveram peso e comprimento esperado (Abdel-Moneim et al., 2012b; Doria et al., 2017).

Alguns estudos demonstraram que certos metais pesados como ferro, chumbo, cobre, cromo, cádmio e zinco afetam a taxa de crescimento e desenvolvimento dos peixes (Abdel Hakim et al., 2016; Authman, 2015; Baker et al., 1997; Yu et al., 2017). Ressaltamos a dificuldade de encontrar indivíduos maiores de ambas as espécies e em ambas as áreas, o que corrobora os achados da quantificação de metais pesados encontrados em altos níveis nas brânquias do cará e da tilápia, sendo as concentrações de alumínio e ferro as maiores em comparação com os outros metais mensurados. Após o rompimento da barragem, em agosto de 2016, o alumínio foi encontrado na água do rio Doce em concentrações acima do permitido (cerca de 2 vezes) por Carvalho et al. (2017), e também pelo nosso grupo de pesquisa no começo de 2019 (dados ainda não publicados). Carvalho e colaboradores (2017) chamaram atenção para os altos níveis de cobre no rio Doce, cerca de 86 vezes acima do permitido pela legislação brasileira. Nas análises de água feitas pelo nosso grupo, o cobre também esteve presente em níveis maiores que o permitido (cerca de 2 vezes acima), mas em ambas as áreas, afetada e não afetada pelo rompimento da barragem, assim como o ferro (cerca de 3 vezes acima do permitido).

A presença de certos metais como o alumínio, ferro, manganês, níquel e mesmo o cobre, em concentrações baixas, pode ser devida à natureza mineralógica da região, tendo sido encontrados também em locais não atingidos pela lama (Carvalho et al., 2017b). Embora a Mineradora Samarco tenha afirmado categoricamente que a lama de rejeitos não é tóxica, especialistas divergem e, de qualquer forma, acredita-se que a enxurrada de lama tenha carregado metais pesados oriundos de garimpos ilegais e/ou expostos metais sedimentados ao longo dos anos pela atividade mineradora da região (ANA, 2016; Carvalho et al., 2017b; Sánchez et al., 2018), centrada principalmente na extração de ferro e manganês, e as extrações de ferro se concentram principalmente nas cabeceiras do rio Piracicaba e do rio do Carmo, os principais afluentes do rio Doce, aumentando assim as concentrações destes metais. Além

disso, como os cursos d'água de vários rios da bacia desempenham o papel de canais receptores e transportadores dos rejeitos e efluentes provenientes da mineração e outras ações antrópicas, a qualidade da água se deteriora, afetando a saúde dos animais e do homem (ANA, 2016).

Com alterações no ambiente, a brânquia é o primeiro órgão a reagir a condições desfavoráveis (Benli et al., 2008), por estar em contato direto com a água e possuir uma grande área de superfície coberta por uma camada de células epiteliais e com vasta vascularização para facilitar as trocas gasosas e outros processos vitais, que permitem a entrada de contaminantes (Dang et al., 2019; Machado, 1999; Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994; Ribeiro et al., 2014). Assim, a exposição a contaminantes é susceptível de induzir um grande número de lesões nas brânquias (Abdel-Moneim et al., 2012b, 2012a; Authman, 2015; Benli et al., 2008; Doria et al., 2017; Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994; Schwaiger et al., 1997), que têm sido intensamente utilizadas como modelo para estudos de impacto ambiental, tendo em vista que qualquer alteração neste órgão pode comprometer a homeostase e sobrevivência dos peixes (Ballesteros et al., 2007; Doria et al., 2017; Korkmaz et al., 2009; Pandey et al., 2008; Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994; van der Oost et al., 2003).

Neste trabalho, várias alterações histológicas foram encontradas nas brânquias do cará e da tilápia, especialmente aqueles da área afetada, ressaltando-se, pela sua alta frequência, as hiperplasias filamentar e lamelar e a deformação lamelar. Tais modificações são induzidas por altas concentrações de metais pesados na água (Abdel-Khalek, 2015; Abdel-Moneim et al., 2012b; Mallatt, 1985).

Acredita-se que os efeitos de metais pesados sobre o tecido branquial podem causar a proliferação celular excessiva (Abdel-Moneim et al., 2012b; Fonseca et al., 2017; Kantham and Richards, 1995; Singhadach et al., 2009), e este fato pode ser atribuído à uma adaptação ao meio ambiente poluído, a fim de proteger o órgão contra a entrada excessiva dos contaminantes hídricos por meio dos vasos sanguíneos, que resultará na redução da superfície branquial prejudicando a sua função (Fonseca et al., 2017; Mallatt, 1985; Ribeiro et al., 2014; Singhadach et al., 2009; Strzyzewska et al., 2016). Corroborando com esta informação, no presente estudo as hiperplasias foram mais frequentes no cará e na tilápia da área afetada, em que os níveis de metais pesados foram maiores. No cará, tais hiperplasias foram acompanhadas de aumento no diâmetro filamentar e na altura do epitélio filamentar, assim como aumento na área da célula mucosa no filamento. Apesar da média do diâmetro lamelar e altura do epitélio filamentar serem maiores na área não afetada, isso pode indicar que este

ambiente também esteja contaminado, visto que, os metais pesados estão presentes em vários produtos e processos industriais e nenhum meio está isento da ação antrópica.

Problemas vasculares como congestão e aneurisma foram pouco frequentes no cará e na tilápia, sendo a maior parte das lesões branquiais presentes no epitélio, como discutido anteriormente. Distúrbios circulatórios podem ocorrer em peixes quando há um estresse mais grave (Abdel-Moneim et al., 2012b; Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994). O surgimento de aneurisma e congestão é decorrente de danos às células pilares, responsáveis pelo controle do fluxo sanguíneo, que provoca um aumento do fluxo na lamela, seguida de dilatação do canal marginal, e a degeneração destas células compromete processos essenciais como a troca fisiológica, e favorece a incidência da patologia (Brunelli et al., 2008; Macirella and Brunelli, 2017; Oliva et al., 2009; Oliveira Ribeiro et al., 2002; Rosety-Rodríguez et al., 2002; van den Heuvel, M et al., 2000).

O encurtamento e a destruição lamelar parcial foram encontrados no cará e na tilápia, especialmente na área afetada, entretanto o comprimento lamelar médio de ambas espécies não foi diferentemente significativo entre as áreas, embora houvesse uma tendência a ser menor na área afetada. Alguns autores relatam que a exposição de contaminantes no ambiente provoca degeneração celular, eventualmente desencadeando necrose, por meio do encurtamento e destruição das lamelas (Abdel-Khalek, 2015; Lakani, Bagherzadeh et al., 2013; Mazon et al., 2002; Rodrigues et al., 2011). Essas patologias resultam na diminuição da área respiratória e conseqüentemente no consumo de oxigênio, além de alterações na processo osmorregulatório (Kumar et al., 2017; Saravana Bhavan, 2000). A necrose, considerada uma lesão severa (Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994), não foi observada nos peixes do presente trabalho.

Os resultados indicam que os metais pesados, mesmo em concentrações altas e provocando alterações nas brânquias do cará e da tilápia, não comprometeram a funcionalidade deste órgão, tendo em vista o baixo índice de alteração histológica estipulado por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994). A brânquia é um órgão multifuncional que participa de vários processos essenciais como transporte de íons, troca gasosa, regulação ácido-base e excreção (Abdel-Moneim et al., 2012b; Dash et al., 2018; Machado, 1999; Mallatt, 1985; Mazon et al., 2002; Poleksic and Mitrovic-Tutundzic, 1994; Ribeiro et al., 2014). Assim, tanto o metal dissolvido em água como aqueles obtidos por meio da alimentação, atingem as brânquias por meio do epitélio branquial dos vasos sanguíneos, são acumulados no órgão (Alvarado et al., 2006; Harrison and Klaverkamp, 1989). Acreditamos que os metais pesados nas brânquias possam estar em trânsito e não necessariamente

acumulados, o que justifica sua presença em elevados níveis, porém, sem maiores prejuízos ao órgão. Além disso, mecanismos adaptativos podem ter sido desenvolvidos para dificultar a entrada e otimizar a eliminação destes metais, além de mecanismos compensatórios para manter as funções básicas do órgão e garantir a sobrevivência do organismo.

O percentual total de células mucosas e o percentual nos filamentos branquiais da tilápia, assim como a área de célula mucosa nas brânquias do cará, foi maior na área afetada, indicando uma adaptação para proteção contra os metais pesados ou outros tóxicos (Reverter et al., 2018; Shephard, 1994; Tao et al., 2000), e talvez até para eliminação dos mesmos através da secreção (Dang et al., 2019; Reverter et al., 2018), impedindo alterações mais intensas (Powell et al., 1992). As células mucosas também atuam na regulação osmótica e difusão de íons (Díaz et al., 2001; Shephard, 1994), e como os metais pesados podem inibir o transporte iônico, o aumento no número de células mucosas pode ocorrer como um mecanismo compensatório (Dang et al., 2019; Dash et al., 2018). Por outro lado, há estudos que indicam diminuição e degeneração de células mucosas nas brânquias de peixes expostos a ambientes contaminados por metais (Garcia-Reyero et al., 2015; Hawkins et al., 2015, 2014), o que observamos nas lamelas do cará da área afetada, podendo ser atribuído aos diferentes estádios das alterações histopatológicas, visto que a exposição aguda dos contaminantes eleva a quantidade de células mucosas para proteção ao estresse inicial, mas depois de algum há redução como consequência patológica (Garcia-Reyero et al., 2015; Hawkins et al., 2015, 2014; Strzyzewska et al., 2016).

Dos metais encontrados em altos níveis no cará e na tilápia, especialmente da área afetada, chamam atenção o zinco, cádmio e chumbo, que podem interferir na homeostase do cálcio, por ser antagonista deste íon, usando as vias de absorção dos metais pesados para entrar no organismo do animal (Bury and Wood, 1999; Macdonald et al., 2002; Rogers et al., 2003; Rogers, 2004). Como há alteração na concentração de diferentes íons no plasma, o organismo tem que neutralizar essas perturbações iônicas (Rogers et al., 2003). De acordo com dados na literatura, na exposição de metais pesados como o chumbo, uma maneira de restabelecer a concentração normal é aumentar absorção de íons plasmáticos, com a produção de uma nova população de células de cloreto (Mancera and McCormick, 2007; Ramesh et al., 2009). No nosso trabalho, não foi observado diferença no percentual ou área de células de cloreto nas brânquias do cará ou da tilápia, possivelmente porque não houve impacto suficiente para que tal alteração ocorresse.

5. Conclusão

As brânquias do cará e da tilápia coletados nas áreas afetada e não afetada pelo rompimento da barragem apresentaram altos níveis de metais pesados, com predomínio nos peixes da área afetada, permitindo concluir que direta ou indiretamente, o desastre ambiental resultou em maior contaminação por estes elementos. Alterações histológicas branquiais foram encontradas em ambas as espécies, e mais frequentes nos exemplares da área afetada, permitindo relacionar estas alterações com a presença dos metais. As alterações parecem não ter comprometido a funcionalidade das brânquias, e podem ter atuado como mecanismos adaptativos e/ou compensatórios.

6. Agradecimentos

Agradecemos ao órgão de fomento CAPES, pelo financiamento da pesquisa e aos laboratórios e colaboradores pelo desenvolvimento do trabalho, em especial, ao Laboratório de Morfologia Animal, Laboratório de Patologia Experimental, Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura, Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros, Laboratório de Biofísica Ambiental, Laboratório de Sistemática Molecular, Laboratório de Biologia Celular e Estrutural, Laboratório de Ultraestrutura Celular, Laboratório de Anatomia Vegetal e Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica, da Universidade Federal de Viçosa, MG.

7. Referências

- Abdel-Khalek, A.A., 2015. Risk Assessment, Bioaccumulation of Metals and Histopathological Alterations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Facing Degraded Aquatic Conditions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 94, 77–83. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1400-9>
- Abdel-Moneim, A.M., Al-Kahtani, M.A., Elmenshawy, O.M., 2012a. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere* 88, 1028–1035. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.001>
- Abdel-Moneim, A.M., El-Saad, A.M.A., Hussein, H.K., Dekinesh, S.I., 2012b. Gill Oxidative Stress and Histopathological Biomarkers of Pollution Impacts in Nile Tilapia from Lake Mariut and Lake Edku, Egypt. *J. Aquat. Anim. Health* 24, 148–160. <https://doi.org/10.1080/08997659.2012.675924>
- Abdel Hakim, N., Helal, A., Salem, M., Zaghoul, A., Hanbal, M., 2016. Effect of some heavy metals on physiological and chemical parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *J. Egypt. Acad. Soc. Environ. Dev. D, Environ. Stud.* 17, 81–95. <https://doi.org/10.21608/jades.2016.63382>

- Ajima, M.N.O., Nnodi, P.C., Ogo, O.A., Adaka, G.S., Osuigwe, D.I., Njoku, D.C., 2015. Bioaccumulation of heavy metals in Mbaa River and the impact on aquatic ecosystem. *Environ. Monit. Assess.* 187, 768. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4937-0>
- Alvarado, N.E., Quesada, I., Hylland, K., Marigómez, I., Soto, M., 2006. Quantitative changes in metallothionein expression in target cell-types in the gills of turbot (*Scophthalmus maximus*) exposed to Cd, Cu, Zn and after a depuration treatment. *Aquat. Toxicol.* 77, 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.10.017>
- ANA, 2016. Agência Nacional de Águas. Encarte Especial sobre a Bacia do Rio Doce Rompimento da Barragem em Mariana/MG. *Cunjuntura dos Recur. Hídricos no Bras.* 1, 1–50. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Au, D.W.T., 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 48, 817–834. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.032>
- Authman, M.M., 2015. Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution. *J. Aquac. Res. Dev.* 06. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000328>
- Baker, R.T.M., Martin, P., Davies, S.J., 1997. Ingestion of sub-lethal levels of iron sulphate by African catfish affects growth and tissue lipid peroxidation. *Aquat. Toxicol.* 40, 51–61. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(97\)00047-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(97)00047-7)
- Ballesteros, M.L., Bianchi, G.E., Carranza, M., Bistoni, M.A., 2007. Endosulfan acute toxicity and histomorphological alterations in *Jenynsia multidentata* (Anablepidae, Cyprinodontiformes). *J. Environ. Sci. Heal. Part B* 42, 351–357. <https://doi.org/10.1080/03601230701309577>
- Benincá, C., Ramsdorf, W., Vicari, T., de Oliveira Ribeiro, C.A., de Almeida, M.I., Silva de Assis, H.C., Cestari, M.M., 2012. Chronic genetic damages in *Geophagus brasiliensis* exposed to anthropic impact in Estuarine Lakes at Santa Catarina Coast–Southern of Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 184, 2045–2056. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2098-3>
- Benli, A.Ç.K., Köksal, G., Özkul, A., 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72, 1355–1358. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.037>
- Brunelli, E., Talarico, E., Corapi, B., Perrotta, I., Tripepi, S., 2008. Effects of a sublethal concentration of sodium lauryl sulphate on the morphology and Na⁺/K⁺ ATPase activity in the gill of the ornate wrasse (*Thalassoma pavo*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 436–445. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.09.010>
- Bury, N.R., Wood, C.M., 1999. Mechanism of branchial apical silver uptake by rainbow trout is via the proton-coupled Na⁺ channel. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 277, R1385–R1391. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.277.5.R1385>
- Carvalho, C. dos S., Bernusso, V.A., Araújo, H.S.S. de, Espindola, E.L.G., Fernandes, M.N., 2012. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere* 89, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.013>
- Carvalho, M.S. de, Moreira, R.M., Ribeiro, K.D., Almeida, A.M. de, 2017a. Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil Concentration of metals in the Doce river in Mariana, Minas Gerais, Brazil. *Acta Bras.* 1, 37–41.

- Carvalho, M.S. de, Ribeiro, K.D., Moreira, R.M., Almeida, A.M. de, 2017b. Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Acta Bras.* 1, 37. <https://doi.org/10.22571/actabra13201758>
- Dang, M., Pittman, K., Bach, L., Sonne, C., Hansson, S. V., Søndergaard, J., Stride, M., Nowak, B., 2019. Mucous cell responses to contaminants and parasites in shorthorn sculpins (*Myoxocephalus scorpius*) from a former lead-zinc mine in West Greenland. *Sci. Total Environ.* 678, 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.412>
- Dash, S., Das, S.K., Samal, J., Thatoi, H.N., 2018. Epidermal mucus, a major determinant in fish health: A review. *Iran. J. Vet. Res.* 19, 72–81. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2018.4849>
- Díaz, A.O., García, A.M., Devinenti, C. V., Goldemberg, A.L., 2001. Mucous Cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and Ultrastructure. *Anat. Histol. Embryol.* 30, 135–139. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2001.t01-1-0316.x>
- Doria, H.B., Voigt, C.L., Sandrini-Neto, L., Campos, S.X., de Oliveira-Ribeiro, C.A., Randi, M.A.F., 2017. How and where to perform biomonitoring studies: different levels of toxic metal pollution are detected in the Alagados Reservoir in Southern Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 13080–13094. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8953-1>
- Espindola, H.S., Campos, R.B.F., Lamounier, K.C.C., Silva, R.S., 2016. Desastre da Samarco no Brasil: desafios para a conservação da biodiversidade. *Front. J. Soc. Technol. Environ. Sci.* 5, 72. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2016v5i3.p72-100>
- Fonseca, A.R., Sanches Fernandes, L.F., Fontainhas-Fernandes, A., Monteiro, S.M., Pacheco, F.A.L., 2017. The impact of freshwater metal concentrations on the severity of histopathological changes in fish gills: A statistical perspective. *Sci. Total Environ.* 599–600, 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.196>
- Garcia-Reyero, N., Thornton, C., Hawkins, A.D., Escalon, L., Kennedy, A.J., Steevens, J.A., Willett, K.L., 2015. Assessing the exposure to nanosilver and silver nitrate on fathead minnow gill gene expression and mucus production. *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.* 4, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2015.06.001>
- Gomes, I.D., Nascimento, A.A., Sales, A., Araújo, F.G., 2012. Can fish gill anomalies be used to assess water quality in freshwater Neotropical systems? *Environ. Monit. Assess.* 184, 5523–5531. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2358-2>
- Goss, G.G., Perry, S.F., Wood, C.M., Laurent, P., 1992. Mechanisms of ion and acid-base regulation at the gills of freshwater fish. *J. Exp. Zool.* 263, 143–159. <https://doi.org/10.1002/jez.1402630205>
- Harrison, S.E., Klaverkamp, J.F., 1989. Uptake, elimination and tissue distribution of dietary and aqueous cadmium by rainbow trout (*salmo gairdneri richardson*) and lake whitefish (*coregonus clupeaformis mitchill*). *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 87–97. <https://doi.org/10.1002/etc.5620080110>
- Hawkins, A.D., Thornton, C., Kennedy, A.J., Bu, K., Cizdziel, J., Jones, B.W., Steevens, J.A., Willett, K.L., 2015. Gill Histopathologies Following Exposure to Nanosilver or Silver Nitrate. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A* 78, 301–315. <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.971386>
- Hawkins, A.D., Thornton, C., Steevens, J.A., Willett, K.L., 2014. Alteration in Pimephales

- promelas mucus production after exposure to nanosilver or silver nitrate. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 2869–2872. <https://doi.org/10.1002/etc.2759>
- Hughes, G. M., Houlihan, D. F., Rankin, J. C., Shuttleworth, T. J., 1982. An introduction to the study of gills, in: Cambridge University Press. pp. 1–24.
- Kantham, K.P.L., Richards, R.H., 1995. Effect of buffers on the gill structure of common carp, *Cyprinus carpio* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.* 18, 411–423. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00333.x>
- Korkmaz, N., Cengiz, E.I., Unlu, E., Uysal, E., Yanar, M., 2009. Cypermethrin-induced histopathological and biochemical changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and the protective and recuperative effect of ascorbic acid. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 28, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.04.004>
- Kumar, N., Krishnani, K.K., Gupta, S.K., Singh, N.P., 2017. Cellular stress and histopathological tools used as biomarkers in *Oreochromis mossambicus* for assessing metal contamination. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 49, 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.11.017>
- Lakani, Bagherzadeh, F., Sattari, M., Sharifpour, I., Kazemi, R., 2013. Effect of hypoxia, normoxia and hyperoxia conditions on gill histopathology in two weight groups of beluga (*Huso huso*). *Casp. J. Environ. Sci.* 11, 77–84.
- Lenntech, 2004. Lenntech Water Treatment and Air Purification, in: Water Treatment.
- Li, L., Zheng, B., Liu, L., 2010. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. *Procedia Environ. Sci.* 2, 1510–1524. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2010.10.164>
- Liebel, S., Tomotake, M.E.M., Oliveira-ribeiro, C.A., 2013. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 8, 9–15. <https://doi.org/10.5132/eec.2013.02.002>
- Macdonald, A., Silk, L., Schwartz, M., Playle, R.C., 2002. A lead–gill binding model to predict acute lead toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 133, 227–242. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00107-2](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00107-2)
- Machado, M.R., 1999. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. *UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde* 1, 63–76.
- Macirella, R., Brunelli, E., 2017. Morphofunctional Alterations in Zebrafish (*Danio rerio*) Gills after Exposure to Mercury Chloride. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 824. <https://doi.org/10.3390/ijms18040824>
- Malik, N., Biswas, A.K., Qureshi, T.A., Borana, K., Virha, R., 2010. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. *Environ. Monit. Assess.* 160, 267–276. <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0693-8>
- Mallatt, J., 1985. Fish Gill Structural Changes Induced by Toxicants and Other Irritants: A Statistical Review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 630–648. <https://doi.org/10.1139/f85-083>
- Mancera, J., McCormick, S., 2007. Role of Prolactin, Growth Hormone, Insulin-like Growth Factor I and Cortisol in Teleost Osmoregulation. *Fish Osmoregul.* 497–515.

<https://doi.org/10.1201/b10994-17>

- Mazon, A.F., Cerqueira, C.C.C., Fernandes, M.N., 2002. Gill Cellular Changes Induced by Copper Exposure in the South American Tropical Freshwater Fish *Prochilodus scrofa*. *Environ. Res.* 88, 52–63. <https://doi.org/10.1006/enrs.2001.4315>
- Monferrán, M.V., Galanti, L.N., Bonansea, R.I., Amé, M.V., Wunderlin, D.A., 2011. Integrated survey of water pollution in the Suquía River basin (Córdoba, Argentina). *J. Environ. Monit.* 13, 398–409. <https://doi.org/10.1039/C0EM00545B>
- Muñoz-Nájera, M.A., Barrera-Escorcia, G., Ramírez-Romero, P., Tapia-Silva, F.O., Rosas-Cedillo, R., 2018. Heavy metal bioaccumulation in *Oreochromis niloticus* from Tenango Dam, Puebla, Mexico. *Environ. Monit. Assess.* 190, 280. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6670-y>
- Nascimento, A.A., Araújo, F.G., Gomes, I.D., Mendes, R.M.M., Sales, A., 2012. Fish Gills Alterations as Potential Biomarkers of Environmental Quality in a Eutrophized Tropical River in South-Eastern Brazil. *Anat. Histol. Embryol.* 41, 209–216. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2011.01125.x>
- Oliva, M., Garrido, M.C., Sales Márquez, D., González de Canales, M.L., 2009. Sublethal and lethal toxicity in juvenile Senegal sole (*Solea senegalensis*) exposed to copper: A preliminary toxicity range-finding test. *Exp. Toxicol. Pathol.* 61, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2008.06.001>
- Oliveira Ribeiro, C., Belger, L., Pelletier, É., Rouleau, C., 2002. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ. Res.* 90, 217–225. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(02\)00025-7](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(02)00025-7)
- Pandey, S., Parvez, S., Ansari, R.A., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., Ahmad, F., Raisuddin, S., 2008. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chem. Biol. Interact.* 174, 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.05.014>
- Peakall, D., Burger, J., 2003. Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 56, 110–121. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00055-1](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00055-1)
- Pittman, K., Sourd, P., Ravnøy, B., Espeland, Ø., Fiksdal, I.U., Oen, T., Pittman, A., Redmond, K., Sweetman, J., 2011. Novel method for quantifying salmonid mucous cells. *J. Fish Dis.* 34, 931–936. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01308.x>
- Poleksic, V., Mitrovic-Tutundzic, V., 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: *Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. Sublethal Chronic Eff. Pollut. Freshw. Fish* 339–352.
- Powell, M.D., Speare, D.J., Burka, J.F., 1992. Fixation of mucus on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) gills for light and electron microscopy. *J. Fish Biol.* 41, 813–824. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1992.tb02709.x>
- Ramesh, M., Saravanan, M., Kavitha, C., 2009. Hormonal responses of the fish, *Cyprinus carpio*, to environmental lead exposure. *African J. Biotechnol.* 8, 4154–4158. <https://doi.org/10.5897/AJB2009.000-9399>
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P., 2018. Biological and ecological roles of external fish mucus: A review. *Fishes* 3, 1–19.

<https://doi.org/10.3390/fishes3040041>

- Ribeiro, A.M., Risso, W.E., Fernandes, M.N., Martinez, C.B.R., 2014. Lead accumulation and its effects on the branchial physiology of *Prochilodus lineatus*. *Fish Physiol. Biochem.* 40, 645–657. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9873-8>
- Rodrigues, R. V., Schwarz, M.H., Delbos, B.C., Carvalho, E.L., Romano, L.A., Sampaio, L.A., 2011. Acute exposure of juvenile cobia *Rachycentron canadum* to nitrate induces gill, esophageal and brain damage. *Aquaculture* 322–323, 223–226. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.040>
- Rogers, J., Richards, J., Wood, C., 2003. Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 64, 215–234. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00053-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00053-5)
- Rogers, J.T., 2004. Characterization of branchial lead-calcium interaction in the freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.* 207, 813–825. <https://doi.org/10.1242/jeb.00826>
- Rosety-Rodríguez, M., Ordoñez, F.J., Rosety, M., Rosety, J.M., Rosety, I., Ribelles, A., Carrasco, C., 2002. Morpho-histochemical Changes in the Gills of Turbot, *Scophthalmus maximus* L., Induced by Sodium Dodecyl Sulfate. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 51, 223–228. <https://doi.org/10.1006/eesa.2001.2148>
- Sales, C.F., Santos, K.P.E. dos, Rizzo, E., Ribeiro, R.I.M. de A., Santos, H.B. dos, Thomé, R.G., 2017. Proliferation, survival and cell death in fish gills remodeling: From injury to recovery. *Fish Shellfish Immunol.* 68, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.07.001>
- Sánchez, L., Alger, K., Alonso, L., Barbosa, F., Brito, M.C., Laureano, F., May, P., Roeser, H., Kakabadse, Y., 2018. Os impactos do rompimento da Barragem de Fundão: o caminho para uma mitigação sustentável e resiliente. IUCN, International Union for Conservation of Nature. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2018.18.pt>
- Santos, D.C.M. dos, Matta, S.L.P. da, Oliveira, J.A. de, Santos, J.A.D. dos, 2012. Histological alterations in gills of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute exposition to zinc. *Exp. Toxicol. Pathol.* 64, 861–866. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2011.03.007>
- Saravana Bhavan, P., 2000. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquat. Toxicol.* 50, 331–339. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(00\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(00)00096-5)
- Sayer, M.D.J., Davenport, J., 1987. The relative importance of the gills to ammonia and urea excretion in five seawater and one freshwater teleost species. *J. Fish Biol.* 31, 561–570. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05258.x>
- Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Hönnen, W., Tribskorn, R., 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recover.* 6, 75–86. <https://doi.org/10.1023/A:1008212000208>
- Shephard, K.L., 1994. Functions for fish mucus. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4, 401–429. <https://doi.org/10.1007/BF00042888>
- Singhadach, P., Jiraungkoo, W., Tansatit, T., Kosa, P., Ariyasriji, C., 2009. Calcium Pre-Exposure Reducing Histopathological Alteration in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) After Lead Exposure. *J. Fish. Aquat. Sci.* 4, 228–237. <https://doi.org/10.3923/jfas.2009.228.237>

- Strzyzewska, E., Szarek, J., Babinska, I., 2016. Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: a review. *Vet. Med. (Praha)*. 61, 123–132. <https://doi.org/10.17221/8763-VETMED>
- Tao, S., Li, H., Liu, C., Lam, K.C., 2000. Fish Uptake of Inorganic and Mucus Complexes of Lead. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46, 174–180. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1902>
- Terra, B.F., Araújo, F.G., Calza, C.F., Lopes, R.T., Teixeira, T.P., 2007. Heavy Metal in Tissues of Three Fish Species from Different Trophic Levels in a Tropical Brazilian River. *Water. Air. Soil Pollut.* 187, 275–284. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9515-9>
- van den Heuvel, M, R., Power, M., Richards, J., MacKinnon, M., Dixon, D, G., 2000. Disease and Gill Lesions in Yellow Perch (*Perca flavescens*) Exposed to Oil Sands Mining-Associated Waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46, 334–341. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1912>
- van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Verboost, P.M., Schoenmakers, T.J.M., Flik, G., Wendelaar Bonga, S.E., 1994. Kinetics of ATP- and Na⁺-gradient driven Ca²⁺ transport in basolateral membranes from gills of freshwater- and seawater-adapted tilapia. *J. Exp. Biol.* 186, 95–108.
- Weber, A.A., Sales, C.F., de Souza Faria, F., Melo, R.M.C., Bazzoli, N., Rizzo, E., 2020. Effects of metal contamination on liver in two fish species from a highly impacted neotropical river: A case study of the Fundão dam, Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 190. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110165>
- Yu, L., Zhai, Q., Zhu, J., Zhang, C., Li, T., Liu, X., Zhao, J., Zhang, H., Tian, F., Chen, W., 2017. Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation enhances growth performance and alleviates aluminum toxicity in tilapia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 143, 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.023>

Anexos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
 CEUAP/UFV

Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-900 – Telefone: (31) 3899.3275 – e-mail: ceuap@ufv.br – site: www.ceuap.ufv.br

Viçosa, 16 de Abr. de 2019

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Análises de toxicidade por metais pesados em peixe da Bacia do Rio Doce, após rompimento de barragem de rejeitos em Mariana – MG**", protocolo nº **0101/2018**, sob a responsabilidade de **Sirlene Souza Rodrigues Sartori** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo conselho nacional de controle da experimentação animal (concea), e foi apreciado pela comissão de ética no uso de animais de produção da universidade federal de viçosa (ceuap-ufv) em reunião de **30 de Nov. de 2018**.

Finalidade: **Pesquisa** **Ensino**

Vigência do Projeto: de **16 de Abr. de 2019** a **30 de Jul. de 2019**

Espécie/linhagem: **Peixes (*Geophagus brasiliensis*, *Oreochromis niloticus*)** Nº de animais: **120**

Peso: **30 g** Idade: "-----" Sexo: "-----" Origem: **Rios Doce e Piranga - Endereço: Município de Santa Cruz do Escalvado. Responsável: Leticia Valadares Ballotin Cnpj/CPF:114.193.656-90**

CERTIFICATE

We certify that the project entitled "**Analysis of toxicity by heavy metals in fish from the Rio Doce Basin, after the rupture of tailings dam in Mariana - MG**", protocol nº **0101/2018**, under the responsibility of **Sirlene Souza Rodrigues Sartori** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum chordata, subphylum vertebrata (except man), for scientific research purposes (or education) - is in accordance with the law nº 11.794, of October 8, 2008, Decree nº 6899 of July 15, 2009, and the rules issued by the Brazilian National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on the use of farm animals of Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) in its meeting on **Nov, 30th, 2018**.

Finality: **Research** **Education**

Duration of the Project: from **Apr, 16th, 2019** to **Jul, 30th, 2019**.

Species / strain: **Fish (*Geophagus brasiliensis*, *Oreochromis niloticus*)** Nº of animals: **120**

Weight: **30 g** Age: "-----" Sex: "-----" Source: **Rios Doce e Piranga - Endereço: Município de Santa Cruz do Escalvado. Responsável: Leticia Valadares Ballotin Cnpj/CPF:114.193.656-90**

Luciana Navajas Rennó

Luciana Navajas Rennó

Coordenadora da CEUAP/UFV



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 55430-2	Data da Emissão: 26/04/2018 09:34	Data para Revalidação*: 26/05/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FREDERICO MACHADO DE PINHO	CPF: 050.107.176-89
Título do Projeto: Projeto Pirá: Revitalização da ictiofauna nativa do rio Doce	
Nome da Instituição: UFV - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA	CNPJ: 25.944.455/0001-96

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Levantamento da ictiofauna na bacia do rio Doce. MG-ES	09/2016	10/2017
2	Levantamento da ictiofauna na bacia do rio Doce. MG-ES	02/2018	02/2020

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	JORGE ABDALA DERGAM DOS SANTOS	Coordenador de ictiofauna	071.642.298-05	M5.464.800 SSP-MG	Brasileira
2	FREDERICO FERNANDES FERREIRA	Biólogo ictiólogo	083.925.376-10	MG-13.988.962 SSP-MG	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	PONTA NOVA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
2	MARIANA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
3	BARRA LONGA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
4	SANTA CRUZ DO ESCALVADO	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
5	RIO CASCA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
6	SÃO DOMINGOS DO PRATA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
7	IPATINGA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
8	NAQUE	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 73677486



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 55430-2	Data da Emissão: 26/04/2018 09:34	Data para Revalidação*: 26/05/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FREDERICO MACHADO DE PINHO	CPF: 050.107.176-89
Título do Projeto: Projeto Pirá: Revitalização da ictiofauna nativa do rio Doce	
Nome da Instituição: UFV - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA	CNPJ: 25.944.455/0001-96

9	GALILEIA	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
10	GOVERNADOR VALADARES	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
11	AIMORES	MG	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal
12	COLATINA	ES	Bacia do rio Guandu	Fora de UC Federal
13	LINHARES	ES	Bacia do rio Doce	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Actinopterygii
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Actinopterygii
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Actinopterygii (*Qtde: 15)

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Peixes)	Fragmento de tecido/órgão, Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele)
2	Método de captura/coleta (Peixes)	Tarrafa, Rede de arrasto de meia-água (tração motorizada), Coleta manual, Armadilha (covo, manzuá, potes para polvos, substrato específico, manilha e variações), Peneira, Anzol e linha (op.manual); linha de mão, de corso, carretilha, molinete, corrico, vara e isca viva, Captura manual, Rede de emalhar (emalhe de deriva, de fundo, malhadeiras, caceio, feiteiras, tresmalhos e caçoira), Puçã

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFV - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA	colecção
2	Fundação Arthur Bernardes	colecção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 73677486



Página 2/3

