

ANA CAROLINA TORRE MORAIS

**CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM PEIXES TELEÓSTEOS DO RIO
PIRACICABA, MINAS GERAIS, BRASIL**

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*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

ANA CAROLINA TORRE MORAIS

**CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM PEIXES TELEÓSTEOS DO RIO
PIRACICABA, MINAS GERAIS, BRASIL**

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: 03 de dezembro de 2009.

Prof. Jorge Abdala Dergam dos Santos
(Co-Orientador)

Prof. Juraci Alves de Oliveira
(Co-Orientador)

Prof^a. Juliana Silva Rocha

Prof^a. Mariella Bontempo Duca de Freitas

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta
(Orientador)

“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, que mais nos valoriza e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros crêm em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem por crerem não apenas em nós, mas também no que cremos...”

Albert Einstein

Aos meus amados pais, Jésus e Graça, a minha
querida avó e madrinha, Clotildes (Vó Tide) e as
minhas lindas irmãs, Adriana e Yasmim.

Amo vocês!!!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela força, coragem e por mais este aprendizado.

Aos meus amados pais, Jésus e Graça, minha fortaleza, por tudo que fizeram e fazem por mim até hoje. Pelo amor incondicional, pela paciência, pelos ensinamentos, pelos colos, por todas as minhas qualidades. Sem vocês eu não teria conseguido chegar até aqui!

À minha querida avó Tide, por todas as orações, pelo carinho e por sempre se preocupar com o meu “cafezinho” da viagem. Fico muito orgulhosa de poder dividir esse momento tão importante e ter a oportunidade de deixar registrado o meu respeito e sincero amor por esta maravilhosa matriarca.

Às minhas irmãs, Adriana e Yasmim (Did's e Ya) e ao meu cunhadinho querido, Fernando (Fê), por todo apoio, carinho e compreensão em todos os momentos. Amo muito vocês!

A toda família que mesmo longe, torceram e oraram pelo meu sucesso.

Nem todas as palavras com os mais belos significados poderiam expressar a minha gratidão e o amor que tenho por todos vocês. Obrigada por me permitirem realizar meus sonhos, pois a conquista não faria sentido sem o apoio e carinho de vocês!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, pela oportunidade e realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo financiamento que proporcionou a realização do projeto Piracicaba.

Aos professores do departamento de Biologia Animal que compartilharam conhecimento, experiência e profissionalismo.

Ao Doutor, Orientador, Professor, Pai, Amigo, Exemplo, Sérgio Luis Pinto da Matta. Agradecer é muito pouco por tudo o que você me proporcionou, por todas as oportunidades de crescimento, por todo o incentivo, pela confiança, pelos ensinamentos e profissionalismo. Um dia ouvi de certa pessoa, que o maior aprendizado do doutorado tinha sido de como não tratar as pessoas, e assim como não tratar seus orientados. Do mestrado levo exatamente o modo como quero trabalhar e compartilhar o que você me ensinou. Sou muito grata pela oportunidade de tê-lo como orientador.

Aos co-orientadores Jorge Abdala Dergam dos Santos e Juraci Alves de Oliveira, pela imprescindível participação no projeto, por todo apoio, pela disponibilidade e pelo carinho.

Ao professor Laércio dos Anjos Benjamim por todo apoio durante a realização do projeto, pelo profissionalismo e experiências compartilhadas, e também a sua equipe, que nos ajudou muito e compartilharam o “caminho das pedras” em relação ao manejo dos peixes.

À professora Luzimar Campos da Silva pela disponibilidade do fotomicroscópio para capturas de imagens.

Aos professores do Laboratório de Biologia Estrutural, Adilson Arisa Zácara, Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado, Sérgio Luis Pinto da Matta, Clóvis Andrade Neves e José Lino Neto, pelo exemplo de profissionalismo, pelos preciosos ensinamentos e pelo privilégio da convivência com vocês.

Ao laboratorista e amigo Alex de Freitas Bhering Cardoso, que sempre me ajudou em todos os momentos e com muita paciência atendia a todos os meus pedidos (quando possível, não é Álex?).

Aos amigos do laboratório Alex, Ana Paula Matta (Ana Clara, mascotinha), Ana Paula Cerqueira, Bruna, Claudinha, Danielle (Banana), Diane, Diego, Edalton, Fabíola, Jane, Juliana Antonucci, Juliana Silveira (e seu filhote), Kenner (figura rara), Katiane, Kyvia, Letinho, Lílian, Luiz Fernando (Fernandinho), Marli, Maytê, Michele (minha personal ...), Mônica (amiga de todos as horas), Pamella, Priscila, Reggiane, Sirlene, Suellen, Tetsu e Vinícius. Vocês fizeram e fazem toda diferença no dia-a-dia. Obrigada pelos momentos inesquecíveis e por compartilhar toda labuta da rotina laboratorial.

Às peixeretes Dani, Juliana, Kiki, Mirlaine, Mônica, Pamella e Priscila, em especial a Marli, Michele e Su (dupla dinâmica), por compartilharem da pescaria à linha de desmontagem (segundo o professor Lino). Não esquecerei o carinho e disponibilidade de vocês, pois fizeram toda a diferença nesta jornada.

À equipe do projeto Piracicaba Marli, Suellen e Daiane, pela dedicação, luta e por compartilhar desafios.

A todos do laboratório *Beagle* em especial ao Edson, Udson e Wagner, pelo auxílio na coleta e identificação dos espécimes, e ao seu comandante, professor Jorge Dergam pela preciosa participação ao longo de todo desenvolvimento do projeto, pela atenção e carinho conosco (equipe Piracicaba).

Às professoras da graduação Larissa Pires Barbosa e Mariana Machado Neves pelo exemplo, profissionalismo, carinho e por abrir portas que me proporcionaram realizar o mestrado, e aos amigos que fiz durante a graduação e me acompanham durante o mestrado: Bruno, Danielle, Marcos, Maytê, Mônica, Pamella e Suellen.

Aos pescadores Anderson Kfuri Araújo e José Maria da Silva, que corajosamente se dispuseram para coleta dos espécimes de peixes.

Ao rio Piracicaba, localizado no leste de Minas Gerais, e aos espécimes de peixes coletados, que através da sua luta pela sobrevivência, nos forneceu dados importantíssimos e preocupantes, que proporcionou esta dissertação.

Ao motorista Nivaldo, que sempre com muita responsabilidade e bom humor nos acompanhou em todas as coletas e dividiu conosco todos os acontecimentos esperados e os inesperados também.

Aos amigos do Cetas (UFV) em especial ao Marcos, Juliano, Seu Zé, Carlão, Moacir, Dudu, Tavela, Thyara, Thaís, e a todos os estagiários pela convivência e aprendizado compartilhado.

Às amigas de república Amanda, Ana Cristina, Ariane, Armanda, Camila, Fernanda, Letícia e Mayra por todos os momentos que compartilhamos nestes dois anos de Viçosa.

À Ariane, Dani e Mayra por serem mais que amigas, minhas irmãs de coração, e por dividirem momentos mais que especiais em minha vida.

Às amigas Aldinéia (Neinha), Carolina (Carol), Fabiane (Bia), Lílian (Li) e Silvânia (Sil) pela verdadeira amizade que perdura por anos, pela companhia em Timóteo e pela torcida.

Ao secretário da pós-graduação do departamento de Biologia Animal, Adnilson Antônio Brasileiro, por todos os *helps* no mestrado.

Aos professores Juliana Silva Rocha, Mariella Bontempo Duca de Freitas, Jorge Abdala Dergam dos Santos e Juraci Alves de Oliveira por participarem da banca examinadora e pela preciosa contribuição no aprimoramento da dissertação.

And last but not least important, a todas as pessoas que compartilharam esses dois anos do mestrado, pois tudo não teria sido tão especial sem a participação de vocês. A todos os amigos que tive oportunidade de fazer e à acolhedora Viçosa, meus sinceros agradecimentos!

BIOGRAFIA

Ana Carolina Torre Morais, filha de Jésus Tarcísio de Morais e Maria das Graças da Torre Morais, nasceu na cidade de Timóteo, Minas Gerais, em 20 de Maio de 1983.

Graduou-se como Bacharel em Ciências Biológicas em Dezembro de 2006, pelo Centro Universitário do Leste de Minas Gerais (UnilesteMG), Ipatinga-MG. Durante sua graduação desenvolveu trabalhos nas áreas de morfologia e morfofisiologia reprodutiva, tendo sido bolsista de iniciação científica por um ano.

Iniciou o curso de Mestrado em Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, em Agosto de 2007, defendendo a dissertação em 03 de Dezembro de 2009.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xvi
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura	2
2.1. Contaminação ambiental	2
2.2. Metais pesados	3
2.2.1. Alumínio (Al)	5
2.2.2. Chumbo (Pb)	5
2.2.3. Manganês (Mn)	6
2.2.4. Zinco (Zn)	6
2.3. Peixes como bioindicadores	7
2.4. Histopatologias	9
3. Caracterização da área de estudo	10
3.1. A bacia do rio Doce	10
3.2. A sub-bacia do rio Piracicaba	12
3.3. Micro-bacia Córrego Timotinho	15
3.4. Pontos de amostragem	16
4. Objetivos	18
4.1. Objetivo Geral	18
4.2. Objetivos Específicos	18

Capítulo I

Determinação dos níveis de metais pesados em músculos de peixes teleósteos do rio Piracicaba, Minas Gerais	19
Resumo	19
1. Introdução	20
2. Material e Métodos	21
2.1. Área de estudo	21
2.2. Pontos de amostragem	21
2.3. Coleta dos animais	22
2.4. Concentração de metais pesados nos músculos de peixes teleósteos	22

2.5. Análise Estatística.....	23
3. Resultados e Discussão.....	23
3.1. Concentração de metais pesados nos músculos de peixes teleósteos.....	23
3.2. Concentração média de Al, Mn, Pb e Zn nos músculos de peixes coletados em três estações do ano.....	25
3.3. Concentração média de Al, Mn, Pb e Zn nos músculos de peixes coletados em dois pontos do rio Piracicaba.....	26
3.4. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos músculos de peixes do rio Piracicaba e valores recomendados pela legislação.....	27
4. Conclusões.....	29

Capítulo II

Concentração de metais pesados e alterações histológicas em brânquias e fígado de <i>Astyanax bimaculatus</i> (LINNAEUS, 1758) e <i>Geophagus brasiliensis</i> (QUOY e GAIMARD, 1824) coletados no rio Piracicaba, Minas Gerais.....	30
Resumo.....	30
1. Introdução.....	30
2. Material e Métodos.....	32
2.1. Espécies de estudo.....	32
2.2. Área de estudo.....	32
2.3. Pontos de amostragem.....	33
2.4. Coleta dos animais.....	33
2.5. Análise dos órgãos.....	34
2.5.1. Análise das brânquias.....	34
2.5.2. Análise do fígado.....	34
2.6. Concentração de metais pesados nas brânquias e fígado de peixes teleósteos.....	35
2.7. Análise Estatística.....	35
3. Resultados e Discussão.....	35
3.1. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nas brânquias e fígado de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	35
3.2. Alterações histopatológicas nas brânquias de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	38
3.3. Alterações histopatológicas no fígado de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	44
3.4. Índice Hepatossomático (IHS) de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> controle e de	

espécimes coletados no rio Piracicaba.....	49
4. Conclusões.....	50

Capítulo III

Concentração de metais pesados e avaliação histopatológica de testículos em <i>Astyanax bimaculatus</i> (LINNAEUS, 1758) e <i>Geophagus brasiliensis</i> (QUOY e GAIMARD, 1824) do rio Piracicaba, Minas Gerais.....	51
Resumo.....	51
1. Introdução.....	51
2. Material e Métodos.....	53
2.1. Espécies de estudo.....	53
2.2. Área de estudo.....	54
2.3. Pontos de amostragem.....	55
2.4. Coleta dos animais.....	55
2.5. Análise dos testículos.....	56
2.6. Concentração de metais pesados nos testículos de peixes teleósteos.....	56
2.7. Análise Estatística.....	56
3. Resultados e Discussão.....	57
3.1. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos testículos de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	57
3.2. Alterações histopatológicas nos testículos de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	58
3.3. Índice Gonadosomático (IGS) de <i>A. bimaculatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	63
4. Conclusões.....	64
5. Conclusões Gerais.....	64
6. Recomendações.....	64
7. Referências Bibliográficas.....	65
Apêndice Tabela 1.....	87
Apêndice Tabela 2.....	88
Apêndice Tabela 3.....	88
Apêndice Tabela 4.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Bacia do rio Doce. Círculo representa os pontos de coleta.....	12
Figura 2. Localização de indústrias e mineradoras na bacia do rio Doce.....	14
Figura 3. Localização dos pontos de coleta no rio Piracicaba: Ponto 1 (foz) e Ponto 2 (montante); Córrego Timotinho (linha amarela); e principais fontes poluidoras entre os pontos de coleta no rio Piracicaba (seta) e no córrego Timotinho (Pátio de minério de ferro – Arcelor Mittal; Emalto – Indústria Mecânica; Parque industrial e Pátio de escória – Arcelor Mittal).....	16
Figura 4. Ponto de amostragem 1 (foz) e deságue do Córrego Timotinho (seta), no rio Piracicaba (MG).....	17
Figura 5. Ponto de amostragem 2 (montante) no rio Piracicaba (MG).....	17

Capítulo I

Figura 1. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos músculos de todos os espécimes de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba em três estações do ano.....	24
Figura 2. Concentração média total de metais pesados ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos músculos de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba durante o outono, inverno e primavera no ano de 2008.....	26
Figura 3. Concentrações médias de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) músculos de peixes teleósteos coletados em dois pontos (Montante (ponto 2); Foz (ponto 1)) ao longo do rio Piracicaba.....	27

Capítulo II

Figura 1. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nas brânquias de <i>Astyanax bimaculatus</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	36
Figura 2. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nas brânquias de <i>Geophagus brasiliensis</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	37
Figura 3. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) no fígado de <i>Astyanax bimaculatus</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	38
Figura 4. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) no fígado de <i>Geophagus brasiliensis</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	38
Figura 5. Fotomicrografia das brânquias de espécimes controles da Piscicultura do Prata e de espécimes coletados no rio Piracicaba.....	43
Figura 5A. Organização das brânquias de espécime controle <i>Astyanax bimaculatus</i> : Lamela	

primária (LP) e lamela secundária (LS). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	43
Figura 5B. Organização das brânquias de espécime controle <i>Geophagus brasiliensis</i> : Lamela primária (LP) e lamela secundária (LS). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	43
Figura 5C. Fotomicrografia da brânquia de <i>A. bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba. Hiperplasia interlamelar (HI), destruição do epitélio lamelar (DEL), fusão lamelar (FL), redução do espaço interlamelar (REI), * edema, destacamento do epitélio lamelar (DL), deleção do epitélio lamelar (DIEL), destruição do seio venoso (DSV). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	43
Figura 5D. Fotomicrografia da brânquia de <i>A. bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba. Redução da área respiratória (RAR), hiperplasia interlamelar (HI), destacamento do epitélio lamelar (DL), * edema, redução do espaço interlamelar (REI), deleção do epitélio lamelar (DIEL), dilatação do seio venoso central (DISV). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	43
Figura 5E. Fotomicrografia da brânquia de <i>G. brasiliensis</i> coletado no rio Piracicaba. Aneurisma (A), fusão lamelar (FL), redução da área respiratória (RAR), hiperplasia interlamelar (HI) e destruição do epitélio lamelar (DEL). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	43
Figura 5F. Fotomicrografia da brânquia de <i>G. brasiliensis</i> coletado no rio Piracicaba. Hiperplasia interlamelar (HI), redução do espaço interlamelar (REI), destacamento do epitélio lamelar (DL) e fusão lamelar (FL). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	43
Figura 6. Fotomicrografia de fígado de espécimes controles da Piscicultura do Prata e de espécimes coletados no rio Piracicaba.....	48
Figura 6A. Organização do tecido hepático de espécime controle <i>Astyanax bimaculatus</i> : Hepatócito (H), citoplasma poliédrico do hepatócito (C), núcleo do hepatócito (N), capilar sinusóide(CS). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B...	48
Figura 6B. Organização do tecido hepático de espécime controle <i>Geophagus brasiliensis</i> : Hepatócito (H), citoplasma poliédrico do hepatócito (C), núcleo do hepatócito (N), capilar sinusóide(CS). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B...	48
Figura 6C. Fotomicrografia de fígado de <i>A. bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba. Degeneração nuclear de hepatócito (DNH), congestão vascular (CV), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), vacuolização (VAC) e degeneração citoplasmática de hepatócito (DCH). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.....	48

Figura 6D. Fotomicrografia de fígado de <i>A. bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba. Vacuolização (VAC), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), redução de hepatócito (RH), perda do formato poliédrico citoplasmático (PFP) e infiltrado leucocitário (IL). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.....	48
Figura 6E. Fotomicrografia de fígado de <i>G. brasiliensis</i> coletado no rio Piracicaba. Desarranjo na estrutura cordonal (DEC), congestão vascular (CV), infiltrado leucocitário (IL), degeneração nuclear de hepatócito (DNH), perda do formato poliédrico citoplasmático (PFP), deslocamento de núcleo (DN) e vacuolização (VAC). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.....	48
Figura 6F. Fotomicrografia de fígado de <i>G. brasiliensis</i> coletado no rio Piracicaba. Vacuolização (VAC), degeneração nuclear de hepatócito (DNH), degeneração citoplasmática de hepatócito (DCH), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), perda do formato poliédrico citoplasmático (PFP), redução de hepatócito (RH). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.....	48

Capítulo III

Figura 1. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos testículos de <i>Astyanax bimaculatus</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	57
Figura 2. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos testículos de <i>Geophagus brasiliensis</i> controles e coletados no rio Piracicaba.....	57
Figura 3. Fotomicrografia de testículo de espécimes controles da Piscicultura do Prata e de espécimes coletados no rio Piracicaba.....	62
Figura 3A. Organização testicular de espécime controle <i>Astyanax bimaculatus</i> : Cisto (C), lúmen (L), intertúbulo (I). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.....	62
Figura 3B. Organização testicular de espécime controle <i>Geophagus brasiliensis</i> : Cisto (C), lúmen (L), intertúbulo (I). Barra: 20 µm. Azul de toluidina.....	62
Figura 3C. Fotomicrografia de testículo de <i>A. bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba: Fibrose (F), degeneração testicular (DT), desarranjo na estrutura de cisto (DEC). Barra: 20 µm. Azul de toluidina.....	62
Figura 3D. Fotomicrografia de testículo de <i>A. bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba: Degeneração celular (DC), desarranjo na estrutura de cisto (DEC), deslocamento da parede do cisto (DPC) e ruptura de cisto (RC). Barra: 20 µm. Azul de toluidina.....	62
Figura 3E. Fotomicrografia de testículo de <i>Astyanax bimaculatus</i> coletado no rio Piracicaba: Aglomerado celular (AC) e em destaque, retardo no desenvolvimento celular	

(RDC), degeneração celular (DC) e ruptura de cisto (RC). Barra: 20 μ m. Azul de toluidina..... 62

Figura 3F.Fotomicrografia de testículo de *G. brasiliensis* coletado no rio Piracicaba: Aglomerado celular (AC), vacuolização de espermatogônia (VG), degeneração celular (DC) e deslocamento da parede do cisto (DPC). Barra: 20 μ m. Azul de toluidina..... 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de efluentes industriais que contém íons metálicos dissolvidos (LARSON e WEINCEK, 1994).....	4
Tabela 2. Avaliação da eficiência do tratamento de efluentes de indústrias na sub-bacia do rio Piracicaba (PIRHDOCE, 2009).....	15

Capítulo I

Tabela 1. Concentração de Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em brânquias (B), fígado (F), músculo (M), testículo (T) e ovário (O), de peixes teleósteos do rio Piracicaba.....	23
Tabela 2. Concentrações médias de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos músculos de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba, e os limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos em alimentos definidos pelo Ministério da Saúde em “ppm” (Partes Por Milhão) equivalentes à $\mu\text{g g}^{-1}$	28

Capítulo II

Tabela 1. Percentual de alterações histopatológicas branquiais detectadas em <i>Astyanax bimaculatus</i> e <i>Geophagus brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	39
Tabela 2. Percentual de histopatologias do tecido hepático em <i>Astyanax bimaculatus</i> e <i>Geophagus brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	44
Tabela 3. Peso corporal (g), peso do fígado (g) e índice hepatossomático (IHS) (%) médio e erro padrão de espécimes controle e coletados no rio Piracicaba.....	49

Capítulo III

Tabela 1. Percentual de histopatologias detectadas nos testículos de <i>Astyanax bimaculatus</i> e <i>Geophagus brasiliensis</i> coletados no rio Piracicaba.....	59
Tabela 2. Peso corporal (g), peso dos testículos (g) e índice gonadossomático (IGS) (%) médio e erro padrão de espécimes controle e coletados no rio Piracicaba.....	63

RESUMO

MORAIS, Ana Carolina Torre. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2009. **Concentração de metais pesados em peixes teleósteos do rio Piracicaba, Minas Gerais, Brasil.** Orientador: Sérgio Luis Pinto da Matta. Co-orientadores: Jorge Abdala Dergam dos Santos e Juraci Alves de Oliveira.

Metais pesados ocorrem naturalmente no ambiente, entretanto atividades antropogênicas provocam aumento destes nos ecossistemas aquáticos, o que ameaça a saúde dos organismos aquáticos e terrestres, inclusive o homem. Assim, objetivou-se determinar a contaminação por metais pesados e seus efeitos através do biomonitoramento de peixes teleósteos do rio Piracicaba (MG), visando à obtenção de um instrumento medidor da qualidade ambiental. As coletas dos espécimes foram realizadas em dois pontos ao longo do rio Piracicaba, situados na cidade de Timóteo. Foram coletados 63 espécimes ao longo de 3 coletas, sendo que 40 espécimes foram coletados no ponto 1 e o restante no ponto 2. Fragmentos de músculo, brânquias, fígado e gônadas foram coletados de todos os espécimes, mas as análises histopatológicas foram realizadas nas brânquias, fígado e testículos somente de duas espécies coletadas: *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis*. Em relação à concentração dos metais nos fragmentos musculares, houve maior concentração de alumínio (Al) ($259,15 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), seguido pela concentração de chumbo (Pb) ($141,49 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), zinco (Zn) ($50,41 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) e manganês (Mn) ($14,91 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), sendo que as concentrações de Pb e Zn detectadas nos músculos dos peixes excederam o limite máximo de tolerância estabelecido pelo Ministério da Saúde. A concentração total dos metais analisados no músculo foi maior no inverno ($174,87 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), seguido pelo outono ($145,07 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) e então o verão ($29,53 \mu\text{g g}^{-1}$ MS). O *G. brasiliensis* apresentou resposta histopatológica mais expressiva que *A. bimaculatus*, mesmo sendo detectada maior concentração de metais no *A. bimaculatus* em relação a *G. brasiliensis*. O Pb foi o metal que apresentou maior concentração em ambas as espécies. A maior resposta histopatológica em *G. brasiliensis* coloca esta espécie como potencial bioindicadora da qualidade ambiental do rio Piracicaba. O índice hepatossomático destas duas espécies foi maior nos espécimes do rio comparado aos espécimes controle, fato este que pode ter ocorrido em resposta à contaminação do rio. Houve alta concentração de metais nos testículos destas duas espécies coletadas no rio Piracicaba, comparando-se com as do grupo controle, sendo o Pb o metal que apresentou maior concentração em ambas as espécies. O índice gonadossomático (IGS) médio dos controles foi maior do que o IGS dos espécimes coletados, o que pode estar correlacionado com a grande concentração de metais nas gônadas, o que provavelmente prejudicou o processo

espermatogênico, bem como no peso testicular. Pode-se concluir que os espécimes de peixes do rio Piracicaba apresentaram altas concentrações teciduais de todos os metais analisados, sendo que algumas destas se encontram acima do limite de tolerância estabelecida pelo Ministério da Saúde, representando risco à saúde dos consumidores deste pescado. É possível afirmar que as alterações histológicas detectadas nos órgãos analisados revelam que o ambiente está contaminado e que estas foram produzidas em resposta a exposição direta a este ambiente, refletindo num comprometimento da saúde e do processo reprodutivo dos peixes que o habitam.

ABSTRACT

MORAIS, Ana Carolina Torre. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2009. **Concentration of heavy metals in teleost fish species from Piracicaba River, Minas Gerais state, Brazil.** Advisor: Sérgio Luis Pinto da Matta. Co-advisors: Jorge Abdala Dergam dos Santos and Juraci Alves de Oliveira.

Heavy metals occur naturally in the environment, however anthropogenic activities can cause an increase of metals in the ecosystems, threatening the health of aquatic and terrestrial organisms, including men. Thus, the aim of this study was to determine the contamination by heavy metal of teleost fish from Piracicaba River (MG) and its effects on biomonitoring, aiming to provide a tool for measuring environmental quality. Specimens were collected in two locations of Piracicaba River, placed in Timóteo city, Minas Gerais state, Brazil. Sixty-three specimens were collected in three different collection days, 40 specimens were collected in location 1 and the remainder in location 2. Specimens were euthanized, and muscle, gills, liver, gonads were collected. Concentration of heavy metals was assessed in all tissues collected from all species. However, histopathological analyses were performed only in gills, liver and testes from two species: *Astyanax bimaculatus* and *Geophagus brasiliensis*. The concentration of aluminum (Al) ($259,15 \mu\text{g g}^{-1}$ DW) in muscle fragments was the highest, followed by lead (Pb) ($141,49 \mu\text{g g}^{-1}$ DW), zinc (Zn) ($50,41 \mu\text{g g}^{-1}$ DW) and manganese (Mn) ($14,91 \mu\text{g g}^{-1}$ DW). Of note, the concentrations of Pb and Zn detected in the muscle of the fish collected exceeded the safe limits established by the Health Ministry of Brazil. Regarding the season of the year, the concentration of metals in muscle was the highest during winter ($174,87 \mu\text{g g}^{-1}$ DW), followed by autumn ($145,07 \mu\text{g g}^{-1}$ DW) and then summer ($29,53 \mu\text{g g}^{-1}$ DW). The species *G. brasiliensis* presented more histopathological alterations, compared to *A. bimaculatus*, even though the latter presented larger concentration of metals. The metal Pb was the highest concentrated in both species. The higher histopathological response of *G. brasiliensis* permits us to suggest this species as a suitable indicator of environmental quality of the Piracicaba River. The values for hepatosomatic index of these two species were higher for the specimens from the river compared to the controls, and this may have occurred in response to the contamination of the river. The testes of these two species collected in the river presented higher concentration of metals, compared to controls. Of note, Pb was the highest concentrated metal in the testes of both species. The gonadosomatic index (IGS) of the two species from the control group was higher than the IGS of the specimens collected in the river, and these smaller values can be correlated to the higher concentration of metals in this group, what may be impairing the spermatogenic process. In conclusion, the fish

specimens from the Piracicaba River presented the concentration of all metals in their muscle; some values were above the safe limits established by the Health Ministry, what represents a risk to people who ingest this fish. The histopathological alterations detected in the analyzed tissues permits us to infer that the environment is contaminated and that the alterations were produced in response to direct exposure to this environment, leading to the impairment of health and reproductive processes of fish that inhabit it.

1. Introdução

As reservas hídricas da Terra são estimadas em 1.400.000 km³, porém apenas 2% desta é composta de água doce, constituindo os rios, lagos e águas subterrâneas. Geleiras permanentes e neve representam cerca de 1%, e apenas 0,0005% são de vapor d'água na atmosfera. Excluindo-se a água contida nas calotas polares e nos aquíferos, a humanidade conta com pouco mais de 20.000 km³ de águas de rios e lagos para suprir suas demandas. Destes recursos, cerca da metade (9.460 km³) encontram-se na América do Sul (REBOUÇAS, 1999).

Acompanhando o crescimento da humanidade e sua capacidade tecnológica, particularmente após a Revolução Industrial do século XIX, surgiram conflitos quanto ao uso do espaço, dos recursos e da disposição dos resíduos no ambiente. Assim, o alto nível de industrialização, a intensa atividade agrícola e a necessidade do aumento de produção advinda do aumento na densidade populacional, contribuíram significativamente para o aumento dos lançamentos de despejos e resíduos nos cursos d'água, principalmente em áreas geográficas próximas aos baixios de rios e regiões litorâneas (ZAGATTO, 2006).

Os ecossistemas aquáticos são considerados receptores finais de contaminantes liberados no ambiente, estando susceptíveis à ação de contaminantes aéreos, que chegam aos corpos d'água por deposição atmosférica; de contaminantes terrestres, que atingem os ambientes aquáticos através do escoamento destes pelas chuvas; e de efluentes domésticos e industriais, que são lançados sem tratamento diretamente neste ecossistema (DOMINGOS, 2006). Dentre os contaminantes ambientais, encontram-se os metais pesados, que são altamente resistentes à degradação. Com a crescente contribuição antropogênica na liberação de metais para os corpos d'água, verifica-se o aumento nos níveis de metais nestes sistemas, o que gera preocupação no sentido de toxicidade inerente (biodisponibilidade), ou seja, a capacidade destes elementos químicos serem incorporados por organismos (inclusive o homem) que direta ou indiretamente estão em contato ou fazem uso dos recursos hídricos (FORSTNER e WITTMANN, 1981). A contaminação com metais pesados tem sido relatada em organismos aquáticos (OLOJO *et al.*, 2005), estes poluentes acumulam-se na cadeia alimentar e são responsáveis pelos efeitos adversos e morte destes organismos (FARKAS *et al.*, 2002). Assim, os peixes têm sido utilizados na avaliação da saúde dos ecossistemas aquáticos e as alterações fisiológicas e morfológicas encontradas nestes servem como biomarcadores de poluição ambiental (KOCK *et al.*, 1996). Dentro deste contexto, há a necessidade de monitorar e controlar a contaminação dos ecossistemas aquáticos, principalmente em relação aos metais pesados, que se encontram entre os contaminantes mais

tóxicos e persistentes no ambiente aquático, acumulando-se nos compartimentos ambientais e nos organismos que neles vivem.

O rio Piracicaba, que exibe estas características de ambiente contaminado, apresenta a pesca como atividade amplamente utilizada pelas comunidades pobres que vivem no entorno deste, podendo assim a população estar sendo contaminada pelos metais pesados que estão sendo bioacumulados nos peixes. Esta bioacumulação causa danos à saúde dos mesmos, refletidos em alterações teciduais nos órgãos vitais, bem como a interferência nos processos reprodutivos.

2. Revisão de Literatura

2.1. Contaminação Ambiental

A ação antrópica sobre o meio aquático é a principal responsável pela maioria das alterações nos recursos hídricos. Os rios têm sido usados como depositários de rejeitos por muitos anos, o que tem alterado profundamente o estado natural do meio aquático. As alterações da qualidade da água representam uma das maiores evidências do impacto das atividades humanas sobre a biosfera (PORTO *et al.*, 1991).

Os sinais da poluição tornam-se mais evidentes com o aumento populacional. Entretanto, a partir da década de 1960 a poluição tornou-se um fato reconhecido internacionalmente devido aos problemas causados ao homem e ao ambiente, em decorrência de acidentes com produtos químicos, causando assim repercussão mundial (ZAGATTO, 2006). Dentre estes acidentes, pode-se citar o uso indiscriminado do pesticida DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano) durante os anos 1940, que em função da sua alta persistência ambiental, é um produto altamente bioacumulável e apesar de suas vantagens contra doenças e pragas, provocou o declínio na população de algumas espécies de aves nos Estados Unidos (CARSON, 1962; HOFFMAN *et al.*, 1995). No Japão, a contaminação de ambientes por metais pesados foi ignorada até o trágico evento em Minamata (1932), onde, através da contínua descarga de metil-mercúrio, houve contaminação da baía, biomagnificação através de cadeia trófica e séria intoxicação aos seres humanos, causando a morte de centenas de pessoas, além de deformações fetais em gestantes. Depois desse acidente, o mundo se viu obrigado a controlar os teores de metais pesados nos ambientes aquáticos (VASQUEZ *et al.*, 1999).

Nos anos 1950 e 1960, paralelamente à identificação dos agentes tóxicos e suas fontes pontuais de poluição, foram estabelecidos, em vários países, critérios e padrões que permitiram a disposição desses agentes em níveis compatíveis à manutenção da qualidade dos recursos hídricos. Tais critérios e padrões foram estabelecidos com ênfase na potabilidade da

água. Entretanto, no que se refere à proteção da vida aquática, apenas os norte-americanos e soviéticos fizeram referência a esse aspecto em sua legislação (WHO, 1967). Assim, mesmo que de forma rudimentar, os níveis de substâncias tóxicas aceitáveis para a biota aquática foram estabelecidos com base nos efeitos dos agentes tóxicos isolados, ou seja, não foram consideradas as interações que poderiam potencializar ou reduzir os efeitos danosos de misturas desses agentes químicos aos organismos aquáticos (BERTOLETTI, *et al.*, 1989). No Brasil, somente em 1976 foram estabelecidos os padrões de substâncias visando assegurar a qualidade das águas interiores (Decreto 8468, de 8 de setembro de 1976, do Estado de São Paulo, que aprova o regulamento da Lei nº 997, de 31 de maio de 1976). Entretanto, cabe ressaltar que tais padrões não contemplaram aqueles necessários à preservação da vida aquática (BERTOLETTI *et al.*, 1989). Com novos conhecimentos oriundos dos testes de toxicidade crônica e sistemas-teste mais eficientes, foi possível se obter critérios de qualidade da água mais seguros para o ambiente, integrando assim, dentre outros parâmetros ecotoxicológicos, resultados de efeitos crônicos e bioacumulação na ictiofauna, que são relevantes para a preservação da vida nestes ecossistemas (ZAGATTO, 2006).

2.2. Metais Pesados

O termo “metal pesado”, embora não seja bem definido, é amplamente reconhecido e utilizado para um grupo de metais que estão associados à poluição e à toxicidade. São exemplos destes metais, o chumbo, cádmio, mercúrio, arsênio e urânio. São também incluídos nesta denominação alguns outros, como o cobalto, cobre, manganês, selênio e zinco, os quais são considerados elementos biologicamente essenciais, quando em baixas concentrações. Mas quando estes aparecem em concentrações mais elevadas podem causar toxicidade aos organismos (ESTEVES, 1988).

As principais fontes antrópicas de metais no ambiente são: água de irrigação contaminada, queima de biomassa na zona rural, emissões veiculares, incineração de resíduos urbanos e industriais e, principalmente, efluentes industriais, de mineração, de siderurgia e da galvanoplastia (Tabela 1) (LARSON e WEINCEK, 1994).

Tabela 1. Exemplos de efluentes industriais que contém íons metálicos dissolvidos (LARSON e WEINCEK, 1994).

Metais	Íons	Efluentes Industriais
Alumínio (Al)	Al^{+3}	Águas da anodização de peças
Cádmio (Cd)	Cd^{+2}	Indústria de automóvel; produção de ligas metálicas, metais não ferrosos, eletrodo de baterias
Cério (Ce)	Ce^{+2}	Produção de ligas metálicas
Cobre (Cu)	Cu^{+2}	Produtos eletrólitos e produção de compostos de cobre
Cromo (Cr)	$Cr_2O_7^{-2}$; CrO_4^{-2} e Cr^{+3}	Indústria do couro
Ferro (Fe)	Fe^{+2} e Fe^{+3}	Águas das aciarias e mineração e tratamento de superfícies
Mercúrio (Hg)	Hg^{+2}	Pilha cloro-álcali e mineração de ouro
Chumbo (Pb)	Pb^{+2}	Fabricação de acumuladores
Zinco (Zn)	Zn^{+2}	Processos de galvanoplastia
Níquel (Ni)	Ni^{+2}	Processos de galvanoplastia

Metais pesados e compostos organoclorados podem ser perigosos nos níveis registrados no ambiente, pois tratam-se de poluentes estáveis (não são degradados ou, quando degradados, demandam longos períodos de tempo), o que acarreta sua permanente adição ao meio aquático. Conseqüentemente apresentam significativo potencial para bioacumulação na biota aquática, podendo, inclusive, biomagnificar-se ao longo de cadeias alimentares (BURATINI e BRANDELLI, 2006). Os metais apresentam múltiplos mecanismos de toxicidade, pois os íons metálicos têm alta afinidade por moléculas contendo átomos de nitrogênio e enxofre, portanto ligam-se com relativa facilidade a proteínas e macromoléculas celulares. Assim, sua toxicidade se deve principalmente à sua capacidade de interferir em reações enzimáticas (bloqueando, deslocando o íon essencial ou modificando a conformação ativa de biomoléculas) e também à sua baixa mobilidade, em virtude das pequenas dimensões. Essa fraca mobilidade faz com que se acumulem, modificando profundamente o metabolismo do organismo (CONNELL e MILLER, 1984).

Os metais também podem se ligar covalentemente a átomos de carbono em um grupo orgânico, como o grupo metil ($-CH_3$), originando os chamados compostos organometálicos. Os compostos organometálicos neutros tendem a ser lipossolúveis, o que facilita seu movimento através de membranas biológicas, permanecendo intactos após essa passagem e distribuindo-se a vários compartimentos. Esse processo de metilação ocorre naturalmente e é

responsável por grande parte da mobilidade ambiental de alguns metais pesados. Dentre os elementos para os quais são encontradas formas metiladas no ambiente, destacam-se o mercúrio e o chumbo (BURATINI e BRANDELLI, 2006).

2.2.1. Alumínio (Al)

O alumínio é o terceiro elemento mais abundante na Terra e o metal mais abundante de sua crosta (CSUROS e CSUROS, 2002). A maior parte do alumínio ocorre nos aluminossilicatos tais como: argilas, micas e feldspatos. A utilização deste metal se dá em indústrias automobilísticas e também nas estruturas das ligas que incorporam pequenas quantidades de cobre, silício e manganês, entre outros metais (SILVA, 2002).

Até recentemente, o alumínio não era considerado tóxico, mas a partir da descoberta de que pacientes com a Doença de Alzheimer possuem alta concentração de alumínio em certas células do cérebro, a medicina começou a focar suas pesquisas na ingestão elevada de alumínio com um possível fator causal desta doença (GARRUTO *et al.*, 1990; CSUROS e CSUROS, 2002). Doenças causadas por intoxicação com alumínio costumam ocorrer pela inalação por operários de fábricas que produzem ou utilizam alumínio em pó, produzindo pneumopatia crônica. Bem absorvido pelo trato gastrintestinal, o alumínio em excesso pode ter origem em alimentos, água, utensílios e embalagens com alumínio na composição e alimentos e medicamentos estocados, como os antiácidos (CSUROS e CSUROS, 2002). Sua excreção ocorre através da urina, na forma de citrato de alumínio e a redução da função renal pode associar-se com seu acúmulo no organismo (SJÖGREN *et al.*, 2007).

2.2.2. Chumbo (Pb)

O chumbo ocorre na crosta terrestre em concentração aproximada de 16mg/kg na forma de vários minerais, na qual o mais importante é a galena (PbS), sendo suas formas estáveis o Pb^{2+} e Pb^{4+} (OHLWEILER, 1972). O chumbo é usado na fabricação de baterias, munição, como antidetonante na gasolina, na preservação de madeira, em tintas, secantes para tintas, brinquedos, canos, indústrias petrolífera e em óleos lubrificantes (MAHAN, 1995). O chumbo é um metal que tem efeito acumulativo no organismo, provocando doença crônica (saturnismo), cujos efeitos tóxicos podem ser exemplificados como hematológicos, neurológicos, encefalopáticos com sintomas de coma e convulsões, efeitos sobre o sistema nervoso central, psicológicos, renais, mutagenicidade e sobre a reprodução (PAOLIELLO e CHASIN, 2001). A possibilidade de o chumbo causar câncer em seres humanos não é bem conhecida. Entretanto, pesquisas revelam que roedores desenvolvem tumores, quando expostos a altas doses do metal. O Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados

Unidos tem constatado a possibilidade dos acetatos e fosfatos de chumbo serem carcinogênicos (EPA, 1999). A ingestão de chumbo também ocorre pela contaminação dos alimentos, e seus efeitos na saúde humana dependem da intensidade e duração da exposição. Dependendo do nível desta exposição podem ocorrer uma série de efeitos colaterais (PAOLIELLO e CHASIN, 2001).

2.2.3. Manganês (Mn)

O manganês também é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre (SILVA, 2002) e parte deste metal encontrado nas águas dos rios tem origem no solo, devido à liberação direta no leito e margens dos rios ou então veiculado pelo ar, no qual grande parte se deposita junto ao sedimento no fundo, podendo ser bioacumulado pelos níveis tróficos inferiores (SARIC e LUCCHINI, 2007). O manganês é usado principalmente como aditivo no aço, sendo utilizado também em ligas metálicas, pilhas e baterias secas, em fertilizantes, compostos orgânicos para secagem de tintas e reagentes químicos (SILVA, 2002).

Este metal é ativador de diversas enzimas necessárias para a síntese da hemoglobina, crescimento, reprodução, formação óssea, produção e excreção de insulina e prevenção de dano celular. Até recentemente a toxicidade do manganês em humanos tinha sido demonstrada apenas com a exposição a altas doses no ar. A exposição aguda a este metal pode causar a morte e a exposição crônica, atingindo principalmente mineiros, apresenta sintomas neurológicos, como a característica psicose por manganês (CSUROS e CSUROS, 2002). Nos últimos anos têm surgido relatos de associação da ingestão crônica de níveis elevados de manganês com deficiência intelectual de crianças e aumento da mortalidade infantil, bem como sua associação com a Doença de Parkinson (HAFEMAN *et al.*, 2007; FINKELSTEINS *et al.*, 2008; STEPENS *et al.*, 2008).

2.2.4. Zinco (Zn)

O zinco é um dos elementos mais comuns na Terra e pode ser encontrado no ar, no solo, na água e está naturalmente presente nos alimentos (AZEVEDO e CHASIN, 2003). O zinco é utilizado na metalurgia (fundição e refinação), na produção de óxido de zinco, borrachas, herbicidas e inseticidas, na fabricação de baterias, tintas, cerâmica, cosméticos, fertilizantes, em indústrias gráficas (foto-impressão), no tingimento de tecidos, na preservação de madeiras e na indústria de medicamentos (MAHAN, 1995). Grandes quantidades de zinco entram no ambiente como resultados de atividades antropogênicas, como a mineração, purificação do zinco, cádmio e chumbo, produção de aço e queima de carvão e lixo. O lixo de indústrias químicas que utilizam o zinco, os esgotos domésticos e as correntes de água pluvial

de solos podem transportar este metal e contaminar o ambiente aquático (AZEVEDO e CHASIN, 2003). No ambiente aquático, a toxicidade do zinco é modificada por fatores ambientais como dureza da água, oxigênio dissolvido e temperatura (MOORE e RAMAMOORTHY, 1984).

O zinco tem funções importantes no organismo, pois participa de reações que envolvem a síntese ou a degradação de metabólitos maiores, como carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, além da estabilização de estruturas de proteínas e ácidos nucleicos e na integridade de organelas celulares, assim como nos processos de transporte, funções imunológicas e informação genética. Além disso, o zinco é essencial para a mobilização hepática da vitamina A, que atua na maturação sexual, fertilidade e reprodução, na função fagocitária e na imunitária celular. A deficiência de zinco no organismo provoca diminuição do paladar, anorexia, apatia, retardo do crescimento, alopecia, hipogonadismo, hipospermia e retardamento da maturação sexual, intolerância a glicose e deficiência de imunidade. A toxicidade provocada pelo zinco pode ser tanto aguda como crônica. Quando aguda provoca náuseas, vômitos e dores abdominais, e quando crônica provoca deficiência de cobre e anemia (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 1998).

2.3. Peixes como bioindicadores

Os bioindicadores podem ser definidos como organismos ou sistemas biológicos que reagem a alterações ambientais com a modificação de suas funções vitais normais e/ou da sua composição química, refletindo o quadro ambiental vigente, ou, em outros termos, sinalizando um evento ou condição num sistema biológico ou amostra, que fornece uma medida de exposição, efeito ou susceptibilidade (AITIO, 2007).

A utilização de peixes como bioindicadores apresenta várias vantagens (FLOTEMERSCH *et al.*, 2006), dentre as quais podem ser citadas:

- a utilização de espécies que representam variadas categorias tróficas e utilizam alimentos de origem terrestre e aquática;
- sua posição no topo da cadeia alimentar aquática, quando comparada com organismos de níveis tróficos mais baixos, oferece uma visão integrada do corpo hídrico, pois são reflexo do que ocorre nesses níveis inferiores;
- podem estar presentes em comunidades aquáticas de todos os tamanhos, como arroios, pequenos e grandes rios, represas e lagoas e, inclusive, nos mares;

- são bons indicadores de efeitos a longo prazo e condições do habitat numa escala ampla, pois têm ciclos de vida mais longos que alguns outros organismos utilizados como bioindicadores, além de ocuparem o espaço numa escala bem maior que organismos menores;
- vivem todo seu ciclo de vida na água, sendo integrantes da história física, química e biológica desse ambiente.

Os metais pesados são potencialmente nocivos para a maioria dos organismos, dependendo dos níveis de exposição e de absorção. Sua presença no ambiente tem aumentado em algumas áreas para níveis que ameaçam a saúde dos organismos aquáticos e terrestres, inclusive o homem. Assim, é crescente o número de estudos que relatam a presença de resíduos de metais em espécies de peixes marinhos e de água doce (HORNUNG e RAMELOW, 1987; EL-DEEK *et al.*, 1994; ABOU-ARAB *et al.*, 1996; KARGÝN, 1996; ROMEO *et al.*, 1999). O conhecimento a respeito da mobilidade e concentração destes elementos tóxicos na cadeia trófica tem importância prática e imediata quando se admite a possibilidade de contaminação humana, e isto tem incentivado a pesquisa de sua biodisponibilidade e acumulação em diversos organismos aquáticos (VIRGA *et al.*, 2007; CASAS *et al.*, 2008; KEUNG *et al.*, 2008).

Vários metais podem ser tóxicos aos peixes e a outros organismos aquáticos, dentre eles: mercúrio, cádmio, cobre, cromo, níquel, alumínio, manganês e zinco. Esses metais podem ser comumente encontrados em baixa concentração nos ambientes aquáticos. No entanto a presença desses poluentes nas águas causa preocupação em razão do risco de ocorrência da bioacumulação e até mesmo a biomagnificação (MATOS, 2001), dada a capacidade dos organismos aquáticos em absorver e bioacumular contaminantes presentes na água ou no alimento (AKAISHI *et al.*, 2004). A absorção de xenobiótico pelos peixes a partir da água contaminada se dá por uma série de passos fisiológicos que controlam e comandam as taxas de assimilação e a extensão da acumulação. A acumulação de xenobióticos hidrofóbicos pode mudar em função de características inter e intra-específicas (CONNELL, 1997). Um peixe pode ser exposto a uma mistura elementos ou compostos químicos tanto em contato com a água como nos alimentos que ingere. O acúmulo e toxicidade dependem não só da concentração química total no ambiente, mas também de como o peixe pode facilmente absorver estas distintas espécies químicas pelas brânquias, através da pele, dentro do aparelho digestivo e sobre como a especificidade química afeta a distribuição do metal no organismo. Assim, o produto químico será mais ou menos biodisponível para um local de ação, dependendo das suas características e dos atributos dos organismos (DI GIULIO e HINTON, 2008). As respostas biológicas a contaminantes ambientais podem se manifestar em vários níveis de organização, desde o molecular, no qual a integridade genética e os processos

subcelulares são avaliados, até o ecossistêmico, no qual a dinâmica e estrutura das cadeias alimentares podem ser afetadas. Estas respostas ao estresse provocado pelos poluentes podem ser utilizadas para indicar sinais iniciais de danos aos peixes e são denominadas biomarcadores (ADAMS *et al.*, 1992).

2.4. Histopatologias

A análise histopatológica tem sido testada e proposta como uma ferramenta eficiente e sensível para o monitoramento da saúde dos peixes e da poluição ambiental em corpos d'água naturais (TEH *et al.*, 1997; HANDY *et al.*, 2002; WESTER *et al.*, 2002; STENTIFORD *et al.*, 2003). O crescente número de estudos sobre biomarcadores histopatológicos está ligado ao fato da histopatologia refletir a saúde dos peixes de forma mais direta do que biomarcadores bioquímicos, permitindo que os efeitos de toxicidade possam ser extrapolados para a comunidade e para o ecossistema (AU, 2004).

Os estudos histopatológicos merecem destaque, uma vez que ajudam a identificar órgãos alvos da toxicidade e seus mecanismos de ação. Além disso, os efeitos em níveis histológicos são visíveis após a exposição a baixas concentrações de substâncias tóxicas em comparação a outras medidas de toxicidade tais como mortalidade e mudanças comportamentais (WESTER *et al.*, 2002). Fortes indicações de uma relação entre poluição aquática e doenças/histopatologias de peixes foram relatadas por diversos autores (ARELLANO *et al.*, 2000; FRACÁCIO *et al.*, 2003; ORTIZ *et al.*, 2003; DOMINGOS, 2006; CAMPOS, 2007; MALABARBA e FLORES-LOPES, 2007; CAMPAGNA *et al.*, 2008; FERNANDES *et al.*, 2008; MESSAOUDI *et al.*, 2008; KELLY e JANZ, 2009). A histopatologia representa uma resposta de nível mais apurado, refletindo alterações prévias nas funções fisiológicas ou bioquímicas (HINTON *et al.*, 1992). Tecidos como brânquias e fígado são frequentemente utilizados em tais análises (ARELLANO *et al.*, 2000). As brânquias dos peixes desempenham diversas funções fisiológicas, incluindo trocas gasosas respiratórias, osmorregulação, excreção nitrogenada e controle de equilíbrio ácido-base (HOAR e RANDALL, 1984). O contato permanente com o ambiente aquático e sua grande área de superfície são as principais razões que tornam as brânquias dos peixes um órgão-alvo da poluição. Geralmente, devido a essas características, as brânquias são o primeiro órgão a reagir a condições ambientais desfavoráveis (POLEKSIC' e MITROVIC'-TUTUNDZIC', 1994).

Outro órgão utilizado nas avaliações histopatológicas é o fígado. Algumas das principais funções deste órgão são a síntese e secreção de proteínas, a produção e secreção da vesícula biliar, o metabolismo e a desintoxicação de drogas lipofílicas, a síntese e secreção de

lipoproteínas e a produção de uréia, a partir de íons de amônio. Diversos estudos demonstram uma associação entre lesões hepáticas e exposição a contaminantes químicos. Muitas substâncias não apresentaram toxicidade na sua forma original, entretanto, após serem metabolizadas no fígado, transformam-se em subprodutos altamente tóxicos. Dessa forma, o fígado pode sofrer sérias alterações morfológicas em decorrência da exposição do peixe a algum xenobiótico (FANTA *et al.*, 2003).

Em relação ao aparelho reprodutor, a exposição a substâncias tóxicas em diferentes fases do ciclo de vida tem como características gerais o retardamento de fases de desenvolvimento e da maturação gonadal, a redução no número e viabilidade de gametas, as histopatologias e a redução do número e viabilidade de descendentes (RAND e PETROCELLI, 1985; ADAMS, 1990). Alguns estudos têm sido realizados visando à caracterização dos efeitos de metais pesados na reprodução de peixes, demonstrando assim, que os metais podem provocar efeitos deletérios no processo reprodutivo dos mesmos (BILLARD *et al.*, 1978; VUORINEN *et al.*, 2003; HINCK *et al.*, 2007; LIZARDO-DAUDT *et al.*, 2007; GREENFIELD *et al.*, 2008). Assim, biomarcadores histopatológicos de exposição à xenobióticos têm sido amplamente reconhecidos como ferramentas valiosas para detecção de efeitos crônicos adversos nos organismos após exposição a contaminantes (MYERS *et al.*, 1994).

3. Caracterização da área de estudo

3.1. A bacia do rio Doce

O estado de Minas Gerais, pela sua posição geográfica, possui um sistema hidrográfico que abrange a maior parte das bacias brasileiras, com exceção da Amazônica. Ao todo, são 15 bacias, dentre estas, São Francisco, Grande, Paranaíba, Doce e Jequitinhonha, representam as cinco maiores bacias hidrográficas do estado, e drenam cerca de 90% da sua área, o que lhe confere um enorme potencial hídrico. A bacia do rio São Francisco é a maior delas e drena 40% do território mineiro. A segunda maior bacia, a do rio Grande, drena 15% do Estado. As bacias do rio Paranaíba e do rio Doce drenam cada uma, 12% do território de Minas Gerais. Dentre as maiores, a bacia do rio Jequitinhonha drena 11% do Estado ocupando o quinto lugar em tamanho (DRUMMOND *et al.*, 2005).

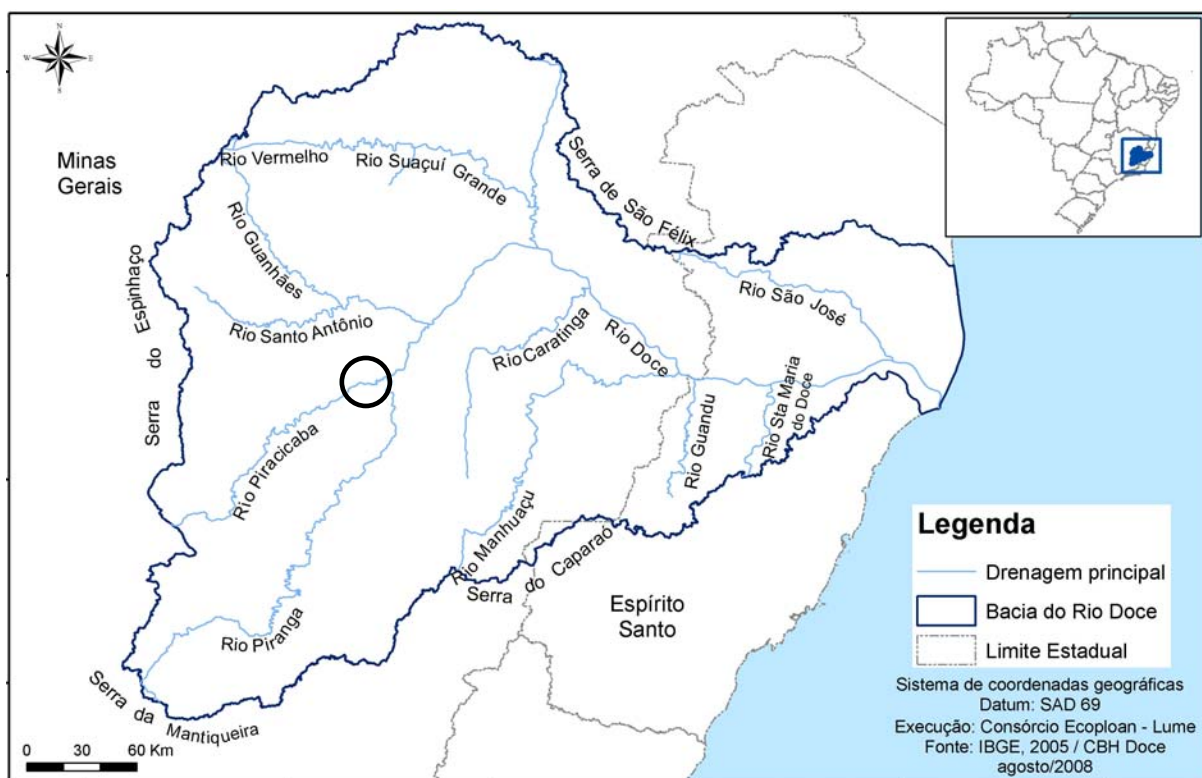
A área de estudo localiza-se na bacia hidrográfica do rio Doce, situada na região Sudeste, entre os paralelos 18°45' e 21°15' de latitude sul e os meridianos 39°55' e 43°45' de longitude oeste, compreendendo uma área de drenagem de cerca de 83.400 km², dos quais 86% pertencem ao Estado de Minas Gerais e o restante ao Espírito Santo, abrangendo um total de 228 municípios, sendo 202 em Minas Gerais e 26 no Espírito Santo, com uma

população total de 3,1 milhões de habitantes (Figura 1) (CBH-DOCE, 2009). A bacia do rio Doce limita-se ao sul com a bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, a oeste com a bacia do rio São Francisco, e, em pequena extensão, com a do rio Grande. Ao norte, limita-se com a bacia dos rios Jequitinhonha e Mucuri e a noroeste com a bacia do rio São Mateus (CBH-DOCE, 2009). Seus principais afluentes em Minas Gerais, pela margem esquerda são os rios: Carmo, Piracicaba, Santo Antônio, Corrente Grande e Suaçuí Grande; e pela margem direita os rios: Casca, Matipó, Caratinga/Cuieté e Manhuaçu. No Espírito Santo, pela margem esquerda os rios São José e Pancas e pela margem direita os rios Guandu, Santa Joana e Santa Maria do Rio Doce (PIRHDOCE, 2009).

Toda a drenagem do rio Doce encontra-se inserida no bioma Mata Atlântica, atualmente reduzido a menos de 8% de sua área original (CONSERVATION INTERNATIONAL, 2000). A cobertura vegetal da bacia do rio Doce conservou-se de forma significativa até o início da década de 1930, ocorrendo nas três décadas seguintes uma fase de devastação generalizada da mesma (ESPÍNDOLA *et al.*, 2005), resultando assim em intensa fragmentação e eliminação da floresta, condição comum para toda a bacia. Dessa forma, um dos aspectos mais relevantes da degradação ambiental está relacionado com o processo de erosão causado pelo desmatamento generalizado e o mau uso do solo, culminando com extenso assoreamento em toda a bacia (PIRHDOCE, 2009). Além do assoreamento, pode-se destacar a poluição, o desmatamento, a mineração e a introdução de espécies exóticas, como as principais ameaças para a ictiofauna não só da bacia do rio Doce, como de toda Minas Gerais (DRUMMOND *et al.*, 2005). Além destes fatores, as barragens são consideradas alteradores do padrão natural, causando alterações nos rios onde são instaladas (RICHTER *et al.*, 2003). Assim, em termos de conservação da fauna de peixes, a bacia do rio Doce encontra-se em situação muito similar ao resto do país, embora as pressões antrópicas e a perda de qualidade ambiental possam ser definidas como de maior relevância nesta bacia (PIRHDOCE, 2009). Em relação à ictiofauna, no médio rio Doce existem registros de mais de 70 espécies de peixes, das quais grande parte é representada por exóticas. A maioria das espécies que compõem a ictiofauna é de pequeno a médio porte (até 30 cm), e ocorre principalmente em trechos lóticos (calha central dos rios maiores e em alguns afluentes). Entretanto, espécies nativas de maior porte também estão representadas na região, como o surubim do rio Doce (*Steindachneridion doceanum*), a crumatã (*Prochilodus vimboides*) e o piau vermelho (*Leporinus copelandii*) (PIRHDOCE, 2009).

Em relação à economia, a bacia do rio Doce apresenta atividades econômicas diversas, na qual se pode destacar: a agropecuária (reflorestamento, cultura de café, cana-de-açúcar, arroz, milho, feijão, criação de gado leiteiro e de corte e a suinocultura); a agroindústria; a

mineração (ferro, ouro, bauxita, manganês, pedras preciosas e outros); a indústria (celulose, siderurgia e laticínios); o comércio e serviços de apoio aos complexos industriais e a geração de energia elétrica. Contudo, ao longo do tempo, a urbanização e a industrialização contribuíram significativamente para os impactos nos cursos d'água ao longo da bacia, principalmente pelo quase inexistente sistema de tratamento de esgotos e efluentes das cidades e indústrias (CBH-DOCE, 2009).



Fonte: PIRHDOCE, 2009

Figura 1. Bacia do rio Doce. Círculo representa os pontos de coleta.

3.2. A sub-bacia do rio Piracicaba

A bacia do rio Doce divide-se em seis sub-bacias no estado de Minas Gerais e três no Espírito Santo. Dentre as sub-bacias que se localizam em Minas Gerais, está a sub-bacia do rio Piracicaba. Esta sub-bacia encontra-se na área de influência do Parque Estadual do Rio Doce e possui um conjunto expressivo de atividades econômicas (siderurgia, celulose e mineração de ferro) com alto grau de impactos antrópicos, além de expressiva concentração urbana e massivos reflorestamentos por monocultura de eucaliptos (carvão vegetal e celulose) (CEDEPLAR, 2001).

O rio Piracicaba situa-se no leste de Minas Gerais e tem uma extensão de 241 km. Nasce no município de Ouro Preto, a uma altitude de 1.680 m e deságua no rio Doce na região conhecida como “Vale do Aço”, na cidade de Ipatinga, a uma altitude de 210 m. Possui uma área de drenagem de 5.381km² e os principais municípios atravessados pelo rio

Piracicaba são: Antônio Dias, Fonseca, Rio Piracicaba, João Monlevade, Nova Era, Timóteo, Coronel Fabriciano e Ipatinga, abrangendo uma população em torno de 700 mil habitantes (CBH-DOCE, 2009). O rio Piracicaba abriga uma ictiofauna composta por 32 espécies. A bacia pode ser dividida em duas seções: uma que vai da foz até a barragem da UHE Sá Carvalho (trecho inferior) e outra acima desse barramento (trecho superior). Essas duas seções possuem faunas de peixes diferenciadas, sendo o trecho inferior mais rico em espécies. No trecho superior, a ictiofauna é composta principalmente por espécies mais tolerantes as alterações ambientais, principalmente a poluição hídrica (PIRHDOCE, 2009). Os índices de poluição nessa sub-bacia já foram considerados muito elevados, conferindo a mesma o título de uma das “mais poluídas do país” (GUERRA, 1993; CHIMELLI, 1994). Em função dos grandes núcleos urbanos, os quais lançam esgoto “in natura” ao longo da bacia, além de um complexo industrial significativo e diversificado, é razoável supor que a ictiofauna nessa região vem sendo afetada de forma contínua, o que pode ser comprovado através de relatos de pescadores e moradores locais, os quais relatam a ocorrência de frequentes mortandades de peixes. Além disso, estudos realizados no rio Piracicaba demonstraram a relação entre a acentuada poluição de suas águas e a perda de biodiversidade no mesmo (BARBOSA *et al.*, 1997).

O rio Piracicaba percorre uma região onde estão instaladas grandes indústrias (CEDEPLAR, 2001), fato este há algum tempo preocupante. Em 1989, o Projeto Rio Doce analisou fontes de poluição da bacia do rio Doce, sendo selecionadas aquelas que apresentavam maior impacto sobre a qualidade da água. Assim, foram pontuadas as 30 maiores fontes de poluição da bacia em nível de importância de impacto causado nas águas. Dentre as cinco primeiras, duas estão localizadas no rio Piracicaba: Companhia Siderúrgica Belgo Mineira e Arcelor Mittal, demonstrando que a poluição das águas da bacia do rio Doce e no rio Piracicaba ocorre desde a implantação dessas indústrias (PIRHDOCE, 2009). No período de 1997 a 2007, foi realizado, o levantamento das empresas inseridas na bacia do rio Doce e se estas apresentavam dados de entrada e saída de tratamento dos seus efluentes. Das 35 empresas localizadas ao longo da bacia, 19 destas estão situadas na sub-bacia do rio Piracicaba, o que demonstra a grande ocupação de indústrias ao longo desta (Figura 2) e, além disso, apenas quatro destas apresentavam lançamento de efluentes em conformidade com a legislação referente, fato este que contribui para o aumento do grau de poluição da bacia (Tabela 2) (PIRHDOCE, 2009).



Fonte: PIRHDOCE, 2009

Figura 2. Localização de indústrias e mineradoras na bacia do rio Doce.

Com relação à qualidade das águas, o Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM), através de análises físico-químicas e bacteriológicas, classifica o rio Piracicaba entre o município de Timóteo a Coronel Fabriciano como classe 2, ou seja, as águas do rio podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional, à proteção das comunidade aquáticas, à recreação de contato primário (natação, esqui aquático e mergulho), irrigação, à aquicultura e atividades de pesca. Porém, um recente monitoramento realizado pelo IGAM (2009) verificou piora na qualidade das águas do rio Piracicaba após receber o rio Santa Bárbara em Nova Era, refletindo a influência do lançamento de esgoto nesse corpo de água. Além da qualidade da água, foi avaliada a contaminação por tóxicos, na qual toda a bacia do rio Doce apresentou alta contaminação por cianeto e chumbo, enquanto que a contaminação média ocorreu por arsênio, zinco e fenóis (compostos orgânicos que geralmente não ocorrem naturalmente nos corpos d'água), demonstrando que há alta contaminação por metais ao longo da bacia.

Na cidade de Timóteo, o rio Piracicaba recebe o Córrego Timotinho, o qual introduz mais poluentes ao rio, pois todo o efluente doméstico sem tratamento, além de resíduos industriais são lançados diretamente neste córrego.

Tabela 2. Avaliação da eficiência do tratamento de efluentes de indústrias na sub-bacia do rio Piracicaba, realizado no período de 1997 a 2007 (PIRHDOCE, 2009).

Empresa	Produto	Localização	Apresentação de dados sobre lançamentos de efluentes
Complexo Minerador de Itabira	Mineração	Itabira	Dados insuficientes*
Mina Alegria	Mineração	Mariana	Dados insuficientes
Mina Andrade	Mineração	Bela Vista de Minas	Dados insuficientes
Mina Fazendão	Mineração	Catas Altas	Dados insuficientes
Pedreira Valemix	Britas para construção civil	Catas Altas	Dados insuficientes
Mina Gongo Soco	Mineração	Barão de Cocais	Dados insuficientes
Vale Mina Água Limpa	Mineração	Rio Piracicaba	Dados insuficientes
Cimeca	Mineração	Rio Piracicaba	Dados insuficientes
Arcelor Mittal	Aço inox	João Monlevade	Dados insuficientes
Nova Era Silicon	Ferroligas	Nova Era	Lançamento conforme a legislação referente
Arcelor Mittal	Aço inox	Timóteo	Dados insuficientes
Recmix do Brasil	Escórias de siderurgia e de ferro ligas	Timóteo	Não declarou dados.
Pedreira Um	Britas para construção civil	Timóteo	Dados insuficientes
Vamtec	Insumos e refratários especiais	Timóteo	Não declarou dados.
Insider	Insumos refratários para siderurgia	Coronel Fabriciano	Lançamento conforme a legislação referente
Usiminas	Aço	Ipatinga	Lançamento conforme a legislação referente
Kaparaó	Couro	Ipatinga	Lançamento conforme a legislação referente

* Dados Insuficientes: não apresentaram dados de entrada e/ou saída do sistema de tratamento dos efluentes que possibilitem acompanhar a análise da eficiência do sistema de tratamento.

3.3. Micro-bacia Córrego Timotinho

A micro-bacia do Córrego Timotinho situa-se no município de Timóteo, possui uma área de 1.721,52 ha e perímetro de 32.258,75 metros. Engloba áreas com características rurais e aglomerados urbanos representados por 12 bairros da cidade de Timóteo. Em relação à

cobertura vegetal existente, é composta por 290,95 ha de cobertura vegetal secundária, distribuídos em doze fragmentos isolados. Quase em sua totalidade, dadas suas características hidrográficas e de relevo, esta micro-bacia é conceituada como de preservação permanente, pois foram identificadas ao longo desta, 43 nascentes, sendo que 37 delas são perenes e 6 se encontram secas, perfazendo assim um total de 209,24 ha de Área de Preservação Permanente de cursos d'água (NUNES, 2004).

3.4. Pontos de amostragem

Para as amostragens, foram escolhidos dois pontos ao longo do rio Piracicaba, situados na cidade de Timóteo (MG) (Figura 3). Para as amostragens, foram escolhidos dois pontos ao longo do rio Piracicaba, situados na cidade de Timóteo (MG).

O ponto 1 (foz) ($19^{\circ}31'29.5''S$ e $42^{\circ}39'18.1''WO$), representa a área próxima às fontes de impacto ambiental (urbanização e industrialização) da cidade. Este ponto localiza-se logo abaixo do deságue do córrego Timotinho no rio Piracicaba, local onde todo o efluente doméstico não tratado da cidade é lançado, além de resíduos industriais que também são lançados sem tratamento no rio (Figura 4).

O ponto 2 (montante) ($19^{\circ}31'58.3''S$ e $42^{\circ}37'37.4''WO$), localizado 4 km à montante do ponto 1, constitui uma área mais afastada dos pontos de lançamentos de efluentes da cidade de Timóteo (Figura 5).



Fonte: Google Earth, 2009

Figura 3. Localização dos pontos de coleta no rio Piracicaba: Ponto 1 (foz) e Ponto 2 (montante); Córrego Timotinho (linha amarela); e principais fontes poluidoras entre os pontos de coleta no rio Piracicaba (seta) e no córrego Timotinho (Pátio de minério de ferro – Arcelor Mittal; Emalto – Indústria Mecânica; Parque industrial e Pátio de escória – Arcelor Mittal).



Figura 4. Ponto de amostragem 1 (foz) e deságue do Córrego Timotinho (seta), no rio Piracicaba.



Figura 5. Ponto de amostragem 2 (montante) no rio Piracicaba.

4. Objetivos

4.1. Objetivo Geral

Objetivou-se com este estudo determinar a contaminação por metais pesados e seus efeitos em biomonitoramento de peixes teleósteos do rio Piracicaba (MG), visando à obtenção de um instrumento de qualidade ambiental.

4.2. Objetivos Específicos

- Determinar a concentração de alumínio (Al), cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), manganês (Mn), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn) nos músculos dos peixes dando ênfase aos quatro metais que apresentaram maior concentração.

- Verificar a concentração dos metais, Al, Mn, Pb e Zn, na musculatura dos peixes, que foram coletados em dois pontos no rio Piracicaba e em diferentes estações do ano.

- Verificar se a concentração dos metais na musculatura dos peixes coletados no rio Piracicaba se enquadra nos valores limites máximos de tolerância para metais em alimentos, estabelecido pelo Ministério da Saúde.

- Verificar a concentração de Al, Mn, Pb e Zn no fígado, brânquias e testículos em duas das espécies coletadas, e se esta apresenta diferenças devido ao hábito alimentar das espécies.

- Avaliar histopatologicamente as brânquias, fígado e testículo em duas das espécies estudadas e utilizar esta análise como ferramenta de avaliação da qualidade ambiental.

Capítulo I

Determinação dos níveis de metais pesados em músculos de peixes teleósteos do rio Piracicaba, Minas Gerais

Resumo

O rio Piracicaba, membro da bacia do rio Doce, percorre uma área de intensa atividade industrial, recebendo ao longo dos anos, efluentes industriais e domésticos lançados, via de regra, sem tratamento. Dentre estes contaminantes, encontram-se metais pesados que se acumulam na coluna d'água, no sedimento e nos peixes. Assim, objetivou-se determinar os níveis de contaminação por metais pesados, com ênfase na concentração de alumínio (Al), manganês (Mn), chumbo (Pb) e zinco (Zn) em amostras de músculos de peixes teleósteos do rio Piracicaba. Foram coletados 64 espécimes ao longo de 3 coletas, sendo que 40 espécimes foram coletados no ponto 1 e o restante no ponto 2. Após a coleta, os espécimes foram eutanasiados e os fragmentos musculares coletados. A detecção de metais pesados nos músculos foi realizada utilizando-se espectrofotômetro de emissão em plasma indutivamente acoplado. Em relação à concentração média total dos metais nas três coletas, houve maior concentração de Al ($259,15 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), seguido por Pb ($141,49 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), Zn ($50,41 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) e Mn ($14,91 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), sendo que as concentrações de Pb e Zn detectadas nos músculos dos peixes do rio Piracicaba excederam o limite máximo de tolerância estabelecido pelo Ministério da Saúde. Durante as estações do ano, os espécimes que foram coletados no inverno apresentaram maior concentração de metais ($174,87 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), seguidos pelos coletados no outono ($145,07 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) e no verão ($29,53 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), provavelmente devido ao baixo nível de água e assim menor capacidade de depuração do rio. A concentração de metais nos músculos dos peixes coletados em dois pontos do rio Piracicaba, foi mais expressiva nos espécimes coletados no ponto 2, caracterizando a contaminação em todo o trecho onde as coletas foram realizadas, já que o ponto 2 é a montante do ponto 1. Pode-se concluir que os espécimes de peixes coletados no rio Piracicaba apresentaram ocorrência de todos os metais analisados, sendo esta mais expressiva no inverno. Ao longo de todo o ano, foram detectadas concentrações significantes de metais nos músculos dos peixes, sendo que algumas destas se encontravam acima do limite de tolerância estabelecida pelo Ministério da Saúde, o que pode representar risco à saúde dos consumidores deste pescado.

1. Introdução

O Brasil, embora seja um dos países mais ricos em água doce do mundo, com 5600 km³/ano, os rios vem sendo degradados ao longo dos anos. Esse quadro de degradação teve início a partir da década de 1950 com a intensificação do crescimento econômico, vinculado à rápida e irrestrita industrialização, causando desequilíbrios principalmente no ambiente (SILVA, 2002). As atividades humanas têm contribuído para o aumento do nível dos metais pesados em muitos dos ecossistemas aquáticos, destacando-se, como principais fontes, as atividades industriais e as minerações (OLIVEIRA e HORN, 2006). A toxicidade de agentes químicos no meio hídrico é avaliada com a utilização de ensaios ecotoxicológicos, envolvendo os organismos representativos da coluna d'água e do sedimento (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

Dentre os contaminantes que atingem o sistema aquático, os metais pesados são motivo de preocupação, pois são elementos não-degradáveis, que permanecem por um longo tempo nesse ambiente e atingem toda a cadeia trófica (SILVA, 2002). Devido ao processo dinâmico de transporte e redistribuição dos metais, concentrações aparentemente baixas na coluna d'água e no sedimento, podem ser potencialmente acumuladas pelos organismos (bioacumulação), podendo atingir níveis tóxicos. O processo de biomagnificação de metais pesados é uma das formas pelas quais estes elementos atingem altas concentrações na biota, uma vez que os níveis de alguns metais aumentam progressivamente ao longo da cadeia alimentar, alcançando níveis bem elevados nos organismos que ocupam o topo da cadeia trófica (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

A presença de metais no ambiente aquático em concentrações elevadas causa a mortalidade de peixes, das comunidades bentônicas, perifítica e planctônica, causando desequilíbrio do ecossistema (SILVA, 2002). E a introdução no organismo humano, se dá, de acordo com os órgãos de saúde, 90% através da cadeia alimentar, podendo assim provocar inúmeras doenças, em decorrência do efeito acumulativo e resultar até na morte do indivíduo (IPCS, 1992).

Além da importância de determinar os efeitos que os xenobióticos provocam nos organismos aquáticos, é relevante avaliar seus resíduos em peixes destinados ao consumo humano (WINKALER, 2008), pois o consumo de pescados contaminados com elevado teor de metais pesados pode ocasionar diversos problemas de saúde na população (PEDREIRA FILHO *et al.*, 2003). Assim, ao mesmo tempo em que o pescado é um valioso aliado na nutrição humana, pode ser também um produto de alto risco para a saúde (MANTOVANI, 2005). Dentro deste contexto, há a necessidade de monitorar e controlar a contaminação dos ecossistemas aquáticos, principalmente em relação aos metais pesados, que se encontram

entre os contaminantes mais tóxicos que se acumulam nos compartimentos ambientais e nos organismos que neles vivem. O rio Piracicaba, que compartilha destas características de ambiente contaminado, apresenta a pesca como atividade amplamente utilizada pelas comunidades carentes que vivem em seu entorno, podendo assim a população estar sendo contaminada pelos metais pesados que são bioacumulados nos peixes.

Neste sentido, objetivou-se determinar os níveis de contaminação por metais pesados em amostras de músculos de peixes coletados em dois pontos do rio Piracicaba (MG) e ao longo de três estações do ano.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

A área de estudo localiza-se na bacia hidrográfica do rio Doce, uma das cinco maiores bacias hidrográficas de Minas Gerais (DRUMMOND *et al.*, 2005). Esta bacia situa-se na região sudeste, entre os paralelos 18°45' e 21°15' de latitude sul e os meridianos 39°55' e 43°45' de longitude oeste, compreendendo uma área de drenagem de cerca de 83.400 km², dos quais 86% pertencem ao estado de Minas Gerais e o restante ao Espírito Santo, abrangendo um total de 228 municípios (CBH-DOCE, 2009). O rio Piracicaba, que faz parte da bacia supracitada, situa-se no leste de Minas Gerais e tem uma extensão de 241 km. Nasce no município de Ouro Preto, a 1.680 m de altitude, e deságua no rio Doce, na região conhecida como “Vale do Aço”, na cidade de Ipatinga, a 210 m de altitude. Possui área de drenagem de 5.381 km² (CBH-DOCE, 2009) e, no seu percurso, encontram-se expressivas atividades econômicas (siderurgia, celulose e mineração de ferro) com alto grau de impactos antrópicos (CEDEPLAR, 2001), além de barragens que também impactam o ambiente (RICHTER *et al.*, 2003). Na cidade de Timóteo, que faz parte do “Vale do Aço”, o rio Piracicaba recebe o Córrego Timotinho, o qual introduz mais poluentes ao rio, pois todo o efluente doméstico sem tratamento, além de resíduos industriais são lançados diretamente neste córrego.

2.2. Pontos de amostragem

Para as amostragens, foram escolhidos dois pontos ao longo do rio Piracicaba, situados na cidade de Timóteo (MG).

O ponto 1 (foz) (19°31'29.5”S e 42°39'18.1”WO), representa a área próxima às fontes de impacto ambiental (urbanização e industrialização) da cidade. Este ponto localiza-se logo abaixo do deságue do córrego Timotinho no rio Piracicaba, local onde todo o efluente doméstico não tratado da cidade é lançado, além de resíduos industriais que também são lançados sem tratamento no rio.

O ponto 2 (montante) (19°31'58.3"S e 42°37'37.4"W), localizado 4 km à montante do ponto 1, constitui uma área mais afastada dos pontos de lançamentos de efluentes da cidade de Timóteo.

2.3. Coleta dos animais

As coletas dos espécimes foram autorizadas pelo Instituto Estadual de Florestas (IEF), com a licença de pesca científica, categoria D, número 014-08. Foram realizadas 3 coletas durante o ano de 2008, nos meses de março (início de outono), junho (inverno) e dezembro (primavera), abrangendo estações de cheia e seca do rio Piracicaba. Em cada ponto de amostragem, os espécimes de peixes foram coletados através de redes de espera e tarrafas. Foram coletados 63 espécimes durante três coletas, sendo que destes, 40 foram coletados no ponto 1, e o restante dos espécimes (23), coletados no ponto 2. Contudo, na coleta do mês de junho, não houve espécimes coletados no ponto 2 (Apêndice; Tabela 1).

Imediatamente após cada coleta, os peixes foram eutanasiados por secção da medula espinhal, na região occipital, marcados e acondicionados em formol para posterior identificação das espécies em laboratório. Após a pesagem em balança digital de precisão (Gehaka BG1000), determinou-se o comprimento total, padrão e altura. Posteriormente, realizou-se incisão logo abaixo da nadadeira dorsal para coleta dos fragmentos musculares, os quais foram fixados em solução de Karnovsky por um período de 24 horas e depois transferidos para álcool 70%.

2.4. Concentração de metais pesados nos músculos de peixes teleósteos

Para a análise da concentração de metais foram utilizadas amostras de fragmentos musculares dos espécimes, nas quais se determinaram as concentrações de alumínio (Al), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), manganês (Mn), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn). As amostras, pesadas em balança analítica digital de precisão (Scientech AS 210), foram acondicionadas em Erlenmeyer (25 mL) e mantidas em estufa a 70 °C até alcançarem peso seco constante. A digestão ácida das amostras foi realizada com a adição de 1,5 mL de HNO₃ concentrado, 0,5 mL de HClO₄ 70% e duas gotas de água oxigenada 30%, mantendo-se os frascos em bloco digestor, com aquecimento contínuo até atingir 90 °C. Após a completa digestão (~ 1h), o volume foi ajustado para 25 mL com água desionizada, seguido de filtração e análise da concentração de metais pesados, em Espectrofotômetro de Emissão em Plasma Indutivamente Acoplado (Perkin Elmer®, Optima 3300DV) no departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo os resultados expressos em µg g⁻¹ de massa seca (MS).

2.5. Análise Estatística

Foram realizadas análises descritivas dos dados e estes foram expressos em média e erro padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Concentração de metais pesados nos músculos de peixes teleósteos

O tecido muscular dos peixes é a porção consumida pela população e, dessa forma, a análise dos contaminantes nesta, é de fundamental importância para que órgãos responsáveis, como o Ministério da Saúde, possam definir os possíveis índices de contaminação para os consumidores.

Levando-se em consideração a concentração média total de todos os metais avaliados, foram escolhidos para análise os quatro metais que apresentaram a maior concentração média, são eles: Al, Mn, Pb e Zn (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em brânquias (B), fígado (F), músculo (M), testículo (T) e ovário (O), de peixes teleósteos do rio Piracicaba.

Elemento	Tecido	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta	Concentração Média Total ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS)
Al	B	227,57	372,45	70,16	223,39
	F	247,20	342,89	182,19	257,42
	M	249,63	516,81	10,99	259,15
	T	919,95	411,92	3625,13	1652,33
	O	277,83	462,38	8,06	249,42
					528,34
Cd	B	74,84	6,11	3,14	28,03
	F	24,45	20,33	1,75	15,51
	M	9,98	2,93	0,80	4,57
	T	229,69	98,48	513,43	280,53
	O	40,08	5,43	127,71	57,74
					77,28
Cr	B	138,28	23,41	9,57	57,09
	F	83,39	57,18	1,52	47,36
	M	17,39	10,16	0,96	9,51
	T	570,41	450,10	0,00	340,17
	O	544,28	36,78	0,08	193,71
					129,57
Cu	B	218,43	35,69	6,65	86,93
	F	113,09	300,70	135,90	183,23
	M	10,86	14,09	10,22	11,72
	T	661,71	173,20	217,59	350,83

	O	427,61	23,28	8,86	153,25
					157,19
Mn	B	191,73	46,44	32,31	90,16
	F	187,72	21,23	10,50	73,15
	M	28,79	9,10	6,84	14,91
	T	805,84	100,63	939,20	615,22
	O	81,16	6,81	184,37	90,78
					176,85
Ni	B	32,97	8,59	5,36	15,64
	F	14,76	14,24	1,14	10,04
	M	5,60	3,94	0,56	3,37
	T	57,77	70,93	23,03	50,58
	O	13,30	4,08	0,02	5,80
					17,09
Pb	B	4241,26	417,12	434,72	1697,70
	F	1207,94	907,65	193,43	769,67
	M	216,53	123,35	84,59	141,49
	T	122629,88	6479,67	9534,00	46214,52
	O	30262,04	508,32	5240,40	12003,59
					12165,39
Zn	B	164,28	96,20	19,07	93,18
	F	91,87	229,79	21,27	114,31
	M	85,31	50,22	15,71	50,41
	T	320,26	1229,05	7,05	518,79
	O	113,17	81,87	87,47	94,17
					174,17

Os valores referentes à concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos fragmentos musculares dos espécimes de peixes teleósteos coletados em três estações distintas no rio Piracicaba, encontram-se representados na figura 1.

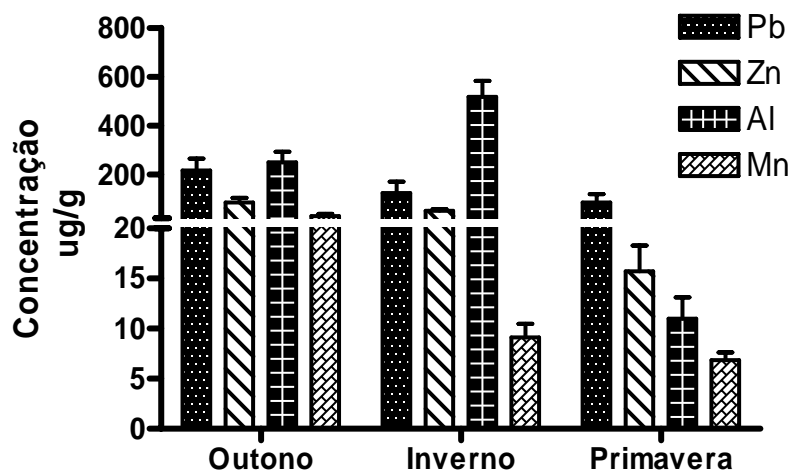


Figura 1. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos músculos de todos os espécimes de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba em três estações do ano.

Em relação à concentração média dos metais nas três estações do ano, houve maior concentração de Al ($259,15 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), seguido por Pb ($141,49 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), Zn ($50,41 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) e Mn ($14,91 \mu\text{g g}^{-1}$ MS). Estas concentrações são maiores, comparando-se com os valores encontrados por Moraes *et al.* (2009), em espécimes de peixes do mesmo rio. Em outro trabalho, também realizado no rio Piracicaba, Queiroz (2006), detectou contaminação por Zn em *Geophagus brasiliensis* (acará).

Como o rio Piracicaba percorre uma região altamente industrializada, a contaminação por estes metais, não é inesperada, já que estes estão envolvidos em vários processos industriais. No processo de produção do aço, utilizam-se metais como o zinco (em galvanoplastia) (LARSON e WEINCEK, 1994) e o manganês, sendo que mais de 95% do manganês utilizado industrialmente é consumido na indústria metalúrgica (EMDVI, 2009). Estima-se que o chumbo seja utilizado em mais de 200 processos industriais diferentes com destaque para a produção de acumuladores elétricos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Por outro lado, o alumínio encontra-se em águas de anodização de peças, conduzindo à formação do óxido de alumínio, o que torna a superfície do alumínio extremamente dura com várias propriedades desejadas (MARTINS, 2009).

Para se ter um diagnóstico do nível de contaminação por metais pesados no rio Piracicaba (MG), comparou-se os valores detectados neste estudo com espécimes de peixes oriundos de outros ambientes contaminados. Em área impactada do rio Caiapó (GO), Teles *et al.* (2008) detectaram concentrações bem menores do que as encontradas nos peixes deste estudo, assim como a concentração observada em tilápias (*Oreochromis niloticus*) coletadas na lagoa da Pampulha (MG) (VEADO *et al.*, 2007). No rio Paraíba do Sul, mesmo após o acidente provocado por uma indústria de papel, as concentrações de Al, Zn e Pb em peixes ainda foram menores do que as observadas no presente estudo (COUTO *et al.*, 2005) (Apêndice; Tabela 4).

Assim, é perceptível que, em comparação com outros corpos d'água contaminados e até mesmo atingidos por acidentes ambientais, o nível de contaminação por metais pesados no rio Piracicaba é muito superior, demonstrando o comprometimento da qualidade deste ecossistema.

3.2. Concentração total de metais pesados nos músculos dos peixes durante as estações do ano

Além de se obter a concentração de cada metal nas estações do ano, obteve-se também a concentração total dos metais (Al, Mn, Pb e Zn) nas três estações do ano. Em relação a esta concentração detectada nos músculos dos peixes, os espécimes coletados no inverno

apresentaram maior concentração ($174,87 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$), seguido pelos animais coletados no outono ($145,07 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$) e no verão ($29,53 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$) (Figura 2). Uma das explicações para este resultado seria que a menor vazão do rio durante a estação seca (inverno) e assim a menor capacidade de depuração do rio leva conseqüentemente a maior concentração de metais nesta estação. Diversas pesquisas relacionam o aumento na concentração de metais em músculos dos peixes com os dados de menores índices pluviométricos (ZAPATA, 1994; HYLANDER *et al.*, 2000; **MARRUGO-NEGRETE et al., 2008**). Deste modo, a maior concentração de metais nos músculos dos espécimes coletados na estação seca do rio Piracicaba pode ser justificada pela maior disponibilidade destes metais no ambiente, resultado da intensa atividade industrial em conjunto com o baixo volume de água e menor capacidade de depuração do rio nesta estação.

Assim, pode-se inferir que ao longo de todo o ano há um acúmulo significativo de metais no rio Piracicaba, comprovado pela concentração destes, detectada nos músculos dos espécimes de peixes coletados. Esta caracterização é de fato preocupante, pois a população consumidora destes peixes está exposta a metais durante todo o ano, podendo ocorrer a biomagnificação destes, o que poderá ocasionar, em longo prazo, efeitos nocivos à saúde humana.

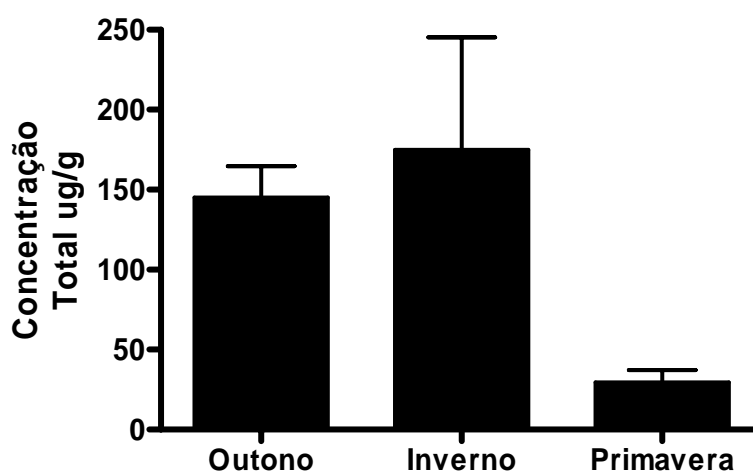


Figura 2. Concentração média total de metais pesados ($\mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$) nos músculos de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba durante o outono, inverno e primavera no ano de 2008.

3.3. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos músculos de peixes coletados em dois pontos do rio Piracicaba

Valores referentes à concentração de metais nos músculos dos espécimes de peixes coletados em dois pontos do rio Piracicaba, encontram-se na figura 3.

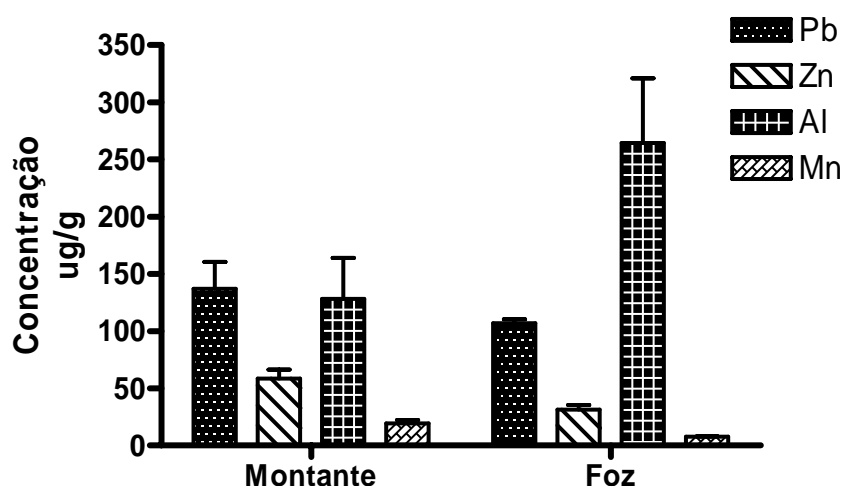


Figura 3. Concentrações médias de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) músculos de peixes teleósteos coletados em dois pontos (Montante (ponto 2); Foz (ponto 1)) ao longo do rio Piracicaba.

A concentração de metais detectada nos músculos dos peixes foi mais expressiva nos espécimes coletados no ponto 2, com exceção do Al, que apresentou concentração duas vezes maior nos espécimes coletados no ponto 1. Como os pontos de coletas foram escolhidos devido à proximidade a fontes antrópicas de poluição, esperava-se que as concentrações de metais no ponto 2 fossem menos expressivas quando comparadas com o ponto 1, já que este ponto localiza-se em área afastada das fontes de poluição da cidade de Timóteo. Assim, a alta concentração de Al nos espécimes coletados no ponto 1 provavelmente deve-se ao elevado número de indústrias localizadas no trecho que antecede este ponto. Como o Al é um metal amplamente utilizado em processos industriais, a maior concentração deste metal nos peixes é corroborada. Todos os outros metais, com exceção do Al, apresentaram concentração maior nos peixes coletados no ponto 2. Estes dados corroboram os obtidos por Queiroz (2006), que detectou redução na concentração de Zn em *Geophagus brasiliensis* (acará) coletados em quatro cidades ao longo do rio Piracicaba (da montante à foz).

3.4. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos músculos de peixes do rio Piracicaba e valores recomendados pela legislação

No Brasil, o limite máximo permitido por lei para contaminantes inorgânicos em alimentos está regulamentado desde 1965, por meio do Decreto Lei 55.871-65 (ANVISA, 2009a). Alguns desses limites foram atualizados e outros mantidos pelo Ministério da Saúde (Portaria 685-980 de 27 de agosto de 1998) (ANVISA, 2009b). Valores relacionados à concentração média de metais nos fragmentos musculares dos espécimes de peixes do rio Piracicaba, e aqueles definidos como limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos em alimentos, encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Concentrações médias de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos músculos de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba, e os limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos em alimentos definidos pelo Ministério da Saúde em “ppm” (Partes Por Milhão) equivalentes à $\mu\text{g g}^{-1}$.

Metais Pesados	Concentrações nos músculos de peixes deste estudo	Limites Máximos de Tolerância Ministério da Saúde
Al	259,15	ne
Mn	14,91	ne
Pb	141,49	2,00
Zn	50,41	50,00

NE – Valores máximos de tolerância não estabelecidos pelo Ministério da Saúde

Os dados de concentração de metais em peixes tem significativa importância na avaliação do impacto na saúde humana, o que irá depender, dentre outros fatores, da participação dos peixes na dieta alimentar da população local (DALLINGER *et al.*, 1987; LANDRIGAN *et al.*, 2007) e dos aspectos químicos relacionados a cada metal (PORTO, 2009). A toxicidade de cada um deles geralmente resulta de sua bioacumulação nos tecidos adiposos e da capacidade de penetrar nas membranas biológicas (TEMPLETON *et al.*, 2000).

Com a análise dos dados, verificou-se que as concentrações de Pb e Zn detectadas nos músculos dos peixes do rio Piracicaba excederam o limite máximo de tolerância para estes metais estabelecido pelo Ministério da Saúde, o que pode representar risco à saúde dos consumidores. As concentrações de Pb excederam em mais de 70 vezes o limite de tolerância, estes dados, associados à limitação de semanal tolerável de $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ peso corpóreo/semana (WHO, 1999), determinam o grau de preocupação quanto à saúde da população consumidora destes peixes. Sabe-se que a ingestão elevada de Pb afeta diversos órgãos e sistemas, e dentre seus efeitos destacam-se: decréscimo do quociente de inteligência (QI); efeitos sobre o sistema nervoso, com déficit nas funções cognitivas; diminuição das funções sensoriais, nervosas involuntárias; impactos sobre as funções renais; e alguns estudos epidemiológicos apontam a ocorrência de partos prematuros (WHO, 1995). Em relação à concentração de zinco, não há um valor específico para o consumo de peixe e produtos de pesca estabelecido pelo Ministério da Saúde. Na ausência dessa informação, os valores de concentração do Zn nos músculos foram comparados à categoria “outros alimentos”, que estabelece o limite de 50 “ppm” para o zinco. Mesmo não apresentando uma concentração específica para o consumo de peixes as concentrações de zinco nos peixes se encontram acima do limite permitido. Segundo a National Academy of Sciences (2001), a recomendação da ingestão diária de Zn

para a população sadia é de 8 mg para mulheres e 11 mg para homens. Deste modo, mesmo o Zn sendo um elemento essencial, ao longo do tempo, pode ocorrer o acúmulo ao longo do tempo deste metal e assim, causar efeitos adversos à saúde dos consumidores, como por exemplo, problemas pulmonares (ROCHA *et al.*, 1985).

A concentração de Al nas amostras de peixes foi elevada, entretanto, o Ministério da Saúde não estabelece limites máximos de tolerância para este metal. A OMS (Organização Mundial da Saúde), por sua vez, preconiza o limite máximo tolerável na dieta de 6 mg/kg/semana de Al (OMS, 1998). Dessa forma, infere-se que a concentração de Al detectada nos peixes no presente estudo, pode acarretar danos à saúde dos consumidores deste pescado.

Da mesma forma que o Al, o Ministério da Saúde não define limites máximos de tolerância para o Mn. A partir dos dados observados, verifica-se que a concentração de Mn foi relativamente baixa nos peixes, pois conforme a Dietary References Intakes (DRI), a ingestão diária de manganês para homem é de 2,3 mg e para mulheres de 1,8 mg (DRI, 2000). Dessa forma, como este metal também é um elemento essencial, dificilmente a ingestão de Mn proveniente destes peixes causariam os danos biológicos relacionados na literatura, como: deficiência intelectual de crianças e aumento da mortalidade infantil, bem como sua associação com a Doença de Parkinson (CSUROS e CSUROS, 2002; HAFEMAN *et al.*, 2007; FINKELSTEINS *et al.*, 2008; STEPENS *et al.*, 2008).

O peixe é um alimento muito consumido pela população, principalmente por aquela que vive no entorno de rios e, portanto, é pertinente a análise da concentração destes metais quando o alimento passa por processos de cozimento e/ou fritura. Assim, Mandarino *et al.* (2000), verificaram que o teor de mercúrio aumenta em amostras de traíras (*Hoplias malabaricus*) após a fritura. Da mesma forma, pode-se inferir que provavelmente a concentração dos metais detectados nos fragmentos musculares coletados a fresco, será aumentada após os processos de fritura e/ou cozimento.

4. Conclusões

Pode-se concluir que os espécimes de peixes coletados no rio Piracicaba apresentaram significativa concentração de todos os metais analisados, sendo mais elevada a concentração de Al, Mn, Pb e Zn, e dentre estes o Al foi mais significativo. Durante as estações do ano, os espécimes que foram coletados no inverno apresentaram maior concentração de metais, mas ao longo de todo o ano, foram detectadas concentrações significantes de metais nos músculos dos peixes, sendo que algumas destas se encontram acima do limite de tolerância estabelecida pelo Ministério da Saúde, o que pode representar risco à saúde dos consumidores deste pescado.

Capítulo II

Concentração de metais pesados e alterações histológicas em brânquias e fígado de *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1758) e *Geophagus brasiliensis* (QUOY e GAIMARD, 1824) coletados no rio Piracicaba, Minas Gerais

Resumo

Alterações morfológicas nas brânquias e no fígado podem ser empregadas nas investigações da toxicidade de compostos químicos específicos e no monitoramento de seus efeitos agudos e crônicos em ambientes aquáticos poluídos ou contaminados. Assim, objetivou-se determinar e comparar a concentração de alumínio (Al), manganês (Mn), chumbo (Pb) e zinco (Zn) nas brânquias e fígado de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis*, além do cálculo do índice hepatossomático (IHS) e da identificação de possíveis alterações histológicas nestes órgãos, como instrumento de avaliação da qualidade ambiental. Foram coletados 6 espécimes de *A. bimaculatus* (lambari) e 5 de *G. brasiliensis* (acará) ao longo de três coletas, em dois pontos do rio Piracicaba. Para o controle, foram utilizados 6 espécimes provenientes de uma estação de piscicultura. Em relação à concentração de metais nas brânquias e fígado, o Pb apresentou maior concentração em ambas as espécies, sendo que *A. bimaculatus* apresentou maior concentração de metais em relação *G. brasiliensis*. As histopatologias detectadas nos tecidos branquial e hepático de *G. brasiliensis* demonstram que esta espécie é boa bioindicadora da qualidade ambiental do rio Piracicaba, pois apresentou resposta histopatológica mais expressiva que *A. bimaculatus*. O IHS dos espécimes coletados foi maior que o controle, e entre as espécies *G. brasiliensis* apresentou maior índice, corroborando com o maior percentual de alterações histopatológicas encontradas no tecido hepático. Pode-se concluir que as alterações histológicas encontradas nos órgãos analisados indicam degradação ambiental e que estas foram produzidas em resposta a exposição a este ambiente, refletindo e comprometendo a saúde dos peixes que o habitam.

1. Introdução

À medida que a humanidade aumenta sua capacidade tecnológica, surgem conflitos quanto ao uso do espaço, dos recursos e da disposição dos resíduos no ambiente. Nos dois últimos séculos, o modelo de civilização que traz a industrialização como forma de produção, tendo a disposição diversos produtos químicos potencialmente tóxicos, e gerando resíduos em grandes quantidades, tornou-se prejudicial ao ambiente (ZAGATTO, 2006).

A atividade industrial, a mineração, o processamento de metais e a geração de resíduos industriais e domésticos vêm contribuindo para o aumento da concentração de diversos metais pesados nos ambientes naturais (ABEL, 1989). Os metais pesados são altamente resistentes à degradação ambiental e podem afetar os organismos aquáticos, na forma disponível na água e no sedimento, ou presente na cadeia alimentar, devido à forte tendência de bioacumulação dos organismos aquáticos (MARCHESE *et al.*, 2008). Nos últimos anos, houve aumento no interesse sobre os efeitos que as substâncias tóxicas provocam na saúde dos peixes (PARMA de CROUX *et al.*, 2002). As alterações histológicas aparecem como resposta em médio prazo a estressores sub-letais, e a análise histológica fornece um método rápido para detectar os efeitos de substâncias irritantes, especialmente as crônicas, em vários tecidos e órgãos (JOHNSON *et al.*, 1993). A exposição dos peixes a contaminantes químicos pode induzir lesões em diferentes órgãos (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005; TEPE *et al.*, 2008; KELLY e JANZ, 2009) como as brânquias (MALLATT, 1985; NSIKAK *et al.*, 2007; GRIFFITT *et al.*, 2009), os rins (ORONZAYE, 1989; BUCHER e HOFER, 1993; MELA *et al.*, 2007), o fígado (PACHECO e SANTOS, 2002; HERANES *et al.*, 2008; KAMUNDE, 2009) e a pele (VETHAAK, 1994; YILMAZ, 2003), e o exame histológico destes órgãos demonstram o efeito da poluição (BERNET *et al.*, 1999).

Órgãos como as brânquias e a pele são marcadores primários de poluição aquática, pois apresentam grandes superfícies que estão em contato direto e permanente com o ambiente aquático e, conseqüentemente, com irritantes potenciais. A vasta área de superfície que ocupa e a sua proximidade com o meio externo fazem das brânquias um órgão chave para a ação dos poluentes existentes no meio aquático. Nesse sentido, as alterações histológicas das brânquias são reconhecidas como um método rápido e válido para determinar os danos causados pela exposição a diferentes poluentes nos peixes (ARELLANO *et al.*, 1999). Após a absorção pela pele ou brânquias, as substâncias tóxicas atingem o fígado, que tem papel fundamental no metabolismo destas (JOBBLING e SUMPTER, 1993). Segundo Hinton e Laurén (1990), o fígado é um órgão de desintoxicação de substâncias no organismo essencial para o metabolismo. A exposição a metais pesados pode, portanto, causar alterações histológicas no fígado e efeitos nocivos da poluição de metais pesados na histologia hepática de peixes, contudo, pode depender da duração da exposição (aguda ou crônica) e do nível de concentração específica do metal (VAN DYK *et al.*, 2007). Dentro deste contexto, há a necessidade de monitorar e controlar a contaminação dos ecossistemas aquáticos, principalmente em relação aos metais pesados, que se encontram entre os contaminantes mais tóxicos e persistentes no ambiente aquático, acumulando-se nos compartimentos ambientais e

nos organismos que neles vivem, causando assim danos à saúde dos peixes, refletidos em alterações teciduais nos órgãos vitais dos organismos, como as brânquias e o fígado.

Assim, objetivou-se determinar a concentração de Al, Mn, Pb e Zn nas brânquias e fígado de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba (MG), além do cálculo do índice hepatossomático e da identificação de possíveis alterações histológicas nestes órgãos, como instrumento de avaliação da qualidade ambiental.

2. Material e Métodos

2.1. Espécies de estudo

Foram escolhidas duas espécies com nichos ecológicos diferentes:

O lambari *Astyanax bimaculatus* pertence à família Characidae, apresenta ampla distribuição geográfica, fazendo-se presente em diversos corpos límnicos da América do Sul (HARTZ, 1996). São peixes de pequeno porte e oportunistas quanto à alimentação, com uma grande variedade de composição alimentar, sendo considerados de maneira geral como onívoros, tendo preferência por insetos e plantas. Em rios, *A. bimaculatus* tende a explorar os mesmos recursos alimentares (algas, plantas superiores, insetos), além de microcrustáceos, que constituem também recurso relativamente expressivo na alimentação deste peixe (LUZ-AGOSTINHO, 1996). Os lambaris servem de alimento para espécies de peixes de maior porte, além de mamíferos, répteis e aves piscívoras, tendo por isso importante papel na cadeia alimentar (GARUTI e FIGUEIREDO-GARUTI, 1992; CASATTI *et al.*, 2003).

O acará *Geophagus brasiliensis* pertencente à família Cichlidae, apresenta ampla distribuição nas bacias hidrográficas costeiras do leste e sul do Brasil e no Uruguai (KULLANDER, 2003). Espécie territorialista, é encontrada em locais de remanso, próximos ao fundo, onde se alimentam de lodo, detritos, sedimentos, peixes, gastrópodes, microcrustáceos e larvas de insetos (SABINO e CASTRO, 1990; ANDREATA e TENÓRIO, 1997; MORAES *et al.*, 2004). Esta espécie faz parte de uma cadeia de relações tróficas relativamente complexas, servindo de fonte de alimento para aves e mamíferos aquáticos, assim como para outros peixes (MADI, 2005).

2.2. Área de estudo

A área de estudo localiza-se na bacia hidrográfica do rio Doce, uma das cinco maiores bacias hidrográficas de Minas Gerais (DRUMMOND *et al.*, 2005). Esta bacia situa-se na região sudeste, entre os paralelos 18°45' e 21°15' de latitude sul e os meridianos 39°55' e 43°45' de longitude oeste, compreendendo uma área de drenagem de cerca de 83.400 km², dos quais 86% pertencem ao estado de Minas Gerais e o restante ao Espírito Santo, abrangendo

um total de 228 municípios (CBH-DOCE, 2009). O rio Piracicaba, que faz parte da bacia supracitada, situa-se no leste de Minas Gerais e tem uma extensão de 241 km. Nasce no município de Ouro Preto, a 1.680 m de altitude, e deságua no rio Doce, na região conhecida como “Vale do Aço”, na cidade de Ipatinga, a 210 m de altitude. Possui área de drenagem de 5.381 km² (CBH-DOCE, 2009) e, no seu percurso, encontram-se expressivas atividades econômicas (siderurgia, celulose e mineração de ferro) com alto grau de impactos antrópicos (CEDEPLAR, 2001), além de barragens que também impactam o ambiente (RICHTER *et al.*, 2003). Na cidade de Timóteo, que faz parte do “Vale do Aço”, o rio Piracicaba recebe o Córrego Timotinho, o qual introduz mais poluentes ao rio, pois todo o efluente doméstico sem tratamento, além de resíduos industriais são lançados diretamente neste córrego.

2.3. Pontos de amostragem

Para as amostragens, foram escolhidos dois pontos ao longo do rio Piracicaba, situados na cidade de Timóteo (MG).

O ponto 1 (foz) (19°31'29.5”S e 42°39'18.1”WO), representa a área próxima às fontes de impacto ambiental (urbanização e industrialização) da cidade. Este ponto localiza-se logo abaixo do deságue do córrego Timotinho no rio Piracicaba, local onde todo o efluente doméstico não tratado da cidade é lançado, além de resíduos industriais que também são lançados sem tratamento no rio.

O ponto 2 (montante) (19°31'58.3”S e 42°37'37.4”WO), localizado 4 km à montante do ponto 1, constitui uma área mais afastada dos pontos de lançamentos de efluentes da cidade de Timóteo.

2.4. Coleta dos animais

As coletas dos espécimes foram autorizadas pelo Instituto Estadual de Florestas (IEF), com a licença de pesca científica, categoria D, número 014-08. Foram realizadas 3 coletas durante o ano de 2008, nos meses de março (início de outono), junho (inverno) e dezembro (primavera), abrangendo estações de cheia e seca do rio Piracicaba. Foram coletados 6 espécimes de *Astyanax bimaculatus* (lambari) e 5 de *Geophagus brasiliensis* (acará) com redes de espera e tarrafas. Todos os espécimes de *A. bimaculatus* foram coletados no ponto 2 (montante) durante a primeira coleta. Os espécimes de *G. brasiliensis* foram coletados, no ponto 1 (foz) durante a primeira e segunda coleta e no ponto 2 (montante) na terceira coleta realizada. Imediatamente após cada coleta, os peixes foram eutanasiados por secção da medula espinhal, na região occipital, marcados e acondicionados em formol para posterior identificação das espécies em laboratório. Após a pesagem em balança digital de precisão

(Gehaka, BG1000), determinou-se o comprimento total, padrão e altura (Apêndice; Tabelas 2 e 3). Posteriormente, realizou-se a incisão da parede corporal ventral dos espécimes, que segue da papila urogenital até a região do opérculo, para a coleta das brânquias e fígado. Os órgãos coletados foram fixados em solução de Karnovsky por um período de 24 horas e depois transferidos para álcool 70%.

Como não foi possível obter espécimes controle do rio Piracicaba, devido ao grau de poluição do mesmo, o controle foi obtido da Piscicultura do Prata, em Eugenópolis (MG). Foram utilizados 6 espécimes de *Astyanax bimaculatus* (Lambari) e 6 de *Geophagus brasilienses* (Acará) como espécimes controle.

2.5. Análise dos órgãos

2.5.1. Análise das brânquias

Para avaliação histopatológica das brânquias dos espécimes de peixes coletados no rio Piracicaba foram coletados fragmentos da região mediana do segundo arco branquial de cada indivíduo. Os fragmentos foram desidratados em série etanólica crescente (80%, 90%, 95% e 100%), com trocas a cada 30 min, procedendo-se posteriormente a inclusão em glicol-metacrilato (Historesin[®], Leica). Foram obtidas secções de 2 µm de espessura em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2045), utilizando-se navalhas de vidro. Posteriormente, as preparações foram coradas com azul de toluidina e borato de sódio 1% e montadas com Entellan-Merck[®]. Foram capturadas através de fotomicroscópio Olympus AX-70, 10 imagens digitais por animal, para posterior análise histopatológica qualitativa e quantitativas das brânquias. Quando uma patologia era detectada em pelo menos um dos campos visualizados, esta era considerada como presente no animal. Ao final, foi realizada uma relação entre os animais que apresentaram patologias e o total presente em cada espécie, expressando-se assim o resultado em porcentagem.

2.5.2. Análise do fígado

Após a coleta, os fígados foram pesados em balança digital de precisão (Scientech, AS 210) procedendo-se o índice hepatossomático a partir da fórmula: $IHS = [(Peso_{\text{fígado}}/Peso_{\text{corporal}})] \times 100$. Posteriormente, foram coletados fragmentos da região mediana do fígado, estes, desidratados em série etanólica crescente (80%, 90%, 95% e 100%), com trocas a cada 30 min, seguindo-se a inclusão em glicol-metacrilato (Historesin[®], Leica). Foram obtidas secções de 2 µm de espessura, realizando-se cortes semi-seriados (a cada 6 µm), em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2045), utilizando-se navalhas de vidro. Posteriormente, as preparações foram coradas com hematoxilina de Mayer e floxina B e montadas com Entellan-

Merck®. Foram capturadas em fotomicroscópio Olympus AX-70, 10 imagens digitais por animal, para posterior análise histopatológica qualitativa e quantitativa do fígado. Quando uma patologia era detectada em pelo menos um dos campos visualizados, esta era considerada como presente no animal. Ao final, foi realizada uma relação entre os animais que apresentaram patologias e o total presente em cada espécie, expressando-se assim o resultado em porcentagem.

2.6. Concentração de metais pesados nas brânquias e fígado de peixes teleósteos

Para a análise da concentração de metais foram utilizadas amostras das brânquias e fígados dos espécimes, nas quais foram determinadas as concentrações de Al, Mn, Pb e Zn. As amostras, pesadas em balança analítica digital de precisão (Scientech AS 210), foram acondicionadas em Erlenmeyer (25 mL), mantidas em estufa a 70 °C, até alcançarem peso seco constante. A digestão ácida das amostras foi realizada com a adição de 1,5 mL de HNO₃ concentrado, 0,5 mL de HClO₄ 70% e duas gotas de água oxigenada 30%, mantendo-se os frascos em bloco digestor, com aquecimento contínuo até atingir 90 °C. Após a completa digestão (~ 1h), o volume foi ajustado para 25 mL com água desionizada, seguido de filtração e análise da concentração de metais pesados, em Espectrofotômetro de Emissão em Plasma Indutivamente Acoplado (Perkin Elmer®, Optima 3300DV) no departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo os resultados expressos em µg g⁻¹ de massa seca (MS).

2.7. Análise Estatística

Foram realizadas análises descritivas dos dados e estes foram expressos em média e erro padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nas brânquias e fígado de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* coletados no rio Piracicaba

A concentração de metais nas brânquias de ambas as espécies foi alta, quando comparado aos animais controles (Figuras 1 e 2). Tanto no lambari quanto no acará, o metal que apresentou maior concentração foi o Pb com 5078 e 630 µg g⁻¹ MS, respectivamente. Comparando-se a concentração de metais nas brânquias das duas espécies, as brânquias do lambari apresentaram maior concentração em relação ao acará, sendo que apenas o Al apresentou maior concentração no segundo. Erdogrul e Erbilir (2007), analisando a concentração de metais nas brânquias de quatro espécies de peixes (*Acanthobrama marmid*,

Cyprinus carpio, *Chondrostoma regium* e *Silurus glanis*) coletadas em lago contaminado na Turquia, detectaram concentrações mais baixas de Mn e Pb, do que as concentrações detectadas no presente estudo. Contudo Veado *et al.* (2007), detectaram concentrações mais altas de Mn e Pb que o estudo anteriormente citado, além das concentrações de Al e Zn, em tilápias (*Oreochromis niloticus*) oriundas da lagoa da Pampulha (MG). Entretanto, apenas a concentração de Mn nas brânquias das tilápias foi mais expressiva que a concentração detectada neste estudo (acará), embora tenha sido menor que a concentração registrada para o lambari. Este fato demonstra que em ambientes aquáticos contaminados, a concentração de metais no tecido branquial reflete a contaminação do meio, e, além disso, que a contaminação por metais no rio Piracicaba é elevada para todos os metais analisados.

O epitélio branquial é a principal superfície de contato com o ambiente e constitui um importante alvo dos poluentes presentes na água, devido à sua extensa área superficial (WONG; WONG, 2000), que através da qual ocorrem as trocas gasosas entre o sangue e o meio externo (NEWSTEAD, 1987). A fina camada epitelial que cobre as lamelas secundárias representa o maior local de trocas gasosas. As células de cloreto, responsáveis por intercâmbios iônicos, são geralmente concentradas na lamela primária, mas também se distribuem entre as lamelas secundárias, em baixas concentrações iônicas. Entretanto, além do transporte de Na^+ , Cl^- e Ca^{+2} , essas células podem eventualmente acumular metais pesados e outras substâncias tóxicas (FRACÁCIO *et al.*, 2003). Além disso, é provável que o rápido acúmulo de metais nas brânquias seja devido ao grande volume de água que passa através das mesmas para o fornecimento de O_2 sob situações de estresse (KARUPPASAMY, 2004).

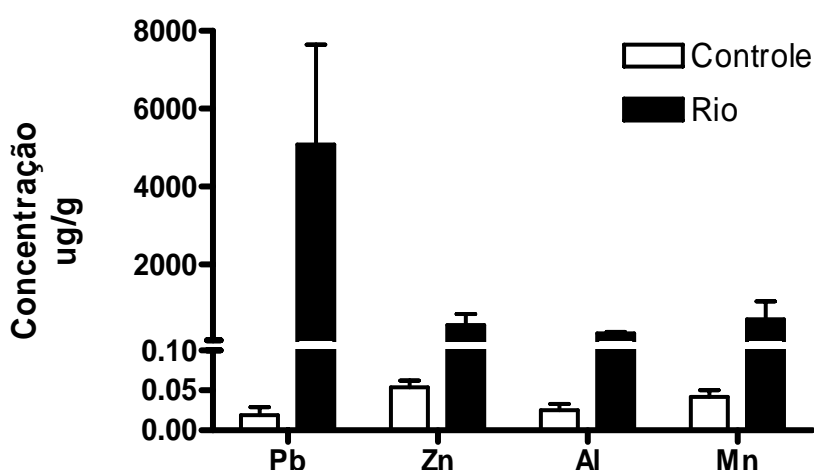


Figura 1. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nas brânquias de *Astyanax bimaculatus* controles e coletados no rio Piracicaba.

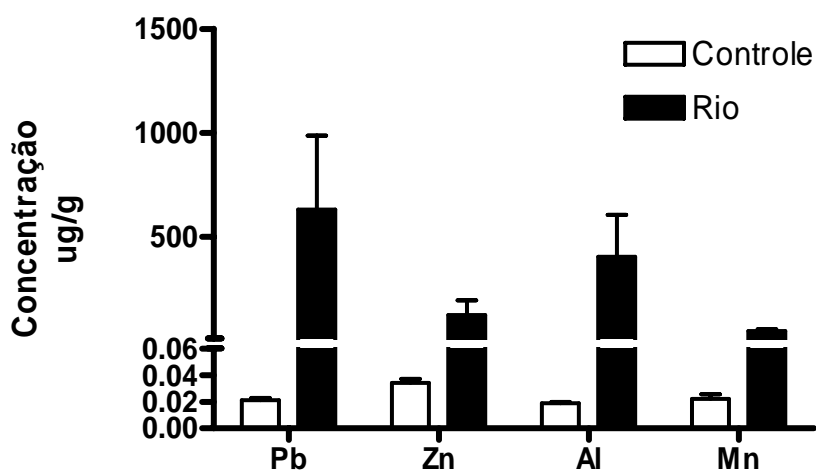


Figura 2. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nas brânquias de *Geophagus brasiliensis* controles e coletados no rio Piracicaba.

A concentração de metais detectadas no tecido hepático dos espécimes em estudo foi alta, comparados aos espécimes controles (Figuras 3 e 4). Como ocorrido na concentração de metais nas brânquias, o Pb foi o metal que apresentou maior concentração no tecido hepático de ambas as espécies, com 1199 e 531 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, respectivamente, e ao contrário da concentração detectada no tecido branquial, as concentrações de todos os metais no fígado, foram mais expressivas no lambari.

Em relação à concentração de metais tanto no tecido branquial quanto no hepático, *A. bimaculatus* mostrou-se mais sensível que *G. brasiliensis*, apresentando concentrações maiores de metais em ambos os tecidos. Segundo Malik *et al.* (2009), a concentração de metais pesados difere entre as espécies, devido principalmente as suas necessidades ecológicas e atividades metabólicas. As diferenças de concentração entre os órgãos dos peixes podem ser devidas ao papel fisiológico de cada órgão (KARUPPASAMY, 2004) e também pelas funções regulatórias realizadas pelos diferentes órgãos (ROMANENKO *et al.*, 1986). Dessa maneira, Malik *et al.* (2009), analisando a concentração de diversos metais pesados nos tecidos de *Labeo rohita* e *Ctenopharyngodon idella* coletadas em um lago de Bhopal (Índia) detectaram que o fígado e as brânquias apresentaram níveis mais altos de metais pesados do que os outros órgãos analisados. Este fato pode ser explicado pela função hepática de armazenamento e desintoxicação, e as brânquias como tecido depósito de metais, devido à alta bioacumulação deste órgão, fato este descrito também por outros autores (YILMAZ, 2005; NSIKAK *et al.*, 2007).

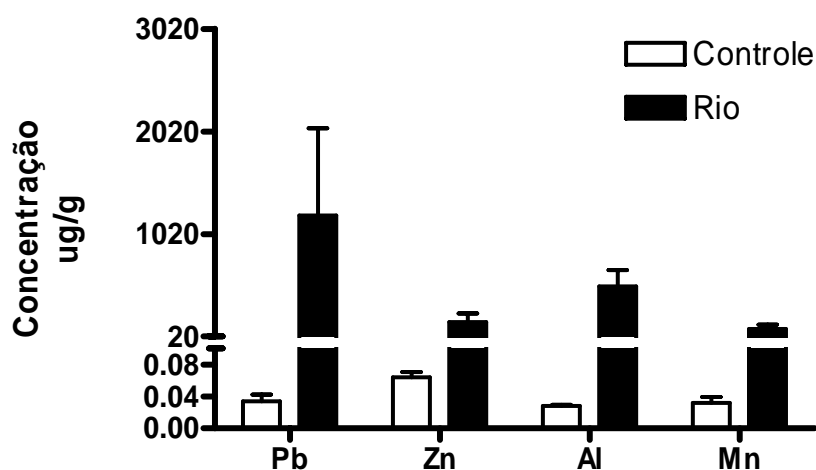


Figura 3. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) no fígado de *Astyanax bimaculatus* controles e coletados no rio Piracicaba.

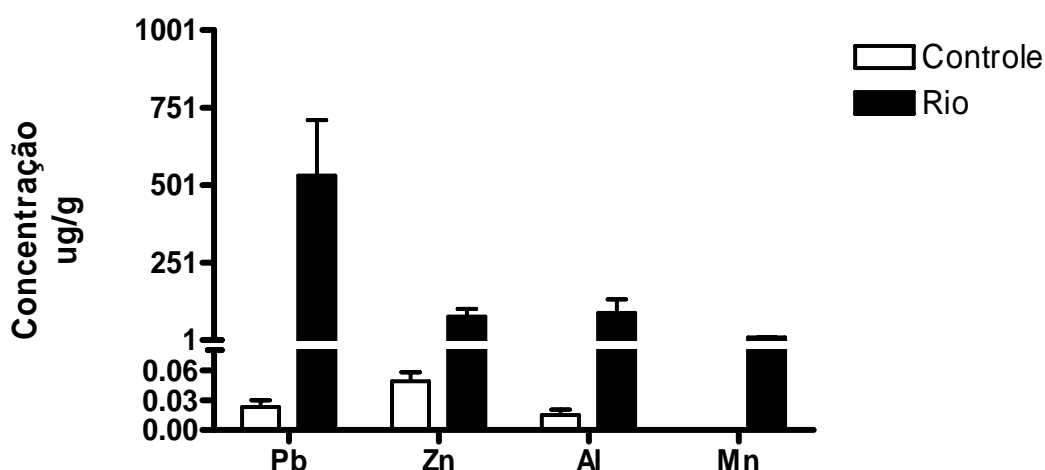


Figura 4. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) no fígado de *Geophagus brasiliensis* controles e coletados no rio Piracicaba.

3.2. Alterações histopatológicas nas brânquias de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* coletados no rio Piracicaba

Os espécimes-controle apresentaram arquitetura branquial normal, descrita para maioria dos teleósteos, as quais são compostas geralmente por quatro pares de arcos branquiais, que são sustentados por um esqueleto ósseo. Dos arcos branquiais partem filamentos sustentados por cartilagem (lamelas primárias), das quais partem as lamelas secundárias. As lamelas secundárias são constituídas por um epitélio simples, no qual ocorrem as trocas gasosas (ROSSI, 2008). As brânquias são revestidas por epitélio pavimentoso, o qual se apresenta liso na região das lamelas secundárias. As lamelas secundárias, por sua vez, têm um revestimento formado por 3 camadas de células: 2 de células pavimentosas (externas) e 1 camada intermediária constituída de células pilares. As células pilares possuem prolongamentos que, em contato com os prolongamentos das células pilares

adjacentes, formam espaços por onde circula o sangue (TAKASHIMA e HIBIYA, 1995). Em contraste com as células pavimentosas, as células ricas em mitocôndrias ocupam uma fração muito menor da área de superfície do epitélio branquial, mas são considerados locais primários de ocorrência de processos fisiológicos ativos nas brânquias (EVANS *et al.*, 2005).

Em ambientes aquáticos degradados, particularmente onde poluentes ocorrem em concentrações sub-letais e/ou crônicas, é mais frequente observar mudanças na estrutura e função dos organismos aquáticos do que eventos de mortalidade em massa (FLORES-LOPES e MALABARBA, 2007). O sistema respiratório é a mais extensa interface de um peixe com a água, sendo frequentemente o primeiro sistema a ser afetado por poluentes dissolvidos (HEATH, 1995), assim estas estruturas são consideradas indicadores eficientes da qualidade da água (RONCERO *et al.*, 1990; KIRK e LEWIS, 1993).

As histopatologias detectadas nas brânquias de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* coletados no rio Piracicaba, foram: hiperplasia interlamelar (HI), redução do espaço interlamelar (REI), destacamento do epitélio lamelar (DL), fusão lamelar (FL), edema (E), destruição do epitélio lamelar (DEL), deleção do epitélio lamelar (DIEL), redução da área respiratória (RAR), dilatação do seio venoso central (DISV) e aneurisma (A) (Tabela 1; Figura 5 A, B, C, D, E, F).

Tabela 1. Percentual de alterações histopatológicas branquiais detectadas em *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba.

Histopatologias Branquiais										
Espécies	HI	REI	DL	FL	E	DEL	DIEL	RAR	DISV	A
<i>A. bimaculatus</i>	63,3	63,3	85,0	45,0	63,3	28,3	20,0	20,0	13,3	3,3
<i>G. brasiliensis</i>	85,0	74,0	32,0	48,0	22,0	44,0	38,0	34,0	40,0	18,0

HI: hiperplasia interlamelar; REI: redução do espaço interlamelar; DL: destacamento do epitélio lamelar; FL: fusão lamelar; E: edema; DEL: destruição do epitélio lamelar; DIEL: deleção do epitélio lamelar; RAR: redução da área respiratória; DISV: dilatação do seio venoso central; A: aneurisma.

As alterações branquiais decorrentes da exposição a algum poluente geralmente têm a função de impedir a entrada do xenobiótico no organismo, seriam, portanto, reações de defesa do organismo (CAMPOS, 2007). A severidade das lesões depende da concentração do contaminante e do período de exposição do organismo ao contaminante (OLIVEIRA-RIBEIRO *et al.*, 1996). Além disso, estas alterações podem acarretar sérias consequências para

as funções fisiológicas das brânquias, principalmente para as trocas gasosas (NERO *et al.*, 2006).

Apesar de *A. bimaculatus* ter apresentado maior concentração de metais no tecido branquial, *G. brasiliensis* se mostrou mais sensível em relação à contaminação ambiental, tendo como resposta um percentual de histopatologias branquiais mais expressivo que *A. bimaculatus*. As histopatologias detectadas neste estudo foram semelhantes àquelas descritas por Lupi *et al.* (2007) em tilápias (*Oreochromis niloticus*) coletadas em córregos do município de Bebedouro (SP). E ainda, Campagna *et al.* (2008) avaliando a histologia das brânquias de *Danio rerio* expostos a sedimentos tóxicos do rio Monjolinho (SP), detectaram hiperplasias das células epiteliais, fusão das lamelas secundárias, dilatação dos capilares sanguíneos da lamela secundária e do seio venoso central, congestão nas lamelas secundárias e descolamento do epitélio das lamelas secundárias. As lesões detectadas neste estudo parecem representar defesa do órgão, as quais culminam em alterações na estrutura branquial, o que pode levar a menor eficiência do mesmo. Quando ocorre hiperplasia entre as lamelas secundárias (ou proliferação do epitélio), há a redução do espaço entre as lamelas, e posteriormente se a proliferação do epitélio continua, as lamelas secundárias se fundem, formando um único epitélio, onde não há espaço para a passagem da água e conseqüentemente o oxigênio não se difunde, não ocorrendo assim a troca gasosa, prejudicando a sobrevivência dos organismos.

Diversos autores descrevem alterações na estrutura branquial de peixes expostos a metais pesados (RANDI *et al.*, 1996; BURY *et al.*, 1998; ARELLANO *et al.*, 1999; NERO *et al.*, 2006; GARCIA-SANTOS *et al.*, 2007). Alterações como hiperplasia interlamelar e fusão das lamelas secundárias, são relacionadas com redução da capacidade de difusão das brânquias, causando a hipóxia (oxigenação insuficiente do sangue) (CAMPOS, 2007). Segundo Ostrenski *et al.* (2001), danos branquiais como a proliferação tecidual (hiperplasia interlamelar), fusões lamelares e descolamento do epitélio branquial, tem forte correlação com a contaminação aguda (ROSSI, 2008). Histopatologias como o destacamento do epitélio provocam o aumento da distância através da qual o produto tóxico tem para chegar ao sangue (MALLATT, 1985). Além disso, o destacamento do epitélio pode estar relacionado à redução da ATPase Na^+K^+ ativada da brânquia e/ou com o declínio das concentrações de Na^+ e Cl^- no sangue, afetando diretamente as funções osmorregulatórias do órgão (NEIBOER e RICHARDSON, 1980). A fusão de lamelas decorre do aumento da adesão entre as células epiteliais e o sistema de sustentação das células pilares, associado ao colapso da integridade da estrutura da lamela secundária (SKIDMORE e TOVELL, 1972). Esta fusão pode causar a redução da superfície do epitélio respiratório, prejudicando as trocas gasosas (NEIBOER e

RICHARDSON, 1980), mas por outro lado, aumenta a distância da barreira água-sangue e junto com o destacamento do epitélio e o aumento da secreção de muco, podem diminuir drasticamente o consumo de oxigênio (KOCA *et al.*, 2005). Se o agente irritante não for removido, ele pode ainda levar à ruptura dos vasos sanguíneos e à formação de pequenos focos hemorrágicos (JIRAUNGKOORSKUL *et al.*, 2002). A formação de edema leva ao destacamento do epitélio, que segundo THOPHON *et al.* (2003), é o primeiro sinal de patologia em peixes. Alguns estudos mostraram que o edema intersticial é uma das lesões mais frequentes observadas no epitélio branquial de peixes expostos a metais pesados (MALLATT, 1985), além de ter sido descrito em peixes expostos a diferentes poluentes (ARELLANO *et al.*, 2000), tais como endosulfan (NOWAK *et al.*, 1992), combustíveis fósseis e biocombustíveis (SILVA *et al.*, 2007), organofosforados (FANTA *et al.*, 2003) e ainda, a sabão e detergentes (OGUNDIRAN *et al.*, 2009), não sendo assim, o edema uma alteração histológica especificamente induzida por metais pesados. O edema, segundo Garcia-Santos *et al.* (2006), pode induzir alterações na estrutura normal das células pilares, com consequente perda da função de suporte o que, provavelmente, levou ao surgimento de aneurisma lamelar nos peixes daquele estudo, que foram expostos ao cádmio. Lesões como o edema, o destacamento epitelial, e a fusão lamelar também são mecanismos de defesa branquiais que reduzem a área superficial em contato com o meio externo, e também aumentam a barreira de difusão para o poluente (LAURÉN e MCDONALD, 1985; VAN HEERDEN *et al.*, 2004).

Santos (2009), analisando a toxicidade aguda do Zn em *Astyanax aff. Bimaculatus* detectou alterações histológicas como hiperplasia, fusão lamelar, aneurisma, destruição do epitélio lamelar, ruptura de membrana, deleção do epitélio lamelar secundário e produção excessiva de muco. Este pesquisador observou ainda que a evolução gradativa da destruição do epitélio lamelar conduzia à destruição das lamelas secundárias, acompanhando o aumento das concentrações de zinco nos tratamentos. De acordo com Skidmore e Tovell (1972), substâncias tóxicas nas brânquias parecem quebrar a aderência entre as células epiteliais branquiais e as células pilares, o que é acompanhado por um colapso da integridade estrutural das lamelas secundárias e subsequente falha do funcionamento respiratório das brânquias.

Figura 5. Fotomicrografia das brânquias de espécimes controles da Piscicultura do Prata e de espécimes coletados no rio Piracicaba.

A) Organização das brânquias de espécime controle *Astyanax bimaculatus*: Lamela primária (LP) e lamela secundária (LS). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.

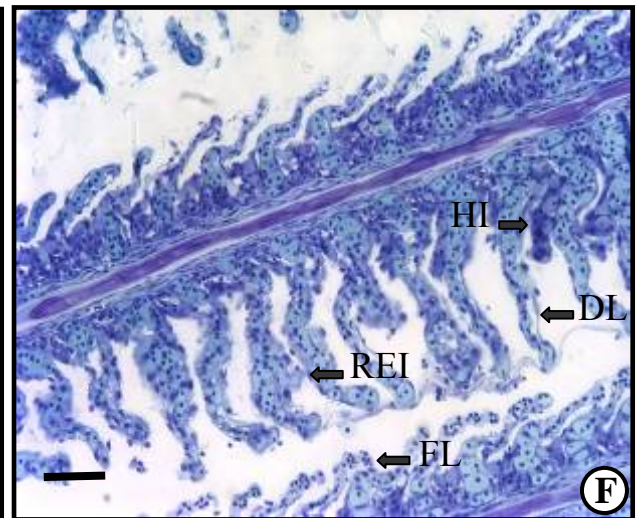
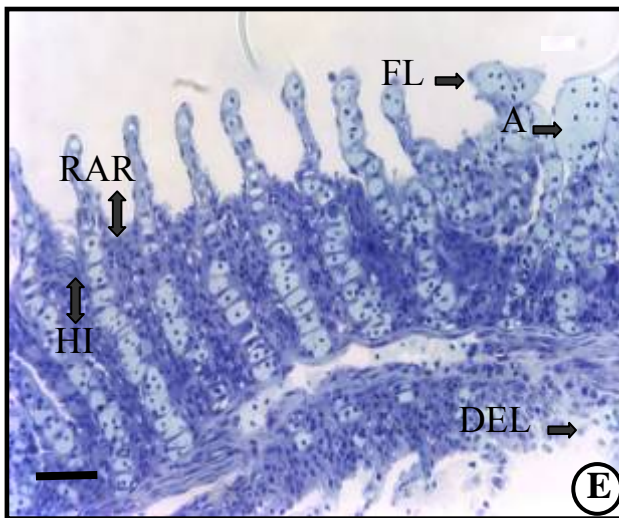
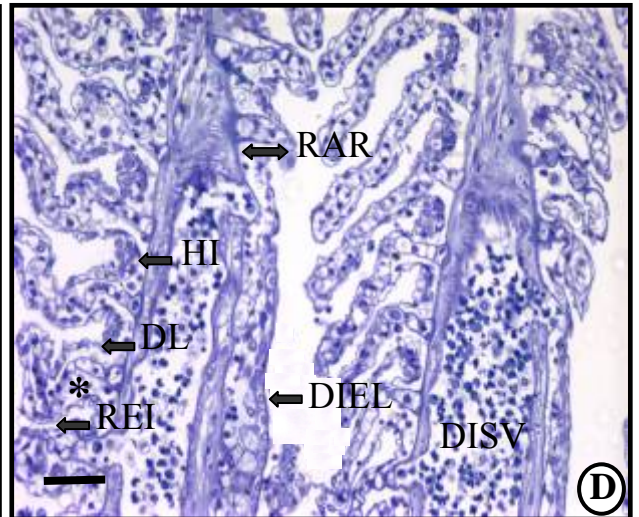
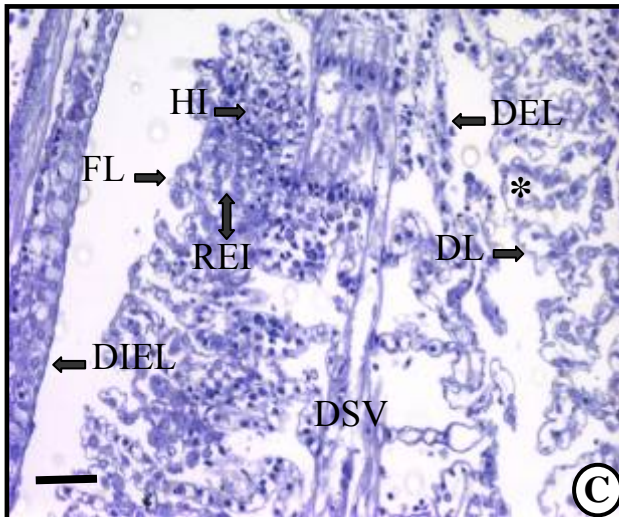
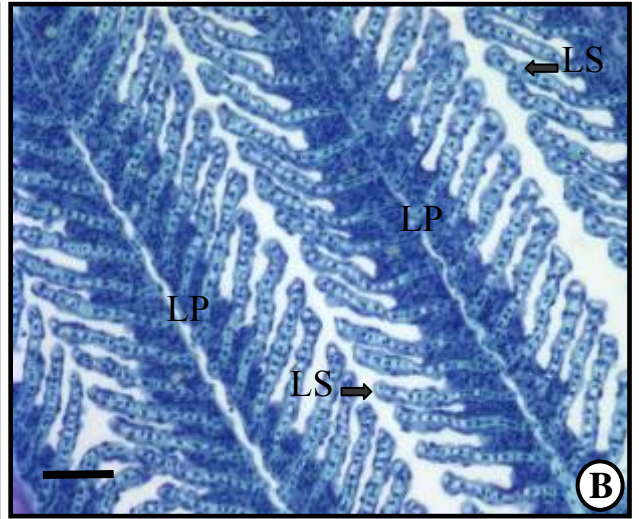
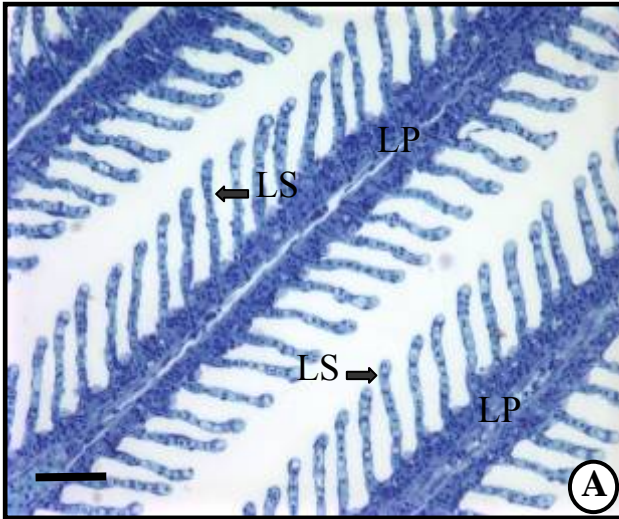
B) Organização das brânquias de espécime controle *Geophagus brasiliensis*: Lamela primária (LP) e lamela secundária (LS). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.

C) Fotomicrografia da brânquia de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba. Hiperplasia interlamelar (HI), destruição do epitélio lamelar (DEL), fusão lamelar (FL), redução do espaço interlamelar (REI), * edema, destacamento do epitélio lamelar (DL), deleção do epitélio lamelar (DIEL), destruição do seio venoso (DSV). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.

D) Fotomicrografia da brânquia de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba. Redução da área respiratória (RAR), hiperplasia interlamelar (HI), destacamento do epitélio lamelar (DL), * edema, redução do espaço interlamelar (REI), deleção do epitélio lamelar (DIEL), dilatação do seio venoso central (DISV). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.

E) Fotomicrografia da brânquia de *G. brasiliensis* coletado no rio Piracicaba. Aneurisma (A), fusão lamelar (FL), redução da área respiratória (RAR), hiperplasia interlamelar (HI) e destruição do epitélio lamelar (DEL). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.

F) Fotomicrografia da brânquia de *G. brasiliensis* coletado no rio Piracicaba. Hiperplasia interlamelar (HI), redução do espaço interlamelar (REI), destacamento do epitélio lamelar (DL) e fusão lamelar (FL). Barra: 30 µm. Azul de toluidina.



3.3. Alterações histopatológicas no fígado de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* coletados no rio Piracicaba

Nos espécimes-controle, o fígado apresentou arquitetura normal encontrada para maioria dos teleosteos, na qual o parênquima hepático apresenta células (hepatócitos) com formato poligonal, núcleos grandes, arredondados, localizados predominantemente na região central e com nucléolo proeminente, organizadas em arranjo cordonal. Pequenos vasos sanguíneos, chamados de vasos sinusóides, são observados por entre os hepatócitos (VERLAG, 1982).

As histopatologias detectadas no fígado de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* foram: degeneração citoplasmática de hepatócito (DCH), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), infiltrado leucocitário (IL), degeneração nuclear de hepatócito (DNH), vacuolização (VAC), perda da forma poligonal do hepatócito (PFP), redução de hepatócito (RH), congestão vascular (CV) e deslocamento de núcleo (DN) (Tabela 2; Figuras 6 A, B, C, D, E, F).

Tabela 2. Percentual de histopatologias do tecido hepático em *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba.

Histopatologias hepáticas									
Espécies	DCH	DEC	IL	DNH	VAC	PFP	RH	CV	DN
<i>A. bimaculatus</i>	81,7	60,0	74,7	68,3	65,0	40,0	51,7	18,3	20,0
<i>G. brasiliensis</i>	74,0	86,0	70,0	70,0	72,0	80,0	20,0	34,0	10,0

DCH: degeneração citoplasmática de hepatócito; DEC: desarranjo na estrutura cordonal; IL: infiltrado leucocitário; DNH: degeneração nuclear de hepatócito; VAC: vacuolização; PFP: perda da forma poligonal do hepatócito; RH: redução de hepatócito; CV: congestão vascular; DN: deslocamento de núcleo.

Em relação às histopatologias detectadas no tecido hepático, *G. brasiliensis* (acará) apresentou resposta histopatológica mais expressiva que *A. bimaculatus* (lambari). Apesar da concentração de metais no fígado do acará ter sido menor que no lambari, esta se mostrou mais tóxica, o que pode ter contribuído para maior percentual de histopatologias no acará, fato este também ocorrido nas brânquias, demonstrando que esta espécie é potencial bioindicadora da qualidade ambiental do rio Piracicaba.

Segundo Ptashynski *et al.* (2002), os peixes são expostos aos metais pesados principalmente por duas rotas de captação: uma se dá através da superfície das brânquias (em

contato direto com a água) e a outra pelo aparelho digestivo (exposição através da dieta), posteriormente, os metais são transferidos através do sangue para outros órgãos-alvo, tais como o fígado e os rins. Como *G. brasiliensis* (acará) possui hábito alimentar diferente do *A. bimaculatus* (lambari), por ingerir sedimento, talvez isso tenha contribuído para a constatação de alterações histológicas mais expressivas no fígado de *G. brasiliensis*, já que o sedimento é um compartimento do ecossistema aquático que acumula metais.

Sendo o fígado o maior órgão do metabolismo, este encontra-se exposto aos poluentes absorvidos do ambiente (SALEH, 1982; BRAUNBECK *et al.*, 1990; GONZALEZ *et al.*, 1993), e devido aos processos de absorção e metabolização, as lesões observadas no fígado estão relacionadas à exposição crônica a poluentes no ambiente aquático (FLORES-LOPES e MALABARBA, 2007). Segundo Zelikoff (1998), os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental, tornando assim a análise do fígado uma ferramenta bastante utilizada em biomonitoramento para avaliação da qualidade da água de áreas supostamente impactadas (WESTER *et al.*, 2002). Dentre as alterações histológicas detectadas, a degeneração citoplasmática de hepatócito foi a que apresentou o percentual mais expressivo em ambas as espécies. Esta alteração leva à perda da forma poligonal dos hepatócitos, propiciando o desarranjo na estrutura cordonal dos mesmos, o que pode posteriormente culminar na degeneração da célula e na redução de hepatócitos no tecido hepático como um todo, causando prejuízos funcionais e estruturais no fígado de peixes (STENTIFORD *et al.*, 2003). As histopatologias detectadas neste estudo são semelhantes àquelas verificadas por outros pesquisadores no fígado de várias espécies de peixes expostas a diferentes agentes tóxicos. Dentre estas podem ser citadas: alterações detectadas em *Salmo clarki* expostos aos efeitos subletais do inseticida Eldrin (ELLER, 1971); além de alterações em *Brachydanio rerio* sob os efeitos subletais do DDT (diclorodifeniltricloreto) (WEISS, 1974; SALEH, 1982; RODRIGUES, 1994; RODRIGUES e FANTA, 1998). Alterações semelhantes também foram detectadas em espécies de peixes oriundos de ambientes contaminados, como tilápias (*Oreochromis niloticus*) coletadas na represa de Guarapiranga (SP), nas quais se detectou lesões como infiltrado leucocitário, congestão dos vasos sanguíneos e focos de degeneração celular, atribuindo as mesmas a ação de xenobióticos presentes na represa (SANTOS *et al.*, 2004). Segundo Verlag (1982), a congestão vascular dos sinusóides ou de veias pequenas é uma alteração patológica que ocorre no fígado, sendo definida como o acúmulo de sangue que causa a dilatação dos vasos sanguíneos e está relacionada com a diminuição da velocidade de circulação do sangue no local (ROBERTS, 1989). Em grandes proporções, causa diminuição das trocas metabólicas entre o plasma

sanguíneo e o tecido, causando danos às células locais. E ainda, segundo Santos *et al.* (2004) e Santos (2009), na presença de contaminantes químicos considerados agressivos, o aumento da irrigação do tecido conseqüentemente leva ao aumento da quantidade de células do sistema imune circulante no local afetado. Em *Trematomus newnesi* (Nototheriidae) expostos ao esgoto da Estação Antártica Brasileira “Comandante Ferraz” (EACF), foram detectadas congestão dos vasos sanguíneos, vacuolização, alterações na morfologia nuclear dos hepatócitos e desorganização do arranjo cordonal (CAMPOS, 2007), alterações estas muito semelhantes às detectadas no presente estudo. Segundo Hinton e Laurén (1990), a vacuolização de hepatócitos está associada à inibição da síntese protéica, o esgotamento de energia e a desagregação de microtúbulos. Já alterações como desarranjos das estruturas cordonais dos hepatócitos podem indicar a degeneração inicial dos processos intracelulares dos hepatócitos, pois o fígado realiza importantes funções no processo de desintoxicação do animal (DUTTA *et al.*, 1993; HASCHEK e ROUSSEAU, 1996). Segundo Hinton e Laurén (1990), histopatologias como aumento da vacuolização associado ao acúmulo de lipídios, o congestionamento dos vasos sanguíneos e edema celular não são consideradas resultados de exposição a metais específicos, mas geralmente está associada à resposta dos hepatócitos a substâncias tóxicas. Como algumas das histopatologias citadas acima são equivalentes às detectadas neste estudo, pode-se inferir que os hepatócitos de ambas as espécies responderam a ação tóxica de um conjunto de substâncias.

Lesões histopatológicas são indicativas de danos em nível de tecidos e órgãos, indicando que os contaminantes provocaram efeitos crônicos. Nos ecossistemas aquáticos, os peixes estão localizados no mais alto nível do processo de biomagnificação de xenobióticos. Contaminantes ambientais como, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), pesticidas organoclorados e alguns metais pesados têm sido considerados como modelos de xenobióticos, utilizados para o monitoramento ambiental devido à sua persistência no ambiente, suas propriedades bioacumulativas e seu potencial de toxicidade (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005).

Figura 6. Fotomicrografia de fígado de espécimes controles da Piscicultura do Prata e de espécimes coletados no rio Piracicaba.

A) Organização do tecido hepático de espécime controle *Astyanax bimaculatus*: Hepatócito (H), citoplasma poliédrico do hepatócito (C), núcleo do hepatócito (N), capilar sinusóide (CS). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.

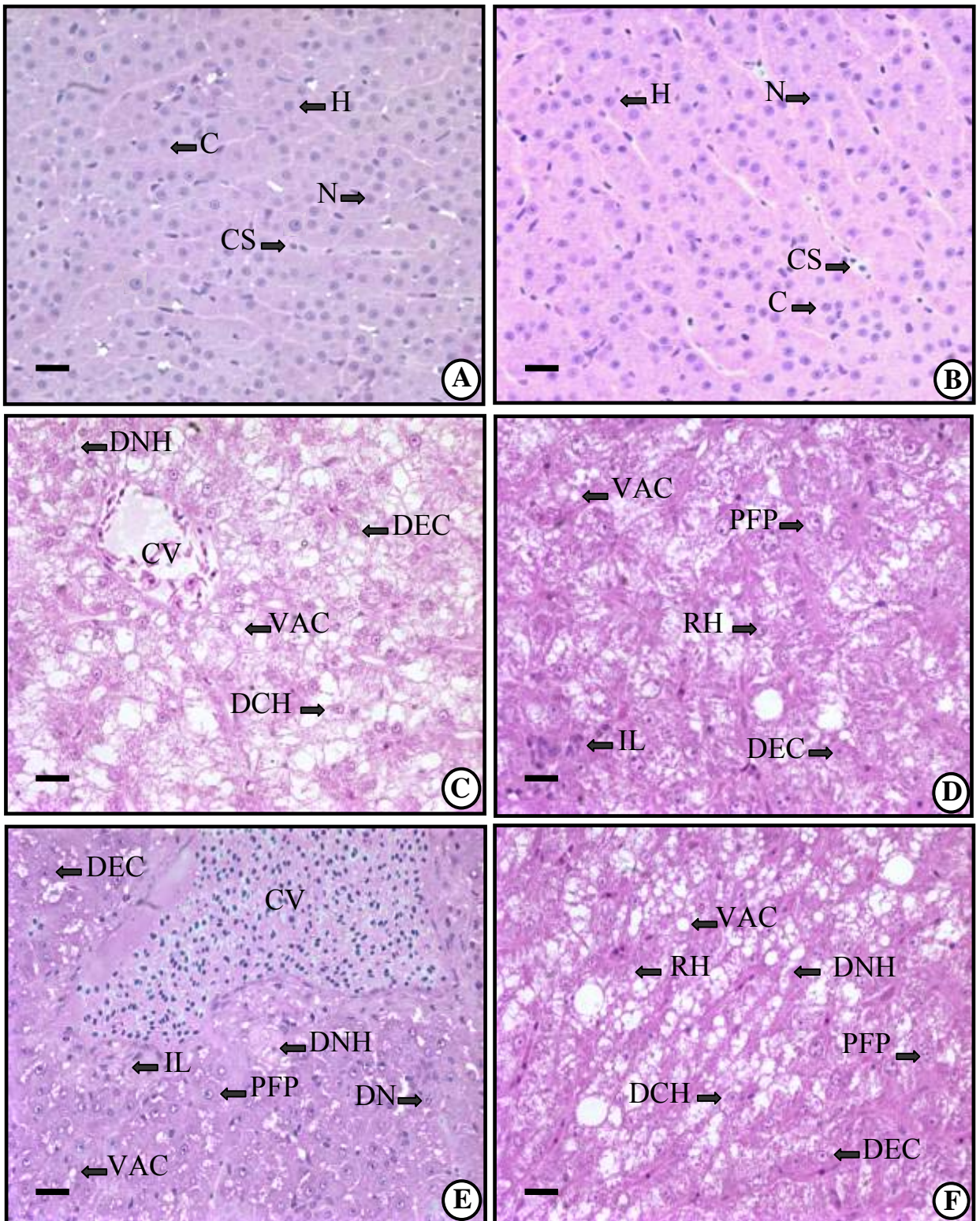
B) Organização do tecido hepático de espécime controle *Geophagus brasiliensis*: Hepatócito (H), citoplasma poliédrico do hepatócito (C), núcleo do hepatócito (N), capilar sinusóide (CS). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.

C) Fotomicrografia de fígado de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba. Degeneração nuclear de hepatócito (DNH), congestão vascular (CV), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), vacuolização (VAC) e degeneração citoplasmática de hepatócito (DCH). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.

D) Fotomicrografia de fígado de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba. Vacuolização (VAC), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), redução de hepatócito (RH), perda da forma poligonal do hepatócito (PFP) e infiltrado leucocitário (IL). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.

E) Fotomicrografia de fígado de *G. brasiliensis* coletado no rio Piracicaba. Desarranjo na estrutura cordonal (DEC), congestão vascular (CV), infiltrado leucocitário (IL), degeneração nuclear de hepatócito (DNH), perda da forma poligonal do hepatócito (PFP), deslocamento de núcleo (DN) e vacuolização (VAC). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.

F) Fotomicrografia de fígado de *G. brasiliensis* coletado no rio Piracicaba. Vacuolização (VAC), degeneração nuclear de hepatócito (DNH), degeneração citoplasmática de hepatócito (DCH), desarranjo na estrutura cordonal (DEC), perda da forma poligonal do hepatócito (PFP), redução de hepatócito (RH). Barra: 20 µm. Hematoxilina de Mayer e Floxina B.



3.4. Índice Hepatosomático (IHS) de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* controle e de espécimes coletados no rio Piracicaba

Os valores referentes aos índices hepatossomáticos dos espécimes controle e dos espécimes coletados no rio Piracicaba, encontram-se na tabela 3.

Tabela 3. Peso corporal (g), peso do fígado (g) e índice hepatossomático (IHS) (%) médio e erro padrão de espécimes controle e coletados no rio Piracicaba.

	Espécie	Peso Corporal (g)	Peso do Fígado (g)	IHS (%)
Controle	<i>A. bimaculatus</i>	5,3 ± 0,9	0,04 ± 0,02	0,8 ± 0,3
	<i>G. brasiliensis</i>	34,2 ± 39,6	0,2 ± 0,2	0,6 ± 0,2
Rio Piracicaba	<i>A. bimaculatus</i>	10,9 ± 2,7	0,2 ± 0,1	1,7 ± 0,8
	<i>G. brasiliensis</i>	84,3 ± 37,3	1,7 ± 0,8	2,9 ± 3,1

Os índices somáticos mensuram o órgão em relação à massa corporal (por exemplo, índice hepatossomático, peso fígado/peso corporal do peixe x 100). O índice hepatossomático é talvez um dos índices mais aplicados devido ao papel central do fígado na desintoxicação de poluentes. Assim, o índice hepatossomático (IHS) pode ser um biomarcador apropriado para as substâncias que são tóxicas para o fígado (HAUX e LARSSON, 1984). Este índice pode refletir tanto a demanda de energia metabólica como o estado nutricional em curto prazo, e pode ser considerado um indicador geral de saúde dos peixes, sensível aos contaminantes ambientais (EVERAARTS *et al.*, 1993). O IHS das espécies coletadas no rio Piracicaba foi mais alto que o dos animais controle, isto pode ser devido ao maior peso corporal e do fígado nos controles, ou ainda, em resposta a contaminação ambiental do rio. Alguns estudos reportam que animais coletados em áreas contaminadas frequentemente apresentam aumento no IHS (ADAMS e RYON, 1994; VAN DER OOST *et al.*, 1996; KARELS *et al.*, 1998), isso porque, segundo Flores-Lopes e Malabarba (2007), a quantidade de poluentes no fígado de peixes é diretamente proporcional ao grau de poluição ambiental por metais pesados e pesticidas, o que provoca aumento no IHS. Esta correlação negativa (metais x IHS) também foi observada por Maes *et al.* (2005) em *Anguilla anguilla*, e segundo estes autores, a toxicidade dos metais atua como um fator negativo na saúde dos peixes. No entanto, Goede e Barton (1990) salientaram que o IHS pode declinar em resposta ao jejum (depleção de glicogênio), mas o peso do fígado pode aumentar devido às alterações patológicas, fato este que corrobora com o maior peso do fígado de *G. brasiliensis* e as alterações histopatológicas

detectadas no tecido hepático desta espécie. Desta forma, o IHS tem-se revelado útil em estudos de campo e laboratoriais utilizando-se peixes expostos a contaminantes ambientais (DI GIULIO e HINTON, 2008).

4. Conclusões

Embora neste estudo não tenha sido estabelecida de fato uma relação de causa e efeito entre as alterações observadas e a contaminação do ambiente por metais pesados, de modo geral, é possível afirmar que as alterações histológicas encontradas nos órgãos analisados revelam que o ambiente está degradado e que estas alterações foram produzidas em resposta à exposição direta a este ambiente, refletindo e comprometendo a saúde dos peixes que lá habitam.

Capítulo III

Concentração de metais pesados e avaliação histopatológica de testículos em *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1758) e *Geophagus brasiliensis* (QUOY e GAIMARD, 1824) coletados no rio Piracicaba, Minas Gerais

Resumo

A contaminação dos ecossistemas aquáticos por metais pesados pode causar efeitos adversos sobre o desenvolvimento, crescimento, comportamento e reprodução dos peixes, podendo assim comprometer a sobrevivência da população. Assim, objetivou-se determinar a concentração de alumínio (Al), manganês (Mn), chumbo (Pb) e zinco (Zn) nos testículos de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba (MG) e comparando os valores encontrados com espécimes controles de uma estação de piscicultura. Além disso foi feito o cálculo do índice gonadossomático (IGS) e a identificação de possíveis alterações histológicas no testículo como ferramenta de avaliação da qualidade ambiental desse ecossistema. Foram coletados 4 machos de *A. bimaculatus* e 4 de *G. brasiliensis*, ao longo de 3 coletas, em 2 pontos do rio Piracicaba. Para o controle, foram utilizados 6 espécimes controle de ambas as espécies de uma estação de piscicultura. A maior concentração de metal encontrada nos testículos foi a do Pb, em ambas as espécies. Muitas das alterações histopatológicas detectadas nos espécimes em estudo afetam diretamente o processo espermatogênico, já que interferiram com aspectos essenciais a este processo. A exposição dos peixes a uma associação de metais pesados, além de outros contaminantes, contribuiu para a desestruturação testicular e o comprometimento da reprodução. O índice gonadossomático (IGS) médio dos animais controle foi maior do que o IGS dos peixes coletados no rio Piracicaba. A diferença no tamanho e peso corporal dos espécimes é refletida nesse índice, entretanto, os valores mais baixos de IGS encontrados nos espécimes coletados no rio Piracicaba podem estar correlacionados com a concentração de metais nos mesmos, o que causou prejuízo no processo espermatogênico, bem como no peso testicular dos mesmos. Assim, pode-se concluir que os baixos valores do IGS juntamente com a alta concentração de metais e as histopatologias detectadas nos testículos, indicam que no rio Piracicaba o desempenho reprodutivo das espécies em estudo encontra-se comprometido.

1. Introdução

Os metais pesados ocorrem naturalmente no ambiente e são encontrados em diferentes níveis em águas superficiais e subterrâneas. Estes metais constituem parte integrante do

ambiente e da matéria viva, ocorrendo naturalmente em pequenas concentrações, na ordem de partes por milhão a partes por bilhão (ESTEVES, 1988). Atividades antropogênicas, contudo, provocam aumento da descarga de diversos metais nos ecossistemas aquáticos naturais (MARTIN e COUGHTREY, 1982). Segundo Mason (1991), a poluição por metais pesados é um dos cinco principais tipos de poluição tóxica comumente presente em águas superficiais. Os metais são poluentes ambientais importantes porque tendem a se acumular nos organismos, são persistentes no ambiente e podem atingir toda cadeia trófica (SANDERS, 1997). Os primeiros efeitos da poluição de metais pesados podem estar evidentes nos peixes apenas a nível celular ou no tecido, antes de mudanças significativas serem identificadas no comportamento ou aparência externa dos mesmos (VAN DYK *et al.*, 2007). Posteriormente, a poluição pode causar efeitos adversos sobre o desenvolvimento, crescimento, comportamento e reprodução do indivíduo, podendo assim atingir toda a população (ANKLEY *et al.*, 1998; DESBROW *et al.*, 1998; GIESY *et al.*, 2000; LEE e PEART, 2000; EGANHOUSE e SHERBLUM, 2001).

Por mais de uma década tem havido uma crescente preocupação com uma série de compostos no ambiente que podem afetar potencialmente o sistema reprodutivo de vertebrados e invertebrados, por perturbar suas funções endócrinas, chamadas de desreguladores endócrinos. Sabe-se que os metais pesados, poluentes orgânicos persistentes e estrogênios naturais e sintéticos inibem a reprodução de teleósteos (KIME, 1998; SUMPTER, 2005). Efeitos como a inibição da espermatogênese e esteroidogênese nos testículos e ainda a indução de ovócitos nos testículos, têm sido detectados em peixes expostos a contaminação (HANSEN *et al.*, 1998; HASSANIN *et al.*, 2002; MATHHIESSEN *et al.*, 2002; SEPULVEDA *et al.*, 2003; FERREIRA *et al.*, 2004; KAVANAGH *et al.*, 2004). Os testículos da maioria dos teleósteos estudados são órgãos pares, podendo estar parcial ou totalmente fundidos entre si, apresentam tamanho similar entre o direito e o esquerdo e são frequentemente alongados, embora existam formas como lobulados e foliáceos. Localizam-se na cavidade celomática, dorsalmente ao tubo digestivo, ventralmente ao mesonefro e ventrolateralmente ao longo da bexiga gasosa (LE GAC e LOIR, 1999). Externamente, são revestidos por uma túnica albugínea da qual partem septos fibrosos que percorrem o interior do órgão até atingir o lado oposto, dividindo o testículo em lóbulos incompletos (SILVA, 1987). Estes lóbulos são preenchidos por túbulos seminíferos, os quais apresentam paredes formadas por cistos que se apóiam na lâmina basal e são revestidos por prolongamentos citoplasmáticos das células de Sertoli. Sendo que cada cisto é formado por células germinativas que se encontram na mesma fase do processo espermatogênico (MATTA, 2000).

Os componentes básicos do testículo são comuns a todos os peixes e aos demais vertebrados. Este órgão tem as funções espermatogênica e androgênica, possuindo dois compartimentos principais: o compartimento intersticial e o compartimento tubular. No compartimento intersticial estão situados vasos sanguíneos, células e fibras do tecido conjuntivo, além das células de Leydig, que possuem função esteroidogênica. A produção de testosterona é importante para a diferenciação sexual, o desenvolvimento das características sexuais secundárias, o comportamento sexual e para a regulação da espermatogênese (WELTZIEN *et al.*, 2004). O compartimento tubular contém as células de Sertoli e as células germinativas que após passarem por processo bastante complexo e altamente organizado, a espermatogênese, formam os espermatozóides (BILLARD, 1990; KOULISH *et al.*, 2002). O processo espermatogênico de teleósteos assemelha-se muito ao de mamíferos ocorrendo, porém com a diferença que nos peixes, as células germinativas ocorrem em cistos formados por associação de células de Sertoli adjacentes com uma espermatogônia primária (tipo A). Durante a fase proliferativa ou espermatogonial, a espermatogônia primária ou tipo A se divide e origina espermatogônias secundárias ou do tipo B que, depois de um número espécie-específico de divisões mitóticas (MATTA, 2000), diferenciam-se em espermatócitos primários, iniciando a fase meiótica ou espermatocitária. Após a primeira divisão meiótica formam-se os espermatócitos secundários que, num curto intervalo de tempo, originam as espermátides haplóides através da segunda divisão meiótica. Em seguida, ocorre a fase espermiogênica ou de diferenciação na qual as espermátides transformam-se em espermatozóides (SILVA, 1987).

Dentro deste contexto, há a necessidade de monitorar e controlar a contaminação dos ecossistemas aquáticos, principalmente em relação aos metais pesados, que se encontram entre os contaminantes mais tóxicos e persistentes no ambiente aquático, acumulando-se nos compartimentos ambientais e nos organismos que neles vivem, causando assim danos à saúde dos peixes, bem como a interferência nos seus processos reprodutivos, podendo levar até a infertilidade dos mesmos. Assim, objetivou-se determinar e comparar a concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos testículos de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba (MG) com espécimes controle de uma estação de piscicultura, além do cálculo do índice gonadossomático e da identificação de possíveis alterações histológicas neste órgão como ferramenta de avaliação da qualidade ambiental desse ecossistema.

2. Material e Métodos

2.1. Espécies de estudo

Foram escolhidas duas espécies com nichos ecológicos diferentes:

O lambari *Astyanax bimaculatus* pertence à família Characidae, apresenta ampla distribuição geográfica, fazendo-se presente em diversos corpos límnicos da América do Sul (HARTZ, 1996). São peixes de pequeno porte e oportunistas quanto à alimentação, com uma grande variedade de composição alimentar, sendo considerados de maneira geral como onívoros, tendo preferência por insetos e plantas. Em rios, *A. bimaculatus* tende a explorar os mesmos recursos alimentares (algas, plantas superiores, insetos), além de microcrustáceos, que constituem também recurso relativamente expressivo na alimentação deste peixe (LUZ-AGOSTINHO, 1996). Os lambaris servem de alimento para espécies de peixes de maior porte, além de mamíferos, répteis e aves piscívoras, tendo por isso importante papel na cadeia alimentar (GARUTI e FIGUEIREDO-GARUTI, 1992; CASATTI *et al.*, 2003).

O acará *Geophagus brasiliensis* pertencente à família Cichlidae, apresenta ampla distribuição nas bacias hidrográficas costeiras do leste e sul do Brasil e no Uruguai (KULLANDER, 2003). Espécie territorialista, é encontrada em locais de remanso, próximos ao fundo, onde se alimentam de lodo, detritos, sedimentos, peixes, gastrópodes, microcrustáceos e larvas de insetos (SABINO e CASTRO, 1990; ANDREATA e TENÓRIO, 1997; MORAES *et al.*, 2004). Esta espécie faz parte de uma cadeia de relações tróficas relativamente complexas, servindo de fonte de alimento para aves e mamíferos aquáticos, assim como para outros peixes (MADI, 2005).

2.2. Área de estudo

A área de estudo localiza-se na bacia hidrográfica do rio Doce, uma das cinco maiores bacias hidrográficas de Minas Gerais (DRUMMOND *et al.*, 2005). Esta bacia situa-se na região sudeste, entre os paralelos 18°45' e 21°15' de latitude sul e os meridianos 39°55' e 43°45' de longitude oeste, compreendendo uma área de drenagem de cerca de 83.400 km², dos quais 86% pertencem ao estado de Minas Gerais e o restante ao Espírito Santo, abrangendo um total de 228 municípios (CBH-DOCE, 2009). O rio Piracicaba, que faz parte da bacia supracitada, situa-se no leste de Minas Gerais e tem uma extensão de 241 km. Nasce no município de Ouro Preto, a 1.680 m de altitude, e deságua no rio Doce, na região conhecida como “Vale do Aço”, na cidade de Ipatinga, a 210 m de altitude. Possui área de drenagem de 5.381 km² (CBH-DOCE, 2009) e, no seu percurso, encontram-se expressivas atividades econômicas (siderurgia, celulose e mineração de ferro) com alto grau de impactos antrópicos (CEDEPLAR, 2001), além de barragens que também impactam o ambiente (RICHTER *et al.*, 2003). Na cidade de Timóteo, que faz parte do “Vale do Aço”, o rio Piracicaba recebe o Córrego Timotinho, o qual introduz mais poluentes ao rio, pois todo o efluente doméstico sem tratamento, além de resíduos industriais são lançados diretamente neste córrego.

2.3. Pontos de amostragem

Para as amostragens, foram escolhidos dois pontos ao longo do rio Piracicaba, situados na cidade de Timóteo (MG).

O ponto 1 (fóz) (19°31'29.5"S e 42°39'18.1"WO), representa a área próxima às fontes de impacto ambiental (urbanização e industrialização) da cidade. Este ponto localiza-se logo abaixo do deságue do córrego Timotinho no rio Piracicaba, local onde todo o efluente doméstico não tratado da cidade é lançado, além de resíduos industriais que também são lançados sem tratamento no rio.

O ponto 2 (montante) (19°31'58.3"S e 42°37'37.4"WO), localizado 4 km à montante do ponto 1, constitui uma área mais afastada dos pontos de lançamentos de efluentes da cidade de Timóteo.

2.4. Coleta dos animais

As coletas dos espécimes foram autorizadas pelo Instituto Estadual de Florestas (IEF), com a licença de pesca científica, categoria D, número 014-08. Foram realizadas 3 coletas durante o ano de 2008, nos meses de março (início de outono), junho (inverno) e dezembro (primavera), abrangendo estações de cheia e seca do rio Piracicaba. Foram capturados 6 espécimes de *Astyanax bimaculatus* (lambari) e 5 de *Geophagus brasiliensis* (acará) com de redes de espera e tarrafas. Entretanto, apenas 4 espécimes das espécies escolhidas eram machos e foram utilizados para a análise testicular neste estudo. Todos os espécimes de *A. bimaculatus* foram coletados no ponto 2 (montante) durante a primeira coleta. Os espécimes de *G. brasiliensis* foram coletados no ponto 1 (fóz) durante a primeira e segunda coleta. Imediatamente após cada coleta, os peixes foram eutanasiados por secção da medula espinhal, na região occipital, marcados e acondicionados em formol para posterior identificação das espécies em laboratório. Após a pesagem em balança digital de precisão (Gehaka, BG1000), determinou-se o comprimento total, padrão e altura (Apêndice; Tabelas 2 e 3). Posteriormente, realizou-se a incisão da parede corporal ventral dos espécimes, que segue da papila urogenital até a região do opérculo, para a coleta das brânquias e fígado. Os órgãos coletados foram fixados em solução de Karnovsky por um período de 24 horas e depois transferidos para álcool 70%.

Como não foi possível obter espécimes controle do rio Piracicaba, devido ao grau de poluição do mesmo, o controle foi obtido da Piscicultura do Prata, em Eugénópolis (MG). Foram utilizados 6 espécimes de *Astyanax bimaculatus* (lambari) e 6 de *Geophagus brasilienses* (acará) como espécimes controle.

2.5. Análise dos testículos

Os testículos coletados foram pesados em balança digital de precisão (Scientech, AS 210), e posteriormente calculado o índice gonadossomático (IGS), que representa o percentual do peso corporal alocado em testículos, a partir da fórmula: $IGS = [(Peso_{\text{testículos}}/Peso_{\text{corporal}})] \times 100$. Posteriormente, foram coletados fragmentos da região mediana de um dos testículos, que foram desidratados em série etanólica crescente (80%, 90%, 95% e 100%), com trocas a cada 30 min, seguindo-se a inclusão em glicol-metacrilato (Historesin[®], Leica). Foram obtidas secções de 2 µm de espessura, realizando-se cortes seriados, em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2045), utilizando-se navalhas de vidro. Posteriormente, as preparações foram coradas com azul de toluidina e borato de sódio 1% e montadas com Entellan-Merck[®]. Foram capturadas 10 imagens digitais por animal em fotomicroscópio Olympus AX-70, para posterior análise histopatológica qualitativa e quantitativa dos testículos. Quando uma patologia era detectada em pelo menos um dos campos visualizados, esta era considerada como presente no animal. Ao final, foi realizada uma relação entre os animais que apresentaram patologias e o total presente em cada espécie, expressando-se assim o resultado em porcentagem.

2.6. Concentração de metais pesados nos testículos de peixes teleósteos

Para a análise da concentração de metais foram utilizadas amostras testiculares dos espécimes, nas quais se determinaram as concentrações de Al, Mn, Pb e Zn. As amostras, pesadas em balança analítica digital de precisão (Scientech AS 210), foram acondicionadas em Erlenmeyer (25 mL), mantidas em estufa a 70 °C, até alcançarem peso seco constante. A digestão ácida das amostras foi realizada com a adição de 1,5 mL de HNO₃ concentrado, 0,5 mL de HClO₄ 70% e duas gotas de água oxigenada 30%, mantendo-se os frascos em bloco digestor, com aquecimento contínuo até atingir 90 °C. Após a completa digestão (~ 1h), o volume foi ajustado para 25 mL com água desionizada, seguido de filtração e análise da concentração de metais pesados, em Espectrofotômetro de Emissão em Plasma Indutivamente Acoplado (Perkin Elmer[®], Optima 3300DV) no departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo os resultados expressos em µg g⁻¹ de massa seca (MS).

2.7. Análise Estatística

Foram realizadas análises descritivas dos dados e estes foram expressos em média e erro padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Concentração de Al, Mn, Pb e Zn nos testículos de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* coletados no rio Piracicaba

Em relação à concentração dos metais nos testículos, os espécimes coletados no rio Piracicaba apresentaram valores mais expressivos do que os espécimes controles da piscicultura do Prata (MG) (Figuras 1 e 2).

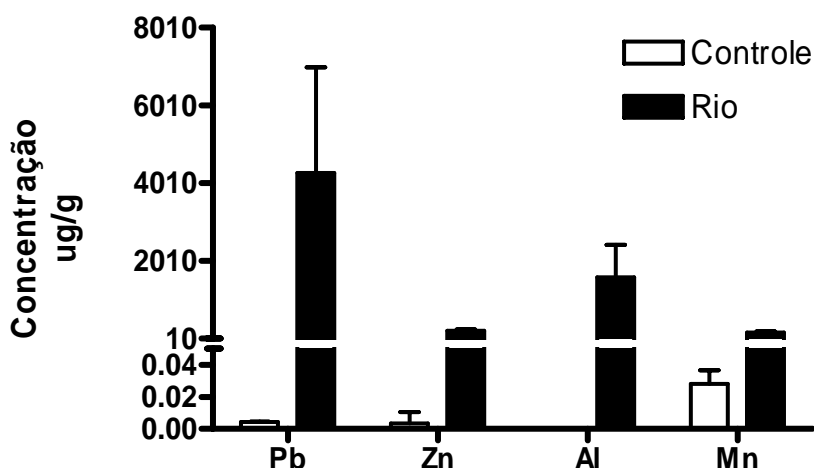


Figura 1. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos testículos de *Astyanax bimaculatus* controles e coletados no rio Piracicaba.

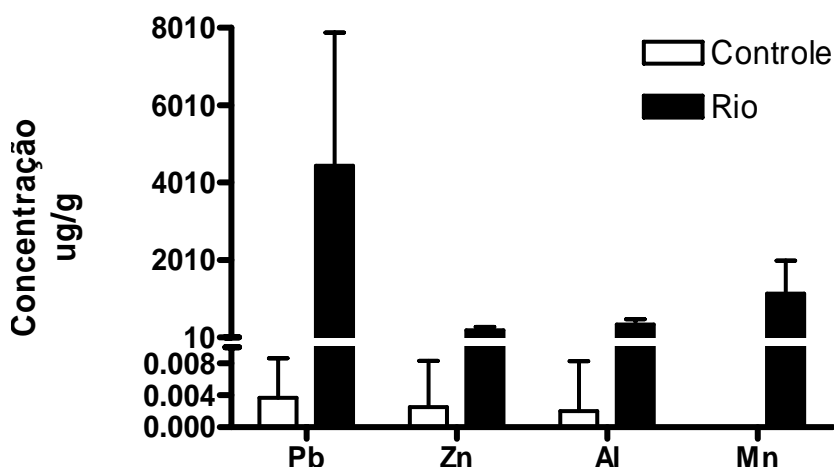


Figura 2. Concentrações médias de Pb, Zn, Al e Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) nos testículos de *Geophagus brasiliensis* controles e coletados no rio Piracicaba.

Dentre os metais analisados neste estudo, o Pb apresentou a maior concentração em ambas as espécies, sendo esta, mais expressiva em *G. brasiliensis* ($4442 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) do que em *A. bimaculatus* ($4275,87 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), assim como a concentração de Mn ($1143; 165 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), respectivamente. Porém, a concentração de Al e Zn foi maior em *A. bimaculatus* ($1584; 213 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) do que em *G. brasiliensis* ($344; 194 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), sendo que a concentração do

Zn nos testículos de ambas as espécies, apesar de ter sido mais alta em *A. bimaculatus*, não apresentou diferença tão expressiva como ocorrido com o Al. A alta concentração de Pb detectada nos testículos dos espécimes de peixes coletados no rio Piracicaba (MG), também foi detectada por Yilmaz (2003), nas gônadas de *Mugil cephalus* e *Trachurus mediterraneus* coletados na Turquia, oriundas de três áreas contaminadas por resíduos domésticos e industriais, esta com alto teor de metais pesados. Entretanto, as concentrações de Pb nas gônadas de *Mugil cephalus* e *Trachurus mediterraneus* foram inferiores às detectada neste estudo, mas a concentração de Zn em *Mugil cephalus* foi superior às concentrações detectadas nos testículos de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis*. O mesmo pesquisador observou que em relação à concentração geral de metais nos órgãos analisados, as gônadas apresentaram maior concentração comparando-se com a concentração detectada na pele e músculo das espécies em estudo.

Comparando-se a concentração de metais nos testículos de outras espécies coletadas em áreas contaminadas, Veado *et al.* (2007), analisando a concentração de metais pesados em diversos órgãos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) oriundas da lagoa da Pampulha (MG), detectaram nos testículos dos espécimes, concentração de Al, Mn e Zn, não sendo detectada contaminação por Pb, sendo estas muito inferiores às concentrações detectadas neste estudo, demonstrando que apesar de se tratarem de duas áreas altamente contaminadas, a concentração de metais nos testículos dos espécimes coletados no rio Piracicaba foi muito mais expressiva. Segundo Kalay e Erdem (1995), o elevado nível de acúmulo de metais pesados pode ser muito tóxico para os peixes, principalmente para os mais jovens. Outros órgãos-alvo como o fígado, gônadas, rins e brânquias, metabolicamente ativos, acumulam metais pesados em níveis mais elevados, como observado em estudos experimentais (ALLEN, 1994; KALAY e ERDEM, 1995; SANTOS, 2009) e em estudos de campo (SPEHAR *et al.*, 1982; LANGSTOM, 1990; UNLU *et al.*, 1996; KARADEDE e UNLU, 2000; YILMAZ, 2003; DURAL *et al.*, 2006; VEADO *et al.*, 2007; HAS-SCHÖN *et al.*, 2008). A concentração alta de metais detectada nos testículos de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* reflete o alto grau de contaminação ambiental e são informativos sobre a qualidade da água do rio.

3.2. Alterações histopatológicas nos testículos de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* coletados no rio Piracicaba

As principais histopatologias testiculares detectadas em *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba, encontram-se na tabela 1 e figura 3 A, B, C, D, E, F.

Tabela 1. Percentual de histopatologias detectadas nos testículos de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba.

Histopatologias Testiculares										
Espécies	VG	RDC	RC	DC	DPC	DEC	F	DT	VS	AC
<i>A. bimaculatus</i>	47,5	20,0	47,5	7,5	15,0	30,0	25,0	22,5	5,0	10,0
<i>G. brasiliensis</i>	52,5	72,5	15,0	50,0	22,5	30,0	0,0	0,0	15,0	7,5

VG: vacuolização de espermatogônia; RDC: retardo no desenvolvimento celular; RC: ruptura de cisto; DC: degeneração celular; F: fibrose; DT: degeneração testicular; VS: vacuolização de células de Sertoli; AC: aglomerado celular anormal.

As principais alterações histológicas evidenciadas nos testículos de *A. bimaculatus* coletados no rio Piracicaba foram vacuolização de espermatogônia, retardo no desenvolvimento celular, ruptura de cisto, degeneração testicular, desarranjo na estrutura dos cistos e fibrose. Muitas dessas alterações afetam diretamente o processo espermatogênico, já que atingirem elementos essenciais a este processo. Este é o caso da vacuolização das espermatogônias, que infere na integridade da célula precursora dos espermatozóides; a ruptura de cistos, que inativa a barreira hematotesticular, deixando as células haplóides desprotegidas; e a fibrose, que diminui o número de elementos funcionais, responsáveis pelo processo espermatogênico.

Santos (2009), em estudo experimental com exposição aguda de *Astyanax* aff. *bimaculatus* ao Zn, detectou como principais alterações histopatológicas a ruptura de cisto, o retardo no desenvolvimento das células da linhagem germinativa, núcleo picnótico, aglomerado celular, descolamento da parede dos cistos e vacuolização. Essas lesões foram muito semelhantes às encontradas no presente estudo. Segundo Santos (2009), o Zn comprometeu as funções reprodutivas da espécie em estudo, sendo mais grave nos tratamentos expostos às maiores concentrações deste metal. O retardo do desenvolvimento dos cistos levou à redução na produção de espermatozóides, comprometendo a taxa de fecundidade e conseqüentemente a manutenção dos estoques populacionais. No presente estudo, a exposição dos peixes a uma associação de metais pesados, além de outros contaminantes, contribuiu ainda mais para a desestruturação testicular.

Em *G. brasiliensis*, as principais alterações histológicas evidenciadas nos testículos foram semelhantes às encontradas em *A. bimaculatus*, como vacuolização de

espermatogônias, retardo no desenvolvimento celular, degeneração celular e vacuolização nas células de Sertoli, não sendo detectada fibrose e nem degeneração testicular nesta espécie. Segundo França e Chiarini-Garcia (2005), as células de Sertoli são mais afetadas por agentes tóxicos do que as células germinativas mais avançadas. Isto provavelmente decorre do fato destas substâncias passarem necessariamente pelas células de Sertoli, antes de atingirem as células espermatogênicas mais avançadas. Por exercer papel fundamental na regulação da espermatogênese, qualquer disfunção das células de Sertoli pode resultar em alterações e/ou degenerações das células germinativas e infertilidade. Os principais sinais de injúria nas células de Sertoli são as vacuolizações precocemente observadas na porção basal do citoplasma destas células e a retenção de espermátides maduras ou falhas na espermição. Apoptoses das células germinativas e o aparecimento de espermátides multinucleadas são também de ocorrência comum. Após o aparecimento de vacuolização e alterações no aparelho de Golgi, a secreção de fluido pelas células de Sertoli, importante para o mecanismo de transporte e processos secretórios destas células, mostra-se abruptamente diminuída. Como consequência, anormalidades na forma do núcleo das espermátides, formação de células gigantes, progressiva perda de espermatócitos e espermatogônias, e descamação de células germinativas do epitélio seminífero são observadas, levando finalmente à atrofia testicular. A maioria das substâncias tóxicas para as células de Sertoli causa alterações significativas nas células espermatogênicas, mesmo quando o período de exposição a estas substâncias é muito curto.

A exposição a substâncias tóxicas em diferentes fases do ciclo de vida têm como características gerais, relacionadas ao aparelho reprodutor, o retardamento de fases de desenvolvimento e da maturação gonadal, a redução no número e viabilidade de gametas, histopatologias e a redução do número e viabilidade de descendentes (RAND e PETROCELLI, 1985; ADAMS, 1990). Em alguns estudos, a inibição da reprodução foi observada em peixes que habitam áreas contaminadas por metais pesados: Yamaguchi *et al.* (2007), estimando a influência de contaminantes aquáticos na reprodução de peixes de Mekong Delta (Japão), detectaram que as concentrações de molibdênio (Mo), chumbo (Pb), rubídio (Rb) e arsênio (As) foram significativamente altas em *Pangasianodon hypophthalmus*, nos quais a reprodução foi inibida. Contudo, os autores não sabem os mecanismos pelos quais esses elementos acumulam e inibem o desenvolvimento gonadal dos espécimes; e Levesque *et al.* (2003), observaram atraso na reprodução de *Perca flavescens* em um lago contaminado por cádmio (Cd) no Canadá. Assim, pode-se inferir que a contaminação por metais pesados nos ambientes aquáticos interfere no processo reprodutivo dos peixes, causando muitas vezes danos irreparáveis, comprometendo a fertilidade e até mesmo os seus descendentes.

Figura 3. Fotomicrografia de testículo de espécimes controles da Piscicultura do Prata e de espécimes coletados no rio Piracicaba.

A) Organização testicular de espécime controle *Astyanax bimaculatus*: Cisto (C), lúmen (L), intertúbulo (I). Barra: 30 μm . Azul de toluidina.

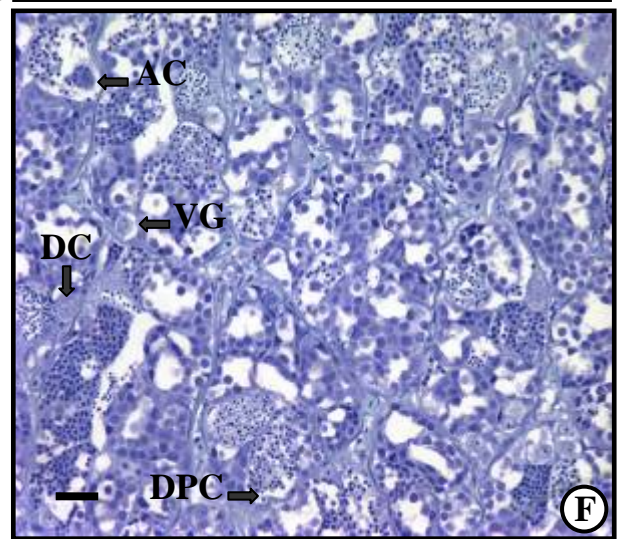
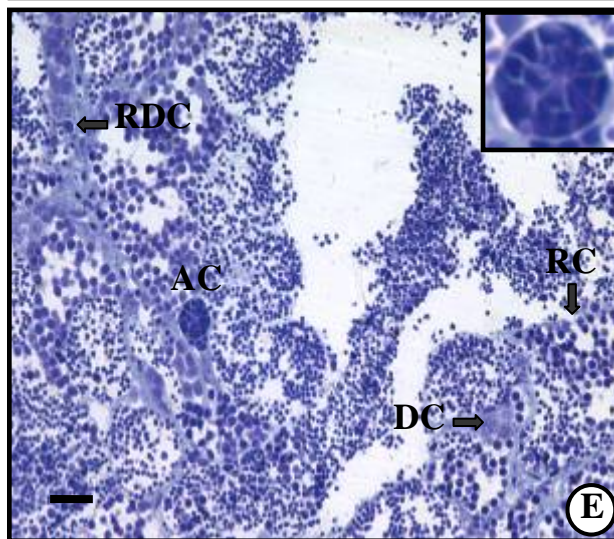
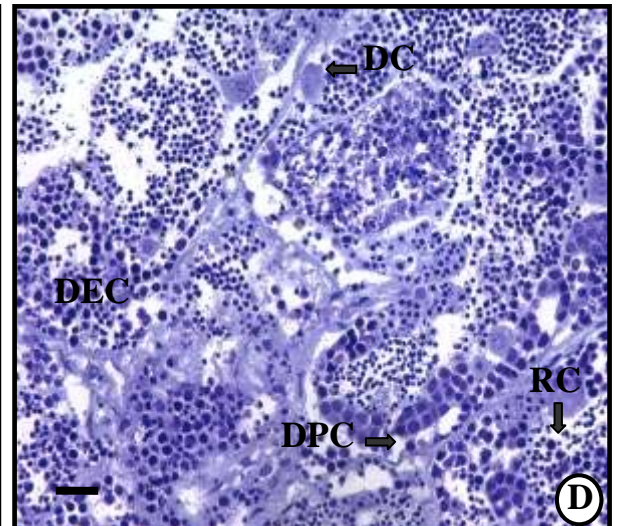
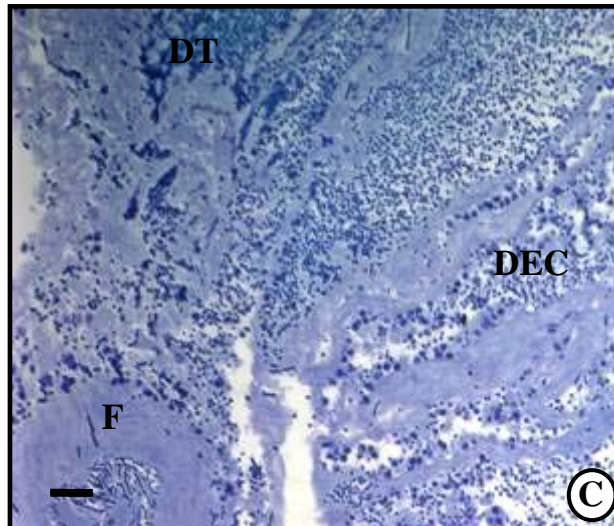
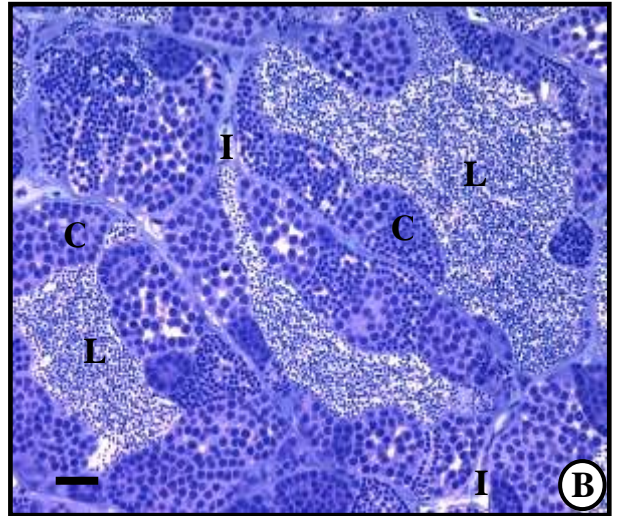
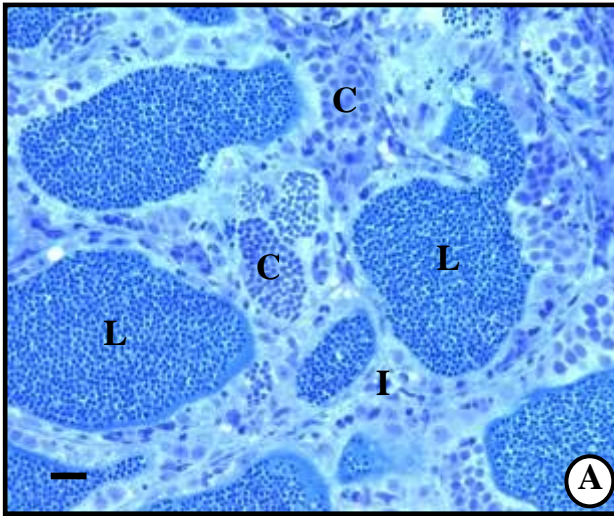
B) Organização testicular de espécime controle *Geophagus brasiliensis*: Cisto (C), lúmen (L), intertúbulo (I). Barra: 20 μm . Azul de toluidina.

C) Fotomicrografia de testículo de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba: Fibrose (F), degeneração testicular (DT), desarranjo na estrutura de cisto (DEC). Barra: 20 μm . Azul de toluidina.

D) Fotomicrografia de testículo de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba: Degeneração celular (DC), desarranjo na estrutura de cisto (DEC), deslocamento da parede do cisto (DPC) e ruptura de cisto (RC). Barra: 20 μm . Azul de toluidina.

E) Fotomicrografia de testículo de *A. bimaculatus* coletado no rio Piracicaba: Aglomerado celular (AC) e em destaque, retardo no desenvolvimento celular (RDC), degeneração celular (DC) e ruptura de cisto (RC). Barra: 20 μm . Azul de toluidina.

F) Fotomicrografia de testículo de *G. brasiliensis* coletado no rio Piracicaba: Aglomerado celular (AC), vacuolização de espermatogônia (VG), degeneração celular (DC) e deslocamento da parede do cisto (DPC). Barra: 20 μm . Azul de toluidina.



3.3. Índice Gonadossomático (IGS) de *A. bimaculatus* e *G. brasiliensis* controles e coletados no rio Piracicaba

Os valores referentes aos índices gonadossomáticos dos espécimes controle e dos espécimes coletados no rio Piracicaba, encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Peso corporal (g), peso dos testículos (g) e índice gonadossomático (IGS) (%) médio e erro padrão de espécimes controles e coletados no rio Piracicaba.

	Espécie	Peso Corporal (g)	Peso dos Testículos (g)	IGS (%)
Controle	<i>A. bimaculatus</i>	5,3 ± 0,9	0,06 ± 0,09	1,1 ± 0,7
	<i>G. brasiliensis</i>	34,2 ± 39,6	0,16 ± 0,1	0,9 ± 1,1
Rio Piracicaba	<i>A. bimaculatus</i>	11 ± 2,1	0,05 ± 0,02	0,4 ± 0,1
	<i>G. brasiliensis</i>	70,3 ± 23,4	0,14 ± 0,1	0,3 ± 0,3

O índice gonadossomático (IGS) médio do controle foi maior do que o IGS dos peixes coletados no rio Piracicaba (MG). A diferença no tamanho das espécies e assim no peso corporal das mesmas é refletida nesse índice, entretanto, o valor mais baixo no índice dos espécimes coletados no rio Piracicaba, pode estar correlacionado com a concentração de metais nos mesmos, o que causou prejuízo no processo espermatogênico, bem como no peso testicular. Pyle *et al.* (2005), comparando espécimes de peixes coletados em três áreas de diferentes grau de contaminação (Turquia), detectaram que as espécies coletadas na área que apresentava maior contaminação por metais, dentre eles Al, Cd, Cu, Ni, Pb, e Zn, apresentaram IGS mais baixo em relação aos animais que foram coletados nas outras duas áreas, sendo que uma das áreas era de referência sem contaminação e a outra, uma área com pouca contaminação. Yamaguchi *et al.* (2007), correlacionando metais pesados com IGS em *Pangasianodon hypophthalmus* coletados em Mekong Delta (Japão), descrevem que os animais que apresentaram as maiores concentrações de Pb, Rb, Mo e As, apresentaram valores baixos do IGS, e assim, estes espécimes apresentaram inibição do processo espermatogênico. Além disso, o monitoramento realizado nesta área demonstrou correlação negativa entre as concentrações de Pb e o índice gonadossomático na mesma espécie. Segundo Drevnick e Sandheinrich (2003), o mercúrio é um produto químico que causa a

desregulação endócrina e assim, pode diminuir o IGS dos animais, fato este que pode ocorrer com espécimes de peixes expostos a outros metais.

4. Conclusões

A concentração de metais nos testículos foi alta em ambas as espécies coletadas no rio Piracicaba, sendo o Pb o metal que apresentou maior concentração. A presença de elevado número de histopatologias testiculares sugere uma possível alteração na espermatogênese, o que levaria a impactos negativos graves sobre o desenvolvimento e a reprodução dos peixes, podendo causar a infertilidade dos mesmos. Os baixos valores do IGS juntamente com a alta concentração de metais e as histopatologias detectadas nos testículos, indicam que no rio Piracicaba o desempenho reprodutivo das espécies em estudo encontra-se comprometido.

5. Conclusões Gerais

O nível de contaminação por metais pesados no rio Piracicaba é alto, sendo detectada a concentração dos mesmos, nos músculos, brânquias, fígado e testículos dos peixes analisados. Os espécimes de peixes coletados no rio Piracicaba apresentaram concentração de todos os metais avaliados, e algumas concentrações encontram-se acima do limite de tolerância estabelecida pelo Ministério da Saúde.

Além da concentração de metais detectadas nas brânquias, fígado e testículos, estes órgãos apresentaram histopatologias em resposta à exposição a este ambiente, indicando que o rio está altamente contaminado e que esta contaminação está interferindo diretamente na saúde dos peixes, comprometendo a função destes órgãos bem como a reprodução dos indivíduos.

Diante disso, pode-se concluir que os peixes que habitam o rio Piracicaba podem representar risco a saúde de quem os consome, e ainda, que estes estão sobrevivendo num ambiente não favorável, muitos destes com o processo reprodutivo seriamente comprometido, o que pode ocasionar daqui a algum tempo a diminuição da ictiofauna no rio Piracicaba.

6. Recomendações

É necessário que outros estudos sejam realizados no rio Piracicaba abrangendo outros compartimentos e organismos que compõe este ecossistema, a fim de se ter um diagnóstico mais abrangente do nível de contaminação que atinge o ambiente aquático, e para que assim, as autoridades responsáveis possam ter conhecimento e intervir em vários aspectos, como o controle mais eficiente e rigoroso de efluentes domésticos e industriais, além de outras fontes de poluição que chegam até o rio sem o tratamento adequado. São necessários programas de conscientização junto à população para a redução do lançamento de lixo e esgoto diretamente

no rio e também para a conscientização dos riscos à saúde ao se consumir este pescado proveniente do rio Piracicaba. Devem também ser realizados estudos de biomonitorização humana, para a população exposta ambientalmente a metais pesados, assim como intervenções ligadas à saúde para a prevenção e/ou redução dos efeitos a longo prazo, devido ao consumo desta fonte de proteínas. Faz-se a recomendação, juntamente com outros estudos que determinaram a concentração de Al e Mn em pescados, da atualização da legislação para o estabelecimento de valores máximos permitidos destes metais presentes em pescados brasileiros assim como em outros alimentos também.

7. Referências Bibliográficas

- ABEL, P. D. Water pollution biology. Chichester: Ellis Howood, 1989, 328p.
- ABOU-ARAB, A. A. K.; AYESH, A. M.; AMRA, H. A.; NAGUIB, K. Characteristic levels of some pesticides and heavy metals in imported fish. Food Chemistry, v.57, n.4, p.487–492, 1996.
- ADAMS, S. M. Biological indicators of stress in fish. American Fisheries Society Symposium, 1990, 190p.
- ADAMS, S. M.; CRUMBY, W. D.; GREELEY, M. S.; SHUGART, L. R.; SAYLOR, C. F. Responses of fish populations and communities to pulp mill effluents: a holistic assessment. Ecotoxicology Environmental Safety, v.24, p.347–360, 1992.
- ADAMS, S. M.; RYON, M. G. A comparison of health assessment approaches for evaluating the effects of contaminant-related stress on fish populations. Journal of Aquatic Ecosystem and Health, v.3, p.15-25, 1994.
- AITIO, A. Biological monitoring and biomarkers. In: NORDBERG, G.; FOWLER, B.; NORDBERG, M. FRIBERG, L. (Eds) Handbook on the toxicology of metals. 3° Ed., San Diego, California: Elsevier, p.65-78, 2007.
- AKAISHI, F. M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; JAKOBI, S. C. G.; EIRAS-STOFELLA, D. R.; ST-JEAN, S.; COURTENEY, S. C.; LIMA, E. F.; WAGENER, A. L.; SCOFIELD, A. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v.46, n.2, p.244-253, 2004.
- ALLEN, P. Accumulation profiles of lead and the influence of cadmium and mercury in *Oreochromis aureus* during chronic exposure. Toxicological & Environmental Chemistry, v.44, p.101–112, 1994.

- ANDREATA, J. V.; TENÓRIO, M. M. B. Aspectos da alimentação de *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824) da Lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Biológica Leopoldensia*, v.19, n.2, p.185-195, 1997.
- ANKLEY, G.; MIHAICH, E.; STAHL, R.; TILLITT, D.; COLBORN, T.; MCMASTER, S.; MILLER, R.; BANTLE, J.; CAMPBELL, P.; DENSLOW, N.; DICKERSON, R.; FOLMAR, L.; FRY, M.; GIESY, J.; GRAY, L. E.; GUINEY, P.; HUTCHINSON, T.; KENNEDY, S.; KRAMER, V.; LEBLANC, G.; MAYES, M.; NIMROD, A.; PATINO, R.; PETERSON, R.; PURDY, R.; RINGER, R.; THOMAS, P.; TOUART, L.; VAN DER KRAAK, G.; ZACHAREWSKI, T. Overview of a workshop on screening methods for detecting (anti) estrogenic/androgenic chemicals in wildlife. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.17, p.68–87, 1998.
- ANVISA (a), Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação em Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=22>. Acesso em: 05 mar. 2009.
- ANVISA (b), Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação em Vigilância Sanitária. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm. Acesso em: 10 mar. 2009.
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.44, p.62-72, 1999.
- ARELLANO, J. M.; BLASCO, J.; ORTIZ, J. B.; CAPETA-DA SILVA, D.; NAVARRO, A.; SANCHEZ-DEL PINO, M. J.; SARASQUETE, C. Accumulation and histopathological effects of copper in gills and liver of Senegales sole, *Solea senegalensis* and toad fish, *Halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, v.3, n.1, p.22-28, 2000.
- AU, D. W. T. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin*, v.48, p.817-834, 2004.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: gerenciamento da toxicidade. Atheneu, São Paulo, 2003, 353p.
- BARBOSA, F. A. R.; SOUZA, E. M. M.; VIEIRA, F.; RENAULT, G. P. C. P.; ROCHA, L. A.; MAIA-BARBOSA, P. M.; OBERDÁ, S. M.; MINGOTI, S. A. Impactos antrópicos e biodiversidade aquática. In: PAULA, J. A. *Biodiversidade, população e economia: uma*

- região de Mata Atlântica. Belo Horizonte, UFMG/Cedeplar, ECMVS, PADCT/CIAMB, p.345-454, 1997.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, v.22, p.25-34, 1999.
- BERTOLETTI, E.; GHERARD GOLDSTEIN, E.; NIPPER, M. G. Toxicidade de efluentes industriais na grande São Paulo. *Revista DAE*, v.49, n.155, p.63-70, 1989. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- BILLARD, R.; BRETON, B.; FOSTIER, A.; JALABERT, B.; WEIL, C. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: salmonid and cyprinid models. In: GAILLARD, P. J.; BOER, H. H. (Eds) *Comparative Endocrinology*. Amsterdam: Elsevier, 1978, 500p.
- BILLARD, R. Spermatogenesis in teleost fish. In: LAMMING, G. (Ed) *Reproduction in the male*. London: Churchill Livingstone, v.2, p.183-212, 1990.
- BRAUNBECK, J. B.; STORCH, V.; BRESCH, H. Species-specific reaction of liver ultrastructure in zebrafish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroamine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.19, p.405– 418, 1990.
- BUCHER, F.; HOFER, R. The effects of treated domestic sewage on three organs (gills, kidney, liver) of brown trout (*Salmo trutta*). *Water Research*, v.27, p.255-261, 1993.
- BURATINI, V. B.; BRANDELLI, A. Bioacumulação. 2006. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- BURY, N. R.; JIE, L.; FLIK, G.; LOCK, R. A. C.; BONGA, S. E. W. Cortisol protects against copper induced necrosis and promotes apoptosis in fish gill chloride cells in vitro. *Aquatic Toxicology*, v.40, p.193-202, 1998.
- CAMPAGNA, F. A.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B. K.; ELER, M. N.; VERANI, N. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Analyses of the sediment toxicity of Monjolinho River, São Carlos, São Paulo state, Brazil, using survey, growth and gill morphology of two fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.51, n.1, p.193-201, 2008.
- CAMPOS, D. Y. F. Análise das respostas citogenéticas e histopatológicas do peixe *Trematomus newnesi* exposto à água do mar diante da Estação Antártica Brasileira

- “Comandante Ferraz”, Ilha Rei George, Antártica. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007, 97p.
- CARSON, R. Silent Spring. Houghton Mifflin Company, Boston, 1962, 368p. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- CASAS, S.; GONZALEZ, J. L.; ANDRAL, B.; COSSA, D. Relation between metal concentration in water and metal content of marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*): impact of physiology. Environmental Toxicology and Chemistry, v.27, n.7, p.1543-1552, 2008.
- CASATTI, L.; MENDES, H. F.; FERREIRA, K. M. Aquatic macrophytes as feeding site for small fishes in the Rosana Reservoir, Paranapanema River, Southeastern Brazil. Brazilian Journal of Biology, v.63, n.2, p.213-222, 2003.
- CBH-DOCE - Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Doce. Caracterização da bacia hidrográfica do Rio Doce. Disponível em: <http://www.ana.gov.br/cbhriodoce/bacia/caracterizacao.asp>. Acesso em: 29 abr. 2009.
- CEDEPLAR - Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional da Faculdade de Ciências Econômicas (FACE/UFMG). 2001. Disponível em: <http://www.cedeplar.ufmg.br/pesquisas/projeto-piracicaba/projeto-piracicaba-a-regiao-de-estudo.php>. Acesso em: 29 abr. 2009.
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Avaliação preliminar da contaminação por metais pesados na água, sedimento e organismos aquáticos do Rio Cubatão (SP). Relatório Técnico CETESB, São Paulo, 1989. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Sistema estuarino de Santos e São Vicente. Relatório técnico CETESB, São Paulo, 2001. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- CHIMELI, A. B. Economia e meio ambiente: uma investigação sobre a poluição hídrica da bacia do rio Piracicaba. p.1-57, 1994. In: 6º Prêmio Minas de Economia. Monografias vencedoras. Categoria Universitário. Belo Horizonte, MG.
- CONNELL, D. W.; MILLER, G. J. Chemistry and Ecotoxicology of pollution. 1984. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- CONNELL, D. W. Basic concepts of environmental chemistry. Boca Raton:Lewis, 1997, 506p.

- CONSERVATION INTERNATIONAL. Avaliação de ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2000, 40p.
- COUTO, G. R. M.; CARVALHO, C. E. V.; SOUZA, G.; MACHADO, A. L. S. Concentração de metais pesados na ictiofauna atingida pelo acidente da Indústria Cataguazes de Papel: resultados preliminares. In: VII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu. Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil, v.1, p.380-384, 2005.
- CSUROS, M.; CSUROS, S. Introduction to metals. In: CSUROS, M.; CSUROS, S. Environmental sampling and analysis for metals. Boca Raton: CRC Press, 2002, 413p.
- DALLINGER, R.; PROSI, F.; SEGNER, H.; BACK, H. Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. *Oecologia*, n.73, p.91-98, 1987.
- DESBROW, C.; ROUTLEDGE, E. J.; BRIGHTY, G. C.; SUMPTER, J. P.; WALDOCK, M. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental Science & Technology*, v.32, p.1549-1558, 1998.
- DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds) *The toxicology of fishes*. Crc press, Taylor e Francis Group, New York, 2008, 1071p.
- DOMINGOS, F. X. V. Biomarcadores de contaminação ambiental em peixes e ostras de três estuários brasileiros e cinética de derivados solúveis do petróleo em peixes. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006, 118p.
- DREVNICK, P. E.; SANDHEINRICH, M. B. Effects of dietary methylmercury on reproductive endocrinology of fathead minnows. *Environmental Science & Technology*, v.37, p.4390-4396, 2003.
- DRI - Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes: for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies, 2000, 773p.
- DRUMMOND, G. M.; MARTINS, C. S.; MACHADO, A. B. M.; SEBAIO, F. A.; ANTONINI, Y. Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação. 2ª Ed. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2005, 222p.
- DURAL, M.; GÖKSU, M. Z. L.; ÖZAK, A. A.; DERICI, B. Bioaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Sparus aurata* L, 1758 and *Mugil cephalus* L, 1758 from the Çamlık lagoon of the eastern coast of Mediterranean (Turkey). *Environmental Monitoring and Assessment*, v.118, p.65-74, 2006.

- DUTTA, H. M.; ADHIKARI, S.; SINGH, N. K.; ROY, P. K.; MUNSHI, J. S. D. Histopathological changes induced by Malathion in the liver of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v.51, p.895-900, 1993.
- EGANHOUSE, R. P.; SHERBLOM, P. M. Anthropogenic organic contaminants in the effluent of a combined sewer overflow: impact on Boston Harbour. *Marine Environmental Research*, v.51, p.51-74, 2001.
- EL-DEEK, K.; ABDEL-MONIEM, M.; BELTAGY, A.; NAGUIB, K. H.; NAGUIB, M. Distribution of Cu, Cd, Fe, Pb and Zn in some fish families from the Suez Canal and Mediterranean Sea. In: *Proceedings of the Fourth Conference on Environmental Protection Must*, Alexandria, Egypt, p.195-203, 1994.
- ELLER, L. L. Histopathological lesions in cutthroat trout, *Salmo clarki*, exposed chronically to the insecticide endrin. *American Journal of Pathology*, v.64, n.2, p.321-336, 1971.
- EMDIV – Portal EmDiv Uma janela de Minas para o Mundo. Manganês – Elemento Químico. Disponível em: <http://www.emdiv.com.br/pt/mundo/tecnologia/2268-manganes-elemento-quimico.html>. Acesso em: 27 ago. 2009.
- EPA - Environmental Protection Agency. Lead and compounds (inorganic) IRIS substance file. 1999. Disponível em: <http://www.epa.gov>. Acesso em: 17 ago. 2009.
- ERDOGRUL, O.; ERBILIR, F. Heavy metals and trace elements in various fish samples from Sir Dam Lake, Kahramanmaras, Turkey. *Environmental Monitoring Assessment*, v.130, p.373-379, 2007.
- ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRANCO, M. B. C.; FRACÁCIO, R.; GUNTZEL, A. M.; MORETTO, E. M.; PEREIRA, R. H. G.; RIETZLER, A. C.; ROCHA, O.; RODGHER, S.; SMITH, W. S.; TAVARES, K. S. Organismos Aquáticos. In: RAMBALDI, D. M.; OLIVEIRA, D. A. S. (Eds) *Fragmentação de ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas*. 2ª Ed., Brasília, MMA/SBF, p.202-238, 2005.
- ESTEVES, F. A. Fundamentos de Limnologia. 1988. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- EVANS, D. H.; PIERMARINI, P. M.; CHOE, K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*, v.85, p.97-177, 2005.

- EVERAARTS, J. M.; SHUGART, L. P.; GUSTIN, M. K.; HAWKINGS, W. E.; WALKER, W. W. Biological markers in fish: DNA integrity, hematological parameters and liver somatic index. *Marine Environmental Research*, v.35, p.101-107, 1993.
- FANTA, E.; RIOS, F. S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A. C. C.; FREIBERGER, S. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.54, p.119–130, 2003.
- FARKAS, A.; SALANKI, J.; SPECZIAR, A. Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream, *Abramis brama* L. populating lake Balaton. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.43, n.2, p.236-243, 2002.
- FERNANDES, C.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; FERREIRA, M.; SALGADO, M.A. Oxidative stress response in gill and liver of *Liza saliens*, from the Esmoriz-Paramos Coastal Lagoon, Portugal. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.55, p.262–269, 2008.
- FERREIRA, M.; ANTUNES, P.; GIL, O.; VALE, C.; REIS-HENRIQUES, M. A. Organochlorine contaminants in flounder (*Platichthys flesus*) and mullet (*Mugil cephalus*) from Douro estuary, and their use as sentinel species for environmental monitoring. *Aquatic Toxicology*, v.69, p.347–357, 2004.
- FINKELSTEIN, Y.; ZHANG, N. A.; FITSANAKIS, V. A.; AVISON, M. J.; GORE, J. C.; ASCHNER, M. Differential deposition of manganese in the rat brain following subchronic exposure to manganese: a T1-weighted magnetic resonance imaging study. *IMAJ*, v.10, n.11, p.793-798, 2008.
- FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do lambari *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) (Teleostei, Characidae) sob influência de efluentes petroquímicos. *Biociências*, v.15, n.2, p.166-172, 2007.
- FLOTEMERSCH, J. E.; STRIBLING, J. B.; PAUL, M. J.; SNYDER, B. D. Fish. In: FLOTEMERSCH, J. E.; STRIBLING, J. B.; PAUL, M. J. Concepts and approaches for the bioassessment of Non-wadeable Streams and Rivers. Cincinnati, Ohio: USEPA, p.7.1-7.26, 2006.
- FORSTNER, U.; WITTMANN, G. T. W. Metal pollution in the aquatic environment. 2º Ed. Berlim. Springer-Verlag, 1981, 486p.
- FRACÁCIO, R. Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do Médio e Baixo rio Tietê (SP). Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000, 233p.

- FRACÁCIO, R.; VERANI, N. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ROCHA, O.; RIGOLIN-SÁ, O.; ANDRADE, C. A. Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.46, n.4, p.685-695, 2003.
- FRANÇA, L. R.; CHIARINI-GARCIA, H. Célula de Sertoli. In: CARVALHO, H. F.; COLARES-BUZATO, C. B. Células: Uma abordagem multidisciplinar. Manole: São Paulo, 2005, 450p.
- GARCIA-SANTOS, S.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; WILSON, J. M. Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: Assessment of some ionoregulatory parameters. *Environmental Toxicology*, v.21, n.6, p.33-46, 2006.
- GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histopatológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.2, p.376-381, 2007.
- GARRUTO, R. M.; YANAGIHARA, R.; GAJDUSEK, D. C. Models of environmentally induce neurological disease: epidemiology and etiology of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia in the Western Pacific. *Environmental Geochemistry and Health*, v.12, n.1/2, p.137-151, 1990.
- GARUTI, V.; FIGUEIREDO-GARUTI, M. L. Caracterização de populações do lambari *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Characidae), procedentes do campus de Jaboticabal, UNESP, São Paulo. *Naturalia*, v.17, n.1, p.15-29, 1992.
- GIESY, J. P.; PIERENS, S. L.; SNYDER, E. M.; MILES-RICHARDSON, S.; KRAMER, V. J.; SNYDER, S. A.; NICHOLS, K. M.; VILLENEUVE, A. D. A. Effects of 4-nonylphenol on fecundity and biomarkers of estrogenicity in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.19, p.1368–1377, 2000.
- GOEDE, R. W.; BARTON, B. A. Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicators of health and condition of fish. 1990. In: DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds) *The toxicology of fishes*. CRC Press, Taylor & Francis Group, New York, 2008, 1071p.
- GONZALEZ, G.; CRESPO, S.; BRUSKE, J. Histo-cytological study of the liver of the cabrilla sea bass, *Serranus cabrilla* (Teleostei, Serranidae), an available model for marine fish experimental studies. *Journal of Fish Biology*, v.43, p.363-373, 1993.
- GOOGLE EARTH. Disponível em: <http://www.earth.google.com>. Acesso em: 25 maio 2009.

- GREENFIELD, B. K.; TEH, S. J.; ROSS, J. R. M.; HUNT, J.; ZHANG, G.; DAVIS, J. A.; ICHIKAWA, G.; CRANE, D.; HUNG, S. S. O.; DENG, D. F.; THE, F.; GREEN, P. G. Contaminant concentrations and histopathological effects in Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.55, p.270-281, 2008.
- GRIFFITT, R. J.; HYNDMAN, K.; DENSLOW, N. D.; BABER, D. S. Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. *Toxicological Sciences*, v.107, n.2, p.404-415, 2009.
- GUERRA, C. Impactos ambientais na bacia do rio Piracicaba. Monografia. Instituto de Engenharia Ambiental, Holanda, 1993, 77p.
- HAFEMAN, D.; FACTOR-LITVAK, P.; CHENG, Z.; VAN GEEN, A.; AHSANL, H. Association between manganese exposure through drinking water and infant mortality in Bangladesh. *Environmental Health Perspectives*, v.115, n.7, p.1107-1112, 2007.
- HANDY, R. D.; RUNNALS, T.; RUSSEL, P. M. Histopathologic biomarkers in three spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, from several rivers in southern England that meet the freshwater fisheries directive. *Ecotoxicology*, v.11, p.467-479, 2002.
- HANSEN, P. D.; DIZER, H.; HOCK, B.; MARX, A.; SHERRY, J.; MCMASTER, M.; BLAISE, C. H. Vitellogenina biomarker for endocrine disruptors. *TrAC*, v.17, p.448–451, 1998.
- HARTZ, S. M. Alimentação das espécies de *Astyanax* (Baird; Girard, 1854) ocorrentes na lagoa Caconde, RS, Brasil (Teleostei, Characidae). *Revista Unimar*, v.18, n.2, p.269-281, 1996.
- HASCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G. Handbook of toxicologic pathology. London: Academic Press, p.127-151, 1996.
- HASSANIN, A.; KUWAHARA, S.; NURHIDAYAT-TSUKAMOTO, Y.; OGAWA, K.; HIRAMATSU, K.; SASAKI, F. Gonadosomatic index and testis morphology of common carp (*Cyprinus carpio*) in rivers contaminated with estrogenic chemicals. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.64, p.921–926, 2002.
- HAS-SCHÖN, E.; BOGUT, I.; KRALIK, G.; BOGUT, S.; HORVATIÉ, J.; CACIÉ, I. Heavy metal concentration in fish tissues inhabiting waters of “Busko Blato” reservoir (Bosnia and Herzegovina). *Environmental Monitoring and Assessment*, v.144, p.15-22, 2008.
- HAUX, C.; LARSSON, A. Long-term sublethal physiological effects on rainbow trout, *Salmo gairdneri*, during exposure to cadmium and after subsequent recovery. 1984. In: DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds) *The toxicology of fishes*. CRC Press, Taylor & Francis Group, New York, 2008, 1071p.

- HEATH, A. C. Water Pollution and Fish Physiology, 2ª Ed. Lewis, Boca Raton, 1995, 494p.
- HERANES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Acta Scientiarum – Biological Sciences, v.30, n.1, p.77-82, 2008.
- HINCK, J. E.; BLAZER, V. S.; DENSLOW, N. D.; MYERS, M. S.; GROSS, T. S.; TILLIT, D. E. Biomarkers of contaminant exposure in Northern pike (*Esox lucius*) from the Yukon river basin, Alaska. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v.52, p.549-562, 2007.
- HINTON, D. E.; LAURÉN, D. J. Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. American Fisheries Society Symposium, v.8, p.51–66, 1990.
- HINTON, D. E.; TEH, S. J.; OKIHIRO, M. S.; COOKE, J. B.; PARKER, L. M. Phenotypically altered hepatocyte populations in diethylnitrosamine induced medaka liver carcinogenesis: resistance, growth, and fate. 1992. In: DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds) The toxicology of fishes. Crc press, Taylor e Francis Group, New York, 2008, 1071p.
- HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. 1984. In: DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds) The toxicology of fishes. Crc press, Taylor e Francis Group, New York, 2008, 1071p.
- HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON, G. A. Jr.; CAIRNS, J. Jr.; Handbook of ecotoxicology. Lewis Publishers, Boca Raton-USA, p.1-10, 1995. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- HORNUNG, H.; RAMELOW, G. J. Distribution of Cd, Cr, Cu and Zn in eastern Mediterranean fishes. Marine Pollution Bulletin, v.18, p.45–49, 1987.
- HYLANDER, L.; MEILI, M.; OLIVEIRA, L.; CASTRO, E.; GUIMARÃES, J.; ARAÚJO, D.; NEVES, R.; BARROS, A.; SILVA, G. Relationship of mercury with aluminum, iron and manganese oxy-hydroxides in sediments from the Alto Pantanal, Brazil. Science of the Total Environment, v.260, p.97-107, 2000.
- IGAM – INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. Monitoramento da qualidade das águas superficiais na Bacia do Rio Doce. Resultados analíticos. Período: 1997, 1988, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007. Disponível em: <http://www.igam.mg.gov.br/noticiaspdf>. Acesso em: 02 maio 2009.
- IPCS – INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Cadmium. Environmental Health Criteria. Geneva, Switzerland, 1992, 134p.

- JIRAUNGKOORSKUL, W.; UPATHAMA, E. S.; KRUATRACHUEA, M.; SAHAPHONGC, S.; VICHASRI-GRAMSA, S.; POKETHITIYOOKA, P. Histopathological effects of roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Science Asia*, v.28, p.121-127, 2002.
- JOBLING, S.; SUMPTER, J. P. Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, v.27, p.361-372, 1993.
- JOHNSON, L. L.; STEHR, C. M.; OLSON, O. P.; MYERS, M. S.; PIERCE, S. M.; WIGREN, C. A.; McCAIN, B. B.; VARANASI, U. Chemical contaminants and hepatic lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) from the northeast coast of the United States. *Environmental Science and Technology*, v.27, p.2759-2771, 1993.
- KALAY, M.; ERDEM, C. Bakýrýn *Tilapia nilotica* (L.) da karaciger, bobrek, solungaç, kas, beyin va kan dokularindaki birikimi ile bazi kan parametreleri üzerine etkileri. *Turkish Journal Zoology*, v.19, p.27–33, 1995.
- KAMUNDE, C. Early subcellular partitioning of cadmium in gill and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following low-to-near-lethal waterborne cadmium exposure. *Aquatic Toxicology*, v.91, p.291-301, 2009.
- KARADEDE, H.; UNLU, E. Concentrations of some heavy metals in water, sediment and fish species from the Ataturk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Chemosphere*, v.41, p.1371–1376, 2000.
- KARELS, A. E.; SOIMASUO, M.; LAPPIVAARA, J.; LEPPANEN, H.; AALTONEN, T.; MELLANEN, P.; OIKARI, A. O. J. Effects of EFC-bleached kraft mill effluent on reproductive steroids and liver MFO activity in populations of perch and roach, *Ecotoxicology*, v.7, p.123-132, 1998.
- KARGÝN, F. Seasonal changes in levels of heavy metals in tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* collected from Iskenderun Gulf (Turkey). *Water Air Soil Pollution*, v.90, p.557–562, 1996.
- KARUPPASAMY, R. Evaluation of Hg concentration in the tissue of fish *Channa punctatus* (Bloch.) in relation to short and longterm exposure to phenylmercuric acetate. *Journal Plate Jubilee AU*, v.40, p.197–204, 2004.
- KAVANAGH, R. J.; BALCH, G. C.; KIPARISSIS, Y.; NIIMI, A. J.; SHERRY, J. S.; TINSON, C.; METCALFE, C. D. Endocrine disruption and altered gonadal development in white perch (*Morone americana*) from the lower great lakes region. *Environmental Health Perspectives*, v.112, p.898–902, 2004.

- KELLY, J. M.; JANZ, D. M. Assessment of oxidative stress and histopathology in juvenile northern pike (*Esox lucius*) inhabiting lakes downstream of a uranium mill. *Aquatic Toxicology*, v.92, p.240–249, 2009.
- KEUNG, C. F.; GUO, F.; QIAN, P.; WANG, W. X. Influences of metal-ligand complexes on the cadmium and zinc biokinetics in the marine bacterium, *Bacillus firmus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.27, n.1, p.131-137, 2008.
- KIRK, R. S.; LEWIS, J. W. An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy. *Environmental Technology*, v.14, p.577-585, 1993.
- KOCA, Y. B.; KOCA, S.; GÜRCÜ, B.; OSANÇ, E.; TUNÇBAS, O.; AKSOY, G. Investigation of histopathological and cytogenetic effects on *Lepomis gibbosus* (Pisces: Perciformes) in the Çine stream (Aydın/Turkey) with determination of water pollution. *Environmental Toxicology*, n.20, p.560-571, 2005.
- KOCK, G.; TRIENDL, M.; HOFER, R. Seasonal patterns of metal accumulation in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from an oligotrophic Alpine lake related to temperature. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, v.53, p.780-786, 1996.
- KOULISH, S.; KRAMER, C. R.; GRIER, H. J. Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). *Journal of Morphology*, v.254, p.292-311, 2002.
- KULLANDER, S. Family Cichlidae. In: Check List of the freshwater fishes of South and Central America. Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. L. Jr. Edipucrs, Porto Alegre, RS p.605-654, 2003.
- LANDRIGAN, P. J.; KOTELCHUCK, D.; GRANDJEAN, P. Principles for prevention of the toxic effects of metals. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. (Eds) Handbook on the toxicology of metals. 3° Ed. San Diego, California: Elsevier, p.319-337, 2007.
- LANGSTOM, W. J. Toxic effects of metals and the incidence of marine ecosystems. In: FURNESS, R. W.; RAINBOW, P. S. (Eds) Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press, New York, 1990, 256p.
- LARSON, K. A.; WEINCEK, J. M. Mercury removal from aqueous streams utilizing micro emulsion liquid membranes. *Environmental Progress*, v.13, n.4, p.253-262, 1994.
- LAURÈN, D. J.; MCDONALD, D. G. Effects of copper on branchial ionoregulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: modulation by water hardness and pH. *Journal of Comparative Physiology B*, v.155, p.635-644, 1985.

- LEE, H. B.; PEART, T. E. Bisphenol a contamination in Canadian municipal and industrial wastewater and sludge samples. *Water Quality Research Journal of Canada*, v.35, p.283–298, 2000.
- LE GAC, F.; LOIR, M. Male reproductive system, fish. In: KROBIL, E.; NEILL, J. D. (Eds) *Encyclopedia of Reproduction*. San Diego: Academic Press, v.3, p.20-30, 1999.
- LIZARDO-DAUDT, H. M.; BAINS, O. S.; SINGH, C. R.; KENNEDY, C. J. Biosynthetic capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interregional tissue after cadmium exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.52, p.90-96, 2007.
- LUPI, C.; NHACARINI, N. I.; MAZON, A. F.; RINGOLIN DE SÁ, O. Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilápia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro – SP. *Revista Fafibe On line*, n.3, p.1-6, 2007.
- LUZ-AGOSTINHO, K. D. G. Alimentação e sobreposição alimentar de três espécies de peixes, em lagoas da planície de inundação do alto do rio Paraná. Monografia (Especialização em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1996, 45p.
- MADI, R. R. Utilização dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* (Quoy; Gaimard, 1824) (Cichlidae; Perciformes) como indicadores ambientais. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005, 110p.
- MAES, G. E.; RAEYMAEKERS, J. A.; PAMPOULIE, C.; SEYNAEVE, A.; GOEMANS, G.; BELPAIRE, C.; VOLCKAERT, F. A. M. The catadromous European eel *Anguilla anguilla* (L.) as a model for freshwater evolutionary ecotoxicology: Relationship between heavy metal bioaccumulation, condition and genetic variability. *Aquatic Toxicology*, v.73, p.99-114, 2005.
- MAHAN, B. H. Química: um curso universitário. 4º Ed. São Paulo, Edgard Blücher, 1995, 251p.
- MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia. 11º Ed., Roca Editora, São Paulo, 1998, 1280p.
- MALIK, N.; BISWAS, A. K.; QURESHI, T. A.; BORANA, K.; VIRHA, R. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. *Environmental Monitoring and Assessment*, v.X, p.X-X, 2009.
- MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.42, p.630-648, 1985.

- MANDARINO, M.; MÁRSICO, E. T.; SANTOS, N. N.; SÃO CLEMENTE, S. C.; JÚNIOR, A. J. P. Determinação do grau de contaminação mercurial na musculatura de *Hoplias malabaricus* (Traíra), *Locariichthys* sp (Cascudo) e *Rhamdia* sp (Bagre), coletados no rio Paraíba do Sul – Estado do Rio de Janeiro – Brasil. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, v.28, n.1, p.79-88, 2000.
- MANTOVANI, D. M. B. Contaminantes inorgânicos na cadeia produtiva do pescado. In: Simpósio de Controle do pescado: Qualidade e sustentabilidade, São Vicente, p.13-17, 2005.
- MARCHESE, M.; GAGNETEN, A. M.; PARMA, M. J.; PAVÉ, P. J. Accumulation and elimination of chromium by freshwater species exposed to spiked sediments. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v.55, p.603-609, 2008.
- MARRUGO-NEGRETE, J.; BENITEZ, L. N.; OLIVERO-VERBEL, J. Distribution of mercury in several environmental compartments in an aquatic ecosystem impacted by gold mining in Northern Colombia. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v.55, p.305-316, 2008.
- MARTIN, M. H.; COUGHTREY, P. J. Biological monitoring of heavy metal pollution. Applied Science Publishers, London, 1982, 475p.
- MARTINS, L. Anodização e coloração de peças de alumínio. Disponível em: <http://repositorio.up.pt.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2009.
- MASON, C. F. Biology of freshwater pollution. 2º Ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1991, 351p.
- MATHHIESSEN, P.; ALLEN, Y.; BAMBER, S.; CRAFT, J.; HURST, M.; HUTCHINTON, T.; FEIST, S.; KATSIADAKI, I.; KIRBY, M.; ROBINSON, C.; SCOTT, S.; THAIN, J.; THOMAS, K. The impact of oestrogenic and androgenic contamination on marine organisms in the United Kingdom: summary of the EDMAR programme. Marine Environmental Research, v.54, p.645–649, 2002.
- MATOS, A. T. Poluição Ambiental e seus efeitos. Brasília: ABEAS; Viçosa: DEA/UFV. (ABEAS. Curso Uso Racional dos Recursos Naturais e seus Reflexos no Meio Ambiente Módulo 6), 2001, 121p.
- MATTA, S. L. P. Efeitos do hipotireoidismo induzido pelo PTU (6-n-propil-2-tiouracil) sobre a proliferação das células de Sertoli e células germinativas em tilápia (*Oreochromis niloticus*). Tese (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000, 108p.

- MELA, M.; RANDI, M. A. F.; VENTURA, D. F.; CARVALHO, C. E. V.; PELLETIER, E.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.68, p.426-435, 2007.
- MESSAOUDI, I.; DELI, T.; KESSABI, K.; BARHOUMI, S.; KERKENI, A.; SAID, K. Association of spinal deformities with heavy metal bioaccumulation in natural populations of grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* Pallas, 1811 from the Gulf of Gabès (Tunisia), *Environmental Monitoring and Assessment*, v.156, n.1, p.551-560, 2008.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Atenção à saúde dos trabalhadores expostos ao chumbo metálico. Editora MS, Brasília, Distrito Federal, 2006, 44p.
- MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. Heavy metals in natural waters applied monitoring and impact assessment. New York, Springer Verlag, 1984, 268p.
- MORAES, M. F. P. G.; BARBOLA, I. F.; DUBO, L. F. Feeding habits and morphometry of digestive tracts of *Geophagus brasiliensis* (Osteichthyes, Cichlidae), in a lagoon of High Tibagi River, Paraná state, Brazil. *Ciências Biológicas e da Saúde*, v.10, n.1, p.37-45, 2004.
- MORAIS, A. C. T.; BARBOSA, L. P.; CUPERTINO, M. C.; SANTOS, M. O. Determinação de metais pesados na água, sedimento e em espécimes de peixes do rio Piracicaba/MG. In: XVI Congresso Brasileiro de Toxicologia, Belo Horizonte. *Revista Brasileira de Toxicologia*, v.22, suplemento 1, p.102, 2009.
- NEIBOER, E.; RICHARDSON, D. H. S. The replacement of nondescript term “heavy metals” by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution*, v.1, p.3-26, 1980.
- NERO, V.; FARWELL, A.; LEE, L. E. J.; VAN MEER, T.; MACKINNON, M. D.; DIXON, D. G. The effects of salinity on naphthenic acid toxicity to yellow perch: gill and liver histopathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.65, p.252-264, 2006.
- NEWSTEAD, J. D. Fine structure the respiratory lamellae of Teleostean gills. *Zeitschrift für Zellforschung*, v.70, p.420-445, 1987.
- NOWAK, B. F.; DEAVIN, J. G.; SARJITO-MUNDAY, B. L. Scanning electron microscopy in aquatic toxicology. *Journal of Computer-Assisted Microscopy*, v.4, p.241-246, 1992.
- NSIKAK, U. B.; JOSEPH, P. E.; AKAN, B. W.; DAVID, E. B. Mercury accumulation in fishes from tropical aquatic ecosystems in the Niger Delta, Nigeria. *Current Science*, v.92, n.6, p.781-785, 2007.

- NUNES, E. Projeto Micro-bacias – Diagnóstico Ambiental das Micro-bacias Existentes no Município de Timóteo, p.32-48, 2004.
- OGUNDIRAN, M. A.; FAWOLE, O. O.; ADEWOYE, S. O.; AYANDIRAN, T. A. Pathologic lesions in the gills of *Clarias gariepinus* exposed to sublethal concentrations of soap and detergent effluents. *Journal of Cell and Animal Biology*, v.3, n.5, p.78-82, 2009.
- OHLWEILER, O. A. Química inorgânica. 1º Ed. São Paulo, Edgard Blücher, 1972, 310p.
- OLIVEIRA, M. R.; HORN, A. H. Comparação da concentração de metais pesados nas águas do rio São Francisco em Três Marias, desde 1991 até hoje, relacionando a atuação da CMM-Três Marias. *Genomos*, v.14, n.1, 2, p.55-63, 2006.
- OLIVEIRA- RIBEIRO, C. A.; FANTA, E.; TURCATTI, N. M.; CARDOSO, R. J.; CARVALHO, C. S. Lethal effects of inorganic mercury on cells and tissue of *Trichomycterus brasiliensis* (Pisces, Siluroidei). *Biocell*, v.20, p.171-178, 1996.
- OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A.; ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue nature reserve, France. *Aquatic Toxicology*, v.74, p.53-69, 2005.
- OLOJO, E. A. A.; OLURIN, K. B.; MBAKA, G.; OLUWEMIMO, A. D. Histopathology of the gill and liver tissues of the African catfish *Clarias gariepinus* exposed to lead. *African Journal of Biotechnology*, v.4, n.1, p.117-122, 2005.
- OMS - Organização Mundial da Saúde. Elementos Traço na Nutrição e Saúde Humanas. São Paulo, Editora Roca, 1998, 316p.
- ORONZAYE, J. A. O. Histological changes in the kidneys and the gills of the stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., exposed to dissolved cadmium in hard water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.17, p.279-290, 1989.
- ORTIZ, J. B.; CANALES, M. L. G.; SARASQUETE, C. Histopathological changes induced by lindane (γ -HCH) in various organs of fishes. *Scientia Marina*, v.67, n1, p.53-61, 2003.
- OSTRENSKI, A.; CHAVES, P. T. C.; DUBOC, L. F.; GUIMARÃES, A. T. B.; CRUZ, S. R. Z.; WEGBECHER, F. X.; PILCHOWSKI, R. W.; TEIXEIRA, U. A.; BELZ, C. E. Monitoramento ictiofaunístico pós-derramamento de óleo nos Rios Barigüí e Iguaçu. 2001. In: UN-REPAR/PETROBRÁS. II Seminário do Rio Iguaçu, p.32–52, 2001.
- PACHECO, M.; SANTOS, M.A. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.53, p.331- 347, 2002.

- PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN, A. A. M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. Centro de Recursos Ambientais (BA), 2001, 150p.
- PARMA de CROUX, M. J.; LOTESE, A.; CAZENAVE, J. Inhibition of plasma cholinesterase and acute toxicity of monocrotophos in neotropical fish *Prochilodus lineatus* (Pisces, Curimatidae). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, v.69, p.356-363, 2002.
- PEDREIRA FILHO, W. R.; RIBEIRO, E. F.; LIZARTE NETO, F. S. Elementos metálicos em pescados comercializados na cidade de São Paulo. Conscientiae Saúde, São Paulo, v.2, p.61-65, 2003.
- PIRHDOCE - Plano Integrado de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Doce e dos Planos de Ações de Recursos Hídricos para as Unidades de Planejamento e Gestão de Recursos Hídricos no Âmbito da Bacia do Rio Doce. 2007. Disponível em <http://www.pirhdoce.com.br/content/diagnostico.htm>. Acesso em: 28 abr. 2009.
- POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MÜLLER, R.; LLOYD, R. (Eds) Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. FAO, Fishing News Books, Oxford, p.339-352, 1994.
- PORTO, L. C. S. Avaliação de metais pesados e micronúcleos em peixes da bacia hidrográfica Butuí-Icamaquã e análise da água. Dissertação (Mestrado), Centro Universitário Univates, Lajeado, 2009, 98p.
- PORTO, R. L. L.; BRANCO, S. M.; CLEARY, R. W.; COIMBRA, R. M.; EIGER, S.; LUCA, S. J.; NOGUEIRA, V. P. Q.; PORTO, M. F. A. Hidrologia Ambiental, 3º Ed. Edusp: São Paulo, 1991, 414p.
- PTASHYNSKI, M. D.; PEDLAR, R. M.; EVANS, R. E.; BARON, C. L.; KLAVERKAMP, J. F. Toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). Aquatic Toxicology, v.58, n.3-4, p.229-247, 2002.
- PYLE, G. G.; RAJOTTE, J. W.; COUTURE, P. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. Ecotoxicology and Environmental Safety, v.61, p.287-312, 2005.
- QUEIROZ, M. T. A. Bioacumulação de metais pesados no rio Piracicaba, Minas Gerais, aplicando a análise por ativação neutrônica instrumental. Dissertação (Mestrado), Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, Coronel Fabriciano, 2006, 92p.
- RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1985, 666p.

- RANDI, A. S.; MONSERRAT, J. M.; RODRIGUEZ, E. M.; ROMANO, L. A. Histopathological effects of cadmium on the gills of the freshwater fish, *Macropsorbycan uruguayanael* Eigenmann (Pisces, Athainidae). *Journal of Fish Diseases*, n.19, p.311-322, 1996.
- REBOUÇAS, A. C. Água doce no mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. (Eds) Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. São Paulo, Escrituras Editora, 1999, 717p.
- RICHTER, B. D.; MATHEWS, R.; HARRISON, D. L.; WIGINGTON, R. Ecologically sustainable water management: managing river flows for ecological integrity. *Ecological Applications*, v.13, p.206-224, 2003.
- ROBERTS, R. J. Fish pathology. 2º Ed. London: Braillière Tindall, 1989, 467p.
- ROCHA, A. A.; PEREIRA, D. N.; PÁDUA, H. B. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo (Brasil). *Revista de Saúde Pública*, v.19, p.401-410, 1985.
- RODRIGUES, E. L. Alterações morfológicas em hepatócitos de *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan, 1822, 1823) exposto à ação do organofosforado Dimetoato 500 em dose subletal. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994, 77p.
- RODRIGUES, E. L.; FANTA, E. Liver histopathology of the fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchman after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimethoate 500. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.15, n.2, p.441-450, 1998.
- ROMANENKO, V. D.; MALYZHEVA, T. D.; YU, Y. N. The role of various organs in regulating zinc metabolism in fish. *Hydrobiology Journal*, n.21, v.3, p.7-12, 1986.
- ROMEO, M.; SIAU, Y.; SIDOUMOU, Z.; GNASSIA-BARELLI, M. Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of the Total Environment*, v.232, p.169-175, 1999.
- RONCERO, V.; VICENTE, J. A.; REDONDO, E.; GAZQUEZ, A.; DURAN, E. Experimental lead nitrate poisoning: Microscopic and ultrastructural study of the gills of tench (*Tinca tinca*, L.). *Environmental Health Perspectives*, v.89, p.137-144, 1990.
- ROSSI, S. Uso de biomarcadores para a detecção de efeitos subletais dos pesticidas Roundup® e Hexaton® em *Astyanax* sp. (Pisces, Teleostei). Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008, 64p.
- RUSSEL, J. B. Química geral. 2º Ed. São Paulo, McGraw-Hill, v.2, 1994, 1000p.

- SABINO, J.; CASTRO, R. M. C. Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da floresta Atlântica (Sudeste do Brasil). *Brazilian Journal of Biology*, v.50, n.1, p.23- 26, 1990.
- SALEH, H. H. Fish liver as indicator of aquatic environmental pollution. *Bulletin of the Institute of Oceanography and Fisheries*, v.8, p.69–79, 1982.
- SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FELIZARDO, N. N.; RODRIGUES, E. L. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, v.30, n.2, p.141-145, 2004.
- SANTOS, D. C. M. Toxidez aguda do zinco em lambari *Astyanax aff. bimaculatus* (Linnaeus, 1758). Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009, 115p.
- SARIC, M.; LUCCHINI, R. Manganese. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. (Eds) *Handbook on the toxicology of metals*. 3° Ed. Elsevier, California, 2007, 975p.
- SEPULVEDA, M. S.; QUINN, B. P.; DENSLOW, N. D.; HOLM, S. E.; GROSS, T. S.; Effects of pulp and paper mill effluents on reproductive success of largemouth bass. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.22, p.205–213, 2003.
- SILVA, E. P.; TAVARES, M. G. O.; BRAGA, A. C.; SOUZA, H. R.; ATAÍDE, J. F.; CUNHA, I. N.; CORREIA, K. M.; FREITAS, R. A.; CAVASIN, G. M.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Avaliação ecotoxicológica e histológica de combustíveis fósseis e biocombustíveis produzidos por craqueamento termo-catalítico e transesterificação do óleo de soja. 2007. In: II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, Brasília, p.1-6, 2007.
- SILVA, M. Morfologia ultraestrutural do testículo, cinética da espermatogênese e barreira hemo-testicular da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Peixe Ciclideo). Tese (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1987, 164p.
- SILVA, M. R. C. Estudo do sedimento da bacia hidrográfica do Moji-Guaçu, com ênfase na determinação de metais. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002, 86p.
- SJÖGREN, B.; IREGREN, A.; FRECH, W.; HAGMAN, M.; JOHANSSON, L.; TESARZ, M.; WENNERBERG, A. Aluminum. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. (Eds) *Handbook on the toxicology of metals*. 3° Ed. Elsevier, California, 2007, 975p.
- SKIDMORE, J. F.; TOVELL, P. W. A. Toxic effects of zinc sulphate on the gills of rainbow trout. *Water Research*, v.6, p.271-230, 1972.

- STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P.; JONES, G.; GREEN, M.; FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Marine Environmental Research*, v.55, p.137–159, 2003.
- STEPENS, A.; LOGINA, I.; LIGUTS, V.; ALDINS, P.; EKSTEINA, I.; PLATKAJIS, A.; MARTINSONE, I.; TERAUDS, E.; ROZENTALE, B.; DONAGHY, M. A Parkinsonian syndrome in methcathinone users and the role of manganese. *The New England and Journal of Medicine*, v.358, n.10, p.1009-1017, 2008.
- SUMPTER, J. P. Endocrine disrupters in the aquatic environment: an overview. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, v.33, p.9–16, 2005.
- TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology: normal and pathological features. 2° Ed. Tokyo: Kodanska / Stuttgart: Fischer Verlag, 1995, 195p.
- TEH, S. J.; ADAMS, S. M.; HINTON, D. E. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology*, v.37, p.51–70, 1997.
- TELES, L. T.; ZARA, L. F.; REGO E FURLANETTO, U. L.; JÚNIOR, N. J. S. Elementos traço em peixes de interesse comercial do rio Caiapó (Goiás, Brasil) em área sob impacto ambiental. *Estudos*, v.35, n.11/12, p.1055-1067, 2008.
- TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L. G.; MUNTAU, H.; LEEUWEN, H. P. V.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure and Applied Chemistry*, v.72, n.8, p.1453-1470, 2000.
- TEPE, Y.; TÜRKMEN, M.; TÜRKMEN, A. Assessment of heavy metals in two commercial fish species of four Turkish seas. *Environmental Monitoring and Assessment*, v.146, p.277-284, 2008.
- THOPHON, S.; KRUAETRACHUE, M.; UPATHAN, E. S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*, v.121, p.307-320, 2003.
- UNLU, E.; AKBA, O.; SEVIM, S.; GUMGUM, B. Heavy metal levels in mullet, *Liza abu* (Heckel, 1843) (Mugilidae) from the Tigris River, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, v.5, p.107–112, 1996.
- VAN DER OOST, R.; OPPERHUIZEN, A.; SATUMALAY, K.; HEIDA, H.; VERMEULEN, N. P. E. Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) I. Bioaccumulation: biota-sediment ratios of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. *Aquatic Toxicology*, v.35, n.1, p.21-46, 1996.

- VAN DYK, J. C.; PIETERSE, G. M.; VAN VUREN, J. H. J. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.66, p.432–440, 2007.
- VAN HEERDEN, D.; VOSLOO, A.; NIKINMAA, M. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, v.69, p.271-280, 2004.
- VASQUEZ, M. J.; ALBUÍN, M.; CARRO, A. M.; LORENZO, R. A.; CELA, R. *Chemosphere* v.39, 1999, 1211p.
- VEADO, M. A. R. V.; HEEREN, A. O.; SEVERO, M. I.; GRENIER-LOUSTALOT, M. F.; ARANTES, I. A.; CABALEIRO, H. L.; ALMEIDA, M. R. M. G. INAA and ICP-MSHS: Metal pollutants in fish tissues Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Pampulha lake, Belo Horizonte city, Minas Gerais state, Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.272, n.3, p.511-514, 2007.
- VERLAG, G. F. An atlas of fish histology: normal and pathological features. Tokyo: Kodansha, 1982, 147p.
- VETHAAK, A. D. The use of mesocosms to study disease in flounder (*Platichthys flesus*). In: BYLUND, G.; LÖNNSTRÖM, L. G. (Eds) Diseases and parasites of flounder (*Platichthys flesus*) in the Baltic sea. *Baltic Marine Biologists Publication*, n.15, p.121-129, 1994.
- VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, n.4, p.779-785, 2007.
- VUORINEN, P. J.; KEINÄNEN, M.; PEURANEN, S.; TIGERSTEDT, C. 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, p.255-276, 2003.
- WEISS, P. Ultrastructural changes induced by low concentrations of DDT in the livers of the zebrafish and guppy. *Chemical Biology Interaction*, n.8, p.25-30, 1974.
- WELTZIEN, F. A.; ANDERSSON, E.; SHALCHIAN-TABRIZI, K.; NORBERG, B. The brain pituitary gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (Pleuronectiformes). *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.137, p.447-477, 2004.
- WESTER, P. W.; VAN DER VEN, L. T. M.; VETHAAK, A. D.; GRINWIS, G. C. M.; VOS, J. G. Aquatic toxicology: opportunities for enhancement through histopathology. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v.11, p.289–295, 2002.

- WHO -World Health Organization. Geneva. International. DIG. Health Leg, v.17, p.629-834, 1967. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. Rima, São Carlos, 2006, 478p.
- WHO – World Health Organization. Lead – environmental aspects. Geneva. Environmental Health Criteria, 1995, 85p.
- WHO - World Health Organization. Summary and conclusions. Fifty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Rome, Italy, 21p,1999. Disponível em: <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/summary_53.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2005.
- WINKALER, E. U. Aspectos ecotoxicológicos dos inseticidas Diflubenzuron e Teflubenzuron para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008, 67p.
- WONG, C. K.; WONG, M. H. Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. Aquatic Toxicology, v.48, p.517-527, 2000.
- YAMAGUCHI, S.; MIURA, C.; ITO, A.; AGUSA, T.; IWATA, H.; TANABE, S.; TUYEN, B. C.; MIURA, T. Effects of lead, molybdenum, rubidium, arsenic and organochlorines on spermatogenesis in fish: Monitoring at Mekong Delta area and in vitro experiment. Aquatic Toxicology, v.83, p.43-51, 2007.
- YILMAZ, A. B. Levels of metals (Fe, Cu, Ni, Cr, Pb, and Zn) in tissue of *Mugil cephalus* and *Trachurus mediterraneus* from Iskenderun Bay, Turkey. Environmental Research, v.92, p.277-281, 2003.
- YILMAZ, A. B. Comparison of heavy metals of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.) caught in Iskenderun Bay (Turkey). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, v.29, p.257– 262, 2005.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações. Rima Editora, São Carlos, SP, 2006, 478p.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds) Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. 2ª Ed. Rima, São Carlos, 2008, 486p.
- ZAPATA, J. Environmental impacts studies of gold mining in the Madeira River Bolivian-Brazilian border. 1994. In: Environmental mercury pollution and its health effects in Amazon river basin. National Institute for Minamata Disease and Institute of Biophysics of the Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, p.23-24, 1994.
- ZELIKOFF, J. T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? Toxicology, v.129, n.1, p.63-71, 1998.

Apêndice

Tabela 1. Biometria corporal média dos parâmetros: comprimento total (cm), comprimento padrão (cm), altura (cm) e peso corporal (g) de peixes teleósteos coletados no rio Piracicaba.

Coleta	Espécie	Nome Popular	Número de indivíduos	Comprimento Total (cm)	Comprimento Padrão (cm)	Altura (cm)	Peso Corporal (g)
1	<i>Leporinus conirostris</i>	Piau-branco	2	28,7	21,7	7,2	543,9
	<i>Loricariichthys castaneus</i>	Cascudo-viola	1	33,0	27,0	5,0	172,4
	<i>Paraneuochenipterus galeatus</i>	Cumbaca	8	13,6	10,7	3,8	36,0
	<i>Astyanax bimaculatus</i>	Lambari	6	10,1	8,1	2,2	11,0
	<i>Oreochromis niloticus</i>	Tilápia	3	27,2	21,2	7,1	207,8
	<i>Hypostomus affinis</i>	Cascudo	7	17,7	13,5	4,2	58,0
	<i>Hoplias lacerdae</i>	Trairão	1	16,0	13,5	3,7	45,6
	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Acará	1	13,0	10,5	3,5	36,8
	2	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Acará	3	16,5	13,2	5,2
<i>Oreochromis niloticus</i>		Tilápia	6	22,3	17,2	5,7	261,3
<i>Clarias gariepinus</i>		Bagre-africano	2	22,2	16,7	5,8	166,6
3	<i>Oreochromis niloticus</i>	Tilápia	19	23,4	19,1	7,7	325,5
	<i>Hoplias lacerdae</i>	Trairão	2	39,2	34,0	7,5	669,7
	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Acará	1	18,0	15,5	6,5	140,1
	<i>Hoplosternum littorale</i>	Tamboatá	1	22,0	16,5	4,5	154,7

Tabela 2. Biometria corporal média e erro padrão (comprimento total (cm), comprimento padrão (cm), altura (cm) e peso corporal (g)) de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* controles.

Espécie	Comprimento Total (cm)	Comprimento Padrão (cm)	Altura (cm)	Peso Corporal (g)
<i>A. bimaculatus</i>	7,50 ± 0,32	4,73 ± 0,63	2,30 ± 0,18	5,33 ± 0,98
<i>G. brasiliensis</i>	11,18 ± 3,94	7,69 ± 3,26	3,86 ± 1,51	34,16 ± 39,59

Tabela 3. Biometria corporal média e desvio erro (comprimento total (cm), comprimento padrão (cm), altura (cm) e peso corporal (g)) de *Astyanax bimaculatus* e *Geophagus brasiliensis* coletados no rio Piracicaba.

Espécie	Comprimento Total (cm)	Comprimento Padrão (cm)	Altura (cm)	Peso Corporal (g)
<i>A. bimaculatus</i>	10,15 ± 0,68	8,08 ± 0,58	2,22 ± 0,44	10,96 ± 2,06
<i>G. brasiliensis</i>	16,10 ± 1,95	13,10 ± 2,04	5,14 ± 1,16	84,26 ± 37,25

Tabela 4. Concentração média e intervalos de metais pesados ($\mu\text{g g}^{-1}$) em músculos de peixes de diversos ambientes aquáticos contaminados.

Espécie	Al	Mn	Pb	Zn	Referências
Várias espécies	259,15	14,91	141,49	50,41	Presente estudo
Várias espécies	18,74	2,72	1,83	24,99	TELES <i>et al.</i> (2008)
<i>Oreochromis niloticus</i>	0,12	nd	1,00	0,37	VEADO <i>et al.</i> (2007)
Várias espécies	53,43	-	0,88	6,42	COUTO <i>et al.</i> (2005)

Nd – não detectado