

**MARIA LUIZA ASSIS RODRIGUES**

**TOXICIDADE POR METAIS PESADOS EM TESTÍCULO DE *Oreochromis niloticus*  
E *Geophagus brasiliensis* DA BACIA DO RIO DOCE, TRÊS ANOS APÓS O  
ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE REJEITOS EM MARIANA – MG**

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

Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori

Coorientadores: Sérgio Luis Pinto da Matta  
Fabiana C. S. Alves de Melo  
Mariella Bontempo D. Freitas  
Jener Alexandre S. Zuanon  
Laercio dos Anjos Benjamin  
Juraci Alves de Oliveira  
Reggiani Vilela Gonçalves

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2021**

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

T

R696t  
2021  
Rodrigues, Maria Luiza Assis, 1996-  
Toxicidade por metais pesados em testículo de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus brasiliensis* da Bacia do Rio Doce, três anos após rompimento da barragem de rejeitos em Mariana – MG / Maria Luiza Assis Rodrigues. - Viçosa, MG, 2021.  
95 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Peixes - Reprodução. 2. Minas e mineração. 3. Ecotoxicologia. 4. Histopatologia. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 597.74

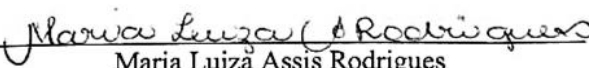
**MARIA LUIZA ASSIS RODRIGUES**

**TOXICIDADE POR METAIS PESADOS EM TESTÍCULO DE *Oreochromis niloticus*  
E *Geophagus brasiliensis* DA BACIA DO RIO DOCE, TRÊS ANOS APÓS O  
ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE REJEITOS EM MARIANA – MG**

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

APROVADA: 19 de fevereiro de 2021

Assentimento:

  
\_\_\_\_\_  
Maria Luiza Assis Rodrigues  
Autora

  
\_\_\_\_\_  
Sirlene Souza Rodrigues Sartori  
Orientadora

*Dedico esse trabalho a **Deus** por me conceder força, persistência, saúde e sabedoria para concluir essa jornada. Aos **meus pais, irmãs, familiares e amigos** por todo o suporte e por serem sempre meu porto seguro; e à **comunidade científica** por todo conhecimento deixado para um futuro melhor.*

## AGRADECIMENTOS

A pessoa que escreve essas palavras hoje não é a mesma de dois anos atrás. Nesses dois anos desenvolvendo este trabalho o processo de crescimento e amadurecimento foi intenso e muitas pessoas foram essenciais para a construção e sucesso desse estudo, a elas devo toda minha gratidão.

Agradeço à **Universidade Federal de Viçosa (UFV)** e ao **Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal** pela formação profissional e pelo crescimento pessoal. Aos **funcionários do Departamento de Biologia Animal** por toda ajuda e paciência.

Á **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa de estudos.

Á minha orientadora **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sirlene Souza Rodrigues Sartori**, por ter me acolhido desde a graduação com todo afeto, por todos os ensinamentos passados, por sempre estar disponível a ajudar com paciência e dedicação, por ser mais que uma orientadora e mentora, por ser fazer sempre presente.

Aos melhores coorientadores que eu poderia ter escolhido **Prof. Dr Sérgio Luis Pinto da Matta e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo**, vocês exerceram esse papel com excelência, só tenho a agradecer por todo o suporte e disponibilidade em me auxiliar no desenvolvimento deste trabalho, compartilhando seus conhecimentos e experiências.

Aos professores **Dr<sup>a</sup>. Mariella Bontempo Duca de Freitas, Dr. Jorge Abdala Dergam dos Santos**, por terem aberto as portas de seus laboratórios contribuindo para a conclusão deste trabalho.

Ao técnico do laboratório de morfologia animal **Donizete Aparecido da Silva** por toda a paciência e ajuda no preparo dos materiais, sempre tornando os dias no laboratório mais leves com as conversas, risadas, cafés e pães de queijo.

A **Unidade de Resíduos e Contaminantes – Laboratório Federal de Defesa Agropecuária -SP (RCA/LFDA-SP)**, em especial a **Maria de Fátima Martins Pinhel**, que permitiu o uso do laboratório, e ao **Carlos Juliano da Silva e Eduardo Rafael dos Santos** que disponibilizaram tempo e esforço para a realização das análises.

Aos **amigos do Laboratório de Morfologia Animal**, em especial **Alex Filipe Ramos de Sousa** por ajudar em todos os campos e sempre topou subir a reta até a veterinária para me acompanhar na microtomia. **Leticia Valadares Ballotin** por ter me acompanhado nos primeiros campos, me dando o Norte no início do estudo, **Filipe Iglesias de Almeida** por ter se aventurado comigo nas águas do rio Doce, pelos cafezinhos no DBA, pelos happy hours e por sempre alegrar meus dias. A minha xará **Maria Luiza Ferreira** pelas palhas italianas e conversas que iam desde séries até papos super profundos sobre o sentido da vida.

Aos demais amigos que se fizeram presente em todos os momentos, especialmente, **Renata Maria Pereira de Freitas, Barbara Silva Linhares, Juliana Rodrigues Gomes, Karina Ventura Boechat Martins, Leonardo Araujo Oliveira, Antônio Augusto Gomes Rocha, Matheus Costa e Ana Clara Resende** por serem minha segunda família e deixarem os dias mais leves.

Aos meus amorosos amigos **Luanne Vieira e Wandeir Campos**, que me acompanham desde o colégio, sempre presente em todos os momentos torcendo e se alegrando com minhas conquistas, é em vocês que me apoio e me inspiro, vocês são pura resiliência. Obrigada por tanto e por tudo.

Ao meu namorado **Lucas Fonseca Costa**, que sempre esteve do meu lado, me apoiando, me incentivando, por toda paciência e por tornar minha caminhada mais leve.

Aos meus pais, **Jânio Rodrigues da Silva e Maria de Fátima de Assis Rodrigues** e minhas irmãs **Priscylla Rodrigues Assis e Karollyne Assis Rodrigues**, por serem minha base, refúgio, porto seguro e por não medirem esforços para que eu possa realizar meus sonhos.

**De coração, obrigada, a todos que que fizeram parte, essa conquista é nossa!**

## RESUMO

RODRIGUES, Maria Luiza Assis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2021. **Toxicidade por metais pesados em testículo de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus brasiliensis* da Bacia do Rio Doce, três anos após rompimento da barragem de rejeitos em Mariana – MG.** Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Sergio Luis Pinto da Matta, Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo, Mariella Bontempo Duca de Freitas, Jener Alexandre Sampaio Zuanon, Laercio dos Anjos Benjamin, Juraci Alves de Oliveira e Reggiani Vilela Gonçalves.

Em 5 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da Barragem de Fundão, localizada no distrito de Bento Rodrigues (Mariana-MG), e foram lançados no ambiente aproximadamente, trinta e cinco milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos de mineração de ferro, que atingiu toda a extensão do rio Doce. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade por metais pesados sobre o testículo de duas espécies de peixes do rio Doce, três anos após o rompimento da barragem. Foram utilizados 15 exemplares de *Oreochromis niloticus* (espécie exótica) e *Geophagus brasiliensis* (espécie nativa), coletados no rio Doce e no rio Piranga (não afetado pelo rompimento), nos municípios de Santa Cruz do Escalvado e Ponte Nova, respectivamente. Os animais foram eutanasiados para a retirada dos testículos, que foram processados para análises de quantificação de metal, histológica e de estresse oxidativo. Foi realizado também análise de quantificação de metais na água e no sedimento. As concentrações dos metais pesados na água, e no sedimento não tiveram diferenças significativas entre os rios Doce e Piranga. Em relação à concentração de metal pesado no testículo, observou-se concentração significativamente maior em tilápias do Rio Doce (TRD) quando comparado a tilápia do Rio Piranga (TRP), para cobre e cobalto e menores de mercúrio em TRD; os níveis de mercúrio também foram menores no cará do Rio Doce (CRD) comparado com o do Rio Piranga (CRP). Entre CRP e TRP observou-se concentrações mais altas para ferro e mercúrio. Produtos do stress oxidativo e a atividade de enzimas antioxidantes foram maiores nos peixes do rio Piranga, entretanto, a ocorrência de cistos espermatogênicos e outras patologias foi maior nos peixes do rio Doce. Quanto à biometria gonadal, o peso corporal, comprimento padrão, peso e comprimento gonadal foram maiores no grupo TRD quando comparado ao TRP, contudo, o índice gonadossomático se mostrou reduzido neste grupo, assim como em CRD. O número de cistos e sua área foram menores no grupo TRD quando comparado com o grupo TRP. Foi observada a ocorrência de mais cistos patológicos nos grupos dos carás, sendo o grupo CRD o mais afetado. Os grupos do rio Doce apresentaram maior frequência de células em processo inicial de dano ao DNA.

Conclui-se que, a água e o sedimento dos rios Doce e Piranga apresentaram estados semelhantes de contaminação por metais pesados. Entretanto, as espécies analisadas do rio Doce se mostraram mais afetadas, em especial o cará, que apresentou maiores danos testiculares, se mostrando mais sensível a esses poluentes.

**Palavras-chave:** Mineração. Ecotoxicologia. Reprodução. Histopatologia. Status oxidativo.

## ABSTRACT

RODRIGUES, Maria Luiza Assis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2021. **Heavy metal toxicity in testicles of *Oreochromis niloticus* and *Geophagus brasiliensis* in the Rio Doce, three years after the tailings barrage rupture in Mariana – MG.** Adviser: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisers: Sergio Luis Pinto da Matta, Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo, Mariella Bontempo Duca de Freitas, Jener Alexandre Sampaio Zuanon, Laercio dos Anjos Benjamin, Juraci Alves de Oliveira and Reggiani Vilela Gonçalves.

On November 5, 2015, the Fundão Dam broke, located in the Bento Rodrigues district (Mariana-MG), and approximately thirty-five million m<sup>3</sup> of iron mining tailings were released into the environment, which reached the entire extension of the Doce river. The aim of this study was to evaluate the toxicity of heavy metals on the testis of two species of fish from the Doce river, three years after the dam burst. Fifteen specimens of *Oreochromis niloticus* (exotic species) and *Geophagus brasiliensis* (native species) were collected from the Doce river and the Piranga river (unaffected by the rupture), in the municipalities of Santa Cruz do Escalvado and Ponte Nova, respectively. The animals were euthanized for the removal of the testicles, which were processed for analysis of metal quantification, histological and oxidative stress. Analysis of the quantification of metals in water and sediment was also carried out. The concentrations of heavy metals in water and sediment did not differ significantly between the Doce and Piranga rivers. In relation to the concentration of heavy metal in the testis, a significantly higher concentration was observed in tilapia from Doce river (TRD) when compared to tilapia from Piranga river (TRP), for copper and cobalt and lower mercury in TRD; mercury levels are also lower in cará from Doce river (CRD) compared to cará from Piranga river (CRP). Between CRP and TRP, higher concentrations for iron and mercury were observed. Products of oxidative stress and the activity of antioxidant enzymes were higher in fish from the Piranga river, however, the occurrence of spermatogenic cysts with pathologies was higher in fish from the Doce river. As for gonadal biometrics, body weight, standard length, gonadal weight and length were higher in the TRD group when compared to the TRP, however, the gonadosomatic index was reduced in this group, as well as in CRD. The number of cysts and their area were lower in the TRD group when compared to the TRP group. The occurrence of more pathological cysts was observed in the cará groups, with the CRD group being the most affected. The Doce river groups showed a higher frequency of cells in the initial process of DNA damage. It is concluded that the water and sediment of the Doce and Piranga rivers presented similar states of contamination by heavy metals. However, the analyzed species from

the Doce river were more affected, especially the cará, which showed greater testicular damage, being more sensitive to these pollutants.

**Keywords:** Mining. Ecotoxicology. Reproduction. Histopathology. Oxidative stress.

## SUMÁRIO

### Toxicidade por metais pesados em testículo de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus brasiliensis* da bacia do rio Doce, três anos após rompimento da barragem de rejeitos em Mariana – MG

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
<b>2.1 Metais pesados</b> .....	14
2.1.1 Ferro .....	16
2.1.2 Alumínio .....	16
2.1.3 Manganês .....	17
2.1.4 Zinco .....	18
2.1.5 Chumbo .....	19
2.1.6 Níquel .....	20
2.1.7 Cádmió .....	20
2.1.8 Cobre .....	21
2.1.9 Cromo .....	22
2.1.10 Mercúrio .....	22
2.1.11 Cobalto.....	23
<b>2.2 Testículo de Teleósteos</b> .....	24
<b>2.3 Área de estudo</b> .....	26
2.3.1 Rio Doce .....	26
2.3.2 Rio Piranga .....	27
2.3.3 Rompimento das barragens em Mariana-MG .....	28
<b>2.4 Animais de estudo</b> .....	29
2.4.1 <i>Oreochromis niloticus</i> .....	29
2.4.2 <i>Geophagus brasiliensis</i> .....	30
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	30
3.1 Objetivo geral .....	30
3.2 Objetivos específicos .....	30
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	31

**ARTIGO: Toxicidade por metais pesados em testículo de *Oreochromis niloticus* (exótica) e *Geophagus brasiliensis* (nativa) da bacia do rio Doce, três anos após rompimento da barragem de rejeitos em Mariana – MG**

<b>RESUMO</b> .....	43
<b>ABSTRACT</b> .....	44
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	45
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	46
<b>2.1 Coletas dos Animais, Sedimento e Água</b> .....	46
<b>2.2 Quantificação de Metais Pesados</b> .....	47
2.2.1 <i>Água</i> .....	47
2.2.2 <i>Sedimento</i> .....	47
2.2.3 <i>Testículo</i> .....	47
<b>2.3 Eutanásia e Dissecção e Biometria dos Animais</b> .....	48
<b>2.4 Análises Histológicas</b> .....	48
2.4.1 <i>Viabilidade celular</i> .....	49
<b>2.5 Status oxidativo</b> .....	50
2.5.1 <i>Enzimas antioxidantes</i> .....	50
2.5.2 <i>Produtos da oxidação</i> .....	50
<b>2.6 Análises Estatísticas</b> .....	51
<b>3 RESULTADO</b> .....	51
<b>3.1 Metais Pesados e Análises da Água</b> .....	51
<b>3.2 Metais Pesados no Sedimento</b> .....	53
<b>3.3 Metais pesados no Testículo</b> .....	55
<b>3.4 Biometria Gonodal</b> .....	57
<b>3.5 Histologia do Testículo</b> .....	58
<b>3.6 Viabilidade Celular</b> .....	64
<b>3.7 Status Oxidativo</b> .....	67
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	68
<b>4.1 Metais Pesados e Análises da Água</b> .....	68
<b>4.2 Metais Pesados no Sedimento</b> .....	69
<b>4.3 Metais pesados no Testículo</b> .....	70
<b>4.4 Biometria Gonodal</b> .....	73
<b>4.5 Histologia do Testículo</b> .....	73
<b>4.6 Viabilidade Celular</b> .....	75
<b>4.7 Status Oxidativo</b> .....	76

<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	77
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	78
<b>ANEXO I – TABELAS</b> .....	85

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O ecossistema aquático é considerado o mais propenso à contaminação, que está constantemente associada a lançamentos de efluentes domésticos, industriais, agrícolas e de mineração, podendo ocorrer de forma intencional ou acidental pela atividade humana, ou a partir de fontes naturais (BERTOLETTI, 1990; MASON, 1996; QU, WANG, 2015). O rápido desenvolvimento industrial e agrícola, juntamente a insumos associados de fertilizantes e pesticidas, e o aumento das populações nas cidades levaram à contaminação dos ecossistemas de água doce através do excesso de águas residuais contendo metais pesados (KHOSRAVI et al., 2011). Os metais pesados também podem ser produtos de vários processos naturais, como erosão e intemperismo do leito rochoso, e também de ações humanas, como as atividades industriais, agrícolas, de mineração, fumaça de escapamento de veículos e vazão de água de esgotos, entrando assim no ecossistema aquático (ALI-BEIGI et al., 2017; DÍAZ-DE ALBA et al., 2011; ZHANG et al., 2009).

Entre os ecossistemas de água doce, os rios são considerados uma das fontes mais importantes de água para uma série de atividades humanas, dentre elas a agricultura e indústria, além do fornecimento para a população. Para assegurar a adequabilidade da água e a segurança no seu uso, é necessário conhecer os parâmetros de qualidade, como a concentração de metais pesados, pois a entrada de poluentes nos rios tem sido crescente, tendo como consequência a redução na qualidade da água (ALAHABADI, MALVANDI, 2018; KURDI et al., 2016; MIRZAEI, SOLGI, 2016;). A contaminação com metais pesados tem sido relatada em organismos aquáticos e como estes poluentes se acumulam na cadeia alimentar, são responsáveis pelos efeitos adversos e morte de muitos organismos (FARKAS et al., 2002; OLOJO et al., 2005).

Assim, os peixes têm sido utilizados na avaliação da saúde dos ecossistemas aquáticos e as alterações morfofisiológicas encontradas nestes servem como biomarcadores de poluição ambiental (KOCK et al., 1996). Nos peixes o acúmulo de metais pode torná-los mais vulneráveis à predação e menos resistentes para tolerar outros agentes estressores, como baixas concentrações de oxigênio dissolvido, além de provocar alterações morfofisiológicas em vários órgãos como os do sistema digestório, as gônadas, o encéfalo e as brânquias (JOBILING, 1995).

A extração mineral é considerada uma área importante no desenvolvimento do país, sendo fundamental para vários segmentos industriais (CARVALHO et al., 2012). Vários

municípios brasileiros têm sua economia baseada na exploração mineral, entretanto, a atividade gera excesso de resíduos que devem ser geridos de maneira adequada visando minimizar os impactos ambientais em decorrência dessa atividade. A utilização de barragens de rejeitos em atividades mineradoras é uma das formas de controle mais comuns e que, quando bem executadas, mostram bons resultados. Entretanto, quando mal dimensionadas ou executadas podem ser levadas à ruptura gerando danos ambientais que impactam fauna, flora e sociedade próximas ao local (DUARTE, 2008; MACHADO, 2007).

A ruptura de uma barragem de rejeitos ocorreu no distrito de Bento Rodrigues (Mariana-MG), em 5 de novembro de 2015. Nomeada barragem de Fundão, seu rompimento lançou no ambiente aproximadamente trinta e cinco milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos de mineração de ferro. Além de comprometer 663,2 km do rio Doce nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, o lançamento desses rejeitos exerceu impactos sobre o estuário e região costeira de influência. Os resíduos da barragem provocaram impactos sobre a vegetação natural, Áreas de Preservação Permanente, ictiofauna e a qualidade da água, além de evidentes danos socioeconômicos. A contaminação dessa área acometida pelo rompimento da barragem deu-se predominantemente pela incorporação de metais pesados (CARVALHO et al., 2017; DIAS et al., 2018; ESPINDOLA et al., 2017; IBAMA, 2015; LACAZ et al., 2017; PORTO, 2016).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a toxicidade por metal pesado em testículos das espécies de peixes, *Oreochomis niloticus*, espécie exótica e *Geophagus brasiliensis*, espécie nativa, do rio Doce e rio Piranga.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Metais pesados**

O metal é um elemento caracterizado por uma tendência em ceder elétrons e que tem condutividade térmica e elétrica elevada. São sólidos - com exceção do mercúrio - geralmente dúcteis, maleáveis e podem formar ligas. No grupo dos metais existe um grupo denominado “metais pesados” que são os elementos metálicos com densidade alta comparada a outros, igual ou acima de 5 g/cm<sup>3</sup>. Este grupo de metais ocorre em sistemas naturais em pequenas concentrações (SANTANA, 2008).

Alguns metais pesados são caracterizados como elementos traços, aqueles que, em condições naturais, são encontrados em concentrações muito baixas no organismo e podem

apresentar funções importantes, por isso também chamados de metais essenciais (OLIVEIRA, HORN, 2006). Todos os metais pesados, inclusive os essenciais, podem ser tóxicos quando absorvidos em quantidades excessivas. Assim, a concentração do metal pesado é um fator importante que define se ele vai beneficiar ou prejudicar a saúde do organismo, associado ao tempo de exposição. Os metais pesados tem a característica de se acumularem nos componentes do ambiente, onde manifestam sua toxicidade por não serem degradáveis (BAIRD, 2002; GOYER, 1996; MENDIL et al., 2005; NASREDDINE et al., 2010).

A adição desses elementos nos corpos hídricos tem ocorrido, principalmente, por meio das atividades industriais e de mineração, causando impactos significativos na saúde humana e na biota aquática. A poluição dos sistemas aquáticos por metais pesados é um fator que afeta a qualidade ambiental e constitui risco iminente de toxicidade ao homem (MUNIZ, FILHO, 2006; RIBEIRO et al., 2012). Os metais pesados afetam gravemente as funções celulares fundamentais por mecanismos complexos, nem sempre bem conhecidos, modificam estruturas celulares e enzimas e substituem metais cofatores de atividades enzimáticas. A toxicidade dos metais relaciona-se com pelo menos três categorias de influências: a interação com metais essenciais por afinidade eletrônica; o bloqueio de grupos funcionais essenciais à atuação de uma biomolécula e a inibição enzimática de proteínas com grupos SH, com modificações na conformação de seus sítios ativos e na sua estrutura quaternária (FERRER, 2003; VIRGA et al., 2007).

Metais pesados podem ser perigosos, pois se trata de poluentes estáveis (não são degradados ou quando degradados demandam longo período), o que acarreta sua permanente adição ao meio aquático (BURATINI; BRANDELLI, 2006). Os processos de acumulação nos organismos envolvem: a bioconcentração, que é o processo pelo qual uma substância química é absorvida do ambiente aquático pelo organismo por meio das suas superfícies, de modo que a concentração dessa substância no organismo é superior àquela encontrada no meio; a bioacumulação, que consiste no acúmulo de compostos químicos no organismo, tendo em vista que sua absorção é maior que a sua eliminação; e a biomagnificação, que ocorre ao longo da cadeia alimentar, com acúmulo progressivo de substâncias nos seres vivos, sendo maior nos níveis tróficos mais altos da cadeia. Esses três processos ocorrem em paralelo, principalmente no meio aquático (VOUTSAS et al., 2002). A absorção de substâncias contaminantes pode ocorrer de forma direta, pelo contato com água e sedimento, ou de forma indireta, por meio de alimentos contaminados. Já a eliminação do contaminante do organismo pode ocorrer por troca

respiratória, excreções fecal e urinária, biotransformação metabólica do contaminante e diluição resultante do crescimento (COSTA et al., 2008).

A bioacumulação de metais pesados em peixes pode ocorrer mesmo quando estes se encontram em baixas concentrações no ambiente, pelo maior contato das superfícies do animal com os contaminantes (MACHADO et al., 2002). Assim, nesse grupo de animais os metais podem levar comumente a distúrbios no crescimento e na reprodução (VITEK et al., 2007). Em humanos, estes contaminantes estão mais associados a efeitos carcinogênicos, doenças cardiovasculares e neurológicas, quando há exposição a longo prazo (CALDERON, 2000).

### *2.1.1 Ferro (Fe)*

O ferro é encontrado na natureza em forma de minério sendo altamente usado pelas indústrias na fabricação de fungicida, eletrodos, corantes e na produção de aço para fabricação de ferramentas e máquinas. É fundamental para a sobrevivência dos indivíduos devido a sua essencialidade para múltiplos processos metabólicos como transporte de oxigênio, síntese de DNA, transporte de elétrons e atividade de muitas enzimas atuando como cofator (BURY et al., 2003).

A maior concentração de ferro nos peixes foi encontrada no fígado, nas gônadas e brânquias (AUTHMAN et al., 2015). Nesta última, a sobrecarga de ferro gera uma deposição nociva, originando a formação de flocos de ferro, levando a sua obstrução e conseqüentemente, a perturbações respiratórias (BURY et al., 2003). Uma dieta rica em ferro afeta o crescimento dos peixes, tendendo a reduzir seu tamanho corporal. Compostos de ferro podem também precipitar na superfície de ovos de peixes causando a morte por falta de oxigênio (AUTHMAN et al., 2015). O ferro em acúmulo no organismo também pode gerar espécies de radicais livres, devido sua alta capacidade redox esse elemento reage com o peróxido de hidrogênio originando o radical hidroxila, altamente reativo e tóxico contra as células (FARINA et al., 2013).

### *2.1.2 Alumínio (Al)*

O alumínio é um metal que não é encontrado em estado puro na natureza, ocorre de forma combinada em rochas e minerais devido a sua elevada afinidade pelo oxigênio. Possui inúmeras aplicações, como a fabricação de painéis, janelas, peças de carro, equipamentos eletrônicos, latas de bebidas e mineração. Esse elemento ocupa a posição do metal mais abundante e é o terceiro elemento químico da crosta mais intensamente explorado (TEIEN et al., 2007).

A toxicidade do alumínio em pH ácido possui efeitos mais deletérios quando comparado ao pH básico durante exposições agudas. Estudos relatam que exposições ao alumínio no ambiente ácido afetam as brânquias e a osmorregulação. A toxicidade a esse metal também é dependente de temperatura, quando esta aumenta, há aumento da toxicidade (POLÉO, 1995). O mecanismo de toxicidade em peixes parece estar relacionado à interferência com o equilíbrio iônico e osmótico e com problemas respiratórios resultantes da elevação na barreira de difusão dos gases respiratórios devido à produção excessiva de muco, além de edema, fusão lamelar, degeneração e hiperplasia. Outras alterações fisiológicas observadas em diferentes espécies de peixes expostas ao alumínio foram distúrbios cardiovasculares, hematológicos, metabólicos, endócrinos e reprodutivos (TEIEN et al., 2007). Em peixes de águas com altas concentrações de alumínio foi observado um índice gonadosomático menor (PYLE et al., 2005), que pode ser reflexo da inibição do processo espermatogênico (YAMAGUCHI et al., 2007). Alguns estudos também mostram a diminuição na concentração espermática e da motilidade dos espermatozoides (YOUSEF, SALAMA, 2009).

### 2.1.3 Manganês (Mn)

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

Este metal é ativador de diversas enzimas necessárias para a síntese da hemoglobina, para o crescimento, reprodução, formação óssea, produção e secreção de insulina, e para a prevenção de dano celular (CSUROS, CSUROS, 2002). Entretanto, elevadas concentrações podem alterar negativamente o organismo, ocasionando modificações na regulação iônica e osmorregulação, além de alterações metabólicas nos peixes (ALMEIDA et al., 2002). A toxicidade do manganês pode sofrer influência de parâmetros da água, como pH e temperatura, e variar de intensidade de acordo com a espécie e estágio de vida (VIEIRA et al., 2012). Animais expostos a altas concentrações de Mn apresentam mudanças na atividade normal do sistema endócrino, principalmente alterações na produção e secreção de hormônios sexuais.

Também foi observada diminuição na proporção de túbulos seminíferos e aumento na proporção de intertúbulo (CEOLIN, 2010).

#### 2.1.4 Zinco (Zn)

O zinco é um dos elementos mais comuns na terra e pode ser encontrado no ar, no solo, na água e também naturalmente nos alimentos (AZEVEDO, CHASIN, 2003). É utilizado na metalurgia (fundição e refinação), na produção de óxido de zinco na fabricação de borrachas, herbicidas, inseticidas, baterias, tintas, cerâmicas, cosméticos e fertilizantes (MAHAN, 1995). Assim, um excesso de zinco entra no ambiente como resultado de atividades antropogênicas, como a mineração, purificação do zinco, cádmio e chumbo, produção de aço e queima de carvão e lixo. Outro fator importante, o lixo de indústrias químicas que utilizam o zinco, os esgotos domésticos e as correntes de água pluvial pode transportar este metal e contaminar o ambiente aquático (AZEVEDO, CHASIN, 2003).

O zinco é um elemento traço essencial para os seres humanos, animais, plantas e micro-organismos (DUTRA et al., 2004) e tem funções importantes participando de reações que envolvem a síntese ou a degradação de metabólitos maiores, como carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, assim como nos processos de transporte, em 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 imunidade celular (MAHAN, ESCOTT-STUMP, 1998). Esse metal também participa da estrutura da proteína metalotioneína, que tem propriedades antioxidantes inibindo a propagação de radicais livres, e é componente estrutural da superóxido-dismutase presente no citoplasma de todas as células (FERNANDES, MAFRA, 2005).

No ambiente aquático a toxicidade do zinco é modificada por fatores ambientais como dureza da água, oxigênio dissolvido e temperatura (MOORE, RAMAMOORTHY, 1984), sendo o zinco capaz de formar complexos com vários ligantes orgânicos e inorgânicos (MECANISMOS DE TRANSPORTE, 2003). A toxicidade deste metal provoca alterações no organismo de peixes, como, fusão das lamelas provocando deleções no funcionamento das brânquias e conseqüentemente dificultando a respiração do animal. No fígado, o acúmulo de zinco pode provocar vacuolização, necrose e degeneração celular. O excesso desse elemento também pode causar retardo no crescimento e baixa imunidade (MORAIS, 2009). Nas gônadas o zinco pode levar à morte celular com presença de núcleo picnótico, aglomerado celular, vacuolização celular, descolamento da parede dos cistos, ruptura de cistos e retardo no

desenvolvimento dos cistos, levando à redução na produção de espermatozoides e comprometendo as funções reprodutivas e a taxa de fecundidade (SANTOS, 2009).

#### 2.1.5 Chumbo (*Pb*)

O chumbo ocorre na crosta terrestre 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 e munição, como antidetonante na gasolina, na preservação de madeira, em tintas, secantes para tintas, brinquedos, canos e óleos lubrificantes, na indústria petrolífera, na mineração e fundição (MAHAN, 1995).

É depositado nos rios, lagos e oceanos a partir dos lançamentos atmosféricos e escoamento superficial do solo alcançando as superfícies das águas e se depositando nos sólidos suspensos por adsorção e nos sedimentos (PAOLIELLO, CHASIN, 2001). Nos sistemas aquáticos, o comportamento de compostos de chumbo é determinado principalmente pela sua hidrossolubilidade. Este metal mesmo em baixas concentrações pode interferir em diversas partes do metabolismo e causar intoxicações que, quando crônicas, são denominadas de saturnismo ou plumbismo (NUNES et al., 2004).

Em peixes, estudos demonstram que em peixes o chumbo acumula principalmente nas brânquias devido ao seu contato direto com o ambiente, acarretando desequilíbrio da sua homeostase funcional. O acúmulo também foi registrado em outros órgãos como fígado, rins, baço e trato digestivo (AUTHMAN et al., 2015).

A toxicidade do chumbo leva a alterações nos parâmetros sanguíneos com danos graves aos eritrócitos e leucócitos, danos no sistema nervoso, distúrbios na osmorregulação e na permeabilidade iônica das membranas, estresse oxidativo, efeitos negativos na reprodução - prejudicando o desenvolvimento embrionário e larval de peixes – redução no índice gonadossomático, levando à inibição de processos espermatogênicos, alterações histológicas dos testículos, diminuição quantitativa e qualitativa dos espermatozoides, diminuição da concentração de hormônios essenciais para a espermatogênese, alterações celulares, redução da capacidade de locomoção e enfraquecimento do sistema imunológico (ASSI et al., 2016; AUTHMAN et al., 2015; CARLSEN et al., 1992; ELGAWISH, ABDELRAZEK, 2014; PYLE et al., 2005; YAMAGUCHI et al., 2007;).

### 2.1.6 Níquel (Ni)

O níquel é um metal de transição, apresenta cor branca prateada e corresponde a apenas 0,01% da massa da crosta terrestre, o que o torna um elemento relativamente raro (CANTO, 1996). O emprego deste metal é muito variado e está presente em cerca de 300 mil produtos para consumo tais como: materiais militares, moedas, aeronaves, construção civil, fabricação de aço inoxidável, liga com cobre e alumínio, ligas eletroeletrônicas e superligas (FRANCISCO et al., 2006).

O metal está envolvido em processos metabólicos que regulam a produção de energia e o bom funcionamento do corpo humano. Em doses elevadas pode causar dermatites e afetar nervos cardíacos e respiratórios. O níquel também faz parte de fatores relevantes para o desenvolvimento de câncer. Geralmente não é bem absorvido pelo trato gastrointestinal, sendo que menos de 5% dos sais mais solúveis são absorvidos oralmente em animais e humanos (CUNHA, 2008; MARQUEZ, 2001; MASSABNI, 2019).

A toxicidade do níquel nos organismos aquáticos varia de acordo com a espécie e os fatores abióticos como pH, temperatura, salinidade do meio e a presença de matéria orgânica e inorgânica. Esse elemento pode levar à degeneração do epitélio germinativo, apoptose, redução da testosterona sérica e da fertilidade, e pode afetar o desenvolvimento embrionário e a subsequente sobrevivência da prole (AU et al., 2001; KROCKOVÁ et al., 2011; MASSANYI et al., 2007).

### 2.1.7 Cádmio (Cd)

O cádmio é um metal relativamente raro, utilizado na fabricação de pilhas, baterias, células voltaicas, lubrificantes, praguicidas e como pigmento de tintas. É um metal não essencial e tóxico mesmo em baixos níveis, devido à sua capacidade de formar complexos com substâncias orgânicas. Pode atingir o ambiente aquático por meio do subproduto de refinamento de zinco, da combustão de carvão, do descarte de minas e da produção de aço e fertilizantes. Os efeitos desses poluentes podem ser letais ou subletais para todos os componentes da biota (SILVA et al., 2005).

A toxicidade pode ser resultado da habilidade em formar complexos com a glutatona causando estresse oxidativo, da competição com o zinco por sítios de ligações proteicas, de quebras nas fitas de DNA ou da inibição da via associada ao reparo de erros no empareamento de bases do DNA (LAUER JÚNIOR, 2007).

Verificou-se que em peixes o rim é o órgão que mais acumula esse metal, seguido do fígado, que apresentou hialinização, vacuolização de hepatócitos, inchaço celular e congestão de vasos sanguíneos. Também foram constatadas alterações no formato e na morfologia dos olhos e do cordão espinhal, inibição da absorção de cálcio pelas brânquias, distúrbios nos constituintes do sangue e no hemograma diferencial causando a destruição de eritrócitos, e alterações no metabolismo dos carboidratos causando hiperglicemia. O cádmio é também considerado um disruptor endócrino e interfere na reprodução, podendo prejudicar o funcionamento normal do sistema reprodutor, gerando menor capacidade reprodutiva, além de ter efeito negativo na taxa de crescimento e na qualidade da carne de peixes (CHENG et al.; 2000; TRAVIÑO et al., 2017).

#### *2.1.8 Cobre (Cu)*

É obtido a partir de minérios, sendo os mais comuns os minérios sulfurados. Apresenta os estados de oxidação +1, +2 e +3 e elevadas condutividades elétrica e térmica. É utilizado frequentemente em ligas metálicas e os sais de sulfato e os óxidos são usados como pesticida. O sulfato de cobre tem amplo uso no controle de algas nos reservatórios de água e também é incorporado a tintas e preservativos de madeiras (MANUAL MERCK, 2019).

O principal papel desempenhado pelo cobre é como co-fator em enzimas envolvidas na produção de energia celular (citocromo-C oxidase), na desintoxicação de radicais livres (cobre-zinco superóxido dismutase ou SOD), na produção do tecido conjuntivo (lisil oxidase), na mobilização de ferro (ceruloplasmina) e na neurotransmissão (dopamina  $\beta$ -hidroxilase). O fígado é o principal órgão de distribuição, que faz o sequestro do cobre e o distribui por meio do sangue para os outros tecidos (PEDROZO, LIMA, 2001; SUTTLE, 2010).

A toxicidade do cobre é causada por um desequilíbrio entre o fluxo de cobre no corpo e sua excreção, levando ao acúmulo de cobre no fígado com consequente dano celular. A toxicidade pode ser devido ao aumento da oferta dietética de cobre, aumento da disponibilidade de cobre ingerido, ou pela diminuição da excreção biliar de cobre. A biodisponibilidade e toxicidade do cobre sofrem influência das características físico-químicas da água, bem como a concentração de matéria orgânica dissolvida e particulada. Em peixes o cobre geralmente é encontrado associado a proteínas e na forma iônica apresenta toxicidade para os espermatozoides (LASSEN, 2016; ROSA, MATTIOLI, 2002).

### 2.1.9 Cromo (Cr)

O cromo é um metal de transição abundante na crosta terrestre, não sendo encontrado livre na natureza, mas sim combinado a outros elementos, principalmente ao oxigênio. O cromo é obtido principalmente da mineração de cromita e seus principais usos são em produtos químicos (conservantes para madeiras e fertilizantes), na indústria metalúrgica e indústria de refratários (BARRETO, 1994).

O cromo acumula principalmente em órgãos como brânquia, rim e fígado e afeta várias atividades metabólicas/ fisiológicas prejudicando especialmente o crescimento e o comportamento dos peixes. Dentre os efeitos crônicos da exposição ao cromo nos peixes estão o decréscimo no crescimento, alteração nas taxas de reprodução e sobrevivência (BARRETO, 1994), alterações hematológicas, aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), função imunológica prejudicada e alterações histológicas no fígado, brânquias, ovários, testículos e rins (AUTHMAN et al., 2015). No sistema reprodutor masculino esse metal atua induzindo apoptose nas células germinativas e estresse oxidativo (MAROUANI et al., 2017), além da diminuição da motilidade e da viabilidade espermática (LI et al., 2001).

### 2.1.10 Mercúrio (Hg)

A progressiva utilização do mercúrio para fins industriais e o emprego de compostos mercuriais durante décadas na agricultura resultaram no aumento significativo da contaminação ambiental, especialmente da água e dos alimentos. Uma das razões que contribuem para o agravamento dessa contaminação é a característica singular do ciclo do mercúrio no meio ambiente. A biotransformação por bactérias do mercúrio inorgânico a metilmercúrio é o processo responsável pelos elevados níveis do metal no ambiente (SALGADO, 1996).

O mercúrio é um líquido inodoro e de coloração prateada. Nos processos de extração, o mercúrio é liberado no ambiente principalmente a partir do sulfeto de mercúrio. O mercúrio e seus compostos são encontrados em equipamentos elétricos e eletrônicos (baterias, retificadores, relés e interruptores), aparelhos de controle (termômetros, barômetros, esfingnomanômetros), tintas (pigmentos), amálgamas dentárias, fungicidas, lâmpadas de mercúrio, detonadores, óleos lubrificantes e catalisadores, e são usados na produção de cloro e soda cáustica (eletrolise), na preservação de madeira, papel e plásticos, em laboratórios químicos, em preparações farmacêuticas e na extração de ouro (SALGADO, 1996).

O mercúrio inorgânico é tóxico para peixes, mesmo em concentrações baixas, e a toxicidade é afetada pela temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e dureza da água. Grande variedade de anomalias fisiológicas e bioquímicas foi relatada após a exposição dos peixes a concentrações subletais do mercúrio. A reprodução também foi afetada adversamente pelo metal. Esse elemento pode causar desregulação endócrina e assim diminuir o índice gonadossomático dos peixes, com a inibição dos processos espermatogênicos (DREVNICK, SANDHEINRICH, 2003; THE INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1989;).

### *2.1.11 Cobalto (Co)*

O cobalto é um metal de cor branco-acinzentado que apresenta propriedades magnéticas similares ao ferro e ao níquel (BARCELOUX, 1999). É um elemento relativamente raro tendo uma ocorrência de 0,001 - 0,002% na crosta terrestre, onde é encontrado na forma de minérios como a cobaltita, linacita, esmaltita e eritrita (MERCK INDEX, 1996). O cobalto e seus compostos são muito utilizados na produção de ligas metálicas, pigmentos na indústria de vidro e cerâmica, agente secante de tintas e vernizes, e também na cobaltoterapia para substituir o rádio no tratamento de alguns tipos de câncer e no tratamento da intoxicação por cianeto (COMMISSION OF EUROPEAN COMMUNITIES INDUSTRIAL HEALTH AND SAFETY, 1987; GOYER, 1996; SCANSETTI ET AL., 1998; WEHNER et al., 1977).

O cobalto é considerado micronutriente essencial presente na vitamina B12, entretanto, tanto a deficiência como o excesso podem levar à doença ou à morte (MERTZ et al., 1994; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989). Quando este elemento se encontra em deficiência pode levar o indivíduo a um quadro de anemia perniciosa. Já em excesso, especialmente na sua forma livre, não associado à vitamina B12, o cobalto pode ser tóxico (TSALEV, ZAPRIANOV, 1983). Experimentos com animais de laboratório evidenciaram o surgimento de tumores no local onde o cobalto foi aplicado (LEONARD, LAUWERYS, 1990). Steinhoff e Mohr (1991) também verificaram o aparecimento de tumor pulmonar em ratos expostos a cobalto. O excesso de cobalto no organismo pode ter implicações associadas à substituição do Zn pelo Co em enzimas Zn-dependente, provocando deficiência de zinco; inativação de enzimas oxido-redutivas; danos às ilhotas de pancreáticas no pâncreas, provocando hiperglicemia; nos rins, danos às células do epitélio dos túbulos proximais; prejuízo

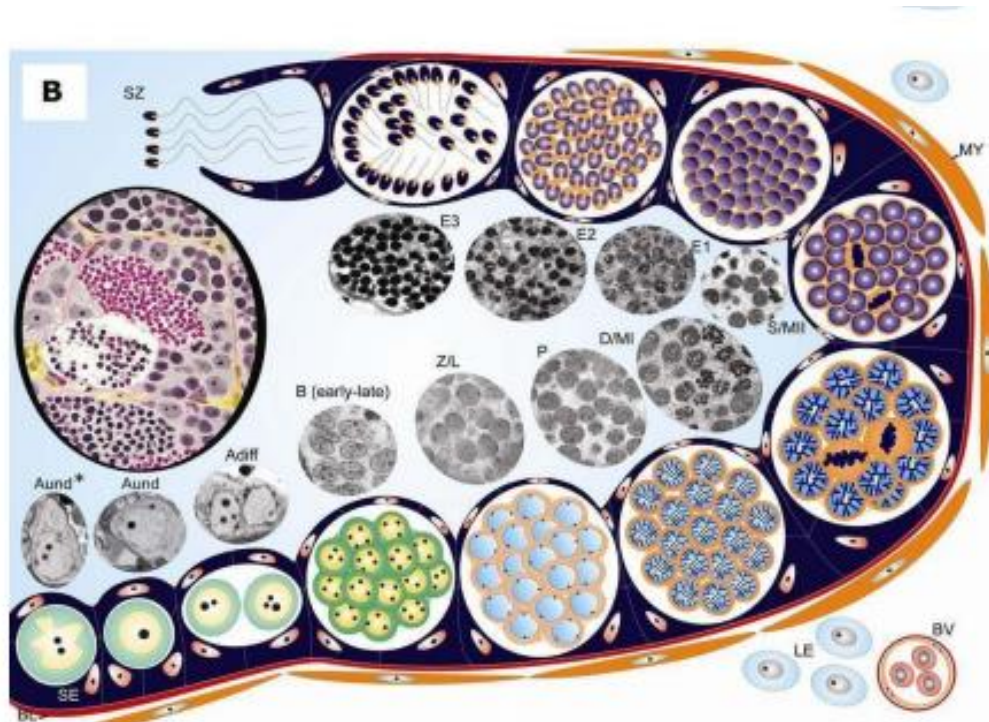
da função hepática com infiltração gordurosa e alterações enzimáticas nos hepatócitos (MARSHALL, BANGERT, 1995; TSALEV, ZAPRIANOV, 1983).

## **2.2 Testículo de teleósteos**

Os testículos dos peixes estão localizados na cavidade celomática, na sua maioria são órgãos pares, assimétricos, podendo estar parcial ou totalmente fundidos entre si, são frequentemente alongados, entretanto, existem outras formas como lobulados e foliáceos (LEGAC, LOIR, 1999). A variação de coloração é discreta, quando comparada aos ovários, uma vez que eles são geralmente transparentes na fase não reprodutiva e branco leitoso na fase reprodutiva (BAZZOLI, 2003). Os testículos são classificados em lobular e tubular anastomosado. Nos testículos do tipo lobular o epitélio germinativo localiza-se apenas na periferia do órgão e nos testículos do tipo tubular anastomosado os compartimentos germinativos estão em túbulos interconectados em toda extensão do testículo (GRIER, 1993). Com relação à distribuição de espermatogônias no testículo de peixes, Grier (1993) descreveu que, nestes animais, existem duas categorias de testículos: o espermatogonial restrito e o espermatogonial irrestrito. O testículo espermatogonial restrito possui as espermatogônias limitadas à porção distal dos lóbulos. Por outro lado, nos testículos do tipo espermatogonial irrestrito, as espermatogônias não possuem localização definida, podendo ser encontradas ao longo de todo o comprimento dos lóbulos ou túbulos.

A estrutura testicular dos teleósteos, varia de acordo com a espécie. Entretanto algumas estruturas são básicas (Figura 1), como a existência de cistos no interior dos lóbulos/túbulos, onde as células espermatogênicas se encontram em um estado semelhante de maturação (BILLARD et al., 1982, SCHULZ et al., 2010). Os testículos têm as funções espermatogênica e androgênica, possuindo dois compartimentos principais: intersticial e tubular ou germinal (Figura 1). No compartimento intersticial estão situados vasos sanguíneos, fibras nervosas, células e fibras do conjuntivo, além das células de Leydig que possuem função esteroidogênica. A produção de andrógenos é importante para diferenciação sexual e para regulação da espermatogênese (WELTZIEN et al., 2004). O compartimento tubular contém células somáticas (células de Sertoli) e as células germinativas que irão formar os espermatozoides, após passarem pela espermatogênese (BILLARD, 1990).

Figura 1 - Esquema da organização básica do testículo e o processo espermatogênico de teleósteos.



Esquema da organização básica do testículo e o processo espermatogênico de teleósteos. Células de Sertoli (SE); lâmina basal (BL); células peritubulares mióides (MY); células de Leydig (LE); espermatogônia do tipo A indiferenciada\* (Aund\*); espermatogônia do tipo A indiferenciada (Aund); espermatogônia do tipo A diferenciada (Adiff); espermatogônia do tipo B (B early-late); espermatócitos primários em leptóteno/zigóteno (L/Z), paquíteno (P), diplóteno/metáfase I (D/MI); espermatócitos secundários/metáfase II (S/MII); espermátides iniciais (E1); intermediárias (E2); finais (E3); espermatozoides (SZ); e vasos sanguíneos (BV). Fonte: Nóbrega, 2014.

As células de Sertoli estão unidas entre si por complexos juncionais especializados. Nos teleósteos elas delimitam física e funcionalmente um clone de células germinativas no mesmo estágio de desenvolvimento, com origem a partir de uma única espermatogônia primária (tipo A), formando assim os espermatocistos ou cistos espermatogênicos. Desta forma, as células de Sertoli fornecem às células germinativas suporte físico e fatores importantes para sobrevivência, proliferação e diferenciação, estando ainda envolvidas na intermediação hormonal e na fagocitose de restos celulares originados da espermiogênese (WELTZIEN et al., 2004). As células de Sertoli que delimitam os cistos espermatogênicos se apoiam na túnica própria, que é constituída pela membrana basal (camada acelular) e pelas células tubulares mióides, que possuem capacidade contrátil (LE GAC, LOIR, 1999; PUDNEY, 1995).

Espermatogênese em peixes teleósteos é um longo e complexo processo que ocorre no epitélio germinativo (epitélio dos túbulos seminíferos) a partir das espermatogônias, que se proliferam por mitoses e originam espermatócitos por meioses (GRIER, 1993). As espermatogônias A, envoltas pelos processos citoplasmáticos das células de Sertoli, têm uma distribuição descontínua no epitélio germinativo. É a auto-renovação (por mitose) dessas gônias indiferenciadas que garante a produção contínua dos gametas em peixes teleósteos (QUAGIO-GRASSIOTTO et al., 2011; SCHULZ et al., 2010;). As espermatogônias resultantes das divisões mitóticas são progressivamente envoltas pelas células de Sertoli formando os cistos (SCHULZ et al., 2010). Nos cistos, a última geração de espermatogônias B sofre diferenciação em espermatócito primário, iniciando a fase espermatocitária. Os espermatócitos primários são as células que sofrem meiose I e os espermatócitos secundários passam pelo processo de meiose II, dando origem a células denominadas espermatídes. As espermatídes sofrem uma série de transformações que levam à diferenciação das espermatídes em espermatozoides (espermio gênese). Algumas dessas diferenciações são: condensação nuclear, eliminação de organelas e citoplasma, formação do flagelo e rearranjo das organelas celulares ao longo do citoplasma espermatozoidal. Quando o processo de espermio gênese chega ao fim, os cistos se rompem e liberam os espermatozoides no lúmen (BATLOUNI et al., 2005; GRIER, URIBE-ARANZÁBAL, 2009; SCHULZ et al., 2010; QUAGIO-GRASSIOTTO et al., 2011).

A espermatogênese pode ser classificada em cística quando ela ocorre nos cistos que se rompem para liberar espermatozoides no lume dos túbulos seminíferos, o que acontece na maioria dos peixes teleósteos ou semi-cística quando os cistos se rompem na fase de espermatíde e a maturação se completa no lúmen dos túbulos. Independentemente da espermatogênese, cística ou semi-cística, todo o desenvolvimento dos gametas acontece segregado do compartimento intersticial dos testículos pela membrana basal ao redor dos túbulos (GRIER, URIBE-ARANZÁBAL, 2009; MAGALHÃES et al., 2011; MATTEI et al., 1993; SCHULZ et al., 2010;).

## **2.3 Área de estudo**

### *2.3.1 Rio Doce*

As nascentes do Rio Doce estão em Minas Gerais, nas serras da Mantiqueira e do Espinhaço, sendo que suas águas percorrem cerca de 850 km até atingir o oceano Atlântico, junto ao povoado de Regência, Espírito Santo. Ele se origina na confluência dos rios Piranga e do Carmo, entre os municípios de Ponte Nova, Rio Doce e Santa Cruz do Escalvado, no Estado

de Minas Gerais. Seus principais rios são: pela margem esquerda, rio do Carmo, Piracicaba, Santo Antônio, Corrente Grande, Suaçuí Grande, São José e Pancas; pela margem direita, rio Casca, Matipó, Caratinga/Cuieté, Manhuaçu, Guandu, Santa Joana e Santa Maria do rio Doce (ANA, 2015).

A coleta no Rio Doce (área afetada pelo rompimento da barragem) realizou-se em Santa Cruz do Escalvado. A cidade é caracterizada por relevo ondulado e bastante acidentado, com solo do tipo argissolos e o clima é tropical de altitude com verões frescos e chuvosos. Essa região está no domínio da Mata Atlântica, formado por florestas ombrófilas (densa, aberta e mista), florestas estacionais semidecíduais e decíduais (BORTONE, 2008; IBGE, 2010; VALVERDE, 1967).

A agropecuária é forte na região, sendo amplamente cultivado milho, feijão, arroz, café, mandioca, cana-de-açúcar e fruticultura em geral, além da criação de suínos e de gado, com presença marcante na economia do município. Outra atividade que se destaca na região é o extrativismo mineral, principalmente a extração do ouro, da areia e da pedra (BORTONE, 2008).

### *2.3.2 Rio Piranga*

O Rio Piranga nasce no município de Ressaquinha, desenvolve-se por cerca de 470 km e, quando se encontra com o Ribeirão do Carmo, formam o rio Doce. Seus principais afluentes são os rios São Bernardo, Xopotó, Turvo Limpo e Oratórios. A bacia do Rio Piranga é composta por 64 municípios, com uma população total de 711.026 habitantes, cerca de 4% da população mineira, e a área ocupada é de 17.562,49 km<sup>2</sup> (IBGE, 2010; IGAM, 2010).

A coleta no Rio Piranga (área não afetada pelo rompimento da barragem) realizou-se na zona rural de Ponte Nova – MG. O local em questão possui relevo fortemente ondulado e montanhoso, com morros em meia-laranja, resultantes da dissecação fluvial. Com solo do tipo argissolos, sendo seu principal uso a pastagem com capim-colonião e milho. O clima é caracterizado como tropical de altitude com verões frescos e chuvosos. Essa região está no domínio da Mata Atlântica, cuja fitofisionomia constitui o grande conjunto florestal extra-amazônico, formado por florestas ombrófilas (densa, aberta e mista), florestas estacionais semidecíduais e decíduais (VALVERDE, 1967; NUNES, 1995; IBGE, 2010; IGAM, 2010).

Dentre as atividades econômicas que se estabelecem na zona rural do município da bacia, se destacam: a agropecuária, por meio do reflorestamento, do cultivo de café, da

suinocultura e criação de gado leiteiro e de corte; e a agroindústria de açúcar e álcool. Essas atividades levam à poluição do rio devido ao lançamento de resíduos líquidos e sólidos industriais, domésticos e agropecuários sem qualquer tratamento; este último contendo principalmente agrotóxicos e dejetos oriundos de suinoculturas (TOSTES, 2007).

### *2.3.3 Rompimento das barragens em Mariana-MG*

As barragens de Fundão e Santarém eram localizadas num complexo chamado “Alegria” no distrito de Bento Rodrigues, município de Mariana/MG, e foram especificamente construídas para servir de depósito dos resíduos gerados durante o processo de mineração de ferro (LOPES, 2016). No dia 5 de novembro de 2015, o dique de Fundão entrou em colapso e rompeu-se causando um desastre ambiental sem precedentes na história do Brasil. Com a ruptura, cerca de 34 milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos de minério, o equivalente a quatorze mil piscinas olímpicas, foram diretamente lançados no meio ambiente, atingindo a barragem de Santarém, causando-lhe sérios danos e mais 16 milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos foram despejados seguindo o sentido da correnteza das águas em direção à foz do Rio Doce no oceano espírito-santense (BRASIL, 2015). Com o rompimento, Bento Rodrigues foi destruída causando sérios transtornos a outros sete distritos de Mariana/MG, além de contaminar importantes rios como o Gualaxo do Norte, do Carmo e o Doce (LOPES, 2016) (Figura 2).

Uma das consequências referentes ao rompimento das barragens foi a contaminação do solo e das águas de uma extensa área da bacia do Rio Doce. A contaminação deu-se predominantemente pela incorporação de metais pesados que são, de modo geral, nocivos aos seres vivos e ecossistemas, desequilibrando a homeostase do ambiente do Rio Doce (CARVALHO et al, 2017).

Os efeitos sobre a biodiversidade aquática podem variar conforme o nível trófico e a fisiologia dos organismos. Em relação aos organismos aquáticos produtores, fitoplâncton, perifíton e macrófitas aquáticas submersas, o aumento da turbidez impede a entrada de luz solar na água, o que inviabiliza a fotossíntese. As consequências à comunidade aquática dependem da permanência dos sedimentos no ambiente, da resiliência dos produtores primários afetados e da sua importância na cadeia trófica aquática. Em relação aos organismos aquáticos consumidores, a quantidade de sólidos em suspensão no corpo d'água provoca o colapso das brânquias, levando-os à morte por asfixia. Ainda, a presença de contaminantes como os metais pesados tem provocado toxicidade nos organismos aquáticos, e de forma cumulativa ao longo da cadeia trófica. Dessa forma, evidencia-se que a mortalidade instantânea foi apenas

um dos impactos aos organismos aquáticos causados pelo desastre. Muito mais do que os organismos, os processos ecológicos responsáveis por produzir e sustentar a riqueza e diversidade do rio Doce foram afetados (BRASIL, 2015).

Figura 2 - Curso seguido pela lama de rejeitos provenientes do rompimento das barragens (Fundão e Santarém) da Mineradora Samarco em Mariana - MG.



Fonte: Estado de Minas/EM/D.A Press.

## 2.4 Animais de estudo

### 2.4.1 *Oreochromis niloticus*

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é proveniente do continente africano e foi introduzida no nordeste brasileiro em 1971 e a partir daí distribuída pelo país (HAYASHI, 1995). Pertencente à família Cichlidae habita ambientes lênticos e é uma das espécies mais criadas e presentes no Brasil, devido ao seu grande potencial na aquicultura, por apresentar desenvolvimento e crescimento rápidos, reversão sexual, resistência a elevadas temperaturas e a baixa concentração de oxigênio dissolvido na água, e adaptação ao confinamento. É uma espécie onívora, com hábitos alimentares de fundo (HAYASHI, 1995), podendo viver mais de 10 anos e atingir um peso superior a 5 kg. Possui cuidado parental, onde a fêmea incuba os ovos na boca sendo o número de ovos proporcional ao peso corporal da fêmea (POPMA, PHELPS, 1998).

#### 2.4.2 *Geophagus brasiliensis*

O cará (*Geophagus brasiliensis*) é uma espécie nativa do Brasil, também pertencente à família Cichlidae, é um habitante natural de ambientes lênticos como lagoas de planície de inundação, lagoas costeiras, riachos e lagos. Apresenta atividade diurna, orientação visual, onívoro com hábitos alimentares de fundo, e tem sido utilizada como bioindicador ambiental, devido a sua capacidade de responder a elementos tóxicos (BENINCÁ, 2006; SABINO, CASTRO, 1990;). Apresenta dimorfismo sexual, sendo que os machos possuem uma protuberância na cabeça durante a época reprodutiva, são maiores que as fêmeas e possuem cuidado parental, com o recolhimento da prole na cavidade bucal (SABINO, CASTRO, 1990).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 *Objetivo Geral*

O objetivo do estudo foi avaliar e comparar a toxicidade por metais pesados no testículo de duas espécies de peixes, *Oreochromis niloticus* (espécie exótica) e *Geophagus brasiliensis* (espécie nativa), de duas áreas, o rio Doce, afetado pelo rompimento da barragem de rejeitos de Mariana-MG, e o rio Piranga, área não afetada pelo rompimento da barragem.

#### 3.2 *Objetivos específicos*

- Quantificar metais pesados na água e no sedimento do rio Piranga e rio Doce.
- Quantificar metais pesados nos testículos de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus brasiliensis* do rio Piranga e rio Doce;
- Avaliar parâmetros morfométricos e histopatológicos dos testículos de *Oreochromis niloticus* e *Geophagus brasiliensis* do rio Piranga e rio Doce;
- Verificar o status oxidativo nos testículos dessas espécies do rio Piranga e rio Doce.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAHABADI, A.; MALVANDI, H. Contamination and ecological risk assessment of heavy metals and metalloids in surface sediments of the Tajan River, Iran. *Marine Pollution Bulletin*, v.133, p.741-749, 2018.

ALI-BEIGI, H.; MIRZAEI, R.; MAHMOODI, R.Z.A. Investigation of heavy metals concentration in surface sediments of Choghakhor wetland. *Journal of Environmental Studies*, v.43, n. 1, p.149–161, 2017.

ALMEIDA, J. A.; DINIZ, Y. S.; MARQUES, S. F. G.; FAINE, L. A.; RIBAS, B.O.; NURNEIKO, R. C.; NOVELLI, E. L. B. The use of oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environment International*, v.27, n. 8, p.673-679, 2002.

ANA - AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Relatório Técnico. Encarte Especial sobre a Bacia do Rio Doce, Rompimento da barragem de Mariana/MG. PRÓTON DOC N°139/20, 2015. 49p.

ASSI, M. A.; HEZMEE, M. N. M.; HARON, A. W.; SABRI, M. Y. M.; RAJION, M. A. The detrimental effects of lead on human and animal health. *Veterinary World*, v.9, n. 6, p.660-671, 2016.

AU, D. W. T.; LEE, C. Y.; CHAN, K. L.; WU, R. S. S. Reproductive impairment of sea urchins upon chronic exposure to cadmium. Part I: effects on gamete quantity. *Environmental Pollution*, v.111, n. 1, p.1-9, 2001.

AUTHMAN, M.; ZAKI, M.; KHALLAF, E.; ABBAS, H. Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *Journal of Aquaculture Research and Development*, v. 6, n. 4, p. 1-13, 2015.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: gerenciamento da toxicidade. São Paulo: Atheneu, 353p, 2003.

BAIRD, C.; CANN, M. Química Ambiental. Porto Alegre: Bookman, 2º ed, 844p, 2002.

BARCELOUX, D. G. Cobalt. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, v. 37, n. 2, p. 201-216, 1999.

BARRETO, A. S. Assimilação de cromo trivalente nas biomassas nanoplanctônicas e microplanctônicas e sua quantificação no sedimento e sobrenadante: experimento em microcosmos. 1994. 171p. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 1994.

BATLOUNI, S.R.; CARREÑO, F.R.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M.I. Cell junctions in the germinal epithelium may play an important role in spermatogenesis of the catfish *P. fasciatus* (Pisces, Siluriformes). *Journal of Molecular Histology*, v. 36, n. 2, p. 97-110, 2005

BAZZOLI, N. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora. In: Águas, peixes e pescadores do São Francisco de Minas Gerais. GODINHO H.P.; GODINHO, A. L (Org.). Belo Horizonte: PUC Minas, p.291-306. 2003.

- BENINCÁ, C. Biomonitoramento das lagoas estuarinas do Camacho - Jaguaruna (SC) e Santa Marta Laguna (SC), utilizando *Geophagus brasiliensis* (CICHLIDAE). 2006. 112p. Dissertação de Mestrado em Genética. Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2006.
- BERTOLETTI, E. Toxicidade e Concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. *Revista Ciência e Cultura*, v.43, n.4, p.271-277, 1990.
- BILLARD, R. Spermatogenesis in teleost fish. In: *Reproduction in males, Marshall's physiology of reproduction*. LAMMING, G.E. (ed). Edinburgh: Churchill Livingstone. v.2, p.183-212, 1990.
- BILLARD, R.; FOSTIER, A.; WEIL, C.; BRETON, B. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 39, n. 1, p.65-79, 1982
- BORTONE, F. A. S. Da antiga à nova soberbo: contradições da modernidade no processo de deslocamento/reassentamento das famílias atingidas pela UHE candonga. 2008. 135p. Dissertação de Mestrado. Economia Doméstica. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.
- BRASIL. Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais. In: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Minas Gerais, 2015. Disponível em: [http://www.ibama.gov.br/phocadownload/noticias\\_ambientais/laudo\\_tecnico\\_preliminar.pdf](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/noticias_ambientais/laudo_tecnico_preliminar.pdf). Acesso em: 06 de abril de 2020.
- BURATINI, V. B.; BRANDELLI, A. Bioacumulação. In: *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds). São Carlos: Rima, 478p. 2006.
- BURY, N.R.; WALKER, P.A.; GLOVER, C.N. Nutritive metal uptake by teleost fish. *The Journal Of Experimental Biology*, v.206, p.11-23, 2003.
- CALDERON, R. L. The epidemiology of chemical contaminants of drinking water. *Food and Chemical Toxicology*, v.38, n. 1, p.13-20, 2000.
- CANTO, E. L. Minerais, minérios, metais: de onde vêm? Para onde vão? São Paulo: Moderna, 144p. 1996.
- CARLSEN, E.; GIWERCMAN, A.; KEIDING, N.; SKAKKEBAEK, N. E. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *British Medical Journal*, v.305, p.609–613, 1992.
- CARVALHO, C.G.; SILVA, J. M.; CURI, A.; FLORES, J.C.C. A dependência da arrecadação do município de Ouro Preto do setor mineral. *Revista Escola de Minas*, v.65, n. 3, p.385-392, 2012.
- CARVALHO, M. S.; RIBEIRO, K. D.; MOREIRA, R. M.; ALMEIDA, A.M. Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Acta Brasiliensis*, v.1, n. 3, p.37-41, 2017.
- CEOLIN, D. Efeitos da exposição crônica do manganês sobre camundongos machos adultos. 2010. 57p. Dissertação de Mestrado. Departamento de Biologia Celular e Estrutural. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2010.

CHENG, S. H.; WAI, A. W. K.; SO, C. H.; WU, R. S. S. Cellular and molecular basis of cadmium-induced deformities in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology Chemistry*, v.19, n. 12, p.3024-3031, 2000.

COMMISSION OF EUROPEAN COMMUNITIES INDUSTRIAL HEALTH AND SAFETY. Biological indicators for the assessment of human exposure to industrial chemicals: cobalt s. n. t., p.51-61, 1987.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E.L.G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, v.31. n. 7, p.1820-1830, 2008.

CSUROS, M; CSUROS, S. Introduction to metals. In: Environmental sampling and analysis for metals. CSUROS, M; CSUROS, S. (Eds). Boca Raton: CRC Press, 413p, 2002.

CUNHA, B. R. Investigação dos efeitos do níquel sobre células neoplásicas cultivadas in vitro. In: 54º CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 2008, Salvador.

DIAS, C.A.; COSTA, A.S.V.; GUEDES, G.R.; UMBELINO, L.G.S.; SOUSA, L.G.; ALVES, J.H.; SILVA, T.G.M. Impactos do rompimento da barragem de Mariana na qualidade da água do rio Doce. *Revista Espinhaço*, v.7, n. 1, p. 21-35, 2018.

DÍAZ-DE ALBA, M.; GALINDO-RIAÑO, M. D.; CASANUEVA-MARENCO, M. J.; GARCÍA-VARGAS, M.; KOSORE, C.M. Assessment of the metal pollution, potential toxicity and speciation of sediment from Algeciras Bay (GRIER South of Spain) using chemometric tools. *Journal of Hazardous Materials*, v.190, p.177–187, 2011.

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.

DUARTE, A.P. Classificação das barragens de contenção de rejeitos de mineração e de resíduos industriais no estado de Minas Gerais em relação ao potencial de risco. 2008. 130p. Dissertação de Mestrado. Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2008.

DUTRA, R. L.; CANTOS, G. A.; PEROZINI, A. R.; SILVA, C.S.M.; WALTRICK, C.D.A.; BALEM, M.G.; HERMES, E. M.; MELO, E. S. Determinação de zinco em soro sanguíneo pelo método de FAAS e sua correlação com o estado de estresse. *Revista em Saúde*, v.6, n. 14, p. 31-37, 2004.

ELGAWISH, R.A.R.; ABDELRAZEK, H.M. Effects of lead acetate on testicular function and caspase-3 expression with respect to the protective effect of cinnamon in albino rats. *Toxicology Reports*, v.1, p.795-801, 2014.

ESPINDOLA, H.S.; FERREIRA, N. M.; MIFARREG, I.E.G. Território da mineração: uma contribuição teórica. *Revista Brasileira de Geografia*, v.62, n. 2, p.67-93, 2017.

FARINA, M.; AVILA, D.S.; DA ROCHA, J.B.; ASCHNER, M. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: a focus on iron, manganese and mercury. *Neurochemical International*, v.62, n. 5, p.575-594, 2013.

- FARKAS, A.; SALANKI, J.; SPECZIAR, A. Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream, *Abramis brama* populating lake Balaton. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.43, n. 2, p.236-243, 2002.
- FERNANDES, A. G.; MAFRA, D. Zinco e câncer: uma revisão. *Revista em Saúde*, v.1, n. 2, p.144-156, 2005.
- FERRER, A. Intoxicación por metales. *Anales Sis San Navarra*, v.26, p.141-153, 2003.
- FRANCISCO, B. B. A.; LEMOS, F. A.; MASSON, I. O. C. Fontes alternativas para a obtenção de níquel, cobalto e cobre. In: XIV Jornada de Iniciação Científica do Centro de Tecnologia Mineral - CETEM, 2006, Rio de Janeiro, 7 p.
- GOYER, R. A. Toxic effects of metals. In: Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons. KLAASSEN, C. D. (Ed.). New York: McGraw Hill, p.691-736. 1996.
- GRIER, H. J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. In: The Sertoli cell. Russell, L. D.; Griswold, M. D. London: Elsevier Academic Press, p. 704-739, 1993.
- GRIER, H.J.; Uribe-Aranzábal, M.C. The testis and spermatogenesis in teleost. In: Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Neoteleostomi). Phylogeny-Reproductive System Viviparity-Spermatozoa. Jamieson, B.G.M (Ed.). Enfield: Science Publishers, p.119-142, 2009.
- HAYASHI, C. Breves considerações sobre as tilápias In: Curso de piscicultura: criação racional de tilápias. RIBEIRO, R.P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W.M. (Eds.). Maringá: Eduem, p.4. 1995.
- <https://www.diariodepernambuco.com.br/noticia/brasil/2016/11/mariana-mg-1-ano-o-antes-o-durante-e-o-depois-do-desastre.html>. Visitado em 23 de outubro de 2020.
- IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Laudo Técnico Preliminar, rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, Mariana – MG, 42p, 2015.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010. Disponível em < [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) > Acesso em 30 de março de 2020.
- IGAM, Instituto Mineiro de Gestão das Águas. Bacia hidrográfica do rio doce. 2019. Disponível em: [http://www.igam.mg.gov.br/index.php?option=com\\_content&task=view&id=155&Itemid=140](http://www.igam.mg.gov.br/index.php?option=com_content&task=view&id=155&Itemid=140). Acesso em 28 de abril de 2020.
- JOBLING, M. Environmental biology of fishes. London: Chapman & Hall, 455p, 1995.
- KHOSRAVI, M.; BAHRAMIFAR, N.; GHASEMPOUR, M. Survey of heavy metals (Cd, Pb, Hg, Zn and Cu) contamination in sediment of three sites Anzali wetland. *Iranian Journal of Health and Environment*, v.4, n. 2, p.223–231. 2011.
- 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.

KROCKOVÁ, J. Z.; MASSÁNYIA, P.; SIROTKIN, A. V.; PIVKOB, J.; MAKAREVICH, A. V.; LUKÁČA, N.; CAPCAROVÁ, M.; TOMANA, R.; POLÁKOVÁ, S. Nickel induced structural and functional alterations in mouse Leydig cells in vitro. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v.25, p.14–18, 2011.

KURDI, M.; FARHADIAN, H.; ESLAMKISH, T. Hydro-geochemistry of Qare-Sou catchment and Gorgan gulf, Iran: examining spatial and temporal distribution of major ions and determining the river's hydro-chemical type. *International Journal Environmental, Chemical, Ecological, Geological and Geophysical Engineering*, v.10, p.1010–1024, 2016.

LACAZ, F.A.C.; PORTO, M.F.S.; PINHEIRO, T.M.M. Tragédias brasileiras contemporâneas: o caso do rompimento da barragem de rejeitos de Fundão/Samarco. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v.42, n. 9, p.1-12, 2017.

LASSEN, P. G. Morfometria e desenvolvimento das gônadas de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementadas com sal mineral composto por cobre, manganês e zinco. 2016. 63p. Dissertação de Mestrado. Área de concentração e produção animal. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RGS. 2016.

LAUER JÚNIOR, C. M. A influência dos íons cálcio e magnésio na toxicidade do cádmio e o envolvimento da proteína Pmr1 no uso da via secretora para desintoxicação de cádmio em *Saccharomyces cerevisiae*. 2007. 99p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RGS. 2007.

LE GAC, F.; LOIR, M. Male reproductive system fish. In: Encyclopedia of Reproduction. KNOBIL, E.; NEILL, J.D. (Eds). San Diego: Academia Press, v.3, p.20-30, 1999.

LEONARD, A.; LAUWERYS, R. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of cobalt metal and cobalt compounds. *Mutation Research Amsterdam*, v.239, p.17-27, 1990.

LI, H.; CHEN, Q.; LI, S.; YAO, W.; LI, L.; SHI, X.; WANG, L.; CASTRANOVA, V.; VALLYATHAN, V.; ERNEST, E.; CHEN, C. Effect of CrVI exposure on sperm quality: human and animal studies. *Annals of Occupational Hygiene*, v.45, p.505–511, 2001.

LOPES, L. M. N. O rompimento da barragem de Mariana e seus impactos socioambientais. *Sinapse Múltipla*, v.5, n. 1, p.1-14, 2016.

MACHADO, I.C.; MAIO, F.D.; KIRA, C.S.; CARVALHO, M.F.H. Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia-SP, Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.61, n. 1, p.13-18, 2002.

MACHADO, W.G. F. Monitoramento de barragens de contenção de rejeitos da mineração. 2007. 155 p. Dissertação de Mestrado. Engenharia mineral. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2007.

MAGALHÃES, A. L. B.; ANDRADE, R. F.; GOMES, B. V. C.; PERINI, V. R.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Ultrastructure of the semicyclic spermatogenesis in the South American freshwater characid *Hemigrammus marginatus* (Teleostei, Characiformes). *Journal of Applied Ichthyology*, 2011.

MAHAN, B. H. Química: um curso universitário. 4<sup>o</sup> Ed. São Paulo: Edgard Blücher, 251p, 1995.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia. 11<sup>o</sup> Ed., São Paulo: Roca Editora, 1280p, 1998.

MANUAL MERCK. 2019. Biblioteca médica online. Disponível em: <http://www.manualmerck.net>. Acesso em: 26 de março de 2020.

MAROUANI, N.; OLFA TEBOURBI, O.; HALLÈGUE, D.; MONCEF MOKNI, M.; YACOUBI, M. T.; SAKLY, O.; BENKHALIFA, M.; RHOUMA, K. B. Mechanisms of chromium hexavalent-induced apoptosis in rat testes. *Toxicology and Industrial Health*, v.33, n. 2, p.97–106, 2017.

MARQUEZ, K. S. G. Estudo dos metais e outros elementos presentes nos sedimentos das regiões costeiras de São Sebastião e Ubatuba – litoral norte do Estado de São Paulo. 2001. 231p. Tese de Doutorado em Ciências, Química Analítica. Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MARSHALL, J. W.; BANGERT, S.K. Clinical biochemistry metabolic and clinical aspects. New York: Churchill Livingstone, p.182-183, 1995.

MASON, C.F. Biology of freshwater pollution. 3<sup>o</sup> Ed. Londres: Longman, 175p. 1996.

MASSABNI, A. C. Os metais e a saúde humana. In: Conselho Regional de Química 4<sup>a</sup> Região. 2019. Disponível em: <[http://www.crq4.org.br/qv\\_metaisesaude](http://www.crq4.org.br/qv_metaisesaude)>. Acesso em: 26 de março de 2020.

MASSANYI, P.; LUKAC, N.; ZEMANOVA, J.; MAKAREVICH, A. V.; CHRENEK, P.; CIGANKOVA, V.; FLESAROVA, S.; TOMAN, R.; FORGACS, Z.; SOMOZY, Z.; LAZOR, P. Effect of nickel administration in vivo in the testicular structure in male mice. *Acta Veterinária Brunensis*, v.76, p.223–229, 2007.

MATTEI, X.; SIAU, Y.; THIAW, O. T.; THIAM, D. Peculiarities in the organization of testis of Ophidion sp. (Pisces, Telestei). Evidence for two types of the spermatogenesis in teleost fish. *Journal of Fish Biology*, v.43, p.931-937, 1993.

MECANISMOS DE TRANSPORTE. In: Avaliação de risco à saúde humana por metais pesados em santo amaro da purificação – Bahia, cap. VI, 2003. Acesso em: 06 de abril de 2020.

MENDIL, D.; ULUOZLU, O.D; HASDEMIR, E.; TUZEN, M; SARI, H.; SUIÇMEZ, M. Determination of trace metal levels in seven fish species in lakes in Tokat, Turkey. *Food Chemistry*, v.90, n. 1-2, p. 175-179, 2005.

MERCK INDEX: An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 12<sup>o</sup> Ed. Whitehouse Station: Merck, p.2488-2504, 1996.

MERTZ, W.; ABERNATHY, C. O.; OLINS, S. S.; eds. Risk assessment of essential elements. Washington: ILSI Press, p.13-15, 48-49, 1994.

MIRZAEI, M.; SOLGI, E. Evaluation of heavy metals concentration (cadmium, copper, manganese, nickel, lead and zinc) in sediments of Zayandeh Rood River. *Journal of Health and Environmental Research*, v.1, p.251–265, 2016.

MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. Heavy metals in natural waters applied monitoring and impact assessment. New York: Springer Verlag, 268p, 1984.

- MORAIS, A. T. Concentração de Metais pesados em peixes Teleósteos do Rio Piracicaba, Minas Gerais, Brasil. 2009. p.109. Dissertação de Mestrado. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2009.
- MUNIZ, D. H. F.; FILHO, E. C. O. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 4, p. 83-100, 2006.
- NASREDDINE, L.; NASHALIAN, O.; NAJA, F.; ITANI, L.; PARENT-MASSIN, D.; NABHANI-ZEIDAN, M.; HWALLA, N. Dietary exposure to essential and toxic trace elements from a Total diet study in an adult Lebanese urban population. *Food and Chemical Toxicology*, v.48, p. 1262-1269, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.) Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs. Recommended dietary allowances. 10<sup>o</sup> ed. Washington: National Academy Press, p.267-268, 1989.
- NÓBREGA, R.H. Spermatogonial stem cells and their endocrine and paracrine regulation in zebrafish. 1981. 278p. Division of Developmental Biology, Department of Biology, Science Faculty, University of Utrecht, The Netherlands. 1981.
- NUNES, D. L. M. Plumbismo. Apostila (Disciplina de Medicina do Trabalho). Departamento de Saúde Pública, Centro de Ciências Fisiológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 11 p, 2004.
- NUNES, W. A. G. A. Caracterização física, química, mineralógica, micromorfológica e espectral de alguns solos da Zona da Mata mineira. 1995. 135p. Dissertação de Mestrado. Departamento de Solos e Nutrição de Plantas. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1995.
- OHLWEILER, O. A. Química inorgânica. 1<sup>o</sup> Ed. São Paulo: Edgard Blücher, 310p, 1972,
- 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. *Revista Geonomos*, v.14, n. 1,2, p.55-63, 2006.
- 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.
- PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN, A. A. M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. *Cadernos de Referência Ambiental – Centro de Recursos Ambientais, Salvador*, v.3, 144 p, 2001.
- PEDROZO, M. F. M.; LIMA, I. V. Ecotoxicologia do cobre e seus compostos. *Cadernos de Referência Ambiental – Centro de Recursos Ambientais, Salvador*, v.2, 128 p, 2001.
- POLÉO, A. B. S. Aluminium polymerization-a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquatic Toxicology*, v.31, p.347-356, 1995.
- POPMA, T.J.; PHELPS, R.P. Status report to commercial tilápia producers on monose x fingerling productions techniques. In: AQUICULTURA BRASIL'98. Recife: SIMBRAQ, p.127-.145, 1998.

PORTO, M.F.S. A tragédia da mineração e do desenvolvimento no Brasil: desafio para a saúde coletiva. *Caderno Saúde Pública*, v.32, n. 2, p.1-3, 2016.

PUDNEY, J. Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. *Microscopy Research and Technique*, v.6, p.459-497, 1995.

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.

QU, R.; WANG, L. Q. Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in liver of freshwater fish *Carassius auratus* following in vivo exposure to waterborne zinc under different pH values. *Aquatic Toxicology*, v.150, p.9-16, 2015.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; GRIER, H.J.; MAZZONI, T.S.; NÓBREGA, R.H.; AMORIM, J. P. Activity of the ovarian germinal epithelium on the follicle formation and the oocyte development in the freshwater catfish *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes). *Journal of Morphology*, v.8, p.1290-1306, 2011.

RIBEIRO, E.V.; MAGALHÃES, A.P.; HORN, A.H.; TRINDADE, W.M. Metais pesados e qualidade da água do rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora - MG: índice de contaminação. *Revista Geonomos*, v.20, n. 1, p.49-63, 2012.

ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiencia de Cu en bovinos. *Analecta Veterinária*, v. 22, p.7-16, 2002.

SABINO, J.; CASTRO, R.M.C. Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da Floresta Atlântica (Sudeste do Brasil). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 50, n. 1, p.23-36, 1990.

SALGADO, P. E. T. Toxicologia dos metais. In: Fundamentos de toxicologia. OGA, S. (Ed). São Paulo, p. 154-172, 1996.

SANTANA, G. P. Elemento-traço ou metal pesado, 2008. Disponível em: <http://blog.clubedaquimica.com/elemento-traco-ou-metal-pesado/>. Acesso em: 06 de abril de 2020.

SANTOS, D. C. M. Toxidez aguda do zinco em lambari *Astyanax aff. bimaculatus* (Linnaeus, 1758). 2009. 115p. Dissertação de Mestrado. Departamento de Biologia Animal. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2009.

SARIC, M.; LUCCHINI, R. Manganese. In: Handbook on the toxicology of metals. NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. (Eds). 3° Ed. California: Elsevier, 975p, 2007.

SCANSETTI, G.; MAINA, G.; BOTTA, GC.; BAMBACE, P.; SPINELLI, P. Exposure to cobalt and nickel in the hard-metal production industry, *Internacional Archives of Occupational Environmental Health*, v.71, p.60-63, 1998.

SCHULZ, R.W.; FRANÇA, L.R.; LAREYRE, J-J.; LEGAC, F.; CHIARINI-GARCIA, H.; NÓBREGA, R.H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, n. 3, p.390-411, 2010.

SILVA, F. B. D.; MONTEIRO, M. I. C.; CASTILHOS, Z. Avaliação de risco à saúde humana na ingestão de peixes contaminados com metais em barra mansa – RJ. Parte I – Mercúrio. In: XIII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL - CETEM, 2005, Rio de Janeiro, 7 p, 2005.

SILVA, M. R. C. Estudos de sedimentos da bacia hidrográfica do Mogi-Guaçu com ênfase na determinação de metais. 2002. 133p. Dissertação de Mestrado. Ciência Química Analítica. Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2002.

STEINHOFF, D.; MOHR, U. On the question of a carcinogenic action of cobalt containing compounds. *Exp. Pathol.*, Jena, v.41, p.169-174, 1991.

SUTTLE, N.F. The Mineral Nutrition of Livestock. 4th ed. London: CABI International, 579p, 2010.

TEIEN, H. C.; SALBU, B.; KROGLUND, F.; HEIER, L, S.; ROSSELAND, B.O. The influence of colloidal material on aluminium speciation and estimated acid neutralizing capacity (ANC). *Applied Geochemistry*, v.22, p.1202-1208, 2007.

THE INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Environmental Health Criteria, 86 Mercury: environmental aspects. Geneva: WHO, 1989. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc086.htm>>. Acesso em: 26 de março de 2020.

TOSTES, J.O. Conflitos na gestão das águas da bacia do piranga: a democracia do “parlamento das águas” afogada por relações assimétricas de poder. 2007. 90p. Monografia apresentada como exigência para a conclusão do bacharelado em Geografia, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2007.

TRAVIÑO, J. R.; BASSOL-MAYAGOITIA, S.; HERNANDEZ-IBARRA, J. A.; RUIZ-FLORES, P.; NAVA-HERNANDEZ, M. P. Toxic effect of cadmium, lead, and arsenic on the sertoli cell: mechanisms of damage involved. *Dna And Cell Biology*, v.37, n. 7, p.1-9, 2017.

TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. Boca Raton: CRC Press, v.1, p.117-121, 1983.

VALVERDE, O. A fazenda de café escravocrata, no Brasil. *Revista Brasileira de Geografia*, v. 29, n. 1, p. 37-81, 1967.

VIEIRA, M. C.; TORRONTERAS, R.; CÓRDOBA, F.; CANALEJO. Acute toxicity of manganese in goldfish *Carassius auratus* is associated with oxidative stress and organ specific antioxidant responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.78, p.212 – 217, 2012.

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.

VITEK, T.; SPURN, P.; MARE, J.; ZIKOVÁ, A. Heavy metal contamination of the Loucka River water ecosystem. *Acta Veterinaria Brno*, v. 76, p. 149-154, 2007.

VOUSAS, E.; MAGOULAS, K.; TASSIOS, D. Prediction of the bioaccumulation of persistent organic pollutants in aquatic food webs. *Chemosphere*, v. 48, p.645-651, 2002

WEHNER, A. P.; BUSCH, R. H.; OLSEN, R. J.; CRAIG, D. K. Chronic inhalation of cobalt oxide and cigarette smoke by hamsters. *American Industrial Hygiene Association Journal*, v.38, p.338-346, 1977.

WELTZIEN, F. A.; ANDERSSON, E.; ANDERSEN, Ø.; SHALCHIAN-TABRIZI, K.; NORBERG, B. The brain–pituitary–gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (Pleuronectiformes). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v.137, p.447-477, 2004.

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.

YOUSEF, M. I., SALAMA, A. F. Propolis protection from reproductive toxicity caused by aluminium chloride in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, v. 47, p. 1168–1175, 2009

ZHANG, W.; FENG, H.; CHANG, J.; QU, J.; XIE, H.; YU, L. Heavy metal contamination in surface sediments of Yangtze River intertidal zone: an assessment from different indexes. *Environmental Pollution*, v.157, n. 5, p.1533–1543, 2009.

**ARTIGO**

**Toxicidade por metais pesados em testículo de *Oreochromis niloticus* (exótica) e *Geophagus brasiliensis* (nativa) da bacia do rio doce, três anos após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana – MG.**

Maria Luiza Assis Rodrigues<sup>1</sup>, Sirlene Souza Rodrigues Sartori<sup>1</sup>, Sérgio Luis P. da Matta<sup>2</sup>, Fabiana C. S. Alves de Melo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Campus UFV, Viçosa, Brasil, 36570-900.*

<sup>2</sup> *Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Campus UFV, Viçosa, Brasil, 36570-900.*

**Palavra-chave:** Mineração. Ecotoxicologia. Reprodução. Histopatologia. Status oxidativo.

## RESUMO

Em 5 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da Barragem de Fundão, localizada no distrito de Bento Rodrigues (Mariana-MG), e foram lançados no ambiente aproximadamente, trinta e cinco milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos de mineração de ferro, que atingiu toda a extensão do rio Doce. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade por metais pesados sobre o testículo de duas espécies de peixes do rio Doce, três anos após o rompimento da barragem. Foram utilizados 15 exemplares de *Oreochromis niloticus* (espécie exótica) e *Geophagus brasiliensis* (espécie nativa), coletados no rio Doce e no rio Piranga (não afetado pelo rompimento), nos municípios de Santa Cruz do Escalvado e Ponte Nova, respectivamente. Os animais foram eutanasiados para a retirada dos testículos, que foram processados para análises de quantificação de metal, histológica e de estresse oxidativo. Foi realizado também análise de quantificação de metais na água e no sedimento. As concentrações dos metais pesados na água, e no sedimento não tiveram diferenças significativas entre os rios Doce e Piranga. Em relação à concentração de metal pesado no testículo, observou-se concentração significativamente maior em tilápias do Rio Doce (TRD) quando comparado a tilápia do Rio Piranga (TRP), para cobre e cobalto e menores de mercúrio em TRD; os níveis de mercúrio também foram menores no cará do Rio Doce (CRD) comparado com o do Rio Piranga (CRP). Entre CRP e TRP observou-se concentrações mais altas para ferro e mercúrio. Produtos do stress oxidativo e a atividade de enzimas antioxidantes foram maiores nos peixes do rio Piranga, entretanto, a ocorrência de cistos espermatogênicos e outras patologias foi maior nos peixes do rio Doce. Quanto à biometria gonadal, o peso corporal, comprimento padrão, peso e comprimento gonadal foram maiores no grupo TRD quando comparado ao TRP, contudo, o índice gonadossomático se mostrou reduzido neste grupo, assim como em CRD. O número de cistos e sua área foram menores no grupo TRD quando comparado com o grupo TRP. Foi observada a ocorrência de mais cistos patológicos nos grupos dos carás, sendo o grupo CRD o mais afetado. Os grupos do rio Doce apresentaram maior frequência de células em processo inicial de dano ao DNA. Conclui-se que, a água e o sedimento dos rios Doce e Piranga apresentaram estados semelhantes de contaminação por metais pesados. Entretanto, as espécies analisadas do rio Doce se mostraram mais afetadas, em especial o cará, que apresentou maiores danos testiculares, se mostrando mais sensível a esses poluentes.

**Palavras-Chave:** Mineração. Ecotoxicologia. Reprodução. Histopatologia. Stress oxidativo.

## ABSTRACT

On November 5, 2015, the Fundão Dam broke, located in the Bento Rodrigues district (Mariana-MG), and approximately thirty-five million m<sup>3</sup> of iron mining tailings were released into the environment, which reached the entire extension of the Doce river. The aim of this study was to evaluate the toxicity of heavy metals on the testis of two species of fish from the Doce river, three years after the dam burst. Fifteen specimens of *Oreochromis niloticus* (exotic species) and *Geophagus brasiliensis* (native species) were collected from the Doce river and the Piranga river (unaffected by the rupture), in the municipalities of Santa Cruz do Escalvado and Ponte Nova, respectively. The animals were euthanized for the removal of the testicles, which were processed for analysis of metal quantification, histological and oxidative stress. Analysis of the quantification of metals in water and sediment was also carried out. The concentrations of heavy metals in water and sediment did not differ significantly between the Doce and Piranga rivers. In relation to the concentration of heavy metal in the testis, a significantly higher concentration was observed in tilapia from Doce river (TRD) when compared to tilapia from Piranga river (TRP), for copper and cobalt and lower mercury in TRD; mercury levels are also lower in cará from Doce river (CRD) compared to cará from Piranga river (CRP). Between CRP and TRP, higher concentrations for iron and mercury were observed. Products of oxidative stress and the activity of antioxidant enzymes were higher in fish from the Piranga river, however, the occurrence of spermatogenic cysts with pathologies was higher in fish from the Doce river. As for gonadal biometrics, body weight, standard length, gonadal weight and length were higher in the TRD group when compared to the TRP, however, the gonadosomatic index was reduced in this group, as well as in CRD. The number of cysts and their area were lower in the TRD group when compared to the TRP group. The occurrence of more pathological cysts was observed in the cará groups, with the CRD group being the most affected. The Doce river groups showed a higher frequency of cells in the initial process of DNA damage. It is concluded that the water and sediment of the Doce and Piranga rivers presented similar states of contamination by heavy metals. However, the analyzed species from the Doce river were more affected, especially the cará, which showed greater testicular damage, being more sensitive to these pollutants.

**Keywords:** Mining. Ecotoxicology. Reproduction. Histopathology. Oxidative stress.

## 1 INTRODUÇÃO

A cidade de Mariana, em Minas Geras, faz parte do quadrilátero ferrífero, região de forte atividade mineradora. Em 5 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da Barragem de Fundão, localizada no distrito de Bento Rodrigues (Mariana-MG, Brasil), e foram lançados no ambiente aproximadamente trinta e cinco milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos de mineração de ferro. Além de comprometer 663,2 km do rio Doce nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, o lançamento desses rejeitos exerceu impactos sobre o estuário e a região costeira de influência. Os resíduos da barragem provocaram impactos sobre a vegetação natural, áreas de preservação permanente, a ictiofauna e outros organismos aquáticos, além da qualidade da água, com evidentes danos socioeconômicos (DIAS et al., 2018; ESPINDOLA et al., 2017; IBAMA, 2015; LACAZ et al., 2017;).

O rompimento da barragem de contenção de rejeitos de Fundão contaminou o solo e as águas de uma extensa área da bacia do rio Doce e essa contaminação ocorreu predominantemente pela incorporação de metais pesados que são, de modo geral, nocivos aos seres vivos e ecossistemas (CARVALHO, 2017). A poluição dos ecossistemas por metais pesados tem recebido muita atenção devido à abundância, toxicidade, persistência, não degradabilidade e subsequente bioacumulação nos organismos (LIU et al., 2016; VAROL, 2011). Os peixes são particularmente afetados por ocuparem o nível trófico mais elevado e pelo fato destes poluentes tenderem à biomagnificação ao longo da cadeia alimentar (FARKAS et al., 2002)

A contaminação do ambiente por metais ocorre na maioria das vezes em baixas concentrações, pois a exposição dos organismos acontece de forma prolongada e crônica. Como consequências podemos citar o aumento das alterações reprodutivas que podem resultar em declínio significativo da comunidade aquática. Ainda, essas exposições *in situ* nos ecossistemas aquáticos geralmente ocorrem com interação de diferentes metais, acarretando sinergismo de efeitos e potencializando assim os danos causados aos organismos (RODRIGUES, 2019).

A espécie *Oreochromis niloticus*, tilápia-do-nilo, pertencente à família Cichlidae, é proveniente do continente africano e foi introduzida no Nordeste do Brasil em meados de 1950 (HAYASHI, 1995; FITZSIMMONS, 2000). É uma das espécies mais criadas e presentes no Brasil, devido ao seu grande potencial na aquicultura, por apresentar desenvolvimento e crescimento rápidos e adaptação aos diferentes sistemas de cultivo e alimentares (GALLI, TORLONI, 1986; HAYASHI, 1995; KUBITZA, 2000).

*Geophagus brasiliensis*, acará ou cará, é uma espécie de peixe neotropical nativo do Brasil, também pertencente à família Cichlidae, com ampla distribuição geográfica da Amazônia para a bacia do rio Paraná e Uruguai (BELLAY et al., 2012; GRAÇA, PAVANELLI, 2007; NUNES et al., 2014;). Tem sido utilizada como bioindicador ambiental, devido a sua sensibilidade e capacidade de responder a elementos tóxicos.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar e comparar a toxicidade por metais pesados no testículo de duas espécies de peixes, *Oreochromis niloticus* (espécie exótica) e *Geophagus brasiliensis* (espécie nativa), do rio Doce, afetado pelo rompimento da barragem de rejeitos de Mariana-MG, e do rio Piranga, área não afetada pelo rompimento da barragem.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido de acordo do Comissões Comitê de Ética no Uso Animal (protocolo 101/2018) da Universidade Federal de Viçosa, e sob licença do IBAMA (55430-2), no Laboratório de Morfologia do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, em parceria com o LANAGRO Campinas – Laboratório Federal de Defesa Agropecuária; Laboratório .de Ecofisiologia de Quirópteros – UFV; Laboratório de Espectometria de Absorção Atômica – UFV; Laboratório de Fertilidade de Solos – UFV, Laboratório de Sistemática Molecular – UFV e o Laboratório de Pesquisa em Patologia Clínica Veterinária – UFV.

### 2.1 Coletas de Animais, Sedimento e Água

As coletas foram realizadas no rio Doce, área afetada pelo rompimento da barragem de rejeitos, em Santa Cruz do Escalvado (-20.262019, -42.918731) e no rio Piranga, área não afetada pelo rompimento da barragem, em Ponte Nova (-20.369724, -42.895751). Foram coletados 15 animais de cada espécie/área, adultos machos das espécies de peixes *Geophagus brasiliensis* e *Oreochromis niloticus*. As coletas ocorreram nos meses de fevereiro e março de 2019 através de tarrafas de pesca. Os animais coletados foram mantidos em bombonas com água e aeradores até o momento da eutanásia.

Nos pontos em que os animais foram coletados também foi realizada a coleta de água e sedimento, de forma separada, em tubos individuais falcon de 15 ml, sendo 3 amostras/área para as análises de metais. Foram aferidos *in situ* o pH, temperatura e o oxigênio dissolvido na água, através de oxímetro (YSI® -550A).

## 2.2 Quantificação de Metais Pesados

### 2.2.1 Água

Para determinação dos metais pesados (Fe, Al, Mn, Zn, Pb, Cd, Cu e Cr) solúveis em água, foi realizada a leitura direta das amostras por absorção atômica (Agilent Technologies 200 Series AA Modelo 240 FS).

### 2.2.2 Sedimento

Amostras de sedimento foram inicialmente pesadas nos frascos FPA, sendo 0,1 g de amostra para análise. Em seguida adicionou-se 1 mL de ácido clorídrico (HCl) e 3 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), mantendo os frascos abertos em chapa aquecedora a 110 °C até a secura. Posteriormente, 2 mL de ácido fluorídrico (HF) concentrado foi adicionado e os frascos mantidos abertos até completa evaporação do líquido a 110 °C, sendo repetida esta etapa mais uma vez. Os frascos foram tampados e aquecidos a 110°C por 30h. Após esse tempo, os frascos foram abertos e levados à secura na chapa aquecedora a 110 °C. Adicionou-se em seguida 2 mL de HNO<sub>3</sub> e os frascos foram mantidos abertos em placa aquecedora a 110 °C até secura. Novamente, adicionou-se 2 mL de HCl concentrado, mantendo os frascos abertos em chapa aquecedora até completa evaporação do líquido. O reagente HNO<sub>3</sub> diluído em água destilada na proporção 1:1 (4 mL) foi adicionado, sendo os frascos mantidos fechados por 30 min a 110 °C. Por fim, as soluções obtidas foram transferidas para frascos de polietileno e seu volume foi completado com água ultrapura até atingir 20 ml.

A leitura das amostras para os analitos (Al, Mn, Zn, Pb, Ni, Cd, Cu, Cr) foi realizada por absorção atômica (Agilent Technologies 200 Series AA Modelo 240 FS).

### 2.2.3 Testículo

Amostras dos testículos foram pesadas e secas em estufa a 70°C até atingirem peso seco constante de 0,1g. Posteriormente foi realizado o processo de pré - digestão e digestão das amostras. Para a realização da pré - digestão as amostras secas foram colocadas em *erlenmeyers* com 3 ml de ácidos na proporção de 3:2 (nítrico: perclórico) e deixadas em repouso na capela por 24 horas. Após esse período o material foi levado para a digestão em blocos digestores aquecidos e o aumento da temperatura foi feito de forma gradual até atingir 230°C. A digestão foi completa quando se observou a formação de fumaça branca nos *erlenmeyers*. As amostras foram então retiradas da chapa e resfriadas na capela. Depois do resfriamento as amostras foram

transferidas para um balão volumétrico de 5 ml. Os *erlenmeyers* foram lavados três vezes com água ultrapura e o produto dessa lavagem também foi acondicionado no balão volumétrico. O volume das amostras foi então completado com água ultrapura para 5 ml e em seguida homogeneizado e acondicionado em tubos falcons.

A leitura das amostras para os analitos (Fe, Mn, Zn, Pb, Ni, Cd, Cu, Cr, Hg, Co) foi realizada no espectrômetro de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS Agilent 7700).

Também foi avaliada a bioacumulação dos metais analisados no testículo de *G. brasiliensis* e *O. niloticus*, por meio do cálculo do fator de bioacumulação (FBA), que é a razão entre a concentração do metal no testículo pela concentração do metal na água ou no sedimento.

### **2.3 Eutanásia, Dissecção e Biometria dos Animais**

Os animais foram eutanasiados individualmente utilizando eugenol na proporção de 25mg/kg, diluído em água. Após a eutanásia esses animais foram medidos (comprimento padrão e comprimento total) e pesados em balança analítica. Em seguida foi realizada uma incisão ventral para exposição da cavidade celomática e a retirada dos testículos, que foram pesados, medidos. Para as análises histológicas uma porção do testículo foi armazenado no fixador Bouin por 12 horas e para análises de status oxidativos e avaliação quantitativa de metal foram alocados em nitrogênio líquido. Para obter a relação entre o peso corporal (PC) e o peso das gônadas (PG) foi calculado o índice gonadossomático (IGS) mediante a fórmula:  $IGS = PG/PC \times 100$ . O comprimento relativo, ou seja, a relação entre o comprimento da gônada (CG) e o comprimento padrão (CP), foi calculado usando a equação  $CG/CP \times 100$ .

### **2.4 Análises Histológicas**

Para as análises histológicas, amostras dos testículos foram fixadas em Bouin por 12h e posteriormente o fixador foi substituído por álcool 70%. As amostras foram desidratadas em série etílica crescente (80, 90, 95, 100%) e incluídas em resina glicol-metacrilato (LEICA®). Após a obtenção dos blocos foram realizadas secções semi-seriadas de 3 µm de espessura em micrótomo rotativo (RM2265 – Leica). As lâminas foram coradas com azul de toluidina, montadas com Entellan® e analisadas em microscópio de luz (Olympus BX-50). As imagens histológicas para análises morfométricas e patológicas foram obtidas utilizando microscópio Olympus BX53 com câmera acoplada.

Para as análises morfométricas, imagens foram capturadas usando objetiva de 20x em 15 campos aleatórios por animal. Foram quantificados pontos coincidentes sobre cistos espermatogênicos, lúmen com espermatozoides e intertúbulo, por meio do software para análise de imagem *Image J*, totalizando 3910 pontos por campo analisado, sendo os resultados expressos em porcentagem. Em objetiva de 40x foram, também, capturadas imagens em 15 campos aleatórios, para a identificação de cada fase celular espermatogênica (espermatogônias 1 e 2; espermatócitos primário e secundário; e espermátides inicial e final). Foram medidos a área de 20 cistos espermatogênicos (por estágio celular), além da contagem de células dentro desses cistos e do diâmetro nuclear de duas células nesses cistos, por meio do software *Image J*.

Para as análises patológicas foram qualificadas e quantificadas as seguintes patologias, utilizando-se 300 cistos aleatórios por animal: ruptura de cisto, descolamento da parede do cisto, degeneração do cisto, desorganização dos cistos, deslocamento da parede do túbulo, ruptura do túbulo, desorganização dos túbulos, agrupamento celular, núcleo picnótico e vacuolização celular. As alterações foram classificadas em estágios (ou fases) progressivos que variam de I a III. Alterações do estágio I são consideradas leves, não alteram a função do tecido (deslocamento da parede de cisto e túbulo); alterações do estágio II são moderadas e alteram parcialmente a função do tecido (vacuolização, agrupamento celular e núcleo picnótico) e alterações do estágio III são severas, alteram totalmente a função do tecido (ruptura de cisto e túbulo, desorganização de cisto e túbulo, degeneração) (Adaptado de ALVES, 2019).

#### 2.4.1 Viabilidade Celular

Para avaliação da viabilidade celular foram utilizados os marcadores laranja de acridina e iodeto de propídio. As lâminas foram imersas em banho de ácido acético 1% por 1 minuto, seguido de tampão fosfato, 3 banhos de 3 minutos cada, e marcadas com a solução de 0,02 % de laranja de acridina e 1% de iodeto de propídio em tampão fosfato por 1 minuto. Posteriormente as lâminas foram novamente lavadas com tampão fosfato (3 banhos de 3 min) e em seguida imersas em solução de cloreto de cálcio 0,1 M por 45 segundos e novamente em tampão fosfato. As lâminas foram montadas com glicerina e observadas em microscópio de fluorescência Olympus BX53. As lâminas foram analisadas com dois filtros, o filtro verde (GFP) e o filtro vermelho (RFP). As imagens obtidas com esses filtros foram unidas e a partir disso foi possível avaliar a viabilidade celular. Laranja de acridina marca as células danificadas e vivas e o iodeto de propídio marca células que perderam a integridade da membrana. Células

viáveis tiveram seus núcleos corados em verde, células mortas, núcleos em vermelho e coloração amarelo alaranjado, células em processo inicial de dano. A quantificação da densidade celular, baseada na coloração, foi realizada utilizando-se o software *Image J* com a ferramenta *count/size*, analisando-se 15 campos aleatórios por animal na objetiva de 40x, sendo os dados expressos em percentual.

## 2.5 Status oxidativo

Fragmentos do testículo (aprox. 150 mg) foram homogeneizados em tampão fosfato (fosfato 100 mM, pH 7,4) e a suspensão foi centrifugada (10.000 g à 4 °C por 10 min.), sendo o sobrenadante resultante utilizado para as análises das enzimas antioxidante e de produtos da oxidação.

### 2.5.1 Enzimas antioxidantes

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos tecidos foi realizada em leitor de microplacas a 570nm (DIETERICH et al., 2000), sendo baseado na capacidade desta enzima em catalisar a reação do superóxido  $O_2^-$  e o peróxido de hidrogênio e, assim, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol. Os resultados foram expressos em  $nmol\ g^{-1}$ .

A enzima catalase (CAT) foi mensurada no sobrenadante dos tecidos e determinada pela taxa de queda do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (10 mM), em espectrofotômetro a 240nm durante 60 seg e expressos em  $\mu mol\ g^{-1}\ min^{-1}$ .

A atividade da enzima glutathione S-transferase (GST) também foi feita no sobrenadante dos tecidos (HABIG et al., 1974). A GST foi mensurada através da formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno e estimada pela variação da absorbância em 340 nm por 60 s. A formação do conjugado ocorre espontaneamente no substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em reação não enzimática, sendo acelerada pela atividade da enzima GST. Uma unidade (U) de GST equivale à quantidade de enzima que forma 1mol do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno por minuto. O coeficiente de extinção molar do CDNB é  $340 = 9,6\ mM^{-1}\ cm^{-1}$  foi utilizado para os cálculos e os resultados foram expressos em  $\mu mol\ g^{-1}\ min^{-1}$ .

### 2.5.2 Produtos da oxidação

Para a análise da taxa de peroxidação lipídica (MDA) seguimos o protocolo descrito por Buege e Aust (1978). Brevemente, 100  $\mu L$  do sobrenadante dos tecidos foi homogeneizado com 200  $\mu L$  de uma solução de ácido tricloroacético (15 %) / ácido tiobarbitúrico (0,375 %) / ácido

clorídrico (0,25 M), aquecido por 15 minutos em água fervente, resfriado e centrifugado por 10 min 1.500 g. O sobrenadante foi utilizado para quantificar os TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) em espectrofotômetro ( $\lambda = 532\text{nm}$ ). O coeficiente de extinção molar do complexo TBA-MDA  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  foi utilizado para calcular a concentração dos TBARS, os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol TBARS g}^{-1}$ .

O óxido nítrico foi indiretamente mensurado estimando a concentração de nitrito nos sobrenadantes. O nitrito usado como indicador da síntese de Óxido Nítrico foi detectado pelo Reativo de Griess, composto por 1 % de sulfanilamida e 0,1 % naftil-etileno-diamina em 2,5 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Desta forma, um volume de 50  $\mu\text{L}$  do sobrenadante das culturas foi adicionado em microplacas com igual volume do Reativo de Griess e incubado a temperatura ambiente por 15 min. A leitura da densidade óptica nas placas foi realizada em espectrofotômetro à 540 nm. A concentração do óxido nítrico dos sobrenadantes das amostras foi determinada utilizando uma curva padrão com concentrações conhecidas de nitrito de sódio e expressa em  $\mu\text{M}$ .

## 2.6 Análises Estatísticas

Foram realizados os testes de normalidade e distribuição D'Agostino & Pearson, Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. Como a distribuição dos dados foi não-normal, foi realizado o teste estatístico não paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney para comparação das áreas analisadas e entre espécies, sendo considerada diferença significativa com  $p < 0.05$ . Os dados foram expressos em mediana, intervalo interquartil, valores máximos e mínimos.

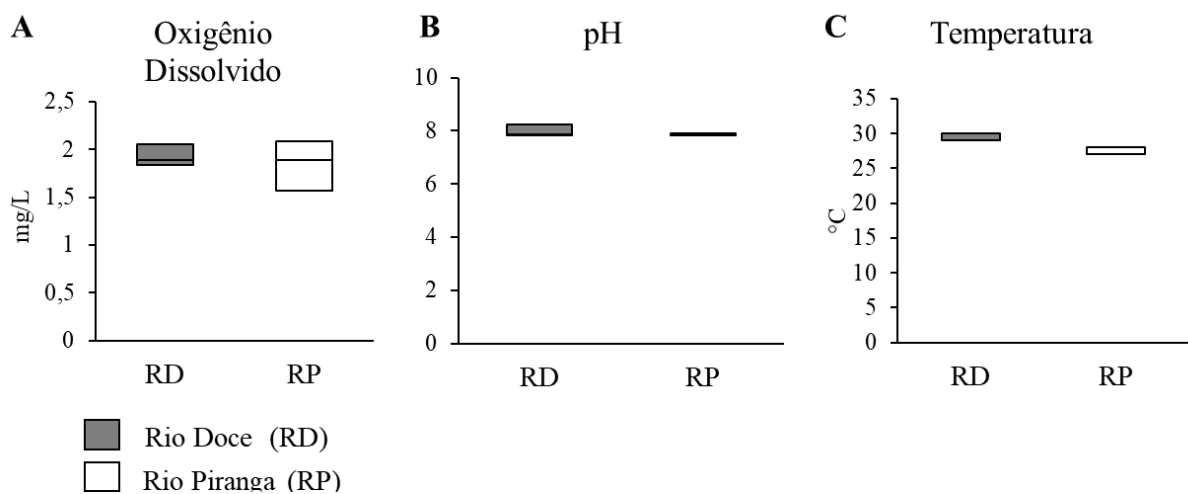
## 3 RESULTADOS

### 3.1 Metais Pesados e Análise da Água

As concentrações dos metais pesados nas águas do rio Doce (RD) e rio Piranga (RP) estão indicados no Gráfico 1, não sendo observado diferença significativa, nas áreas analisadas. A ordem de concentração de metais pesados presentes na água do rio Doce foi  $\text{Fe} > \text{Al} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Mn}$  e no rio Piranga foi  $\text{Fe} > \text{Al} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Cd} = \text{Pb}$ . Quando comparados as concentrações de metais pesados encontrados nas águas de ambos os grupos e os valores de referências determinados pela legislação brasileira (Resolução CONAMA 357/2005), é possível observar que os valores para cobre (RD: 0,021 e RP: 0,022 mg/L) são os únicos que ultrapassam o da legislação vigente (0,013 mg/L).



Os valores referentes ao pH, temperatura e oxigênio dissolvido estão indicados no Gráfico 2, sendo que não foi observado diferença significativa entre os parâmetros nas áreas analisadas. Contudo, quando se comparou com os valores de referência (Resolução CONAMA 357/2005), percebeu-se que a concentração de oxigênio dissolvido dos grupos RD (1,89 mg/L) e RP (1,89 mg/L) estavam abaixo que o preconizado pela legislação (4,0 mg/L). Os valores de pH em ambos os rios (RD: 7,86 e RP: 7,83) se enquadram dentro do estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005 (pH 6,0 a 9,0). Para temperatura não são estabelecidos valores de referências.

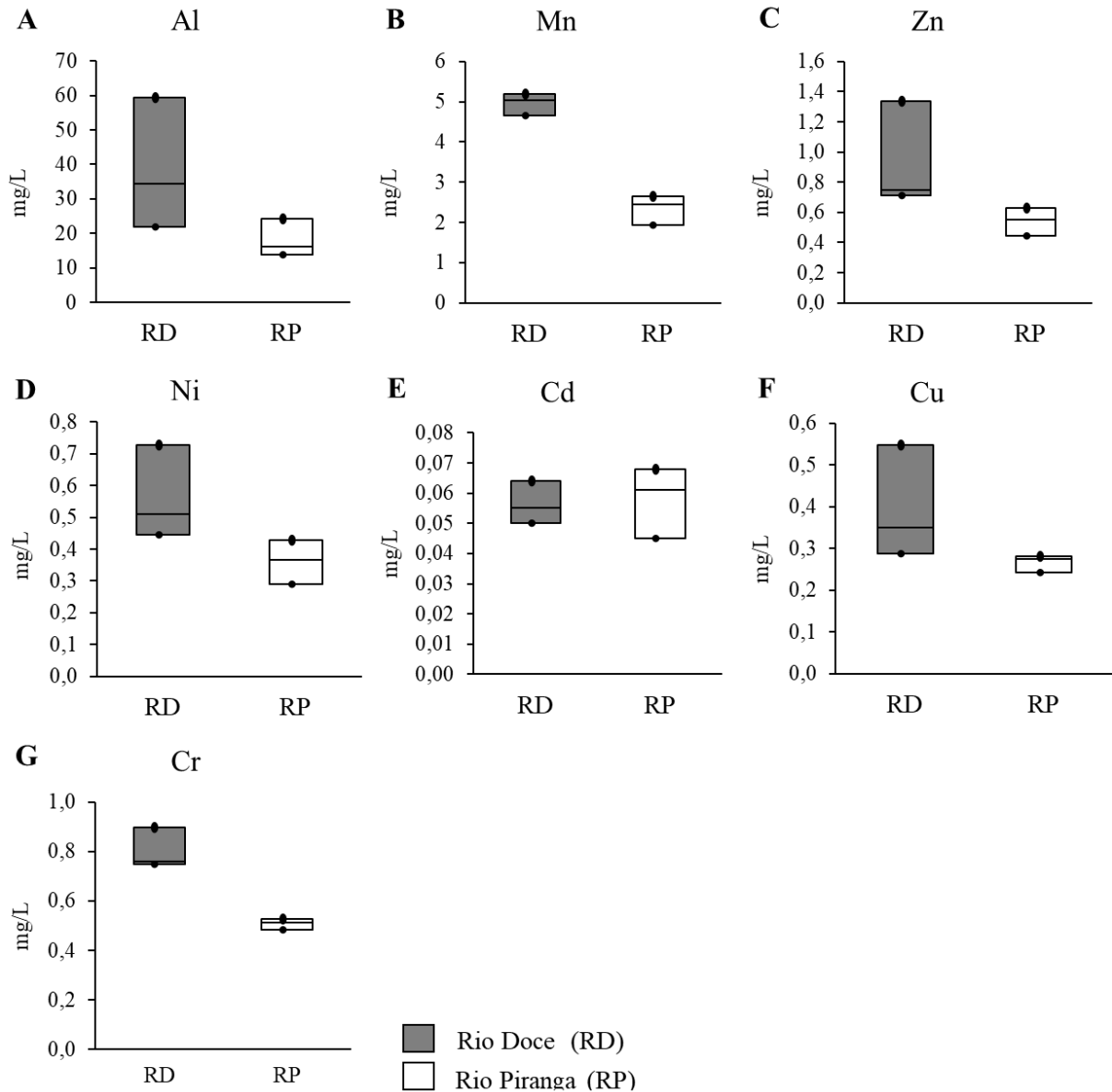


**Gráfico 2:** Parâmetros de qualidade da água dos rios Doce e Piranga, três anos após o rompimento da barragem de rejeitos de Mariana-MG. Valores expressos em mediana, 1º quartil (25%) e 3º quartil (75%), e valores máximo e mínimo. Não houve diferença significativa pelo teste Wilcoxon-Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ;  $n = 3$  por área).

### 3.2 Metais Pesados no Sedimento

As concentrações dos metais pesados nos sedimentos do rio Doce e rio Piranga estão indicados no Gráfico 3, não sendo observado diferença significativa, nas áreas analisadas. A ordem de concentração de metais pesados no sedimento do rio Doce foi  $Al > Mn > Cr > Zn > Ni > Cu > Cd > Pb$  e no rio Piranga foi  $Al > Mn > Cr > Pb > Ni > Cd > Cu > Zn$ . Quando comparado as concentrações encontradas no presente estudo, com as indicadas pela legislação brasileira (Resolução CONAMA 454/12; COSTA, 2015) foi observado que os valores encontrados nas áreas analisadas para manganês (RD: 5,041 e RP: 2,442 mg/L) e alumínio (RD: 34,33 e RP: 16,26 mg/L) foram mais altos que os valores de referência (Al: 0,0452 e Mn: 0,0033 mg/L).

Ainda comparando os dados do presente estudo com dados oficiais, foi possível analisar que as concentrações de metal pesado encontradas nas áreas analisadas, foram inferiores ao visto pelo IGAM em janeiro de 2019 (IGAM,2020).



**Gráfico 3:** Concentração de metais pesados nos sedimentos dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG. Valores representados em mediana, 1º quartil (25%) e 3º quartil (75%), máximo e mínimo (pontos). Não houve diferença significativa pelo teste Wilcoxon-Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ;  $n = 3$  por área). Valores máximos permitidos pela Resolução CONAMA 454/2012, em mg/L: VMP1 (limiar abaixo do qual há menor probabilidade de efeitos adversos à biota) para Zn=123; Pb=35; Cd=0,6; Cu=35,7; Cr=37,3; Ni=18. VMP2 (limiar acima do qual há maior probabilidade de efeitos adversos à biota) para Zn=315; Pb=91,3; Cd=3,5; Cu=197; Cr=90; Ni=35,9. Valores máximos estabelecidos por COSTA (2015), em mg/L: Al=0,0452; Mn=0,0033. Al: alumínio; Mn: manganês; Pb: chumbo; Cd: cádmio; Cu: cobre. Ni: níquel.

### 3.3 Metais Pesados no Testículo.

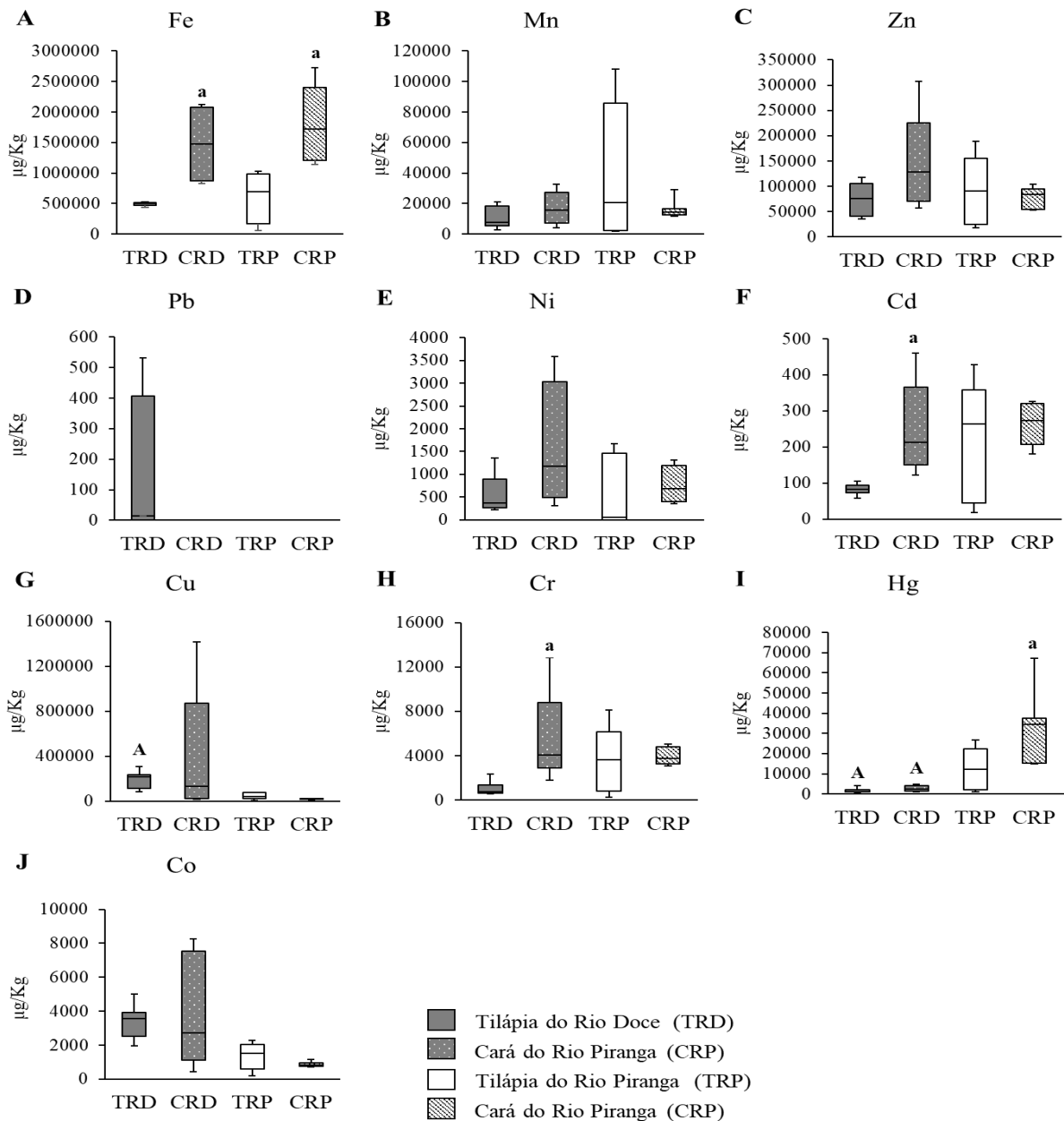
As concentrações dos metais pesados nos testículos das espécies analisadas estão indicadas no Gráfico 4. Entre as espécies do mesmo rio, tilápia do rio Doce (TRD) e cará do rio Doce (CRD); tilápia do rio Piranga (TRP) e cará do rio Piranga (CRP), foram observadas diferenças significativas apenas para os metais ferro, cádmio, cromo e mercúrio. Entre as mesmas espécies de rios diferentes, TRD e TRP; CRD e CRP foi encontrado diferenças significativas para cobre, mercúrio e cobalto. Os metais manganês, zinco, chumbo e níquel não apresentaram diferença significativas entre os grupos avaliados. Foi observada a seguinte tendência nas concentrações de metais no testículo, grupo TRD: Fe>Cu>Zn>Mn>Co>Cr>Ni>Hg>Cd>Pb; grupo CRD: Fe>Zn>Cu>Mn>Cr>Co>Hg>Ni>Cd>Pb; grupo TRP: Fe>Cu>Mn>Hg>Cr>Co>Cd>Zn>Ni>Pb e grupo CRP: Fe>Zn>Hg>Cu>Mn>Cr>Co>Ni>Cd>Pb.

O grupo CRD apresentou concentrações significativamente maiores para ferro (1.476.000 µg/Kg), cádmio (213,7 µg/Kg) e cromo (4.052 µg/Kg), quando comparado com o grupo TRD. Quando comparados CRP a TRP é observado concentrações mais altas de ferro (1.725.000 µg/Kg) e mercúrio (2.512 µg/Kg).

O grupo TRD obteve concentrações significativamente mais altas quando comparadas ao grupo TRP, para cobre (212.802 µg/Kg) e cobalto (3568 µg/Kg). Quando avaliado mercúrio, foi visto que TRD (118 µg/Kg) apresentou concentração inferior ao TRP (12.303 µg/Kg). Passando a analisar o grupo CRD, foi visto que para mercúrio (2.512 µg/Kg) esse grupo apresentou concentração significantemente menor quando comparado ao CRP (34.521 µg/Kg).

Ao comparar as concentrações de metais pesados encontradas no testículo, das espécies analisadas no presente estudo, com dados oficiais, foi observado que para zinco, cádmio, cobre, cromo e mercúrio os grupos avaliados tiveram valores superiores ao determinado pela legislação brasileira (Decreto 55871/65 e Resolução da ANVISA 42/2013), para órgãos de pescado. Para zinco os grupos CRD e CRP tiveram concentrações acima da legislação, cerca de 2,5 e 1,6 vezes, respectivamente. Todos os grupos apresentaram concentrações acima do permitido para cádmio e cromo. Para cádmio os grupos TRD, TRP, CRD e CRP tiveram 1;6; 5; 4; 5,5 vezes a mais do permitido. A proporção de cromo entre os grupos foi bem superior cerca de 7,4 para TRD, 36 para TRP; 40,5 para CRD e 37,5 vezes para CRP. Quando analisado o cobre observou-se concentrações 7; 1,2 e 4 vezes mais altas em TRD, TRP e CRD

respectivamente. Em mercúrio concentrações acima do valor de referência foram encontradas em TRP, CRD e CRP, cerca de 24,5; 5 e 69 vezes, respectivamente. Para os metais ferro, manganês e cobalto, a legislação brasileira não determina valores de referência.



**Gráfico 4:** Concentração de metais pesados nos testículos de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes e a letra “a” indica diferença significativa entre espécies diferentes do mesmo rio, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$  ( $n = 15$  por grupo). Valores representados em mediana, 1º quartil (25%) e 3º quartil (75%), máximo e mínimo. Valores máximo permitido (VMP) para o testículo estabelecido pelo Decreto 55871/65 e Resolução da ANVISA 42/2013 em  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ : Zn=50000; Pb=300; Ni= 5000; Cd=50; Cu=30000; Cr=100; Hg= 500. Não tem VMP para Fe, Mn e Co. Fe: Ferro; Mn: manganês; Zn: Zinco; Pb: chumbo; Ni: níquel; Cd: cádmio; Cu: cobre; Cr: cromo; Hg: mercúrio; Co: cobalto.

Também foi calculado o fator de bioacumulação dos metais pesados nos testículos da tilápia e do cará. A bioacumulação foi avaliada, tendo sua fonte proveniente da água e sedimento. A ordem de bioacumulação dos metais pesados através da água (Tabela 1) nos grupos TRD e CRD foi de Cu>Zn>Fe>Cd, em TRP a tendência foi Zn>Cu>Fe>Cd e em CRP ficou Zn>Fe>Cu>Cd. Já a bioacumulação via sedimento (Tabela 1) mostrou-se com diferentes tendências em para cada grupo, TRD: Cu>Zn>Cd>Pb>Mn>Cr>Ni; TRP: Cu>Zn>Mn>Cr>Cd>Ni; CRD: Cu>Zn>Ni>Cr>Cd>Mn e CRP: Zn>Cu>Cd>Cr>Mn>Ni.

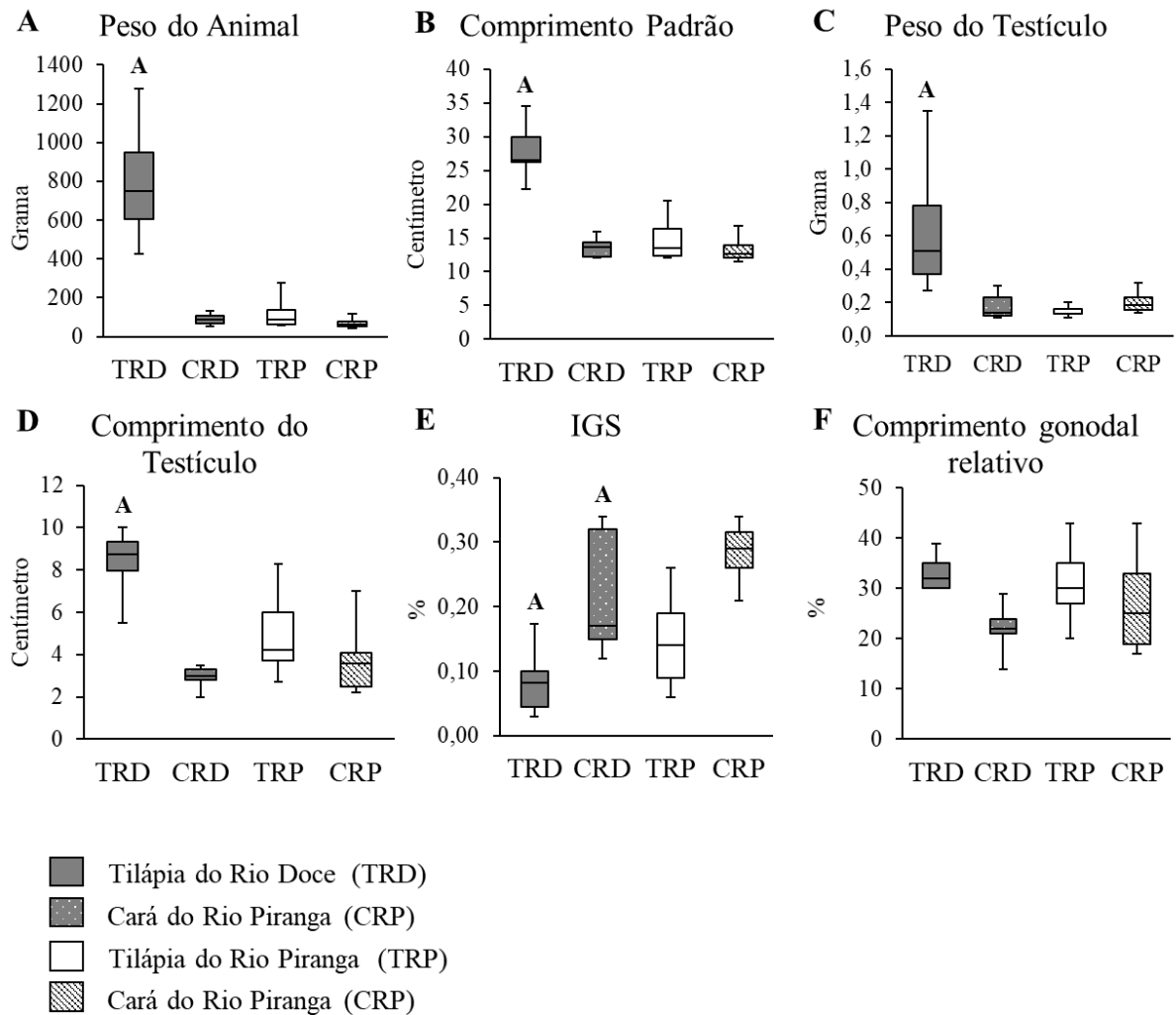
**Tabela 1:** Índice da bioacumulação de metais pesados calculados através do fator de bioacumulação (FBA) no testículo de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG.

Fator de Bioacumulação								
Metal	Água				Sedimento			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
Mn	-	-	-	-	0,0011	0,0027	0,00048	0,0013
Zn	3,85	1,45	2,02	1,45	0,041	0,027	0,022	0,027
Pb	-	-	-	-	0,0013			
Ni	-	-	-	-	0,0005	0,00027	0,0014	0,0004
Cd	0,01	0,0034	0,0035	0,013	0,0016	0,00059	0,0006	0,0022
Cu	4,92	0,37	2,67	0,22	0,25	0,028	0,14	0,016
Cr	-	-	-	-	0,001	0,0011	0,001	0,0015
Fe	0,28	0,16	0,16	0,28	-	-	-	-
Al	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: O hífen (-) significa que não foram calculados o FBA por serem nulos ou ausentes um dos valores de concentração usados para o cálculo. TRD: tilápia do rio Doce; TRP: tilápia do rio Piranga; CRD: cará do rio Doce; CRP: cará do rio Piranga. Mn: manganês; Zn: Zinco; Pb: chumbo; Ni: níquel; Cd: cádmio; Cu: cobre; Cr: cromo; Fe: Ferro; A: alumínio.

### 3.4 Biometria Corporal e Gonadal

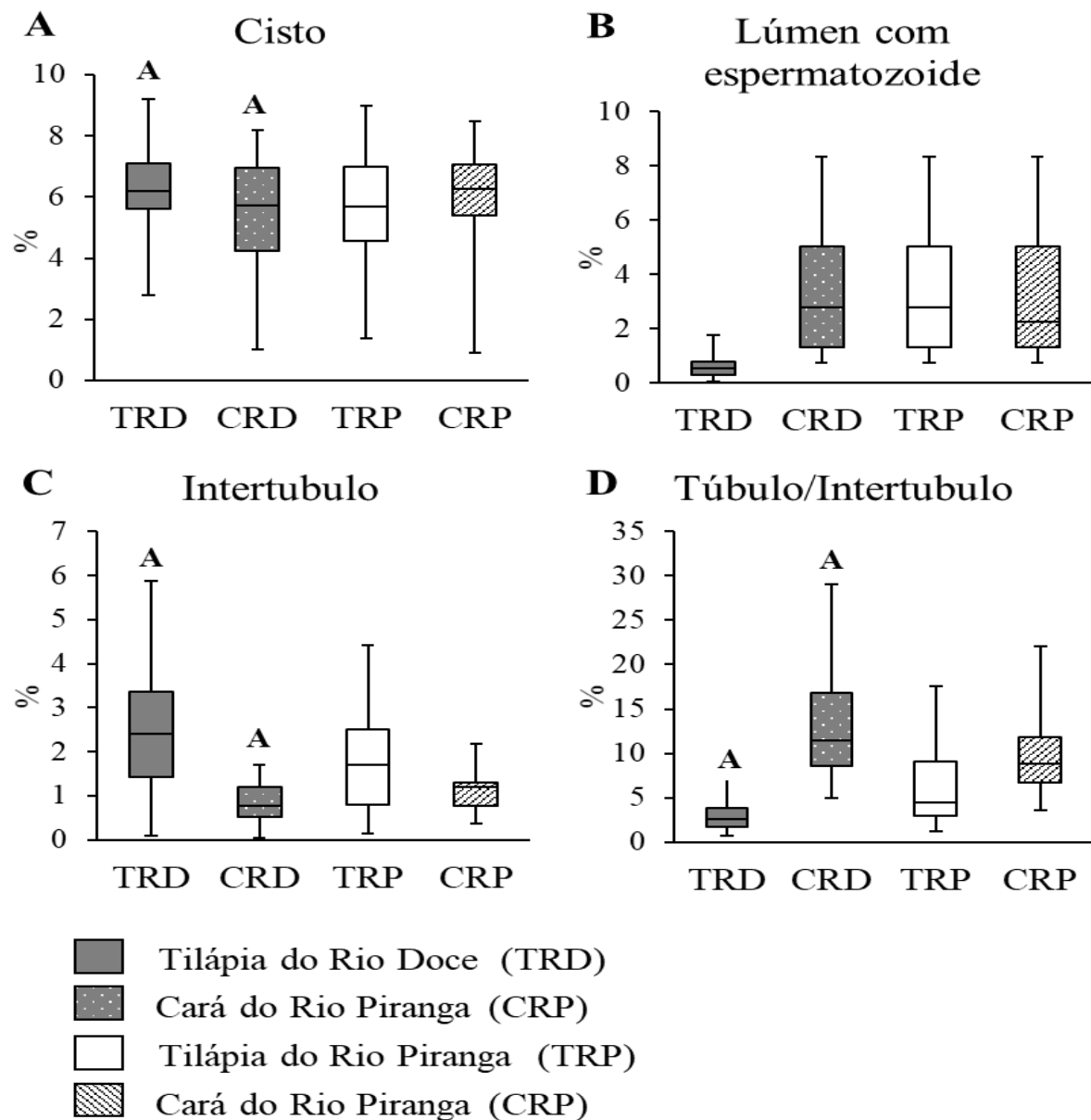
Os dados biométricos das espécies analisadas se encontram no Gráfico 5. Entre os grupos TRD e TRP, observou-se valores significativamente maior para peso corporal, comprimento padrão, peso gonadal e comprimento gonadal para o grupo TRD. Quando avaliado o IGS (Índice Gonadossomatico), o grupo TRD apresentou índice menor que o grupo TRP. O grupo CRD apresentou maior peso corporal e menor IGS, quando comparado ao grupo CRP.



**Gráfico 5:** Biometria gonadal de machos de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga coletados três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ ,  $n = 15/\text{grupo}$ . Valores representados em mediana, 1º quartil (25%), 3º quartil (75%) e valores máximo e mínimo.

### 3.5 Histologia do Testículo

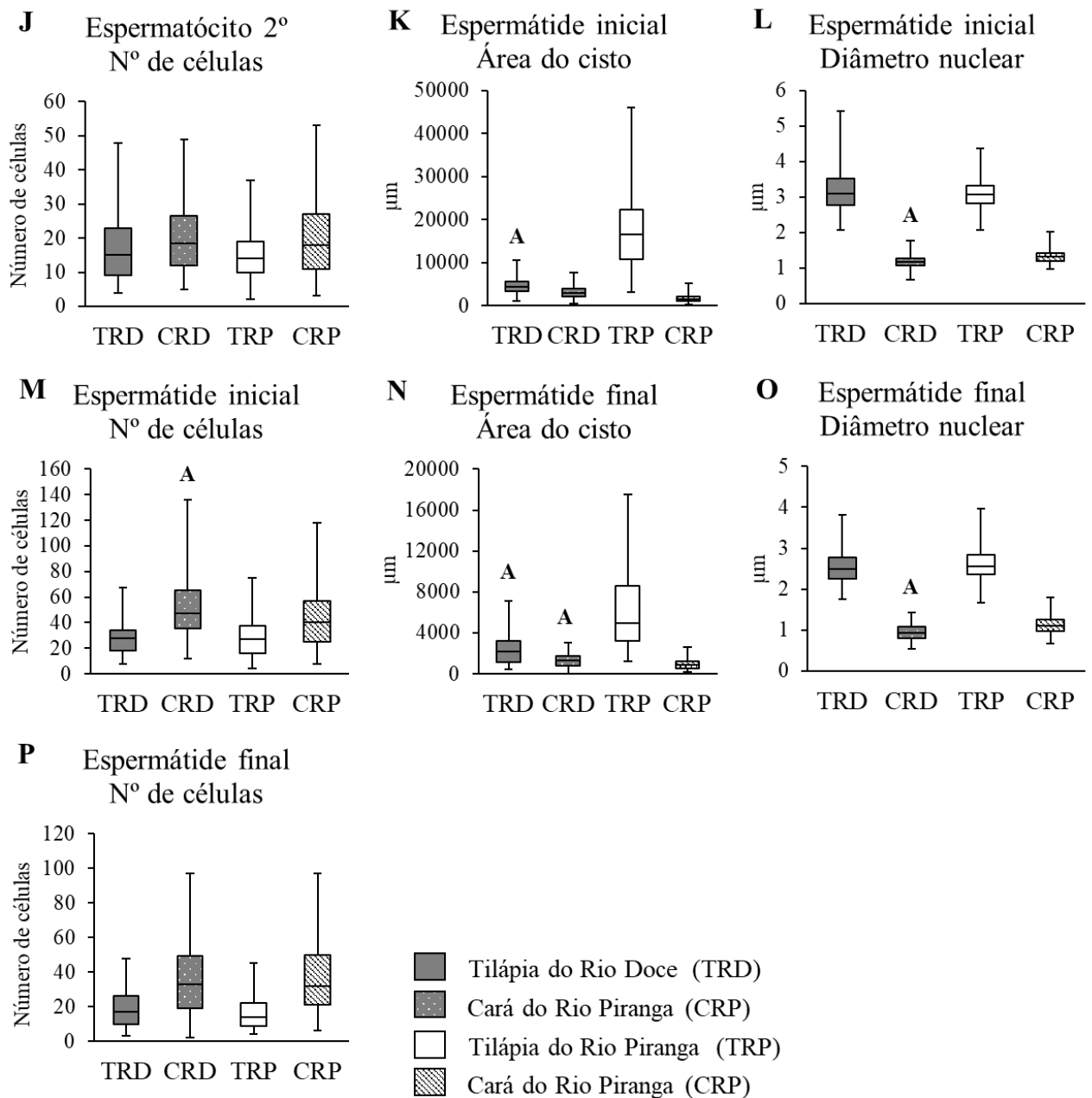
A composição testicular das espécies analisadas está ilustrada no Gráfico 6. Em TRD foi observado maior porcentagem de intertúbulo e menor porcentagem de lúmen com espermatozoide e proporção túbulo/intertúbulo, quando comparado com TRP. A proporção de túbulo/intertúbulo foi maior em CRD e a porcentagem de cisto e intertúbulo foram menores no mesmo grupo, quando este era comparado com CRP.



**Gráfico 6:** Constituição do tecido testicular e densidade de espermatozoides de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Valores representados em mediana, 1º quartil (25%) e 3º quartil (75%), máximo e mínimo.

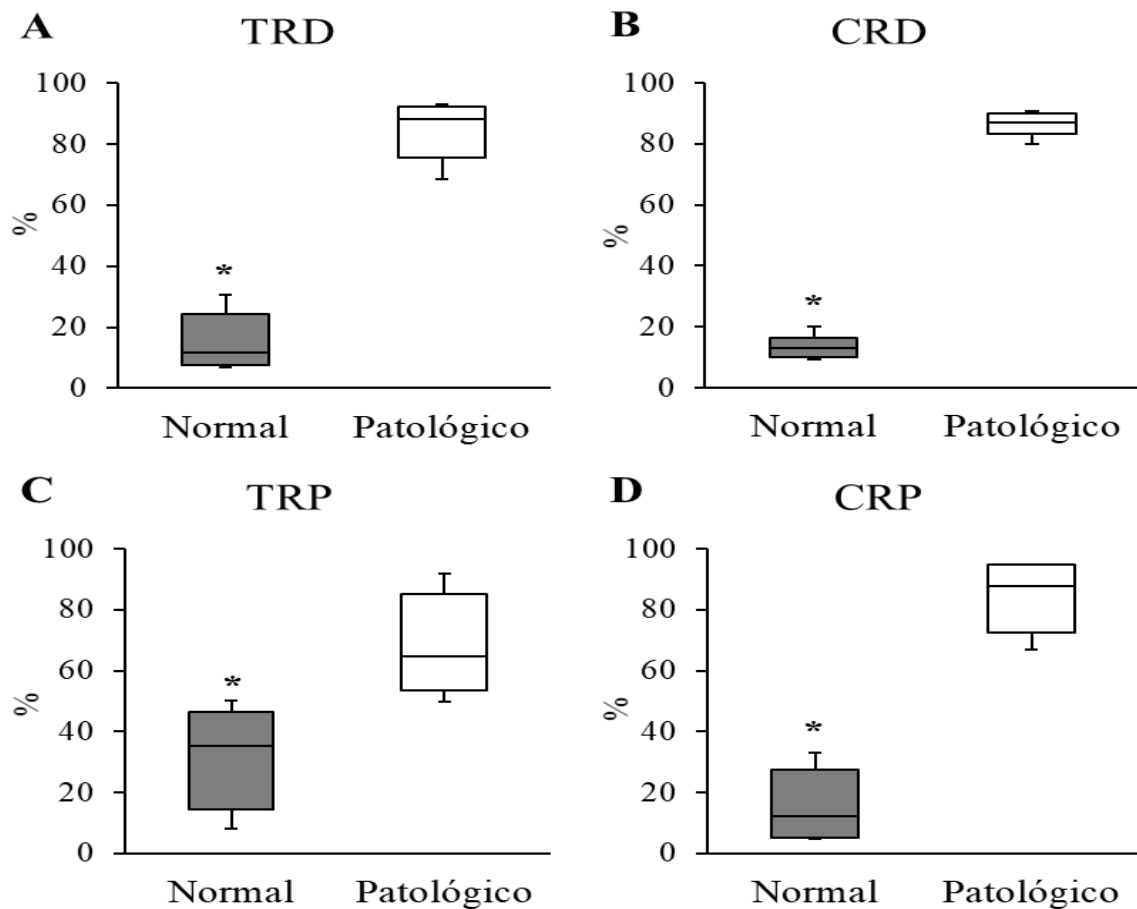
Os estádios celulares dos cistos testiculares e seus parâmetros estão ilustrados no Gráfico 7. Entre TRD e TRP foi observado diâmetro nuclear significativamente maior nas espermatogônias 1 e 2 do grupo TRD e a área do cisto foi menor em todos os estádios celular. Não foi encontrado diferença significativa para o número de células no cisto entre os grupos TRD e TRP. Em CRD quando comparado com CRP, apresentou número de células no cisto significativamente maior nos estádios de espermatócito e espermátide inicial. O diâmetro nuclear na espermatogônia 1 também estava maior, contudo, nas espermátides inicial e final ele





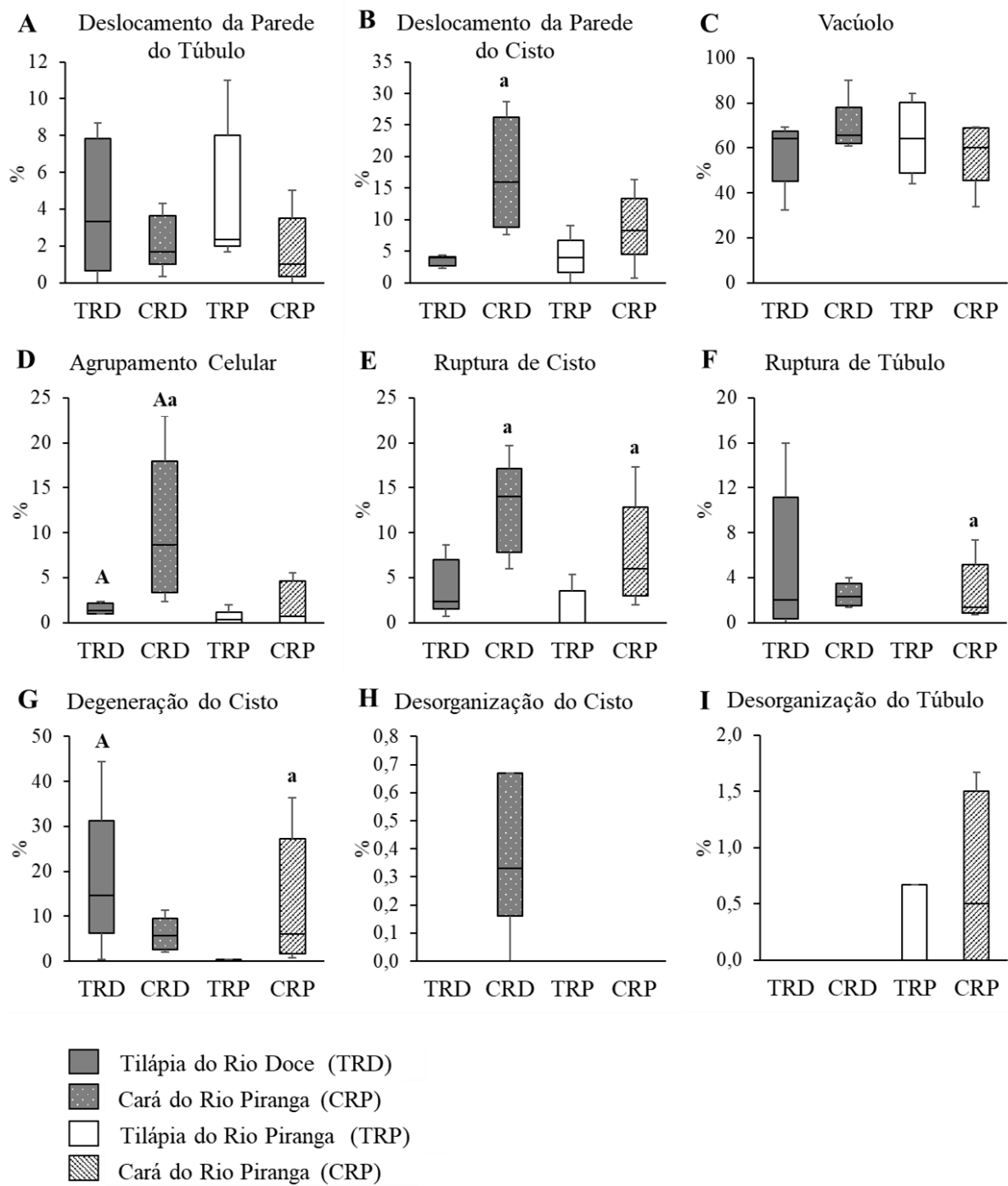
**Gráfico 7:** Medidas dos cistos espermáticos nos estágios de espermatogônia 1 e 2, espermatócitos e espermatídes de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Valores representados em mediana, 1º quartil (25%), 3º quartil (75%), máximo e mínimo.

As patologias observadas nos testículos das espécies analisadas estão apresentadas no Gráfico 8 e Figura 1. Todos os quatro grupos avaliados apresentaram diferença significativa entre a porcentagem de cistos normais e patológicos. Sendo que os cistos patológicos se mostraram aumentados em comparação com os cistos normais.

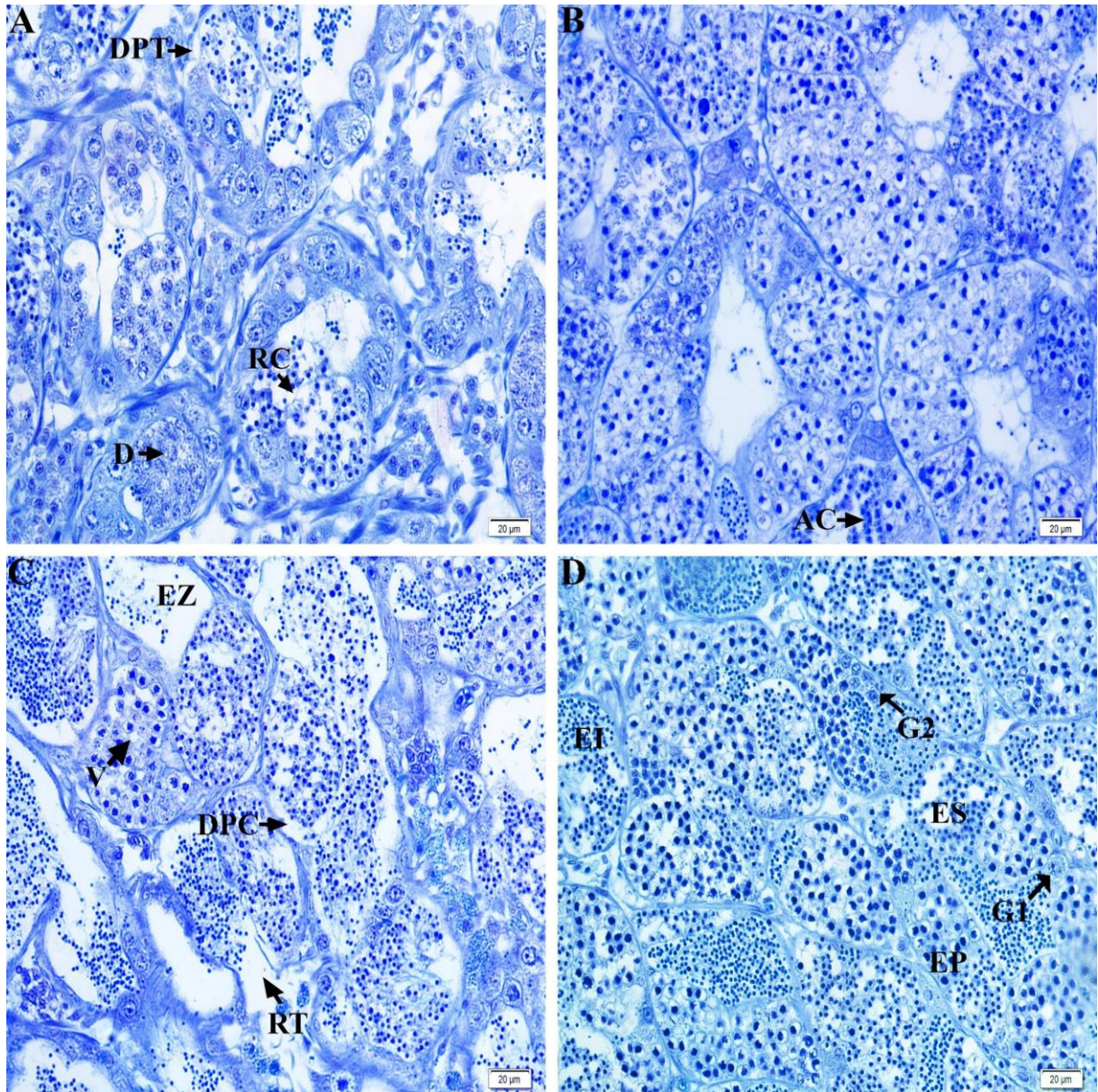


**Gráfico 9:** Percentual de cistos normais e patológicos em Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG. O símbolo “\*” indica diferença significativa entre cistos normais e patológicos, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Valores representados em mediana, 1º quartil (25%), 3º quartil (75%), máximo e mínimo. TRD: tilápia do rio Doce; TRP: tilápia do rio Piranga; CRD: cará do rio Doce; CRP: cará do rio Piranga.

Entre os grupos CRD e TRD avaliou-se maior porcentagem das patologias deslocamento da parede do cisto, agrupamento celular e ruptura de cisto no grupo CRD, patologias do tipo I, II e III respectivamente. No grupo CRP foram observadas maior porcentagem de patologias do tipo III, sendo, ruptura de cisto e túbulo e degeneração do cisto, quando este era comparado com o grupo TRP. Entre os grupos TRD e TRP, observou-se porcentagem significativamente maior de degeneração do cisto, patologia do tipo III, no grupo TRD. Em CRD a patologia do tipo II, agrupamento celular, esteve significativamente maior, quando este grupo foi comparado ao CRP.



**Gráfico 10:** Frequência de patologias no testículo de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga, três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG. n = 4500 cistos por grupo. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes e letra “a” indica diferença significativa entre espécies diferentes do mesmo rio, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Valores representados em mediana, 1º quartil (25%), 3º quartil (75%) e valores máximo e mínimo.

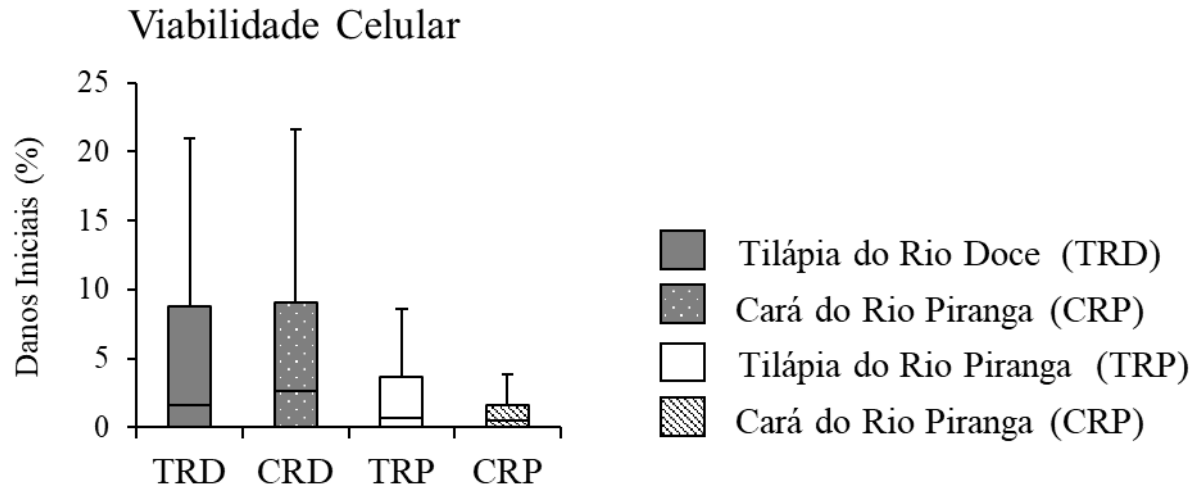


**Figura 1:** Cortes histológicas do testículo de tilápia e cará coletados no rio Doce e rio Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG (coloração azul de toluidina). A) Testículo de tilápia do rio Doce. B) Testículo de tilápia do rio Piranga. C) Testículo de cará do rio Doce. D) Testículo de cará do rio Piranga. AC: Agrupamento celular; D: Degeneração do cisto; DPC: Deslocamento da parede do cisto; DPT: Deslocamento da parede do túbulo; EI: Espermátide inicial; ES: Espermatócito secundário; EP: Espermatócito primário; G1: Espermatogônia primária (A); G2: Espermatogônia secundária(B); RC: Ruptura do cisto; RT: Ruptura de túbulo; EZ: Espermatozoide; V: Vacúolo.

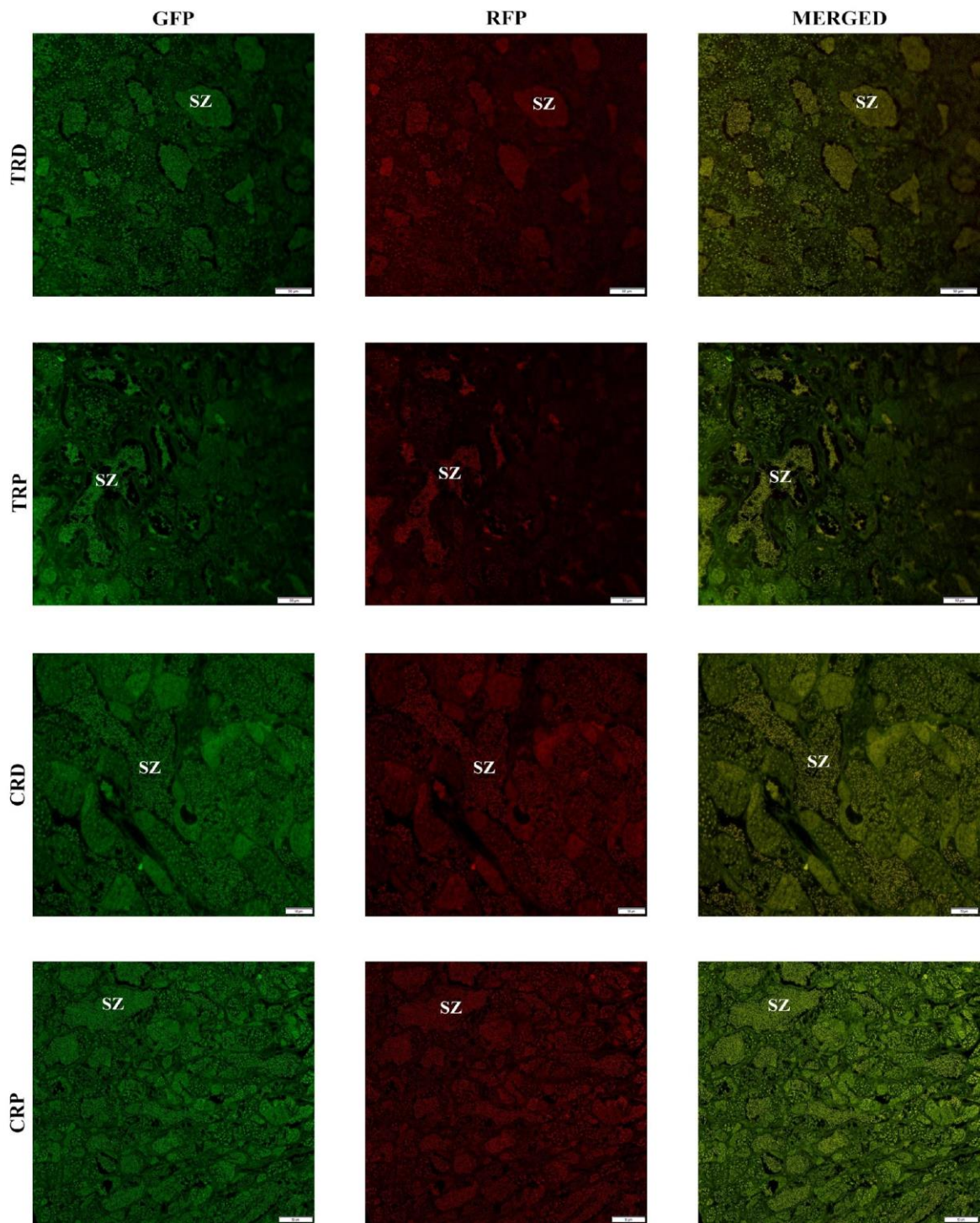
### 3.6 Viabilidade Celular

O Gráfico 11 apresenta os dados de viabilidade celular. Foram observadas apenas células amarelas nos quatro grupos analisados, indicando início de danos ao DNA das células germinativas. Observou-se porcentagem significativamente maior apenas no grupo CRD,

quando comparado ao grupo CRP. Para os outros grupos não foram encontradas diferenças significativas.



**Gráfico 11:** Viabilidade celular do testículo de Tilápia do Nilo e Cará dos rio Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes e letra “a” indica diferença significativa entre espécies diferentes do mesmo rio, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ ,  $n = 15$  animais/grupo. Valores representados em mediana, 1º quartil (25%), 3º quartil (75%), valor máximo e mínimo.

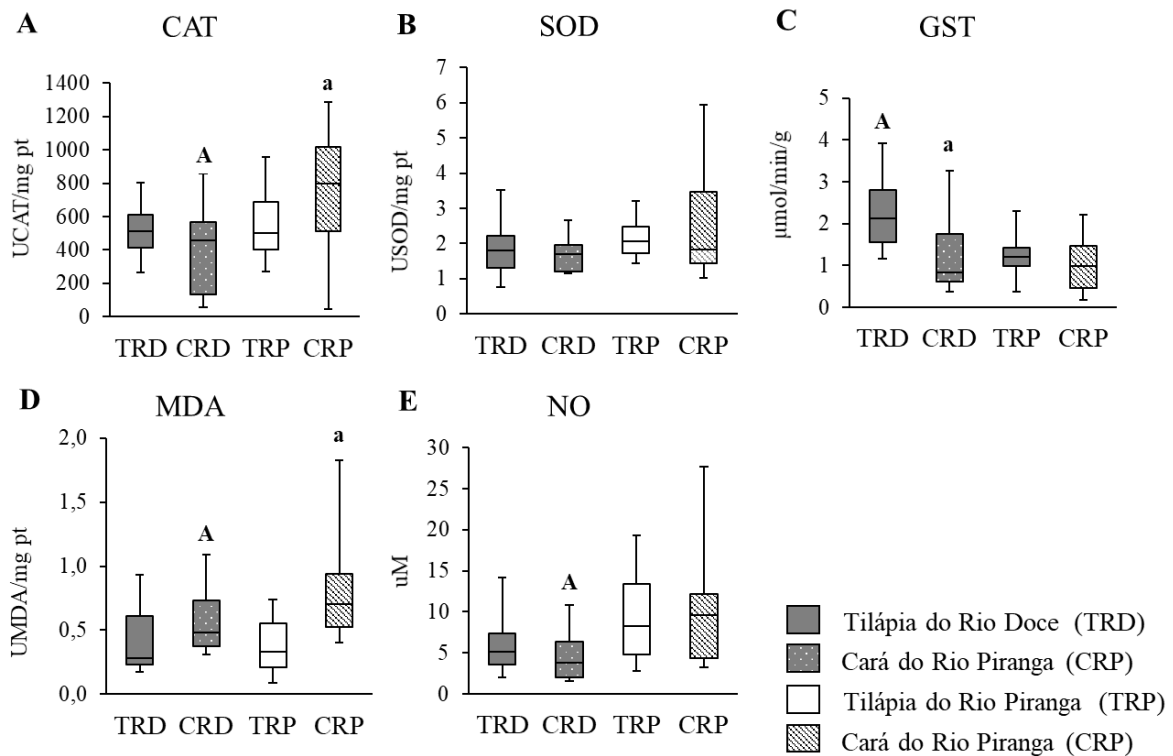


**Figura 2:** Cortes histológicos evidenciando a viabilidade celular do testículo de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG. Laranja de acridine e Iodeto de propídio, dupla marcação para detecção de morte celular. Filtros GFP - *green fluorescent protein* e RFP – *red fluorescent protein*; *Merged* - Sobreposição das imagens. Em *Merged*, as células viáveis são marcadas em verde e as células com danos iniciais no DNA são marcadas em amarelo. TRD: Tilápia do rio Doce; TRP: Tilápia do rio Piranga; CRD: Cará do rio Doce; CRP: Cará do rio Piranga. SZ: espermatozoide. Barra: 50µm.

### 3.7 Status Oxidativo

O Gráfico 12 apresenta os dados de do status oxidativo. O grupo CRD apresentou concentração significativamente menor para a enzima GST, quando comparado ao grupo TRD. Já para o grupo CRP quando comparado com TRP, observou-se maiores concentrações para o biomarcador de estresse oxidativo, malondialdeído (MDA) e a enzima de primeira linha, CAT.

Comparando os grupos TRD e TRP, o grupo TRD apresentou maior concentração para a enzima GST. Entre CRD e CRP, observou-se para CRP, maiores concentrações dos biomarcadores de estresse oxidativo, MDA e NO; e maior concentração da enzima CAT. Não observou diferença significativa entre os grupos para a enzima SOD.



**Gráfico 12:** Atividade de enzimas antioxidantes e concentração de produtos de oxidação em testículo de Tilápia do Nilo e Cará coletados nos rios Doce e Piranga três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG. Letra “A” indica diferença significativa entre as mesmas espécies de rios diferentes e letra “a” indica diferença significativa entre espécies diferentes do mesmo rio, pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ ,  $n = 15$ /grupo. Valores representados em mediana, 1º quartil (25%), 3º quartil (75%), valores máximo e mínimo.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Metais Pesados e Análises da Água

No presente estudo, não foi observado diferença significativa entre os metais pesados nas áreas analisadas (Gráfico 1), contudo, ao compararmos com dados oficiais é possível perceber valores acima do permitido pela legislação brasileira (Resolução CONAMA 357/2005) para cobre em ambos os rios. Além, de valores para cobre, ferro, cádmio e alumínio acima do encontrado pela série histórica e nas análises realizadas pelo IGAM em janeiro de 2019 no rio Doce (IGAM, 2020).

O aumento da concentração de metais pesados na água do rio Doce, pode ser devido ao período de coleta do material, que ocorreu em período chuvoso, Yabe (1998) encontrou em seu estudo, no ribeirão Cambé-Pr, concentrações mais altas de metais pesados em amostras de água coletadas em período chuvoso, demonstrando uma maior disponibilidade desses metais pesados. É também relevante destacar, que além de ter recebido uma alta carga de rejeitos de minério, o rio Doce também é afetado por poluição de outras fontes antrópicas, como dejetos de indústrias e atividades agrícolas (COSTA et al., 2020; DIAS et al., 2018). Outro fator importante para essa constatação é a composição do rejeito de minério, que era basicamente ferro e manganês, sendo que outros metais como zinco, chumbo, cobre e alumínio estariam presentes apenas como elementos traços, não sendo possível sua elevação, às concentrações altas, nos cursos d'água em razão da invasão dos rejeitos. (BEZERRA, 2017; COSTA et al., 2020; DIAS et al., 2018; SILVA et al., 2006).

Goulart (2008) ao analisar a qualidade da água do alto do rio Piranga, no período de setembro de 2006 a março de 2007, encontrou concentrações de manganês e zinco 159 e 518 vezes mais alta, respectivamente, que as encontradas no presente estudo; e para alumínio e cobre o aumento aproximado foi de 18 e 5 vezes, respectivamente. A presença desses metais pesados no rio Piranga pode ser associada à atividade antrópica no curso do rio. O rio Piranga recebe uma intensa descarga de lançamento de esgoto tratado ou *in natura*, o que compromete a qualidade da água e torna sua utilização limitada (MELO, NEPOMUCENO, 2016). Esses elementos também estão relacionados com atividades do setor industrial e do agronegócio.

Quando analisados os parâmetros da água, oxigênio dissolvido, pH e temperatura, não se encontrou diferenças significativas entre os grupos (Gráfico 2). Entretanto observou-se concentrações mais baixas de oxigênio dissolvido nos rios analisado, quando comparados com valores de referências determinados pela legislação brasileira (Resolução CONAMA 357/2005). São muitos os fatores que podem influenciar o teor de oxigênio dissolvido, como salinidade, disponibilidade de matéria orgânica e altitude, entretanto, um fator que pode ter uma maior influência é a oxidação abiótica de substâncias com íons metálicos, como o ferro (FIORUCCI, 2005). Ambos os rios apresentaram concentrações de ferro dentro dos valores de referência, entretanto, o ferro foi o metal pesado com concentração mais altas encontrados tanto no rio Doce quanto no rio Piranga (Gráfico 1A). O pH de ambos os rios estava dentro dos valores estabelecidos pela legislação. E não há para a temperatura valores de referência estabelecidos pela legislação, uma vez que a temperatura varia nos diferentes corpos de água, em função de flutuações sazonais, sendo influenciada pela latitude, altitude, época do ano, hora do dia e profundidade da água (ESTEVES, 1998).

#### *4.2 Metais Pesados no Sedimento*

No presente estudo, não foi observado diferença significativa entre os metais pesados nas áreas analisadas (Gráfico 3). Além, também foi observado concentrações mais baixas dos metais pesados no presente estudo, quando estes foram comparados com os valores encontrados por IGAM (2020) em janeiro de 2019.

A redução na concentração desses metais no sedimento do rio Doce também foi encontrada em outros estudos ao longo do rio, uma vez que essas concentrações foram significativamente mais altas em locais mais próximos ao do rompimento da barragem, sendo esses valores gradativamente reduzidos à medida que a lama foi sendo carregada para a foz do rio (LACTEC, 2018). A queda na concentração desses elementos no sedimento também pode ser relacionada com a diluição da pluma de sedimento e com a restauração em parte dos processos de adsorção e dessorção, processos estes que regulam a mobilidade dos metais em ambientes aquáticos (ICMBio, 2016; LACTEC, 2018; UFES, 2016a, b, 2017).

Apesar dessa redução, ainda existe uma grande preocupação com esse material, devido à granulometria fina do sedimento, pois os contaminantes se associam facilmente a essas partículas, em consequência das características de ligações químicas que estas propiciam

(JUNCÁ et al., 2017; PIRES et al., 2003; SEGURA et al., 2016; UFES, 2016b, 2017). Assim, quando esses metais são incorporados nos sedimentos, eles se tornam biodisponíveis facilitando sua absorção pelos organismos. O sedimento não só acumula esses elementos, mas também faz o papel de reposição, redistribuição e disponibilização destes para a coluna de água e para a biota aquática, sendo fonte de poluição no ambiente aquático (IBAMA, 2015; JUNCÁ et al., 2017; MAIA, 2017; SOUZA et al., 2015).

Maia (2017) comparou a qualidade do sedimento dos dois rios em questão, rio Doce e rio Piranga, e observou maiores concentrações de cádmio e chumbo no rio Piranga. No presente estudo a concentração de cádmio também foi superior no rio Piranga. A contaminação do rio Piranga se dá principalmente por atividades industriais e agropecuárias, que são responsáveis pelo lançamento de contaminantes contendo principalmente chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco, que estão presentes em produtos agrícolas como fertilizantes. Além das atividades industriais e agrárias, observa-se uma grande descarga de efluente doméstico tratado ou *in natura*, contribuindo com o aumento da concentração desses poluentes inorgânicos no ambiente aquático e conseqüentemente aumentando a incorporação ao sedimento (MELO, NEPOMUCENO, 2016; LACERDA, ROESER, 2014).

#### 4.3 Metais Pesados no Testículo

Comparando as espécies do mesmo rio, foi observado para cádmio, maior concentração em CRD do que em TRD (Gráfico 5F). Em peixes os estudos com cádmio mostram, de maneira geral, alterações morfológicas e hormonais, como a redução do nível esteroide e alterações espermáticas, redução do sucesso reprodutivo, mortalidade embrionária, desenvolvimento de deformidades, ocorrência de núcleos picnóticos, degeneração de elementos da espermatogênese, infiltrado sanguíneo, desorganização dos lóbulos e apoptose (BROWN et al., 1994; CHENG et al., 2000; EL-REFAIY, EISSA, 2013; MIGLIARINI et al., 2005; RODRIGUES, 2019).

Para mercúrio, foi observado maior concentração em CRP quando comparado com TRP. Os grupos CRD e TRD apresentaram menor concentração deste metal, quando comparados com CRP e TRP respectivamente (Gráfico 5I). Pesquisas com mercúrio mostram que ele tende a se acumular nos testículos mesmo em pequenas quantidades, quando a exposição ocorre de

maneira prolongada e crônica, aumentando o risco de desenvolvimento de alterações reprodutivas. A ação do mercúrio neste órgão pode inibir o desenvolvimento e a atividade gonadal, reduzir o crescimento e a função imunológica, o que pode afetar a sobrevivência da prole. (DEY, 1989; NIIMI, KISSOON, 1994; RODRIGUES, 2019; WEIS, KHAN, 1990).

Concentrações significativamente mais altas, para o cobre e cobalto, foram observadas no grupo TRD quando comparado ao TRP (Gráficos 5G e J). Para o metal ferro foi analisado que os grupos CRD e CRP tiveram valores significativamente mais altos aos grupos TRD e TRP, respectivamente (Gráfico 5A). Ao avaliar o metal pesado cromo, concentrações mais altas foram encontradas em CRD, quando comparado ao TRD (Gráfico 5H). E apenas no grupo TRD foi encontrado chumbo. Alguns estudos demonstram o surgimento de patologias nos testículos de peixes expostos a metais pesados. Em *Odontesthes bonariensis* após a exposição ao cobre na concentração de 2.49 µg/L, observou-se a presença de núcleos picnóticos nos cistos espermatogênicos (ITO et al., 2003, 2008; GÁRRIZ et al., 2017). Ao expor machos adultos de *Astyanax aff. Bimaculatus* a 3 e 20 mg/L de zinco, Santos et al (2015) encontraram ruptura nas paredes dos cistos espermáticos. Um estudo com *Girardinichthys viviparous* demonstrou que a presença dos elementos Cu, Fe, Mn, Pb e Zn em conjunto leva a alterações em gonadotropinas e estradiol (OLIVARES-RUBIO et al., 1999). Sabe-se que a interação de vários metais desencadeia processos danosos ainda mais graves ao sistema reprodutor, devido ao sinergismo de efeitos causados por eles (DRIESSNACK et al., 2017; RODRIGUES, 2019; ZHENG et al., 2019).

Os metais zinco, cádmio, cobre, cromo e mercúrio nos grupos avaliados apresentaram concentrações acima do permitidos pela legislação brasileira (Resolução da ANVISA 42/2013 e Decreto 55871/65) em órgãos de pescado. Todos os grupos apresentaram valores de cádmio e cromo acima do preconizado pela legislação. Para zinco foi observado concentrações acima em CRD e CRP; e para cobre nos grupos TRD, CRD e TRP. O elemento mercúrio teve sua concentração acima do recomendado nos grupos CRD, TRP e CRP. Os metais ferro, manganês e cobalto não apresentam valores máximos estabelecidos pela legislação.

A presença de metais pesados em altas concentrações em espécies de peixes do rio Doce podem ser associadas a contaminações que ocorreram ao longo dos anos, incluindo o recebimento de alta carga de rejeitos de minério proveniente do rompimento da barragem de

rejeitos de minério. Apesar desse rejeito ser classificado como não perigoso e inerte (NBR 10.004 da ABNT, 2004), por ser composto basicamente de óxido de silício, óxido de ferro e óxido de alumínio (SAMARCO, 2016; SILVA et al., 2016). Contudo, esse material possui altos níveis de goethita, que apresenta alta capacidade de complexação, adsorção e retenção de metais pesados, tornando-os mais biodisponíveis (PIRES et al., 2003).

O rio Piranga apesar de não ter recebido em seu curso material proveniente do rompimento da barragem, as espécies de peixes analisadas continham também altas concentrações de metal pesado. Este rio recebe carga considerável de poluentes das mais diferentes naturezas, como de atividades minerárias, industriais e agropecuárias, que são intensas nas regiões de estudo, e descargas *in natura* de esgotos domésticos (LACTEC, 2018). É constatado que atividades agrícolas com uso de produtos químicos, como fungicidas, praguicidas e herbicidas que contêm cobre, zinco, ferro, manganês e arsênio, além da correção do solo e da produção de fertilizantes com rochas fosfatadas com presença de cádmio, são as maiores fontes de contaminação para solos agrícolas (COSTA et al, 2020).

A presença de metais nos ecossistemas aquáticos tem diversas consequências, sendo a bioacumulação um dos mais agravantes, uma vez que os metais se acumulam nos organismos por meio da exposição direta ao sedimento ou água, ou progressivamente pela cadeia trófica, por meio da assimilação via alimentação (LAWS, 1993) Os sedimentos são excelentes reservatórios ou fontes de metais e de outras substâncias químicas, são considerados substratos para uma grande variedade de organismos que vivem na água (CHAPMAN, 1990). Existe liberação de metais dos sedimentos para os corpos d'água, podendo haver um enriquecimento destes constituintes nestes sistemas, tornando-os biodisponíveis, ou seja, capazes de serem incorporados por organismos (FÖRSTNER, 1983). A biodisponibilidade dos metais no sedimento ou compartimentos abióticos é a fração da concentração de metal total que pode ser assimilada pelos organismos (SALOMONS, FÖRSTNER, 1984).

Avaliando o fator de bioacumulação, observou-se que o zinco e cobre foram os metais mais bioacumulados no testículo e são também um dos metais em concentrações mais altas nesse órgão. O zinco na maioria dos grupos ficou entre os três metais com maiores concentrações no testículo e se manteve como um dos metais mais bioacumulados, o que pode estar relacionado com o fato do zinco ser um dos mais importantes elementos traço para o crescimento dos animais, sendo o metal mais utilizado como cofator enzimático, além de

participar de vias metabólicas que envolvem a síntese de proteínas e o metabolismo de carboidratos, lipídios e ácido nucleicos assim como da divisão celular, expressão genética e outros processos biológicos fundamentais. No entanto, o zinco se torna tóxico quando em concentrações elevadas (EISLER, 1993; SUN, 2005).

#### *4.4 Biometria Corporal e Gonadal*

Os dados biométricos do corpo e gônadas das espécies analisadas se encontram no Gráfico 5. Embora tenha sido encontrada variação no tamanho dos animais e nas gônadas (Figura e Gráfico 1), todos os peixes coletados eram adultos, o que foi certificado pelas análises macro e microscópica dos testículos. De acordo com Bazzoli (2003), testículos maduros de teleósteos mostram coloração branca leitosa e, histologicamente, apresentam cistos com células da linhagem germinativas em diferentes fases de desenvolvimento, o que foi observado nos peixes analisados. As espécies do grupo TRD e CRD apresentaram peso corporal significativamente superior. O grupo TRD também apresentou comprimento padrão e gonadal.

Apesar do grupo TRD apresentar peso gonadal superior ao grupo TRP, seu IGS foi menor. O grupo CRD, também apresentou IGS reduzidos em relação ao CRP (Gráfico 1A e C). O IGS representa a porcentagem do peso corporal alocado nas gônadas (KENAGY, TROMBULAK, 1986). Estudos mostram que o peso do testículo está diretamente relacionado com a produção espermática diária e a reserva espermática (BATH, CHAUDHARI, 2002; FRANÇA, RUSSELL, 1998). A redução do IGS nos grupos do rio doce pode ser reflexo de danos morfológicos ao tecido e da diminuição na formação ou armazenamento de fluidos testiculares (CRUMP, TRUDEAU, 2009).

#### *4.5 Histologia do Testículo*

A composição testicular das espécies analisadas está ilustrada no Gráfico 6. Foi observado no grupo TRD uma menor porcentagem de lúmen com espermatozoides (Gráfico 6C). Mousa (1999) relacionou a diminuição da atividade do eixo hipofisal-gonadal com a diminuição do volume de espermatozoides em tilápias expostas a chumbo (0,004 ml/L), este metal pesado foi encontrado apenas no grupo TRD. O zinco, em concentrações tóxicas, também já foi associado com a indução a apoptose de células germinativas e subsequente redução na quantidade de espermatozoides viáveis (SANTOS, 2015). Assim, é possível inferir que a redução de espermatozoides presentes no lúmen nesse grupo, pode ser devido a ação tóxica do

chumbo, que em sinergia com outros metais pesados, como o zinco, presentes nas gônadas, leva a alterações no tecido testicular e em atividades neurais relacionadas ao órgão reprodutor masculino.

O grupo CRD apresentou menor porcentagem de cistos e intertúbulo, quando comparado ao grupo CRP. No grupo TRP também se observou menor porcentagem de cisto e intertúbulo, quando este foi comparado ao grupo TRD (Gráficos 6A e B). Um estudo com *Astyanax aff. bimaculatus* exposto a concentrações entre 5-20 mg/L<sup>-1</sup> de zinco demonstrou redução no número de cistos e intertúbulo (CONDESSA, 2009). Em ambos os grupos o fator de bioacumulação de metais pesado no testículo através da água e sedimento, foi maior para o metal zinco. Sendo possível evidenciar a ação tóxica deste metal pesado para a constituição testicular. O zinco em concentrações determinadas é considerado essencial para o desenvolvimento do organismo, o que promove uma maior afinidade do organismo a incorporação deste metal, contudo, quando passa a ser bioacumulado em tecidos, pode vir a provocar tais alterações na morfologia e fisiologia (SUN, 2005).

Os estádios celulares dos cistos testiculares e seus parâmetros estão ilustrados no Gráfico 7. O grupo TRD e o CRD apresentaram maior diâmetro nuclear, no grupo TRD também se observou menor área de cisto, assim, como em CRP. Alguns estudos demonstram estas mesmas alterações morfológicas em testículos de peixes expostos a combinação de uma série de metais pesados, em concentrações dentro do estabelecidos pela legislação brasileira. Gárriz et al (2018) ao expor *Odontesthes bonariensis* a uma mistura dos metais cádmio (0.23 [g/L), cromo (4.28 [g/L), cobre (22.09 [g/L) e zinco (210.76 [g/L), observaram redução na área dos cistos espermáticos. Essa redução foi relatada também por Vergilio et al (2015) ao expor *Gymnotus carapo* a concentrações crescentes de 5–40 [M de cádmio. A concentração do cádmio no rio Doce e Piranga foi 26 vezes maior e a do cobre (RD: 21 [g/L e RP: 22 [g/L) esteve semelhante com a do estudo de Gárriz et al (2018).

O grupo CRD apresentou maior número de células presentes no cisto, quando comparados ao grupo CRP. Tal observação também foi encontrada em *Oreochromis miloticus*, após ser exposta a 70.32 e 143.78 µg/L (LUO et al, 2015) e *Xiphophorus helleri* a 100 e 500 µg/L (YON et al, 2015) ao cádmio. Essa resposta é associada a um aumento da transcrição de genes relacionados a replicação de células germinativas em animais expostos ao cádmio (GÁRRIZ, 2018). O grupo CRD foi exposto a concentrações menores de cádmio na água (6 µg/L) e sedimento (55 µg/L).

Assim, pode-se inferir que não é necessário expor os animais a grandes concentrações de metal pesado para provocar alterações em sua morfologia. Além, desses metais pesados não serem encontrados sozinhos, é de conhecimento que a interação entre diferentes metais pesados pode ocasionar magnificação dos danos morfológicos (SANTOS, 2015). Muitas dessas concentrações de metais pesados estão dentro do permitido pela legislação brasileira. Demonstrando que os valores de referência estabelecidos pela legislação brasileira não são considerados seguros para a ictiofauna, podendo provocar alterações morfológicas que impactam em seu sucesso reprodutivo e conseqüentemente na manutenção da população no meio ambiente.

As patologias observadas nos testículos das espécies analisadas estão apresentadas no Gráfico 8. Todos os quatro grupos avaliados apresentaram diferença significativa entre a porcentagem de cistos normais e patológicos. Sendo que os cistos patológicos se mostraram aumentados em comparação com os cistos normais.

O grupo CRD apresentou porcentagem significativamente maior para as patologias deslocamento da parede do cisto, ruptura de cisto e grupamento celular. A presença de agrupamentos celulares demonstra alterações durante o processo de divisão celular (SANTOS et al, 2015). Santos et al (2015) ao expor *Astyanax aff. bimaculatus* a concentrações de 10, 15 e 20 mg/L de zinco também observou essas patologias. A maior concentração de zinco (128.959 µg/Kg) nas gônadas, sendo quase 3 vezes a cima da permitida pela legislação, foi detectada justamente nos animais do grupo CRD.

Os grupos TRD e CRP mostraram ter mais células em degeneração, patologia essa de nível III. Esses mesmos grupos tiveram ocorrência de vacuolização nas células germinativas (Gráficos 8H e D; Figuras 2A, B e D). A vacuolização em estágios mais avançados indica que as células estão em processo de necrose, se tornando assim células degeneradas que irão sofrer autofagia (SANTOS et al, 2015; VERGILIO et al, 2015). Núcleos picnóticos não foram observados em nenhum dos grupos.

#### 4.6 Viabilidade celular

O Gráfico 9 apresenta os dados de viabilidade celular. Por meio da análise de viabilidade celular foi observada a presença apenas de células amarelas, indicando o início de

danos ao DNA nas células germinativas. No grupo CRD observou-se maior área ocupada pela coloração em amarelo nas células germinativas, quando comparado ao CRP.

Um estudo que analisou células germinativas por meio de microscopia de transmissão revelou danos ao DNA dessas células, após serem expostas a 5  $\mu\text{M}$  de cádmio. Os danos foram se tornando mais acentuados com o aumento das doses para 20 e 40  $\mu\text{M}$  (VERGILIO et al., 2015). Alterações nucleares em células germinativas podem indicar morte por apoptose, sendo que a indução de apoptose em testículos é um evento conhecido após a exposição a diferentes poluentes inorgânicos, como metais pesados. A célula tenta manter a homeostasia em condições normais de crescimento e preservar a viabilidade em condições estressantes (BRECH et al., 2009; DEGENHARDT et al., 2009; LOZY, KARANTZA, 2012; TSUCHIHARA et al, 2009).

#### 4.7 Status Oxidativo

O Gráfico 10 apresenta os dados de do status oxidativo. Foi observado no grupo CRP, maiores concentrações de biomarcadores de estresse oxidativo, MDA e NO, e da enzima de primeira linha, CAT. É sabido que poluentes inorgânicos, como metais pesados, podem levar a um aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs). Dentre os metais pesados, os que causam maior preocupação na indução do estresse oxidativo são o mercúrio e o cádmio. Elementos estes que foram encontrados em maior concentração nos grupos do rio Piranga (Gráficos 5I e F). Quando os organismos estão expostos a esses metais, a produção das EROs ultrapassa a capacidade de neutralização pelas defesas antioxidantes dos organismos, levando ao estresse oxidativo (ERCAL et al., 2001; STOHS, BAGCHI, 1995; VAN DER OOST et al., 2003). O cádmio é capaz de induzir o estresse oxidativo pela ligação a grupos sulfidrilas de proteínas e pela diminuição da concentração da glutathiona (VALKO et al., 2005). E o mercúrio apresenta alta afinidade pela glutathiona reduzida (GSH), uma vez ligado a GSH este elemento pode deixar a célula e depositar-se em outros órgãos ou tecidos (LORSCHIEDER et al., 1995; JOZEFCZAK et al., 2012).

Assim como o presente estudo, outras pesquisas demonstraram aumento nas EROs e nas atividades das enzimas de defesa, após a exposição a poluentes inorgânicos. No sistema reprodutor masculino as EROs podem causar uma série de disfunções que levam à infertilidade (REDDY et al., 2011). Nos espermatozoides, concentrações adequadas das EROs são necessárias para a capacitação, motilidade e fertilidade, entretanto, em desequilíbrio gera perda da motilidade e disfunção das organelas (FALLAHI et al., 2015). Ibrahim et al (2019) encontrou aumento significativo de MDA e NO nos testículos de *Clarias gariepinus* expostos a diferentes

doses de mercúrio, 0,04 e 0,012 ppm, além de redução no número de espermatozoides. O MDA é usado para avaliar a peroxidação lipídica – LPO (STOREY, 1996) e o aumento da LPO pela geração de EROs pode levar a danos significativos à membrana espermática, diminuição da motilidade espermática, necrose e apoptose celular (JEZEK, HLAVATA, 2005; KAUR et al., 2006; KISTANOVA et al., 2009). O NO é uma molécula de sinalização crítica envolvida na resposta de processos inflamatórios (MORALES et al., 2006; RAMYAA et al., 2013).

## **5 CONCLUSÃO**

A partir das análises realizadas neste estudo é possível concluir que os rios Doce e Piranga se encontram em situações semelhantes, quanto à presença de metais pesados. Entre as duas espécies estudadas, tilápia, espécie exótica, e cará, espécies nativa, dos rios Doce e Piranga, foi possível avaliar o cará foi a espécie que mais sofreu com a contaminação dos rios. Ainda, entre os dois rios, o cará do rio Doce foi o que mais se mostrou afetado pelos metais pesados, tendo concentrações mais altas de metais pesados em suas gônadas e ocorrência de mais cistos patológicos, principalmente de níveis I e II, além de uma maior porcentagem de células com danos ao DNA. Quanto à tilápia, o grupo do rio Doce também se mostrou mais afetado que do rio Piranga, cistos patológicos foram mais frequentes nesse grupo, principalmente do tipo III, além de mais células com danos ao DNA.

A comparação entre os rios nos permitiu constatar que os maiores danos ocorreram à ictiofauna do Rio Doce, que além de possuir contaminação histórica, foi diretamente impactado pelo rompimento da barragem em Mariana-MG, cuja lama foi fonte direta e indireta de contaminantes, a curto e longo prazo, com efeitos que repercutem até a atualidade sobre a saúde e reprodução dos peixes. Tendo em vista que as concentrações de metais na água/ sedimento não refletiram o bioacúmulo e danos ao testículo dos peixes, faz-se necessária a revisão dos valores de referência estabelecidos pela legislação, de modo a prevenir os impactos na proliferação e perpetuação das espécies, especialmente do cará que se trata de espécie nativa.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional De Vigilância Sanitária, RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013. Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.

BATH, G.S.; CHAUDHARI, S.U.R. Sperm reserves and its relationship to parameters of the testis, epididymis and vas deferens of local cocks in the Sahel region of Nigeria. *Internacional Journal of Agriculture and Biology*, v.4, p.561-564, 2002.

BAZZOLI, N. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora. In: Godinho HP, Godinho AL (Org.). Águas, peixes e pescadores do São Francisco da Minas Gerais. Belo Horizonte: PUC Minas, p.291-306, 2003.

BELLAY, S.; UEDA, B.H.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.L.P.; PAVANELLI, G.C. Fauna parasitária de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) em reservatórios do estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Biociência*, v.10, n.1, p.74–78, 2012.

BEZERRA, C.G. Caracterização do rejeito de minério de ferro (iot) e avaliação da sua influência no comportamento físico-químico e mecânico de pastas de cimento. 2017. 158p. Dissertação de mestrado. Programa de Engenharia Civil. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 2017.

BRECH, A.; AHLQUIST, T.; LOTHE, R.A.; STENMARK, H. Autophagy in tumour suppression and promotion. *Molecular Oncology*, v. 3, n. 4, p. 366-375, 2009.

BROWN, V.; SHURBEN, D.; MILLER, W.; CRANE, M. Cadmium toxicity to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* walbaum and brown trout *Salmo trutta* L. over extended exposure periods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 29, p.38–46, 1994.

CARVALHO, M.S.; RIBEIRO, K.D.; MOREIRA, R. M.; ALMEIDA, A.M. Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Acta Brasiliensis*, v.1, n. 3, p. 37-41, 2017.

CHAPMAN, P. M. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. *Science of Total Environment*, v. 97, p.815-825, 1990.

CHENG, S.H.; WAI, A.W.K.; SO, C.H.; WU, R.S.S. Cellular and molecular basis of cadmium-induced deformities in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.19, p.3024–3031, 2000.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Publicada no DOU 053, de 18/03/2005.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Nº 454, de 1º de novembro de 2012. Diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional.

CONDESSA, S.S. Toxicidade subcrônica em lambaris *Astyanax aff. bimaculatus* expostos ao zinco. 2009. 119p. Dissertação de Mestrado. Biologia Celular. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. 2009.

COSTA, A. G.; BORGES, A.M.; SOTO-BLANCO, B. Toxic metals and their effects on animal reproduction. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v.14, n. 1, p. 108 – 124, 2020.

CRUMP, K.L.; TRUDEAU, V.L. Mercury-induced reproductive impairment in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 28, p. 895–907, 2009.

DECRETO Nº 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962.

DEGENHARDT, J.; KÖLLER, T.G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, v. 70, p. 1621-1637, 2009.

DEY, S.; BHATTACHARYA, S. Ovarian damage to *Channa punctatus* after chronic exposure to low concentrations of Elsan, mercury, and ammonia. *Ecotoxicology Environmental Safety*, v.17, n. 2, p.247-257, 1989.

DIAS, C. A.; COSTA, A.S.V.; GUEDES, G.R.; UMBELINO, G.J.M.; SOUSA, L.G.; ALVES, J.H.; SILVA, T.G.M. Impactos do rompimento da barragem de Mariana na qualidade da água do rio Doce. *Revista Espinhaço*, v.7, n. 1, p. 21-35, 2018.

DRIESSNACK, M.K.; JAMWAL, A.; NIYOGI, S. Effects of chronic waterborne cadmium and zinc interactions on tissue specific metal accumulation and reproduction in fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 140, p. 65- 75, 2017.

EISLER, R. Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *Contaminant Hazard Reviews Report*, vol. 10, p.126, 1993.

EL-REFAIY, A.I.; EISSA, F.I. Histopathology and cytotoxicity as biomarkers in treated rats with cadmium and some therapeutic agents. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v.20, p.265–280, 2013.

ERCAL, N.; GURER-ORHAN, H.; AYKIN-BURNS, N. Toxic metals and oxidative stress part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v.1, p.529-39, 2001.

ESPINDOLA, H. S.; FERREIRA, N.M.; MIFARREG, I.E.G. Território da mineração: uma contribuição teórica. *Revista Brasileira de Geografia*, v.62, n. 2, p. 67-93, 2017.

ESTEVEZ, F.A. Fundamentos de Limnologia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interciência, 602p, 1998.

FALLAHI, S.; RAJAEI, M.; MALEKZADEH, K.; KALANTAR, S. M. Would phoenix dactylifera pollen (palm seed) be considered as a treatment agent against males infertility? A systematic review. *Electronic Physician*, v.7, n. 8, p.1590-1596, 2015.

FARKAS, A.; SALANKI, J.; SPECZIAR, A. Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream, *Abramis brama* populating lake Balaton. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.43, n. 2, p.236-243, 2002.

FIORUCCI, A. R.; FILHO, E. B. A importância de oxigênio dissolvido em ambientes aquáticos. *Química e Sociedade*, v. 22, p. 10-16, 2005.

FITZSIMMONS, K. Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. *The World Aquaculture Society*, v.2, p. 253-264, 2000.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G. T. W. Metal pollution in the aquatic environment, 2<sup>o</sup>ed., Springer Verlag: Berlin, 1983.

FRANÇA, L.R.; RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA, F. (Ed.). Male reproduction: a multidisciplinary overview. Madrid: Churchill Livingstone, p.197-219, 1998.

GALLI, L.F.; TORLONI, C.E. Criação de tilápias. In: Criação de peixes. 3<sup>o</sup> ed. São Paulo: Nobel, p.74-85, 1986.

GÁRRIZ, A.; DEL FRESNO, P.S.; CARRIQUIRIBORDE, P.; MIRANDA, L.A. Effects of heavy metals identified in Chascomús shallow lake on the endocrine-reproductive axis of pejerrey fish (*Odontesthes bonariensis*). *General and Comparative Endocrinology*, v.273, p. 152-162, 2018.

GÁRRIZ, A.; DELFRESNO, P.S.; MIRANDA, L.A. Exposure to E2 and EE2 environmental concentrations affect different components of the Brain-Pituitary-Gonadal axis in pejerrey fish (*Odontesthes bonariensis*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.144, p.45–53, 2017.

GOULART, R. M. Análise da qualidade da água e dos sedimentos do alto Rio Piranga. 2008. 93p. Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. 2008.

GRAÇA, W.J.; PAVANELLI, C.S. Peixes da planície de inundação do Alto Paraná e áreas adjacentes. *Neotropical Ichthyology*, v.16, n. 2, 2007.

HAYASHI, C. Breves considerações sobre as tilápias In: Curso de piscicultura: criação racional de tilápias. RIBEIRO, R.P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W.M. (Eds.). Maringá: Eduem, p.4, 1995.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Laudo Técnico Preliminar, rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, Mariana – MG, 42p, 2015.

IBRAHIM, A.; BANAE, M.; SUREDA, A. Selenium protection against mercury toxicity on the male reproductive system of *Clarias gariepinus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v.225, p. 1-8, 2019.

ICMBio, Instituto Chico Mendes De Conservação Da Biodiversidade. Relatório de avaliação do impacto da lama/pluma Samarco sobre os ambientes costeiros e marinhos (ES e BA) com ênfase nas Unidades de Conservação - 1a Expedição do Navio de Pesquisa Soloncy Moura do CEPESUL/ICMBio (28 de abril de 2016). Equipe de Pesquisa Universidade Federal do Rio Grande – FURG/Coral Vivo. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, 62p, 2016.

IGAM, Instituto Mineiro De Gestão Das Águas. Encarte especial sobre a qualidade das águas do rio doce após 4 anos do rompimento de barragem de Fundão 2015-2019, 2020.

INSTITUTOS LACTEC. Parecer técnico sobre os aspectos ecotoxicológicos da Bacia do rio Doce. Curitiba, Paraná, Brasil. 57p, 2018.

- ITO, L.S.; YAMASHITA, M.; TAKAHASHI, C.; STRUSSMANN, C.A. Gonadal degeneration in sub-adult male pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) during exposure to warm water. *Fish Physiology Biochemistry*, v.28, p.421–422, 2003.
- JEZEK, P.; HLAVATA, L. Mitochondrial homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v.37, p.2478–2503, 2005.
- JOZEF CZAK, M.; REMANS, T.; VANGRONSVELD, J.; CUYPERS, A. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, v.13, p.3145–3175, 2012.
- JUNCÁ, F. A.; PAVAN, D.; JESUS, T.B.; ETEROVICK, P. Girinos como bioindicadores da qualidade da água do rio Doce. *Relatório Final Greenpeace*, 33p, 2017.
- KAUR, P.; ASCHNER, M.; SYVERSEN, T. Glutathione modulation influences methyl mercury induced neurotoxicity in primary cell cultures of neurons and astrocytes. *Neuro Toxicology*, v.27, n. 4, p.492–500, 2006.
- KENAGY, G.J.; TROMBULAK, S.C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. *Journal of Mammalogy*, v.67, p.1-22, 1986.
- KISTANOVA, E.; MARCHEV, Y.; NEDEVA, R.; KACHEVA, D.; SHUMKOV, K.; GEORGIEV, B.; SHIMKUS, A. Effect of the *Spirulina platensis* induced in the main diet on boar sperm quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*, v. 25, p.547–557, 2009.
- KUBITZA, F. Tilápia: Tecnologia e planejamento na produção comercial. Jundiaí: Kubitza, 289p, 2000.
- LACAZ, F.A.C.; PORTO, M.F.S.; PINHEIRO, T.M.M. Tragédias brasileiras contemporâneas: o caso do rompimento da barragem de rejeitos de Fundão/Samarco. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v.42, n. 9, p.1-12, 2017.
- LACERDA, F.M.; ROESER, H.M.P. Análise geoquímica e ambiental para descrição da Bacia do Rio Oratórios (MG). *Geochimica Brasiliensis*, v. 28, p. 227-236. 2014.
- LAWS, E. A. Aquatic pollution: an introductory text, 2<sup>a</sup> ed., Wiley: New York, 1993.
- LIU, J.; YIN, P.; CHEN, B.; GAO, F.; SONG, H.; LI, M. Distribution and contamination assessment of heavy metals in surface sediments of the Luanhe River Estuary, northwest of the Bohai Sea. *Marine Pollution Bulletin*, v.109, p.633–639, 2016.
- LORSCHIEDER, F.L.; VIMY, M.J.; SUMMERS, A.O. Mercury exposure from “silver” tooth filling: emerging evidence questions a traditional dental paradigm. *The FASEB Journal*, v.9, p.504–508, 1995.
- LOZY, F.; KARANTZA, V. Autophagy and cancer cell metabolism. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v. 23, n. 4, p. 395-401, 2012.
- LUO, Y.; SHAN, D.; ZHONG, H. Subchronic effects of cadmium on the gonads, expressions of steroid hormones and sex-related genes in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology*, v.24, p. 2213–2223, 2015.

- MAIA, F. F. Elementos traços em sedimentos e qualidade da água de rios afetados pelo rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, MG. 2017. 57p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2017.
- MELO, F.A.O.; NEPOMUCENO, A.L.T. Determinação do índice de qualidade da água do rio Piranga- MG. XIV SEGeT, Ética e Gestão, juntos por um crescimento sustentável. 2016.
- MIGLIARINI, B.; CAMPISI, A.M.; MARADONNA, F.; TRUZZI, C.; ANNIBALDI, A.; SCARPONI, G.; CARNEVALI, O. Effects of cadmium exposure on testis apoptosis in the marine teleost *Gobius niger*. *General and Comparative Endocrinology*, v.142, p.241–247, 2005.
- MORALES, A.I.; VICENTE-SANCHEZ, C.; JERKIC, M.; SANTIAGO, J.M.; SÁNCHEZ-GONZALEZ, P.D.; PEREZ-BARRIOCANAL, F.; LOPEZ-NOVOA, J.M. Effect of quercetin on metallothionein, nitric oxide synthases and cyclooxygenase-2 expression on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v.210, p.128–135, 2006.
- MOUSA, S.A.; MOUSA, M.A. Immunocytochemical and histological studies on the hypophyseal-gonadal system in the freshwater Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), during sexual maturation and spawning in different habitats. *Journal of Experimental Zoology*, v.284, p.343–354, 1999.
- NIIMI, A. J.; KISSOON, G. P. Evaluation of the critical body burden concept based on inorganic and organic mercury toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives Environmental Contamination Toxicology*, v.26, n. 2, p.169-178, 1994.
- NUNES, M.V.; ROCHA, O.; VERANI, J.R. Trophic interactions between the fish *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae) and the benthic macroinvertebrate community. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v.49, n. 1, p.11–17, 2014.
- OLIVARES-RUBIO, H.F.; DZUL-CAAMAL, R.; GALLEGOS-RANGEL, M.E.; MADERA-PALMA-SILVA, G.M. Diagnostico ambiental, qualidade da água e índice de depuração do rio Corumbatai-SP. 1999. 155p. Dissertação de Mestrado em Manejo Integrado de Recursos. Centro de Estudos Ambientais. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 1999.
- PIRES, J. M. M.; LENA, J. C.; MACHADO, C. C.; PEREIRA, R. S. Potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: estudo de caso da barragem de Germano. *Revista Árvore*, v. 27, n. 3, p. 393- 397, 2003.
- RAMYAA, P.; KRISHNASWAMY, R.; PADMA, V.V. Quercetin modulates OTA-induced oxidative stress and redox signalling in HepG2 cells – up regulation of Nrf2 expression and down regulation of NF-kB and COX-2. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1840, p.681–692, 2013.
- REDDY, P.S.; RANI, G.P.; SAINATH, S.B.; MEENA, R.; SUPRIYA, C. Protective effects of N-acetylcysteine against arsenic-induced oxidative stress and reprotoxicity in male mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v.25, p.247-53, 2011.

- RODRIGUES, G.Z. P.; MACHADO, A.B.; GEHLEN, G. Influence of metals on fish reproductive behavior, review. *Revista GEAMA – Ciências Ambientais e Biotecnologia*, v.5, n. 1, p.4-13, 2019.
- SALOMONS, W.; FÖRSTNER, U.; Metals in the hydrocycle, 1ª ed., Springer Verlag: Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, 1984.
- SAMARCO. Esclarecimentos sobre a água do rio Doce e do mar, bioacumulação em peixes e diálogo, 9p, 2016.
- SANTOS, D.; CUPERTINO, M.; MATTA, S.; OLIVEIRA, J.; DERGAM, J. Histological alterations in liver and testis of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute exposition to zinc. *Revista Ceres*, v.62, p.133-141, 2015.
- SEGURA, F. R.; NUNES, E. A.; PANIZ, F. P.; PAULELLI, A. C. C.; RODRIGUES, G. B.; BRAGA, G. U. L.; PEDREIRA FILHO, W. R.; BARBOSA JR, F.; CERCHIARO, G.; SILVA, F. F.; BATISTA, B. L. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environmental Pollution*, v. 218, p. 813 – 825, 2016.
- SILVA, A. C.; CAVALCANTE, L. C. D.; FABRIS, J. D.; JÚNIOR, R. F.; BARRAL, U. M.; FARNEZI, M. M. M.; VIANA, A. J. S.; ARDISSON, J. D.; FERNANDEZ-OUTON, L. E.; LARA, L. R. S.; STUMPF, H. O.; BARBOSA, J. B. S.; SILVA, L. C. Características químicas, mineralógicas e físicas do material acumulado em terraços fluviais, originado do fluxo de lama proveniente do rompimento de barragem de rejeitos de mineração de ferro em Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brasil. *Revista Espinhaço*, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2016.
- SILVA, G.P.; FONTES, M.P.F.; COSTA, L. M.; BARROS, N.F. Caracterização química, física e mineralógica de estéreis e rejeito da mineração de ferro da mina de alegria, Mariana-MG. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.36, n. 1, p.45-52, 2006.
- SILVA, H. K. P. Avaliação das concentrações de metais traço e suas interações nos sedimentos e biota do parque dos manguezais, região metropolitana do recife (RMR), Pernambuco, Brasil. 2010. 150p. Tese de Doutorado. Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 2010.
- SOUZA, V. L. B.; LIMA, V.; HAZIN, C. A.; FONSECA, C. K. L.; SANTOS, S. O. Biodisponibilidade de metais-traço em sedimentos: uma revisão. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, v.3, p.01-13, 2015.
- STOHS, S. J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, v.18, p.321-336, 1995.
- STOREY, K.B. Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biologist Research*, v.29, p.1715–1733, 1996.
- SUN, J. Y.; Jing, M. Y.; Wang, J. F.; Zi, N. T.; Fu, L. J.; Lu, M. Q.; Pan, L.; Effects of dietary zinc levels on the activities of enzymes, weights of organs, and the concentrations of zinc and copper in growing rats. *Biological trace element research*, v. 107, n. 2, 153-165, 2005.
- TSUCHIHARA, K.; FUJII, S.; ESUMI, H. Autophagy and cancer: Dynamism of the metabolism of tumor cells and tissues. *Cancer Letters*, v. 278, n. 2, p. 130-138, 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO (UFES). Monitoramento da Influência da Pluma do Rio Doce após o rompimento da Barragem de Rejeitos em Mariana/MG – Novembro de 2015: Processamento, Interpretação e Consolidação de Dados, Vitória, 25p, 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO (UFES). Relatório Técnico Parcial das análises realizadas em amostras coletadas na Plataforma Adjacente a Foz do rio Doce, APA Costa das Algas e Plataforma de Abrolhos: Embarque Soloncy Moura, Vitória, 24p, 2016b.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO (UFES). Resultados parciais das análises realizadas em amostras coletadas na Plataforma Adjacente a Foz do rio Doce: Embarque NOc Vital de Oliveira. Vitória, 17p, 2016a.

VALKO, M.; MORRIS, H.; CRONIN, M.T. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, v.12, p.1161-1208, 2005.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v.13, p.57-149, 2003.

VAROL, M. Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. *Journal of Hazardous Materials*, v.195, p.355–364, 2011.

VERGILIO, C.S.; MOREIRA, R.V.; CARVALHO, C. E. V.; EDÉSIO, J. T. M. Evolution of cadmium effects in the testis and sperm of the tropical fish *Gymnotus carapo*. *Tissue and Cell*, v.47, n. 2, p.1-8, 2015.

WEIS, J. S.; KHAN, A. A. Effects of mercury on the feeding behavior of the mummichog, *Fundulus heteroclitus* from a polluted habitat. *Marine Environment*, v.30, p.243-249, 1990.

YABE, MARIA.; DE, OLIVEIRA. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. *Química Nova*, v. 21, n. 5, p. 39-49, 1998.

YÖN, N. D.; AKBULUT, C.; KAYHAN, F. E.; KAYMAK, G. Histopathological effects of cadmium exposure on testis tissue of swordtail fish, *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 24, n. 6, p. 2133-2137, 2015.

ZHENG, R.; ZHANG, Y.; FANG, C.; CHEN, M.; HONG, F.; BO, J. Joint effects of chronic exposure to environmentally relevant levels of nonylphenol and cadmium on the reproductive functions in male rockfish *Sebastes marmoratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 215, p. 25- 32, 2019.

## ANEXO I – TABELAS

**Tabela 1:** Biometria corporal de machos de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga coletados três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG.

	Mediana				25%				75%			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>PA (g)</b>	748A	86	86A	64	608	61	67	55	949	137	106	76
<b>CT (cm)</b>	33A	17	17	16	31,6	15,30	15,5	14,8	36,5	19,95	18,8	17
<b>CP (cm)</b>	26,5A	14	13,7	12,6	26	12,38	12,2	12	30	16,43	14,3	14
<b>PO (g)</b>	0,51A	0,16	0,14	0,19	0,37	0,13	0,12	0,16	0,78	0,16	0,23	0,23
<b>CO (cm)</b>	8,75A	4,20	3	3,6	7,98	3,70	2,8	2,5	9,35	6	3,3	4,1
<b>IGS %</b>	0,08A	0,14	0,17A	0,29	0,04	0,09	0,15	0,26	0,10	0,19	0,32	0,32
<b>Comprimento gonodal relativo %</b>	31,96	29,63	22,37	24,66	30,15	27,41	20,63	18,85	35,01	35,00	24,29	33,04

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga; PA: Peso animal; CT: Comprimento total; CP: Comprimento padrão; PO: Peso do órgão; CO: Comprimento do órgão; IGS: Índice Gonadossomático; IGS comp: Índice Gonadossomático do comprimento. Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ .

**Tabela 2:** Parâmetros de qualidade da água do rio Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana - MG

	<b>Mediana</b>		<b>25%</b>		<b>75%</b>	
	<b>RD</b>	<b>RP</b>	<b>RD</b>	<b>RP</b>	<b>RD</b>	<b>RP</b>
<b>pH</b>	7,86	7,83	7,84	7,83	8,25	7,92
<b>Temperatura (°C)</b>	30	27	29	27	30	28
<b>Oxigênio Dissolvido (mg/L)</b>	1,89	1,89	1,84	1,57	2,05	2,09

Legenda: RD: rio Doce; RP: rio Piranga. Não houve diferença entre os rios Doce e Piranga pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$

**Tabela 3:** Concentração de metais pesados (mg/L) na água dos rios Doce e Piranga três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG, valores da série histórica e do IGAM.

	Mediana		25%		75%		SH*	IGAM*
	RD	RP	RD	RP	RD	RP		
<b>Fe</b>	1,093	0,908	1,009	0,895	1,187	0,960	0.004	0.004
<b>Al</b>	0,166	0,045	0,13	0,042	0,187	0,045	0.0751	0.0793
<b>Mn</b>	0,001	0,008	0	0,004	0,005	0,010	0.149	0.393
<b>Zn</b>	0,008	0,007	0,008	0,007	0,008	0,007	0.2	0.2
<b>Pb</b>	0,004	0,006	0,003	0,005	0,007	0,007	0.04	0.04
<b>Cd</b>	0,006	0,006	0,005	0,002	0,009	0,008	0.0005	0.0005
<b>Cu</b>	0,021	0,022	0,019	0,021	0,023	0,022	0.005	0.005
<b>Cr</b>	0,000	0,000	0	0,000	0,000	0,000	0.1	0.057

Legenda: RD: rio Doce; RP: rio Piranga. SH: Série histórica (janeiro/2010 a outubro/2015). IGAM: Instituto Mineiro de Gestão de Águas (janeiro, 2019). Não houve diferença entre os rios Doce e Piranga pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . \*Dados expressos em mediana.

**Tabela 4:** Concentração de metais pesados (mg/L) no sedimento dos rios Doce e Piranga três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG, valores encontrados pelo IGAM e concentrações de referência

	Mediana		25%		75%		VMP1	VMP2	IGAM*
	RD	RP	RD	RP	RD	RP			
<b>Al</b>	34,33	16,26	22	13,75	59,38	24,31	0,0452+		25
<b>Mn</b>	5,041	2,442	4,652	1,94	5,196	2,645	0,0033+		0.0001
<b>Zn</b>	0,749	0,552	0,713	0,444	1,337	0,627	123	315	48
<b>Pb</b>	0,041	0,051	0,068	0,024	0,085	0,061	35	91,3	42
<b>Ni</b>	0,51	0,366	0,445	0,289	0,728	0,427	18	35,9	1
<b>Cd</b>	0,055	0,061	0,05	0,045	0,064	0,068	0,6	3,5	15
<b>Cu</b>	0,349	0,275	0,287	0,242	0,547	0,281	35,7	197	7.41
<b>Cr</b>	0,758	0,512	0,749	0,484	0,897	0,527	37,3	90	17

Legenda: RD: rio Doce; RP: rio Piranga. IGAM: Instituto Mineiro de Gestão de Águas (janeiro, 2019). VMP1- limiar abaixo do qual há menor probabilidade de efeitos adversos à biota; VMP2 - limiar acima do qual há maior probabilidade de efeitos adversos à biota, estabelecido pelo CONAMA 457/12. +Concentrações determinadas por COSTA, 2015. Não houve diferença entre os rios Doce e Piranga pelo teste de Mann Whitney,  $p > 0.05$ . \*Dados expressos em mediana.

**Tabela 5:** Concentração de metais pesados ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em testículo de Tilápia do Nilo e Cará rios Doce e Piranga três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG e o valor máximo permitido pela legislação.

	Mediana				25%				75%				VMP
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	
<b>Fe</b>	502.077	697.093	1.476.000a	1.725.000a	473.197	172.206	872.071	1.206.000	518.538	986.228	2.077.000	2.398.000	-
<b>Mn</b>	7.489	20.596	15.632	14.380	5.305	2.544	7.348	12.438	18.603	86.003	275.51	16.561	-
<b>Zn</b>	7.661	91	<u>128.959</u>	<u>83.952</u>	40.935	25.087	70.451	53.788	105.425	156.035	224.949	94.375	50000*
<b>Pb</b>	13,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	407,4	0,0	0,0	0,0	300**
<b>Ni</b>	372,6	60,2	1.174	691,5	272,1	0,0	489	403,2	895,1	1.464	3.028	1.196	5000*
<b>Cd</b>	<u>83,38</u>	<u>263,20</u>	<u>213,7a</u>	<u>272,5</u>	72,46	44,75	151,5	208,1	93,83	358,50	366,3	320,9	50**
<b>Cu</b>	<u>212.802A</u>	<u>38.158</u>	128,35	15.764	115.154	19.518	18,81	13.145	236.316	76.330	871,92	18.346	30000**
<b>Cr</b>	<u>742,8</u>	<u>3.614</u>	<u>4.052a</u>	<u>3.750</u>	636,9	805,6	2.881	3.250	1.368	6.124	8.818	4.794	100*
<b>Hg</b>	118A	<u>12.303</u>	<u>2.512A</u>	<u>34.521a</u>	1.075	2.239	1.496	15.225	1.937	22.324	4.162	37.652	500**
<b>Co</b>	3.568A	1.538	2.735	830,9	2.535	581,5	1.123	749,3	3.943	2.031	7.551	950,7	-

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga. CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga. VMP: Valor máximo permitido. \*Decreto 55871/65. \*\*Resolução 42/2013 da ANVISA.. Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Valores sublinhados indica que estão acima do VMP.

**Tabela 6:** Constituição do tecido testicular e densidade de espermatozoides de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG.

Constituição tecidual (%)	Mediana				25%				75%			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>Cisto</b>	6,21A	5,68	5,73A	6,27	5,63	4,58	4,22	5,40	7,1	7	6,96	7,06
<b>Lúmen com sz</b>	0,55A	2,79	2,79	2,25	0,3	1,3	1,3	1,3	0,79	5,01	5,01	5,01
<b>Intertúbulo</b>	2,4A	1,69	0,77A	1,2	1,43	0,79	0,51	0,77	3,35	2,51	1,2	1,3
<b>Túbulo/ Intertúbulo</b>	2,62A	4,51	11,42A	8,78	1,75	2,9	8,54	6,67	3,77	9,09	16,77	11,82

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga. Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ .

**Tabela 7:** Medidas dos cistos espermáticos em cada estágio celular de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG.

	Mediana				25%				75%			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>Espermatogônia 1</b>												
<b>Diâmetro nuclear</b>	12,75 A	11,56	4,26 A	4,02	11,57	10,11	3,82	3,56	14,05	12,75	4,67	4,41
<b>Espermatogônia 2</b>												
<b>Células no cisto</b>	4	3	6a	6a	3	3	4	4	7	6	10	9
<b>Diâmetro nuclear</b>	10,08 A	9,26	3,5	3,41	9,01	8,35	3,09	3,09	11,44	10,21	3,87	3,87
<b>Área do cisto</b>	2394 A	5961	1063 A	663,4	1756	4494	719,8	465,7	3291	8463	1718	1052
<b>Espermatócito primário</b>												
<b>Células no cisto</b>	11,5	10	26 A	18	8	7	18,25	11	15	14	40	26
<b>Diâmetro nuclear</b>	7,12	7,01	2,74	2,78	6,21	6,26	2,44	2,56	8,21	7,78	3,04	3,07
<b>Área do cisto</b>	5041 A	14954	3896 A	1705	3705	10915	2606	1073	6594	20921	5436	2459
<b>Espermatócito secundário</b>												
<b>Células no cisto</b>	15	14	18,5	18	9	10	12	11	23	19	26,5	27

<b>Diâmetro nuclear</b>	4,73	4,46	2,06	2,15	3,89	3,77	1,78	1,87	5,32	5,1	2,36	2,4
<b>Área</b>	5201 A	15209	2307 A	1401	3284	11031	1609	832,4	6604	20475	3319	2143
<b>Espermátide inicial</b>												
<b>Células no cisto</b>	27,5	27	47 A	40	18,25	15,75	35,5	25	34	37,5	65,5	57
<b>Diâmetro nuclear</b>	3,09	3,07	1,16 A	1,31	2,76	2,81	1,06	1,2	3,53	3,31	1,27	1,42
<b>Área do cisto</b>	4281 A	16543	2929 A	1492	3307	10732	2112	1034	5628	22373	3971	2165
<b>Espermátide inicial</b>												
<b>Células no cisto</b>	17	14	33	32	10	9	19	21	26	22	49,5	50
<b>Diâmetro nuclear</b>	2,49	2,56	0,93 A	1,1	2,25	2,36	0,8	0,98	2,78	2,84	1,08	1,25
<b>Área do cisto</b>	2212 A	4986	1300 A	847,2	1114	3249	787,1	555,8	3227	8574	1716	1224

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga. Letras iguais representam diferença estatística pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente.

**Tabela 8:** Porcentagem de cistos normais e patológicos em Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga coletados três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG.

%	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>Normal</b>	11,67a	35,33a	13a	12,33a
<b>Patológico</b>	88,33	64,67	87	87,67

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga. Letra “a” indica diferenças entre normal e patológico do mesmo grupo pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ . Dados expressos em porcentagem.

**Tabela 9:** Frequência de ocorrência de patologias no testículo de Tilápia do Nilo e Cará dos rios Doce e Piranga, três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG.

	Mediana				25%				75%			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>Deslocamento da parede do túbulo</b>	3,33	2,33	1,67	1	0,66	2	1	0,33	7,83	8	3,66	3,5
<b>Deslocamento da parede do cisto</b>	4	4	16a	8,33	2,66	1,66	8,83	4,5	4,16	6,66	26,17	13,33
<b>Vacuolização</b>	64	64	66	60	45	49	62	45,67	68	80	78	69
<b>Agrupamento celular</b>	1,3A	0,3	8,7Aa	0,7	1	0	3,3	0	2,2	1,2	18	4,7
<b>Núcleo Picnótico</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ruptura de cisto</b>	2,33	0	14a	6a	1,5	0	7,83	3	7	3,5	17,17	12,83
<b>Ruptura do tubulo</b>	2,0	0	2,33	1,33a	0,3	0	1,5	0,83	11,2	0	3,5	5,16
<b>Degeneração do cisto</b>	14,7A	0	5,67	6a	6,2	0	2,66	1,67	31,3	0	9,5	27,17
<b>Desorganização do cisto</b>	0	0	0,33Aa	0	0	0	0,16	0	0	0	0,67	0
<b>Desorganização do Túbulo</b>	0	0	0	1,5	0	0	0	0	0	1	0	1,5

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga. Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ .

**Tabela 10:** Viabilidade celular do testículo de Tilápia do Nilo e Cará dos rio Doce e Piranga três anos após o rompimento da barragem de Mariana-MG.

	Mediana				25%				75%			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>Amarelo</b>	1,59	0,69	2,69A	0,47	0,0	0,0	0,0	0,00	8,81	3,69	9,05	1,58
<b>Vermelho</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Legenda: TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga. Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ .

**Tabela 11:** Atividade de enzimas antioxidantes e concentração de produtos de oxidação em testículo de Tilápia do Nilo e Cará coletados nos rios Doce e Piranga três anos após rompimento da barragem de Mariana-MG.

	Mediana				25%				75%			
	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP	TRD	TRP	CRD	CRP
<b>CAT</b> (UCAT/mg de pt)	509,4	503,5	458,2A	796,6a	413,9	399,7	131,5	513,4	611,9	688,1	567,6	1015
<b>SOD</b> (USOD/mg de pt)	1,8	2,07	1,7	1,82	1,31	1,735	1,2	1,43	2,22	2,485	1,97	3,473
<b>GST</b> ( $\mu$ mol/min/g)	2,12A	1,215	0,83a	0,99	1,56	0,9875	0,615	0,46	2,81	1,425	1,758	1,458
<b>MDA</b> (UMDA/mg de pt)	0,28	0,33	0,48A	0,705a	0,23	0,21	0,3725	0,525	0,61	0,55	0,7325	0,94
<b>NO</b> (uM)	5,13	8,25	3,85A	9,635	3,55	4,785	2,07	4,32	7,41	13,44	6,32	12,18

Legenda:TRD: Tilápia Rio Doce; TRP: Tilápia Rio Piranga; CRD: Cará Rio Doce; CRP: Cará Rio Piranga; CAT: Catalase; SOD: Super óxido dismutase; GST: Glutationa S-transferase; MDA: Malondialdeído; NO: Óxido nítrico. Letra “a” indica diferenças entre espécies do mesmo rio e letra “A” indica diferença entre as mesmas espécies de rio diferente pelo teste de Mann Whitney,  $p < 0.05$ .