

ANA LUIZA SILVA DUARTE

EFEITOS DOS METAIS PESADOS NO INTESTINO DE TRÊS ESPÉCIES DE PEIXES NO ALTO RIO DOCE CINCO ANOS APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM EM MARIANA-MG

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

Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori

Coorientadores: Fernanda C. R. Dias
Jorge A. D. dos Santos
Mônica Morais Santos

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

D812e Duarte, Ana Luiza Silva, 1995-
2022 Efeitos dos metais pesados no intestino de três espécies de peixes
no Alto Rio Doce cinco anos após o rompimento da barragem em
Mariana-MG / Ana Luiza Silva Duarte. - Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (92 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Animal, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.102>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Peixes - Efeito dos metais pesados. 2. Peixes - Histologia. 3.
Toxicologia ambiental - Mariana (MG). I. Sartori, Sirlene Souza
Rodrigues, 1981-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. III.
Título.

CDD 22. ed. 597.48

ANA LUIZA SILVA DUARTE

**EFEITOS DOS METAIS PESADOS NO INTESTINO DE TRÊS ESPÉCIES DE
PEIXES NO ALTO RIO DOCE CINCO ANOS APÓS O ROMPIMENTO DA
BARRAGEM EM MARIANA-MG**

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

APROVADA: 21 de dezembro de 2022.

Assentimento:

Ana Luiza Silva Duarte
Autora

Sirlene Souza Rodrigues Sartori
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Mais uma etapa importante da minha vida está sendo concluída e isso está sendo possível por eu ter pessoas essenciais ao meu lado.

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder saúde, força e direção. Não foi um período fácil, mas com Ele me amparando, abrindo caminhos e me dando confiança frente aos desafios e adversidades, essa conclusão foi alcançada.

Aos meus pais, Ana Lúcia e Antônio, e aos meus irmãos Bruno e Thiago, pelo amor incondicional, por serem minha base e refúgio, por não medirem esforços para que eu consiga realizar meus sonhos e objetivos, e por serem minha inspiração.

Às minhas sobrinhas, Isadora e Maria Fernanda, por serem minha alegria, pelo afeto e por despertarem em mim a vontade de ser exemplo para elas.

Aos meus amigos que se fizeram presentes de alguma forma durante essa jornada, especialmente Brunna, Jéssica e Victoria, sempre me ouvindo, ajudando, torcendo e se alegrando com as minhas conquistas. Obrigada também pelos nossos encontrinhos (virtuais e presenciais) que deixaram meus dias mais leves e alegres. E às minhas companheiras de apartamento, Amanda e Patrícia, por toda ajuda e compreensão nos momentos em que eu não estava tão bem, pelos momentos cozinhando e desabafando. Morar longe da família é difícil, muitas vezes a saudade aperta e a vontade de ir para casa aumenta, mas como todos nós estamos passando por isso, fica mais fácil nos compreendermos e nos confortarmos.

À minha orientadora Sirlene, por ter me recebido e acolhido tão bem no Mestrado, por todo conhecimento e ensinamentos passados, sempre com muita educação, paciência e compreensão. É um exemplo de orientadora.

À minha coorientadora Fernanda, que desde a graduação é minha salvadora. Sempre disposta, paciente e dedicada. Obrigada por todas as nossas conversas, por me ouvir, apoiar e ajudar. Ao meu coorientador Jorge, por toda disposição e boa vontade. Só tenho a agradecer vocês por todo o suporte e disponibilidade em me auxiliar no desenvolvimento deste trabalho, compartilhando seus conhecimentos e experiências.

Ao Donizete, técnico do laboratório de Morfologia Animal, por toda ajuda no dia a dia, pela disponibilidade e paciência de sempre. E também por me avisar quando o cafezinho estava pronto! Aos companheiros de laboratório, Bruno, Eleandro, Carlos, Maria Raquel e Marc..., por toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Fred, obrigada pela disponibilização de material, ajuda com minhas dúvidas e desenvolvimento do projeto. Ao Cidimar, pela ajuda com a dissecação do intestino dos peixes

e disponibilidade. Ao professor Laércio por aceitar participar da minha banca e por todas as contribuições para este trabalho.

A todos os laboratórios da UFV e suas respectivas equipes que foram parceiros no desenvolvimento deste trabalho, em especial ao: Laboratório de Morfologia Animal, Laboratório de Patologia Experimental, Laboratório de Sistemática Molecular, Laboratório de Biofísica Ambiental, Laboratório de Biologia Celular e Laboratório de Anatomia Vegetal, por disponibilizarem e permitirem o uso dos equipamentos e materiais para a realização das análises e desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal pela formação profissional, pelo crescimento pessoal e profissional. Aos funcionários do Departamento de Biologia Animal por toda ajuda e conversas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

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

Minha enorme gratidão a todos. Essa conquista é nossa!

RESUMO

DUARTE, Ana Luiza Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2022. **Efeitos dos metais pesados no intestino de três espécies de peixes no Alto Rio Doce cinco anos após o rompimento da barragem em Mariana- MG.** Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Jorge Abdala Dergam dos Santos, Fernanda Carolina Ribeiro Dias e Mônica Morais Santos.

Os ambientes aquáticos estão sendo cada vez mais atingidos e prejudicados pelas atividades antrópicas que aumentam a disponibilidade de contaminantes, como os metais pesados. Isto tem levado a diversas alterações morfofisiológicas em organismos. O objetivo deste trabalho foi avaliar os possíveis efeitos tóxicos de metais pesados sobre o intestino de três espécies de peixes de hábitos alimentares distintos, devido aos rejeitos de mineração que atingiram a Bacia do Rio Doce após rompimento de barragem em Mariana-MG. Ainda existem poucos estudos abrangendo a quantificação de metais pesados e alterações histológicas no intestino de peixes. Foram coletados exemplares das espécies *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* em locais afetados e em locais não afetados pela lama de rejeitos na Bacia do Rio Doce. Análises foram realizadas utilizando fragmentos do intestino proximal, para quantificação de metais e avaliação de alterações histológicas e histométricas. Houve presença de metais nas três espécies, em especial alumínio e ferro; nas áreas afetadas, alguns metais, como o ferro, estiveram mais concentrados no intestino das espécies carnívora *O. argenteus* e onívora *A. lacustris*. Foram detectadas alterações como redução na altura das camadas musculares, redução no percentual da muscular longitudinal, diminuição da largura e aumento da altura das pregas intestinais, que foram ainda mais evidenciadas em *O. argenteus*, nas áreas afetadas, quando se compararam as três espécies. Foram encontradas células calciformes degeneradas, além de maiores densidades de células calciformes metacromáticas, de células *rodlet* e de linfócitos, em especial nos animais de áreas afetadas. Foi constatada, também, alteração na quantidade e na composição das mucinas presentes nas células calciformes. Embora tivesse predomínio de mucinas mistas nas três espécies em ambas as áreas, houve redução significativa de mucinas mistas nos lambaris (bocarra e do rabo amarelo) na área afetada, mas especialmente em *A. lacustris*. O estudo infere que a presença de metais pesados no ambiente, com exposição dos peixes a eles, acarretou impactos morfológicos no intestino, sendo geralmente mais expressivos no carnívoro *O. argenteus* e no onívoro *A. lacustris*, corroborando com outros achados de bioacúmulo de metais pesados que levam em conta o hábito alimentar e a cadeia trófica.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Hábito alimentar. Trato digestivo. Alteração histológica. Mineração.

ABSTRACT

DUARTE, Ana Luiza Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2022. **Effects of heavy metals on the intestine of three fish species in the Upper Rio Doce five years after the dam failure in Mariana-MG.** Advisor: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisors: Jorge Abdala Dergam dos Santos, Fernanda Carolina Ribeiro Dias and Mônica Morais Santos.

Aquatic environments are being increasingly affected and harmed by human activities that increase the availability of contaminants, such as heavy metals. This has led to several morphological and physiological changes in organisms. The objective of this work was to evaluate the possible toxic effects of heavy metals present in the tailings, due to the rupture of the dam, in the Rio Doce Basin, on the intestine of three species of fish with different food habits. There are still few studies covering the quantification of heavy metals and histological changes in this organ. Specimens of *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* and *Oligosarcus argenteus* species were collected in places affected and in places not affected by the tailings sludge. Analyzes were performed using fragments of the small intestine, in its proximal part, to assess cellular and tissue changes. As for the quantification of heavy metals in fragments of the intestine, where they were present in the three species, especially aluminum and iron; in the affected area, some metals, including iron, were more concentrated in the intestine of the carnivorous species (*O. argenteus*) and of the omnivorous species (*A. lacustris*). Regarding the histometric analysis, alterations were detected such as reduction in the height of the muscle layers, reduction in the percentage of the longitudinal muscle layer, decrease in the width of the intestinal folds, an increase in the height of the folds, which were even more evident in *O. argenteus*, in the area affected, when comparing the three species. Degenerated goblet cells were found, in addition to higher densities of metachromatic goblet, rodlet cells and lymphocyte density were found, being predominant in animals from the affected area. It was also verified, from the histochemical analysis, alteration in the quantity and composition of the mucins. Comparing the affected and unaffected areas for each species, there was a significant reduction for area and index of mixed mucins of *A. lacustris*, and for sampling of mixed mucins of *H. luetkeni*; but when the comparison between the species was made, it was noted, in general, a predominance of mixed mucins in the three species in both areas. The study infers that the presence of heavy metals in the environment and the exposure of fish to them led to morphological impacts in the intestine, being generally more expressive in *O. argenteus* and *A. lacustris*, corroborating with the findings of bioaccumulation of heavy metals.

Keywords: Ecotoxicology. Food habits. Digestive tract. Histological change. Mining.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Localização da Bacia Hidrográfica do Rio Doce. Fonte: CBH-DOCE, 2010.....	19
Figura 2 – Comitês e domínio dos cursos d'água da Bacia Hidrográfica do Rio Doce. Fonte: ANA, 2016.....	19
Figura 3 – Exemplar de <i>Hypostomus luetkeni</i> . Fonte: MANABI, 2013.....	22
Figura 4 – Exemplar de <i>Astyanax lacustris</i> . Fonte: VIEIRA <i>et al</i> , 2015.....	23
Figura 5 – Exemplar de <i>Oligosarcus argenteus</i> . Fonte: VIEIRA <i>et al</i> , 2015.....	23
Figura 6 – Percorso percorrido pelos rejeitos da mineração, após o rompimento da barragem em Mariana-MG. Fonte: PACHECO, 2019.....	24
Figura 7 – Imagens de satélite da Barragem de Fundão (A) e do subdistrito de Bento Rodrigues (B), antes (à esquerda) e após (à direita) o rompimento da barragem em Mariana-MG. Fonte: ANA, 2016.....	25
Figura 8 – Foto vista aérea do dia 24/11/2015 mostrando o subdistrito de Bento Rodrigues após o rompimento da barragem em Mariana-MG. Fonte: ANA, 2016.....	25
Figura 9 – Estrutura do intestino do peixe piracanjuba (<i>Brycon orbignyanus</i>), espécie onívora. (A1) a (A9): alças intestinais, (Cp): cecos pilóricos. Fonte: FILHO <i>et al</i> , 2000.....	40
Figura 10 – Estrutura do trato digestório de <i>Hoplias malabaricus</i> (A) (espécie carnívora) e de <i>Hypostomus pusalum</i> (B) (espécie herbívora): (a) esôfago, (b) estômago, (c) cecos pilóricos, (d) intestino. Fonte: PESSOA <i>et al</i> , 2013.....	41

ARTIGO:

Figura 1 – Paleta de cores utilizadas na identificação e quantificação de mucinas ácidas (AB+), neutras (PAS+) e mistas (AB/PAS+) pela técnica colorimétrica com coloração pelo Alcian Blue (AB)/Ácido Periódico de Schiff (PAS).....	57
---	----

Figura 2 – Concentração de metais pesados no trato intestinal de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.....	60
Figura 3 – Concentração de metais pesados no trato intestinal de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAFA, NAFH, NAFO, respectivamente) e em área afetada (AFA, AFH, AFO, respectivamente) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.....	62
Figura 4 – Parâmetros físico-químicos da água, em média, de áreas afetadas (nos rios Doce – RD e do Carmo - RCM) e não afetadas (nos rios Piranga - RP e Casca - RCC) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	64
Figura 5 – Fotomicrografias de secções histológicas intestinais evidenciando os diferentes tipos de mucinas nas células caliciformes de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> , coletados na Bacia do Rio Doce, em áreas afetada e não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	69
Figura 6 – Fotomicrografias de secções histológicas intestinais evidenciando as lesões encontradas em <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> , coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada e não afetada, cinco anos após o rompimento da barragem de rejeitos de minério em Mariana-MG.....	73

LISTA DE TABELAS

ARTIGO:

- Tabela 1 – Dados biométricos corporais e intestinais de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 57
- Tabela 2 – Dados biométricos corporais e intestinais de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 57
- Tabela 3 – Dados biométricos corporais e intestinais de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 58
- Tabela 4 – Dados biométricos corporais e intestinais de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 58
- Tabela 5 – Dados biométricos corporais e intestinais de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 58
- Tabela 6 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 64
- Tabela 7 – Medidas lineares (em μm), densidade volumétrica (%) e índices histométricos (%) dos componentes do intestino de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 65
- Tabela 8 – Medidas lineares (em μm), densidade volumétrica (%) e índices histométricos (%) dos componentes do intestino de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 66
- Tabela 9 – Índices histométricos (%) e densidade volumétrica (%) componentes do intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG..... 67

Tabela 10 – Índices histométricos (%) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	68
Tabela 11 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de lambaris do rabo amarelo (<i>Astyanax lacustris</i>) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	69
Tabela 12 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de cascudos (<i>Hypostomus luetkeni</i>) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	70
Tabela 13 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de lambaris-bocarra (<i>Oligosarcus argenteus</i>) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	70
Tabela 14 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.....	71
Tabela 15 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.....	71
Tabela 16 – Análises semiquantitativas de alterações histológicas e parâmetros relacionados, no intestino de <i>Astyanax lacustris</i> , <i>Hypostomus luetkeni</i> e <i>Oligosarcus argenteus</i> , coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.....	72

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Geral.....	17
2.2. Específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1. A bacia hidrográfica do rio Doce e as atividades mineradoras.....	17
3.2. A ictiofauna da bacia do rio Doce e as espécies em estudo.....	21
3.2.1. Cascudo, <i>Hypostomus luetkeni</i> (Lacèpède, 1803)	21
3.2.2. Lambari do rabo amarelo, <i>Astyanax lacustris</i> (Lütken, 1875).....	22
3.2.3. Lambari-bocarra <i>Oligosarcus argenteus</i> (Günther, 1864).....	23
3.3. Rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG	24
3.4. Áreas em estudo.....	27
3.4.1. Áreas afetadas pelo rompimento da barragem.....	27
3.4.1.1. Rio do Carmo	27
3.4.1.2. Rio Doce	28
3.4.2. Áreas não afetadas pelo rompimento da barragem	29
3.4.2.1. Rio Piranga.....	29
3.4.2.2. Rio Casca	30
3.5. Metais pesados	30
3.5.1. Metais pesados em estudo.....	32
3.5.1.1. Alumínio	32
3.5.1.2. Cádmio.....	33
3.5.1.3. Chumbo.....	33
3.5.1.4. Cobalto.....	34
3.5.1.5. Cobre.....	34
3.5.1.6. Cromo	35
3.5.1.7. Ferro	36
3.5.1.8. Manganês	36
3.5.1.9. Níquel.....	37
3.5.1.10. Zinco	37
3.6. Morfologia do intestino de Teleósteos e toxicidade de metais pesados	38

4. REFERÊNCIAS.....	40
ARTIGO	
1. INTRODUÇÃO	53
2. MATERIAL E MÉTODOS	54
2.1. Coleta dos animais	54
2.2. Coleta e análises físico-químicas da água	55
2.3. Eutanásia, biometria corporal e do intestino	55
2.4. Determinação das concentrações de metais pesados do trato intestinal	55
2.5. Processamento histológico	56
2.6. Análises histométricas	56
2.7. Análises histopatológicas	58
2.8. Análises estatísticas	58
3. RESULTADOS	59
3.1. Análises físico-químicas da água	59
3.2. Concentração de metais pesados no trato intestinal	60
3.3. Dados biométricos corporais e intestinais	64
3.4. Análises histométricas	65
3.5. Análises histopatológicas.....	74
4. DISCUSSÃO	77
4.1. Parâmetros físico-químicos da água	77
4.2. Concentração de metais pesados no trato intestinal	79
4.3. Parâmetros morfológicos e histométricos	79
4.3.1. Comparação entre as áreas afetada para cada espécie	79
4.3.2. Comparação entre as espécies em cada área	81
4.4. Análises histopatológicas	82
5. CONCLUSÃO	83
6. REFERÊNCIAS	84
ANEXO I - TABELAS SUPLEMENTARES	88

1. INTRODUÇÃO GERAL

A expansão das atividades humanas tem aumentado cada vez mais a degradação ambiental, causando grandes perdas na biodiversidade de todo o mundo, sendo um exemplo prático disso, a baixa diversidade biológica em rios que, há 50 anos, eram compostos por muito mais espécies de peixes (ZAGATTO, 2015). Conservar os recursos hídricos é imprescindível para a sociedade, uma vez que o ser humano e outros animais dependem desses recursos para sobreviverem (LORANDI, 2019). Uma atividade que vem crescendo há algumas décadas no Brasil é a mineração e sabe-se que essa gera muitos impactos ambientais, como a degradação ambiental, impactos na fauna e flora, poluição do ar, entre outros. No ano de 2019 o minério de ferro foi um dos produtos mais exportados pelo país e Minas Gerais foi o segundo estado com maior produção, sendo essa a principal fonte econômica da região (COMEXSTAT, 2019; FONGARO, 2019).

A contaminação ambiental por metais pesados tem chamado bastante a atenção de especialistas da área, visto que esses são encontrados em diversos ambientes, afetando a fauna e a flora direta e indiretamente. A extração de minério é uma das atividades antrópicas que mais gera acúmulo de metais pesados em solos e águas (COSTA, 2020). Em altas concentrações, já foi constatado que eles podem causar danos de grandes proporções em animais e que estes muitas vezes podem ser irreversíveis (CARVALHO, 2017), por tenderem a se acumularem nos sedimentos, sendo liberados em colunas d'água e então, incorporados ao longo da cadeia alimentar (MARQUES, 2018). Ao persistir no sistema aquático, o metal tem sua concentração aumentada gradualmente, facilitando sua concentração na água e absorção pelos organismos (ARAI, 2007). Há certas doenças como TDAH, depressão, doenças neurodegenerativas (Parkinson e Alzheimer), cânceres, entre outras que são ocasionadas por esses metais, e os indivíduos prejudicados mostram como essas substâncias são nocivas (ASSUNÇÃO *et al*, 2020; RODRIGUES, 2016; ZENDRON, 2015).

O uso e descarte de substâncias, e as diferentes atividades exercidas pelo homem intensificam problemas ambientais, principalmente quando acontecem próximos às margens de cursos d'água, gerando poluição que altera a biota aquática (AMORIM, 2020). Ensaios ecotoxicológicos utilizados como métodos de avaliação ambiental são de fundamental importância, já que alguns fatores não são avaliados pelas variáveis abióticas, como a interação entre os efeitos de poluentes e a biodisponibilidade (MAGALHÃES, 2008).

Os peixes, por dependerem da água para sobreviverem durante todo o seu ciclo de vida, são muito afetados pelos poluentes e são usados como organismos modelo para avaliar a qualidade dos ambientes por meio de estudos ecotoxicológicos (AMORIM, 2020; MARQUES, 2018). Ainda, por interagirem com vários níveis tróficos, serem sensíveis às substâncias tóxicas, e pela sua capacidade de absorver e acumular alguns metais em seus tecidos e órgãos, esses organismos têm sido sentinelas de monitoramento ambiental e indicadores biológicos da poluição por metais pesados (AMORIM, 2020; LINS, 2010; HASSAN, 2018). O bioacúmulo de contaminantes acontece quando os peixes ingerem alimento contaminado, absorvem e retêm substâncias químicas no trato digestivo; assim, terão consequências em muitas etapas da cadeia alimentar. O trato digestivo dos peixes é sensível aos metais pesados, visto que é por ele que o alimento é transportado, tendo contato direto com os seus tecidos (RODRIGUES, 2016).

O rio Doce é um dos mais importantes cursos d'água da região Sudeste do Brasil (SALVADOR, 2018). As características geomorfológicas da bacia permitem dividi-la em três seções: alto, médio e baixo curso, e grande parte do conhecimento se concentra no curso médio (VIEIRA, 2010). A ictiofauna da bacia do rio Doce ainda é pouco conhecida e estudada (PEREIRA *et al.*, 2007), mas de acordo com a literatura há registros atuais que indicam a ocorrência de 71 espécies de peixes nativos, 11 ameaçadas de extinção e 28 introduzidas, e há espécies que são amplamente distribuídas ao longo da bacia, como acará (*Geophagus brasiliensis*), bagre-pintado (*Pimelodus maculatus*) e piranha preta (*Pygocentrus piraya*) (MARQUES, 2013).

A mineração em Minas Gerais e no Espírito Santo se iniciou no século XX, com os grandes investimentos de capital em mineração, hidroelétricas e siderurgia. Minas Gerais tem sete municípios listados entre os dez maiores produtores de minérios do Brasil (IBRAM, 2014). A produção de minério de ferro envolve 41 municípios mineiros, sendo que 21 deles se encontram na bacia do Rio Doce, com a maioria concentrada na sub-bacia do rio Piracicaba (IBRAM, 2015).

Para conter os resíduos da mineração, utilizam-se barragens de rejeitos que apresentam bons resultados quando bem executadas; mas, quando mal executadas, essas estruturas de contenção podem ser levadas à ruptura, tornando-se um agente de impactos ambientais (CARVALHO, 2017). O rompimento da barragem de rejeitos de minério de ferro em Mariana-MG desencadeou imensuráveis impactos diretos e indiretos sobre rios e terrenos aluviais; áreas de proteção ambiental, flora e fauna, e reservas florestais; *habitats* e a zona costeira no Estado do Espírito Santo. Como consequência, tem-se falta de água e perdas de fauna e flora, que

atingem negativamente a segurança alimentar e a saúde da população, além da biodiversidade da bacia hidrográfica do rio Doce (ESPINDOLA, 2019).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Investigar a presença de metais pesados e seus efeitos no intestino de três espécies de peixes com hábitos alimentares diferentes, coletados no alto curso da Bacia do Rio Doce, cinco anos após o rompimento da barragem de rejeitos de minério de ferro do Fundão, em Mariana-MG.

2.2. Específicos

- Avaliar parâmetros histológicos e morfométricos do trato intestinal do cascudo (*Hypostomus luetkeni*), lambari do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) e lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*);
- Detectar as possíveis alterações histológicas no trato intestinal dessas espécies;
- Determinar as concentrações de metais pesados no trato intestinal das três espécies;
- Comparar os resultados entre essas espécies, tendo em vista seus hábitos alimentares diferentes.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A bacia hidrográfica do rio Doce e as atividades mineradoras

O rio Doce é um curso de água da Região Sudeste do Brasil que banha os estados de Minas Gerais (MG) e Espírito Santo (ES) (Figura 1), onde esse curso representa a mais importante bacia hidrográfica totalmente incluída nessa região (ANA, 2016). Engloba 228 municípios total ou parcialmente inseridos na área de drenagem da bacia; desses, 202 se localizam em MG e 26 no ES (ESPINDOLA, 2016). As nascentes do rio Doce situam-se no Estado de MG, nas serras da Mantiqueira e do Espinhaço. A bacia possui uma área de drenagem de aproximadamente 86.715 Km², com 86% se encontrando no Estado de MG e 14% no ES (ANA, 2016), e uma extensão de aproximadamente 850 quilômetros (CBH-DOCE, 2016).

Em relação aos tipos de solos, essa bacia é constituída predominantemente por latossolos vermelho-amarelos e argissolos vermelhos, ocupando juntos 77,2% da área total da mesma. O latossolo vermelho-amarelo refere-se a solos profundos, fortemente drenados, com horizonte B latossólico de coloração vermelho amarela e solos com alta saturação por alumínio.

O argissolo vermelho compreende solos de profundidade variável, constituídos por material mineral que tem como característica diferencial a argila de atividade baixa. O principal uso deste solo é para a pastagem com capim, plantação de milho e arroz, por exemplo. A principal limitação destes solos é o relevo, tendo em vista que é ondulado e/ou montanhoso e acidentado (CBH-DOCE, 2010; CBH-DOCE, 2016).

A bacia hidrográfica do rio Doce em MG é subdividida em três seções: alto curso, sendo a região de cabeceira até o rio Matipó; médio curso, do rio Matipó até divisa dos estados ES/MG; e o baixo curso, de Baixo Guandu até o rio Doce em Linhares/ES (ANA, 2001). Os principais afluentes do rio Doce pela margem esquerda são os rios Carmo, Piracicaba, Santo Antônio, Corrente Grande e Suaçuí Grande, em MG; e São José e Pancas, no ES. Já pela margem direita, os rios Casca, Matipó, Caratinga/Cuieté e Manhauçu, em MG; e Guandu, Santa Joana e Santa Maria do Rio Doce, no ES (REDE UFES-RIO DOCE, 2016). Além disso, a bacia é subdividida em seis Unidades de Planejamento e Gestão dos Recursos Hídricos, chamadas UPGRHs, às quais correspondem as sub-bacias e seus respectivos Comitês de Bacia Hidrográfica (CBHs) (Figura 2): rio Piranga, rio Piracicaba, rio Santo Antônio, rio Suaçuí, rio Caratinga e rio Manhauçu. No ES existe os CBHs dos rios Guandu, Santa Maria do Rio Doce e São José (CBH-DOCE, 2016). O CBH-Doce tornou-se de extrema importância devido ao papel estratégico na articulação e organização social dos colaboradores para preservar e recuperar o rio Doce, sem prejuízos ao desenvolvimento econômico. Entre os avanços já alcançados, está a aprovação do PIRH-Doce (Plano Integrado de Recursos Hídricos) e a ação de cobrança pelo uso da água, afim de que os recursos sejam destinados a projetos de recuperação da bacia após o rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG (ANA, 2016).

Figura 1 – Localização da bacia hidrográfica do rio Doce.



Fonte: CBH-DOCE, 2010.

Figura 2 – Comitês e domínio dos cursos d'água da bacia hidrográfica do rio Doce.



Fonte: ANA, 2016.

A bacia hidrográfica do rio Doce possui rica biodiversidade, com 98% de sua área no bioma Mata Atlântica e os 2% restantes no Cerrado. A Mata Atlântica é um dos biomas mais

importantes e de maior repositório de biodiversidade do planeta, mas também um dos mais ameaçados do mundo. O Cerrado é considerado área de relevância ecológica, possuindo grande biodiversidade, com abundância extrema de espécies endêmicas e sofre perda de *habitat* imensa (CBH-DOCE, 2010). Essa bacia pode ser considerada privilegiada também no que se refere à grande disponibilidade de recursos hídricos (ANA, 2016). Tem um sistema de drenagem importante para sua economia, fornecendo água para uso doméstico, agropecuário, industrial e geração de energia elétrica. Ademais, os rios da região atuam como canais receptores e transportadores de rejeitos e efluentes (IBIO, 2014).

Por outro lado, há várias atividades antrópicas exercidas ao longo da bacia, como agropecuária; agricultura; indústrias de celulose, laticínios, geração de energia elétrica; extração de ouro (garimpo); dentre outras. Além disso, a região onde está inserida possui o maior complexo siderúrgico da América Latina, dando destaque para a Companhia Siderúrgica Belgo Mineira, para Acesita e para Usiminas; além de empresas de mineração de ferro e reflorestadoras. Vale ressaltar que apesar dessas atividades exercerem influência forte na economia da região e também na economia do país, muitas possuem grande potencial de exploração e geram altos impactos na biodiversidade (IBIO, 2014; REDE UFES-RIO DOCE, 2016; CBH-DOCE, 2010).

Em uma bacia hidrográfica vários processos físicos e socioeconômicos promovem, com o passar do tempo, mudanças nas características hidrológicas, como velocidade da corrente fluvial, variabilidade das descargas, características bióticas, dentre outras. Isso molda na calha principal do rio uma morfologia de acordo com essas condições; assim, qualquer interferência significativa que ocorre no interior desta bacia reflete direta ou indiretamente nos afluentes e, por sua vez, no canal principal. Em função dessas especificidades, a bacia hidrográfica tornou-se referência nos estudos e projetos, não só em função dos processos físicos, mas pelo fato dela também estar hoje presente em grande parte da legislação vigente em relação ao meio ambiente, fazendo parte do planejamento territorial e ambiental no Brasil (COELHO, 2009).

Dados da Agência Nacional de Mineração (2017) apontam para a existência de uma concentração muito alta de barragens de mineração em MG. No Estado estão localizados 369 desses reservatórios de rejeitos do total de 839 presentes no Brasil, ou seja, 44% das barragens de mineração existentes no país (VILANI, 2020). Desde o final do século XVII a atividade mineradora exerce um papel importante nesse estado, uma vez que possui um histórico de desenvolvimento econômico, social e político totalmente relacionado a essa atividade de produção. A descoberta de ouro pelos bandeirantes, nas rochas das encostas dos morros e ao longo dos leitos dos rios deu início a uma intensa exploração mineral. Com o passar dos anos e

com o surgimento de novas técnicas de análise foi possível diversificar os tipos de minerais explorados. Atualmente, pode-se destacar nessa região, a exploração das jazidas de minério de ferro e é devido a esse fato que ela é chamada de “Quadrilátero Ferrífero”, justificando a presença de várias empresas mineradoras no Estado de MG (ESPINDOLA, 2016).

3.2 A ictiofauna da bacia do rio Doce e as espécies em estudo

Na bacia hidrográfica do rio Doce estão localizadas cerca de 200 unidades de conservação, sendo que 44% dessas se encontram na primeira UPGRH, a DO1, e é essa área que engloba a maior parte do PERD - Parque Estadual do Rio Doce. O PERD é uma unidade de conservação e proteção, onde o objetivo principal é a preservação da natureza, admitindo apenas o uso indireto de seus recursos naturais. É considerado um parque porque compartilha os mesmos termos e objetivos dos parques nacionais, sendo estes criados para preservar ecossistemas naturais de relevância ecológica e paisagem natural, proporcionando a realização de pesquisas científicas, desenvolvimento de atividades de educação ambiental, recreação junto à natureza e turismo ecológico (ESPINDOLA, 2016).

Segundo Vieira *et al* (2015), a diversidade da flora e da fauna é grande nessa região e, embora a fauna venha sendo muito amostrada em vários estudos mais recentes, a maioria dos estudos com peixes disponíveis na literatura se concentrou no médio curso da bacia. Outro problema relatado é que não existia, até então, nenhuma publicação que sistematizasse informações sobre a ictiofauna de todo o Quadrilátero Ferrífero. Por isso, o estudo realizado por ele, juntamente com outros colaboradores, é de extrema importância como uma contribuição inicial para a conservação, por exemplo. Diversas espécies de peixes do Estado de Minas Gerais como um todo, incluindo da bacia do rio Doce, foram identificadas e classificadas no guia.

A ictiofauna da bacia do rio Doce ainda é pouco conhecida e estudada, mas de acordo com a literatura há registros que indicam a ocorrência de 71 espécies de peixes nativas, 11 ameaçadas de extinção e 28 introduzidas. Há espécies que são amplamente distribuídas ao longo da bacia, como acará (*Geophagus brasiliensis*), lambari (*Astyanax sp.*), traíra (*Hoplias malabaricus*), dentre outras (MOTA, 2005; VIEIRA *et al*, 2015). Essa estimativa para o número total está relacionada somente a espécies exclusivamente de água doce, pois se forem incluídas as de origem marinha, esse número deverá ser bem mais elevado (CBH-DOCE, 2010).

3.2.1 Cascudo, *Hypostomus luetkeni* (Lacépède, 1803)

Pertencente à família Loricariidae possui ampla distribuição na América do Sul, sendo que no Brasil apresenta maior ocorrência na bacia do rio Doce e no rio Paraíba do Sul. Espécie de grande porte (comprimento padrão máximo de 39,7 cm), sua boca é orientada ventralmente para facilitar a raspagem de substrato; possui corpo achatado coberto por placas ósseas e com coloração marrom-escuro. A espécie *Hypostomus luetkeni* (cascudo) é de hábito alimentar herbívoro, com tendência à algivoria, tendo preferência por algas e matéria orgânica em decomposição; assim, sua ocorrência é em diferentes tipos de substrato, como areia, lama e fundo rochoso (VIEIRA *et al*, 2015; SOUZA, 2010).

Sua reprodução ocorre durante o ano todo, com picos mais elevados nos períodos de temperaturas mais altas e de cheia dos rios, sendo que o desenvolvimento de indivíduos jovens ocorre na vegetação das margens e, após a primeira fase do ciclo de vida, se deslocam para o canal do rio (VIEIRA *et al*, 2015; CARDONE, 2006).

Figura 3 – Exemplar de *Hypostomus luetkeni*.



Fonte: MANABI, 2013.

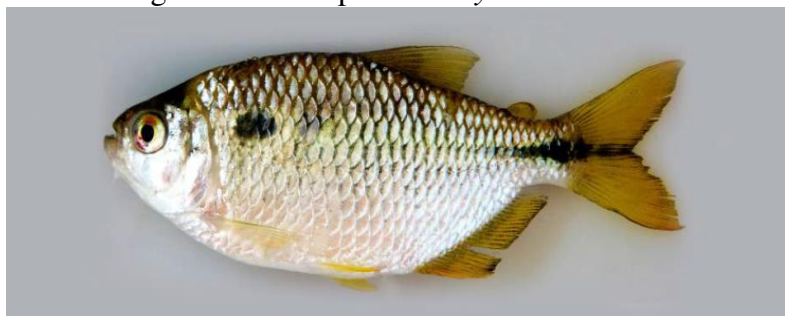
3.2.2 Lambari do rabo amarelo, *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875)

A espécie *Astyanax lacustris* (lambari do rabo amarelo) tem distribuição considerada restrita ao norte da América do Sul, incluindo o Panamá e o Brasil. Neste último país, é encontrada nas bacias Amazônica, do rio Doce e do rio São Francisco (LIMA, 2003; VIEIRA *et al*, 2015). Pertence à família Characidae e possui capacidade de mudar de dieta, respondendo às mudanças ambientais.

São peixes comuns em quase todos os ambientes aquáticos e apresentam, geralmente, hábito alimentar onívoro, com tendência à insetivoria (SILVA, 2012). É uma espécie de pequeno porte (comprimento padrão máximo de 12 cm), com presença de uma mancha ovalada na região umeral e uma mancha alongada no pedúnculo caudal que se estende até a ponta dos raios medianos da nadadeira caudal. A nadadeira anal possui 26 a 29 raios e seu maxilar não

possui dentes. A desova é parcelada e é mais intensa durante o período chuvoso (VIEIRA *et al*, 2015).

Figura 4 – Exemplar de *Astyanax lacustris*.



Fonte: VIEIRA *et al*, 2015.

3.2.3 Lambari-bocarra, *Oligosarcus argenteus* (Günther, 1864)

Oligosarcus argenteus é uma espécie pertencente à família Characidae e à subfamília Acestrorhynchinae. Restrita à América do Sul, é encontrada nas várias bacias hidrográficas brasileiras, em ambientes lóticos e lênticos, onde também ocorre a sua reprodução (MATTA, 2009). Possui hábito alimentar carnívoro, com tendência à piscivoria (VIEIRA *et al*, 2015). Essa espécie é restrita à calha e às cabeceiras de tributários. *Oligosarcus argenteus* foi descrita com o Brasil sendo a localidade tipo (BARROS, 2012) e é uma importante espécie de ictiofauna brasileira (MATTA, 2009).

É uma espécie de médio porte (comprimento padrão máximo 15,8 cm) e apresenta na sua morfologia uma linha lateral com 44-48 escamas; 17-20 escamas ao redor do pedúnculo caudal e 11-14 rastros na parte inferior do primeiro arco branquial (VIEIRA *et al*, 2015). Além disso, essa espécie possui potencial para a lambaricultura, sendo usada por muitos anos como controladora biológica da reprodução da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (SILVA, 1994).

Figura 5 – Exemplar de *Oligosarcus argenteus*.

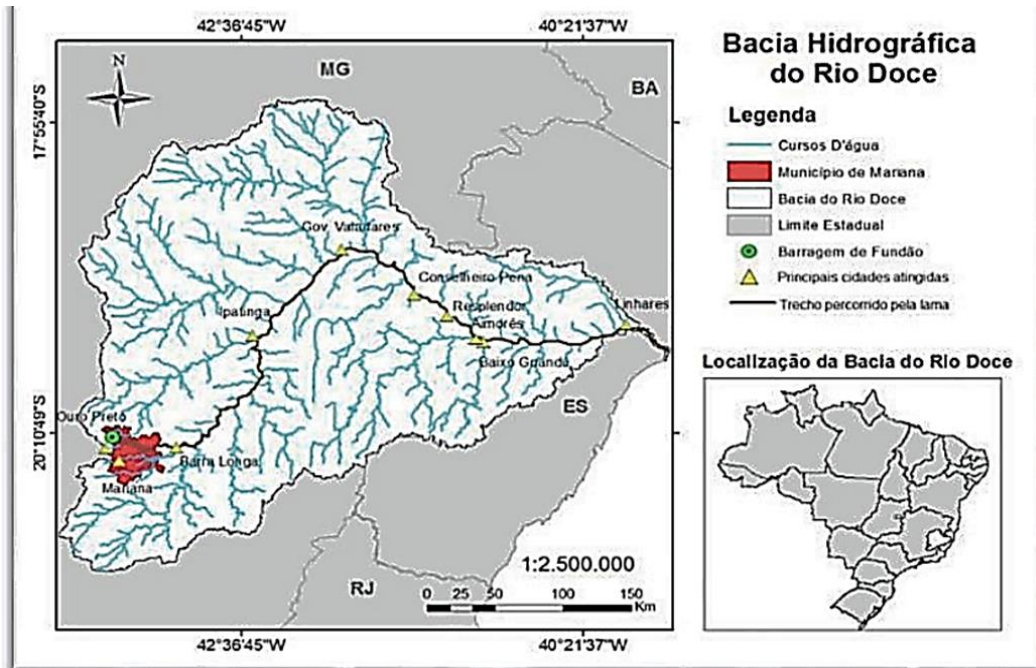


Fonte: VIEIRA *et al*, 2015.

3.3 Rompimento da barragem de rejeitos em Mariana-MG

Na tarde do dia 5 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da barragem de Fundão, na cidade de Mariana-MG que fica situada no Sudeste do Brasil. Era uma barragem de contenção de rejeitos de minério que pertence à Samarco Mineração S.A., controlada pelas empresas VALE e BHP Billiton (MARQUES, 2018). Em 2015, essa mineradora foi considerada a 10ª maior empresa exportadora do Brasil, com clientes em mais de 20 países (PACHECO, 2019). Ela continha rejeitos provenientes do processo de extração de minério de ferro e liberou um volume de aproximadamente 60 milhões de m³ de rejeitos da mineração, água e materiais utilizados em sua construção (MELO, 2020). O volume armazenado na barragem quando aconteceu o desastre era de cerca de 50 milhões de m³ de rejeitos, estimando-se que 16 milhões de m³ deste total mantiveram-se acumulados bem perto do local da tragédia (ANA, 2016).

Figura 6 – Percurso percorrido pelos rejeitos da mineração, após o rompimento da barragem em Mariana-MG.



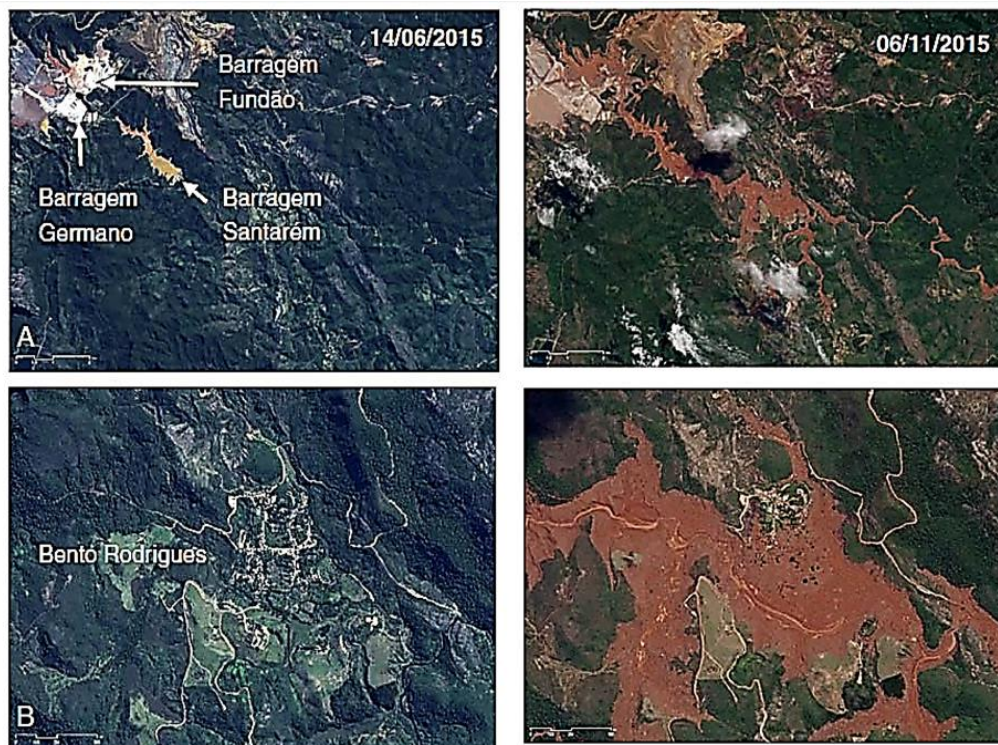
Fonte: PACHECO, 2019.

Até onde se sabe, as possíveis causas do rompimento da barragem de Fundão estão relacionadas a erros de construção e/ou manutenção, irregularidades na fiscalização da segurança e ao uso do reservatório com capacidade de retenção de rejeitos maior do que ela suportava. O Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM) era o responsável pela fiscalização, mas a última inspeção foi em 2012 e, após isso, a barragem sofreu modificações. Segundo informações da DNPM em 2016, a classificação de risco da barragem era baixa, com

dano potencial alto. A mesma estava inserida na Política Nacional de Segurança de Barragens (PNSB); porém, a empresa não possuía um Plano de Ação de Emergência. Ainda, segundo a Comissão Temporária da PNSB (2016), o resíduo era classificado como não perigoso e não inerte para os metais pesados, ferro e manganês (PACHECO, 2019).

A lama de rejeitos atingiu primeiro Bento Rodrigues, um subdistrito de Mariana, situado a pouco mais de cinco quilômetros da barragem, e o deixou quase completamente soterrado, com vítimas fatais, imóveis e flora destruídos, e altos níveis de mortandade da fauna aquática e terrestre. Além disso, a avalanche avançou sobre a planície dos rios tributários logo adiante, levando consigo parte da vegetação e do substrato. Esses materiais, quando somados à avalanche de rejeitos, agravaram os danos nos trechos de cabeceira da bacia hidrográfica do rio Doce (PACHECO, 2019).

Figura 7 – Imagens de satélite da Barragem de Fundão (A) e do subdistrito de Bento Rodrigues (B), antes (à esquerda) e após (à direita) o rompimento da barragem em Mariana-MG.



Fonte: ANA, 2016.

Figura 8 – Vista aérea do dia 24/11/2015 mostrando o subdistrito de Bento Rodrigues após o rompimento da barragem em Mariana-MG.



Fonte: ANA, 2016.

A partir da barragem de Fundão, a onda de rejeitos e detritos seguiu os cursos do córrego Santarém e dos rios Gualaxo do Norte e do Carmo, por cerca de 80 quilômetros, até alcançar o rio Doce. O incidente foi considerado pela Defesa Civil como de maior gravidade, ou seja, desastre de nível IV segundo definição e caracterização feitas por Castro (1999).

Diversos problemas foram desencadeados com a ruptura da barragem, uma vez que a bacia do rio Doce é fonte de água para o abastecimento público de várias cidades, e com seu corpo de água modificado pelos rejeitos, resultou na interrupção total ou parcial do abastecimento de água de 12 cidades, afetando uma população de cerca de 424.000 pessoas. Atingiu, ainda, cerca de 143 pontos de captação de água, com finalidade industrial, de irrigação, criação de animais e outros usos aprovados pela ANA.

Destaca-se que a água passou por tratamentos nas estações para esse fim, visto que apresentava altos níveis de turbidez. Posteriormente, o abastecimento público foi sendo retomado aos poucos (ANA, 2016). Perante a proporção do evento, é considerado um dos maiores desastres ecológicos da história mundial em termos de magnitude e abrangência socioambiental, visto que graves prejuízos sociais, ambientais e econômicos foram causados e podem ser imensuráveis. (ANA, 2016; MELO, 2020; PACHECO, 2019).

Desde então, órgãos ambientais começaram a atuar para compreender quais foram os prejuízos causados pela tragédia e quais providências precisavam ser tomadas. O governo atuou diante das comunidades atingidas, gerenciando e acompanhando as ações de maneira integrada com o Sistema Estadual de Meio Ambiente (SISEMA) e seus órgãos vinculados: Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM), Instituto Estadual de Florestas (IEF) e Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) e o Comitê Interfederativo (CIF) para obter resultados embasados

em sanar os danos (MELO, 2020). Em 2 de março de 2016 foi criada a Fundação Renova, por um Termo de Transação e de Ajustamento de Conduta (TTAC). A Fundação é uma organização não governamental privada e sem fins lucrativos, que iniciou suas operações em 2 de agosto do mesmo ano. A instituição tem como objetivos principais reparar e compensar os danos causados pelo desastre na bacia rio Doce e nas comunidades, com a criação de programas socioambientais e socioeconômicos, executando uma série de ações e medidas necessárias (SOUZA, 2020).

Visto as obrigações da Fundação Renova, o SISEMA vem acompanhando e fiscalizando as atividades por ela desenvolvidas, como análises de estudos e relatórios, elaboração de notas técnicas, fiscalizações de campo, e acompanhamento das tratativas no âmbito das câmaras técnicas, principalmente das socioambientais, dentre outras. O SISEMA possui total conhecimento das ações em andamento pela Fundação Renova e sua percepção é que elas devem ser mais efetivas e revistas, principalmente na busca para melhor atender as ações requeridas pelas Câmaras Técnicas e órgãos competentes (MELO, 2020).

Devido à preocupação com os impactos causados pelo rompimento da barragem em Mariana-MG e o quão importante a bacia do rio Doce é para Minas Gerais e Espírito Santo, a frequência de monitoramentos na bacia aumentou após a tragédia. O monitoramento da concentração de metais pesados na água, nos sedimentos e nos peixes é realizado constantemente, dado que estes elementos são muito nocivos aos seres vivos e ecossistemas, e a bacia precisa retornar a ser um meio de desenvolvimento e qualidade de vida para a população (CARVALHO *et al.*, 2017; IGAM, 2020). De um modo geral, foi visto que no ano de 2018 e no primeiro semestre de 2019, houve uma redução dos valores de percentis dos metais pesados analisados, em todos os trechos da bacia avaliados pelo IGAM, sendo somente trechos afetados pela lama de rejeitos de minério (IGAM, 2020).

3.4 Áreas em estudo

3.4.1 Áreas afetadas pelo rompimento da barragem

3.4.1.1 Rio do Carmo

O rio do Carmo é um dos principais afluentes da bacia do rio Doce pela margem esquerda e está inserido na UPGRH Doce 1 (DO1). Suas nascentes encontram-se no município de Ouro Preto/MG, sendo formadas pelos córregos do Funil e Tripuí, e atravessam o município de Mariana-MG. Possui uma extensão de aproximadamente 134 quilômetros. Drena os municípios de Acaiaca, Barra Longa, Diogo de Vasconcelos, Mariana, Ouro Preto e Ponte

Nova, em Minas Gerais, quando encontra com o Rio Piranga para assim formar o rio Doce. (FERNANDES, 2017; SILVA, 2013).

Há décadas é explorado para extração de ouro, e hoje, essa atividade ainda pode ser presenciada em vários pontos ao longo do seu curso. A maior parte de sua vegetação sofreu supressão de carvão, com o intuito de abastecer as fornalhas da indústria siderúrgica, para construção de estradas e preparo de alimentos. Os usos principais da água desse rio são para abastecimento público, consumo humano e de animais, agroindústria, irrigação, indústrias e geração de energia elétrica (SILVA, 2013).

O rio do Carmo possui uma ictiofauna com 32 espécies registradas até o momento, mas a maior parte dos registros provém do rio Gualaxo do Sul, que foi estudado para diversos empreendimentos hidrelétricos. Devido à intensa extração de minério de ferro, realizada nas partes superiores das drenagens, este rio tem sofrido sérios impactos (PIRH DOCE, 2010).

Segundo análises realizadas pelo IGAM (2020) para avaliar a concentração de metais pesados na água dos rios, o rio do Carmo no ano de 2018 ainda apresentou concentrações acima do nível 2 da Resolução CONAMA nº 454/2012, que é o valor acima do qual há maior probabilidade de efeitos adversos à biota, para os metais Al (0,267 mg/L), Cd (0,002 mg/L) e Pb (0,023 mg/L), dentre os analisados. Porém, no primeiro semestre de 2019, apresentou níveis para todos os metais pesados analisados abaixo do nível 2.

3.4.1.2 Rio Doce

O rio Doce passa a ter esse nome após a confluência dos rios Piranga e Carmo, próximo à cidade de Rio Doce/MG. Portanto, sua nascente se localiza no Estado de Minas Gerais e depois, se encontra com o mar no litoral do Estado Espírito Santo. É um dos grandes rios brasileiros, apresentando a maior parte do seu leito com substrato arenoso e menor velocidade de corrente da água. Através de seus recursos hídricos, o rio Doce tem papel fundamental na economia do leste mineiro e do noroeste capixaba, por fornecer água necessária para diferentes usos (doméstico, agropecuário, industrial, geração de energia elétrica) (ANA, 2016).

Infelizmente, há décadas o rio Doce vem sofrendo com impactos antrópicos, como desmatamento da vegetação ciliar, construção de barragens hidrelétricas e de rejeitos de mineração, drenagem, despejo de efluentes domésticos e industriais, introdução de espécies não nativas, dentre outras (AZEVEDO-SANTOS, 2016). Assim, uma questão crucial a ser destacada é a qualidade da água desse rio, que já está sendo monitorada há tempos pelo IGAM (Instituto Mineiro de Gestão das Águas), uma vez que ocorreram problemas pela cor, turbidez e presença de coliformes e outros compostos tóxicos. O desmatamento generalizado e o mau

uso dos solos, tanto para a monocultura do eucalipto quanto para agricultura e pastagem, têm levado a um intenso processo de erosão, onde os sedimentos resultantes tendem a assorear os cursos d'água (CBH-DOCE, 2010).

Em 2018 o IGAM realizou análises para avaliar a concentração de metais pesados na água do rio Doce, que é um dos rios que foi atingido pelo rompimento da barragem em Mariana. As coletas foram realizadas em 12 pontos ao longo deste rio, e as análises mostraram concentrações acima do nível 2 para Al em todos os pontos analisados, Pb em 11 pontos, Cd em 10 pontos, Zn em 3 pontos, e Cu somente em um ponto. Por outro lado, no primeiro semestre de 2019, novas análises foram conduzidas e mostraram concentrações acima do nível 2 para Al em 10 pontos; Cu, Cd e Zn em 1 ponto; e para os demais metais, foram abaixo do nível 2. Portanto, esse estudo mostrou que em vários pontos analisados as concentrações de determinados metais pesados reduziram nesse intervalo de tempo, indicando sinais de recuperação (IGAM, 2020).

3.4.2. Áreas não afetadas pelo rompimento da barragem

3.4.2.1 Rio Piranga

O rio Piranga é considerado a principal nascente do rio Doce e drena uma área planáltica muito importante, onde se encontram os rios Doce, Grande (Bacia do Paraná) e São Francisco (BERTOLINI & CHEREM, 2017). Ele possui grandes extensões de corredeiras e fundo rochoso, e é a segunda sub-bacia com maior disponibilidade hídrica da bacia do rio Doce. As bacias que ficam localizadas mais próximas às cabeceiras têm produção mais elevada do que as que ficam no Estado do Espírito Santo (PIRH DOCE, 2010).

Os principais afluentes do rio Piranga são os rios São Bernardo, Xopotó, Turvo Limpo e Oratórios. O rio Piranga é o que possui maior número de espécies registradas, incluindo espécies nativas e exóticas. Já foram feitos muitos estudos nesta sub-bacia; com isso pode-se indicar que esta área é prioritária para conservação da ictiofauna de Minas Gerais (PIRH DOCE, 2010). Nela existe um dos três registros atuais da ocorrência do peixe surubim-do-Doce (*Steindachneridion doceanum*), uma espécie que está em vias de extinção na bacia do rio Doce (VIEIRA, 2008). Mas também são observados grandes cardumes de algumas espécies durante a piracema, como piau-vermelho, piau-branco, curimatã, entre outros. Assim, essas observações indicam que essa sub-bacia é importante como área de recrutamento para grande parcela da ictiofauna da bacia do rio Doce.

O rio Piranga está entre os rios que não foram afetados pelo rompimento da barragem em Mariana-MG, ao que se sabe até o momento. Segundo um estudo que avaliou a qualidade

da água dos rios Carmo, Doce e Piranga, concluiu-se que a qualidade das águas do rio Piranga foi superior à das águas dos outros dois rios avaliados (MAIA, 2017). Segundo monitoramento e análises das concentrações de metais pesados na água deste rio, realizados pela Fundação Renova em 2018 e em 2019, tem-se que, levando em consideração os limites para cada metal de acordo com a Resolução CONAMA 357/05, as concentrações acima do limite foram encontradas para o Al em Março/2018 e em Fevereiro, Março e Abril/2019; para o Fe em Fevereiro, Março, Abril e Outubro/2018 e em seis meses de 2019; para o Mn em Março/2018 e Maio/2019; para outros metais analisados, como Cd, Pb, Cr, Ni e Zn, tanto no ano de 2018 todo, quanto no de 2019, as concentrações ficaram abaixo do limite.

3.4.2.2 Rio Casca

O rio Casca é um importante contribuinte para a bacia do rio Doce, possuindo registros de cerca de 20 espécies de peixes. Com os dados disponíveis atualmente, não é possível avaliar se a ictiofauna desse rio apresenta particularidades no que se refere a endemismos ou ocorrência de espécies raras. Essa sub-bacia possui área de drenagem de aproximadamente 2.511 km² (PIRH DOCE, 2010). Segundo um estudo feito por Glória & Roeser (2021) para avaliar as condições da água do rio Casca, os autores concluíram que apesar das atividades antropogênicas exercidas no entorno, alguns parâmetros avaliados ficaram dentro dos limites legais.

Foi feito um estudo para verificar o percentual de não conformidades do padrão de qualidade para alguns parâmetros determinados em todos os pontos de coleta nas sub-bacias da bacia do rio Doce, onde foram analisadas variáveis físicas, químicas e biológicas. Usou-se como referência a Resolução CONAMA nº 357/2005 para corpos de água de Classe 2; ou seja, se um parâmetro está acima de 20% significa que há violação do padrão. Ferro e manganês são parâmetros que ficaram acima de 20%, mas foram desconsiderados devido às características do solo da bacia em questão. Contudo, na sub-bacia do rio Casca, somente fósforo, coliformes totais e termotolerantes ficaram acima de 20%, o que pode ser explicado pelas atividades presentes na região, como indústrias de laticínios, dessedentação animal, extração de argila e de areia, agricultura, silvicultura, hidrelétricas entre outras (PIRH DOCE, 2010; GLÓRIA & ROESER, 2021).

3.5 Metais pesados

Os metais são elementos eletropositivos, ou seja, têm tendência a doar elétrons em ligações químicas. Além disso, são bons condutores de calor e eletricidade, maleáveis e podem formar ligas (JANG & HOFFMAN, 2011). Estão amplamente distribuídos pela crosta terrestre

e são liberados por várias fontes no ambiente, sendo de forma natural pelo intemperismo de rochas, por exemplo, ou por meio de atividades antrópicas, como indústrias e mineração. Dentro do grupo dos metais, existe um grupo chamado de “metais pesados”, também denominados “elementos traço”, que possuem densidade superior à da água, são capazes de formar sulfetos, têm elevados níveis de reatividade e bioacumulação, e em concentrações elevadas podem demonstrar efeitos tóxicos (SOUZA, 2018).

A maioria dos organismos vivos precisa de determinadas quantidades de metais para a manutenção das suas funções biológicas, como cobre, zinco, manganês e ferro, enquanto outros metais não têm papel biológico conhecido, como chumbo, cádmio, mercúrio, arsênio e níquel. Todos os metais pesados, incluindo os essenciais para a manutenção biológica, podem ser tóxicos quando encontrados em quantidades excessivas no solo, na água, nos animais e nas plantas (OLIVEIRA & HORN, 2006; JANG & HOFFMAN, 2011; SOUZA, 2018).

Fontes antropogênicas atualmente vêm aumentando os níveis destes poluentes no meio ambiente, por não serem degradáveis, levando os seres vivos a terem contato com maiores concentrações por diversas vias, direta ou indiretamente. A severidade e a natureza da toxicidade variam de acordo com o metal pesado envolvido, sua espécie (forma química na qual esse elemento se encontra), nível de exposição, biodisponibilidade, estados químicos, tempo de exposição (agudo ou crônico) e características do indivíduo (IBRAHIM, 2006; LIMA & MERÇON, 2011).

A exposição aos metais pesados, principalmente por um longo período, pode causar danos à saúde, prejudicando o funcionamento de órgãos como fígado, cérebro, pulmão, rins e intestino, uma vez que afetam as funções celulares fundamentais, modificam estruturas celulares e enzimas. São elementos complexos e seus efeitos não estão completamente elucidados. Ao chegarem à corrente sanguínea, geralmente são retidos por proteínas e transportados até os órgãos-alvo, onde podem ser estocados em seus tecidos. Com isso, sua toxicidade pode ocorrer em razão da sua conjugação com grupos funcionais de proteínas, causando desequilíbrio no estado oxidativo e danos às membranas celulares, pois podem impossibilitar ou diminuir o transporte de elementos essenciais, estimulando a formação de radicais livres em excesso (GOLDHABER, 2003). Um estudo com o objetivo de esclarecer e investigar mais sobre os possíveis efeitos destes contaminantes concluiu que entram no organismo principalmente pela via oral. Além disso, devido a bioacumulação destes em órgãos e tecidos, há surgimento de patologias, destacando fígado, rins, sistema nervoso e endócrino, e dependendo da exposição ao elemento, via de penetração, entre outros, os prejuízos aumentam (TEIXEIRA *et al*, 2020).

Em corpos d'água, a toxicidade de um metal varia em função do pH e dos teores de carbono dissolvidos e em suspensão, pois há interação com o carbono, formando complexos ou sendo adsorvidos (LIMA & MERÇON, 2011). A bioacumulação de metais pesados em peixes pode ocorrer mesmo quando se encontram em baixas concentrações no ambiente, pelo maior contato das superfícies do animal com os contaminantes e pelo seu modo de vida (MACHADO, 2002). Dessa forma, neste grupo os metais podem levar a distúrbios no desenvolvimento, no funcionamento normal dos órgãos e também na reprodução (HADI & ALWAN, 2012; PALANI, 2015; VITEK, 2007). Devido à dependência da água em todo o seu ciclo de vida, à interação com os diferentes níveis tróficos e à sensibilidade a concentrações de substâncias tóxicas, os peixes são considerados organismos modelo para avaliação da qualidade do ambiente aquático (JESUS, 2016). Assim, utilizando organismos modelo e técnicas diversas para o monitoramento desses ambientes, conseguem-se criar ferramentas eficazes para avaliar o efeito destes poluentes tanto no ambiente quanto nos animais (AMORIM, 2020).

3.5.1 Metais pesados em estudo

3.5.1.1 Alumínio

O alumínio (Al) é um metal encontrado em grande abundância na natureza, estando presente em produtos como medicamentos e cosméticos, equipamentos eletrônicos, embalagens e efluentes industriais. Na natureza ele não ocorre em sua forma pura; ele é encontrado em forma combinada com rochas e minerais em razão da sua alta afinidade pelo oxigênio. Em ecossistemas aquáticos, é encontrado em sua forma dissolvida (biodisponível) e particulada, sendo transportado do solo para a coluna d'água nas formas iônicas, por exemplo, Al^{3+} (DÁVILA, 2012; CORREIA, 2012).

Entretanto, alguns estudos têm inferido que em determinadas condições e concentrações, esse metal pode causar disfunções fisiológicas e comportamentais, uma vez que possui capacidade de se acumular em tecidos e órgãos. Algumas alterações fisiológicas foram observadas em diferentes espécies de peixes expostas ao Al, como distúrbios cardiovasculares, hematológicos, metabólicos, endócrinos e reprodutivos (TEIEN, 2007).

Hadi & Alwan (2012), concluíram que brânquias, fígado e rim de peixes avaliados em seu experimento, sofreram danos devido à toxicidade direta do alumínio. No estudo realizado por Oliveira (2011), usando sete enzimas hidrolases de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) como biomarcadores e expondo esses indivíduos a esse metal, o autor inferiu que foram observadas alterações digestivas, quando enzimas colinesterásicas aumentaram sua atividade, mas outras enzimas do metabolismo digestivo reduziram.

3.5.1.2 Cádmió

O cádmio (Cd) é um metal branco-prateado em sua forma pura e está presente na crosta terrestre em associação a outros metais. A presença de compostos de Cd no ambiente é proveniente de fontes naturais que incluem atividade vulcânica, intemperismo de rochas, incêndios florestais e mobilização de solos. As rochas sedimentares e fosfáticas de origem marinha são as principais fontes naturais desse metal. A atividade vulcânica, tanto na superfície quanto nas profundidades marinhas, é o principal mecanismo de lançamento de cádmio na atmosfera (ANGELIS, 2017; MANZINI, 2010). Contudo, a presença desse metal também é devida às atividades antrópicas como combustão fóssil, incineração de resíduos e produtos cujo metal está em sua composição (baterias, pigmentos, fertilizantes, pesticidas, entre outros) (ANGELIS, 2017).

Por ter uma meia-vida biológica longa (cerca de 20 anos) e com capacidade biocumulativa, em concentrações altas e exposição crônica, o cádmio pode afetar alguns órgãos-alvo, prejudicando suas funções, causando doenças e alterações patológicas. Pode entrar no corpo através da água, alimentos ou partículas no ar, causando desregulação hormonal, estresse oxidativo, apoptose, e redução da capacidade reprodutiva (CUPERTINO, 2017; TRAVIÑO, 2017). Ademais, em peixes, a absorção desse metal é através da mucosa intestinal e do epitélio branquial, alterando terminações neuromusculares, e assim pode causar mudanças no comportamento natatório e lesões no sistema respiratório (BUHARI & ISMAIL, 2016; SANTOS, 2018).

3.5.1.3 Chumbo

O chumbo (Pb) possui cor cinza-azulada, é inodoro e com alta capacidade acumulativa. Está presente na crosta terrestre por fontes naturais e antrópicas, sendo considerado um dos poluentes mais perigosos. Pode ser encontrado em dois grandes grupos: chumbo inorgânico e chumbo orgânico, onde o inorgânico tem como exemplo os sais de chumbo e chumbo metálico, e o orgânico na forma acetato de chumbo. O Pb é absorvido por duas principais vias: gastrointestinal e respiratória, mas também pela pele, dependendo da forma em que se encontra no meio. Ao chegar à corrente sanguínea esse metal pode ligar-se aos eritrócitos ou ao plasma, alcançar órgãos e tecidos, causando alterações diversas (LIU, 2008; MANZINI, 2010).

Um estudo recente com as espécies de peixes *Tor putitora* (Mahseer) e *Ctenopharyngodon idella* (carpa-capim) foi realizado com o intuito de analisar a bioacumulação de chumbo em diferentes órgãos, em três períodos de exposição. Os resultados

indicaram que, de modo geral, a maior concentração de chumbo foi observada nas brânquias e a menor nos músculos para ambas as espécies, mas além destes órgãos, foram avaliados intestino, pele, fígado e bexiga natatória. Foi inferido que a probabilidade de bioacumulação em diferentes órgãos aumenta com a duração da exposição a esse metal e o efeito do tempo de exposição foi mais perceptível nos músculos, visto que é a parte do peixe que o ser humano consome, o que torna esta situação preocupante (LATIF, 2022).

3.5.1.4 Cobalto

O cobalto (Co) é um metal de coloração branco-acinzentada, relativamente raro na crosta terrestre, que possui propriedades magnéticas. Este metal e seus compostos são utilizados nas indústrias para fabricar vidros, cerâmicas, agentes secantes e vernizes, produzir ligas metálicas e também para o tratamento de intoxicação por cianeto (COMMISSION OF EUROPEAN COMMUNITIES INDUSTRIAL HEALTH AND SAFETY, 1987; GOYER, 1996).

É um micronutriente essencial da vitamina B12 (cobalamina), porém, sua deficiência ou excesso pode ser extremamente prejudicial para a saúde. O ser humano e muitos outros animais não são capazes de sintetizar cobalto; portanto, deve ser ingerido por meio da alimentação ou suplementação, dependendo, por exemplo, da produção bacteriana para obter este composto, pois ele é necessário para evitar o quadro de anemia perniciosa (BLUST, 2011).

Experimentos realizados com animais de laboratório evidenciaram o surgimento de tumores nos locais onde o cobalto foi colocado (LEONARD & LAUWERYS, 1990). O excesso dele no organismo pode ter consequências como deficiência de zinco; danos às ilhotas de Langerhans no pâncreas, provocando hiperglicemia; danos às células do epitélio dos túbulos proximais nos rins; e prejuízo da função hepática (MARSHALL & BANGERT, 1995; TSALEV & ZAPRIANOV, 1983).

A toxicidade por cloreto de cobalto, mesmo em concentração baixa, foi identificada em uma pesquisa feita com *Oreochromis mossambicus*, onde foram encontradas alterações severas nas funções fisiológicas vitais de brânquias e fígado (PALANI, 2015). Um outro estudo envolvendo o cobalto foi realizado avaliando os possíveis efeitos de nanopartículas de óxido de cobalto e íons de cobalto na histologia de brânquias de peixe-zebra (*Danio rerio*) e os resultados indicaram lesões branquiais como aneurisma, hiperplasia, edema, hipertrofia, necrose, entre outras (MANSOURI, 2015).

3.5.1.5 Cobre

O cobre (Cu) é um metal maleável, resistente à corrosão e com cor alaranjada. Ele é amplamente aplicado na construção civil, fabricação de objetos e ferramentas, em tubos e fios condutores de energia. Os agrotóxicos e fungicidas também são fontes deste metal para controle de pragas na agricultura e pecuária (BOOCK & NETO, 2000; LOPES, 2011). Além disso, é utilizado na piscicultura para melhorar a produção e contornar dificuldades que ocorrem durante o processo produtivo (SAMPAIO, 2013).

O cobre é responsável por ser cofator de enzimas que estão envolvidas na produção de energia celular, desintoxicação de radicais livres, produção de tecido conjuntivo, mobilização de ferro e neurotransmissão. Mas, quando acontece desequilíbrio entre o fluxo de sangue no corpo e a excreção desse metal, acontece seu acúmulo no fígado, uma vez que é nesse órgão que ocorre o sequestro de Cu e distribuição por meio do sangue para outros órgãos e tecidos. Em um estudo realizado com tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*), verificou-se acúmulo de cobre, tanto na exposição aguda (96 horas) quanto na exposição crônica (192 horas) ao fungicida oxiclureto de cobre, o que pode levar a danos no organismo (PEDROZO & LIMA, 2001; SAMPAIO, 2013; SUTTLE, 2010). Segundo Pereira *et al* (2019), as espécies de peixes analisadas em seu estudo acumularam mais os metais cobre e zinco nas vísceras, e esse fato pode estar relacionado com o processo de absorção dos metais nestes animais, devido à alimentação.

3.5.1.6 Cromo

O cromo (Cr) é o sétimo metal mais abundante encontrado no meio ambiente, inclusive está presente em muitos alimentos como carnes, cereais, oleaginosas e leguminosas. Seu excesso e sua deficiência são prejudiciais à saúde, dado que pode causar toxicidade e alterações no metabolismo, respectivamente (SILVA E PEDROZO, 2001).

O Cr é encontrado por meio de fontes naturais (incêndios ambientais e erupções vulcânicas) ou antrópicas (produção de aço inoxidável, cimento e fertilizantes). É considerado um micronutriente essencial para os seres vivos; todavia, a capacidade de uma substância se tornar tóxica ou não sempre depende da sua concentração. A exposição ao cromo pode gerar hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, câncer, estresse oxidativo, redução da função do sistema reprodutor (BAGCHI, 2002; SILVA & PEDROZO, 2001).

Em peixes, o cromo se acumula em alguns órgãos e afeta atividades fisiológicas e metabólicas, como alterações comportamentais, imunológicas, hematológicas, desregulação endócrina, hiperglicemia e estresse oxidativo (AUTHMAN, 2015; BAKSHI & PANIGRAHI, 2018; MAROUANI, 2017).

3.5.1.7 Ferro

O ferro (Fe) é maleável, com coloração branco-acinzentada e possui propriedades magnéticas. É um metal abundante e amplamente utilizado nas indústrias, na fabricação de máquinas, ferramentas, aço e fungicidas. Além disso, é necessário para a sobrevivência dos seres vivos, uma vez que é essencial para o transporte de oxigênio, síntese de DNA, cofator de enzimas e respiração celular (BURY, 2003).

Segundo Authman *et al.* (2015), a maior concentração de Fe em peixes foi encontrada no fígado, gônadas e brânquias. Além do mais, uma dieta rica em ferro pode afetar o crescimento desses animais, reduzindo seu tamanho corporal. Outro estudo sugeriu que esse metal em excesso na dieta foi prejudicial para peixes, provocando a multiplicação exacerbada de bactérias no trato digestivo (GATESOUBE, 1997).

Uma pesquisa com tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetido a diferentes concentrações de ferro sugeriu que o longo período experimental resultou em mudanças na capacidade de transporte de oxigênio e confirmou o resultado de um estudo anterior, pois provocou aumento de bactérias no trato intestinal destes peixes (SANTOS, 2006). Também foram identificadas alterações histológicas como acúmulo de restos celulares com precipitados deste metal na cavidade oral, estômago e intestinos de peixe-zebra (*Danio rerio*) (MARCELINO, 2021).

3.5.1.8 Manganês

O manganês (Mn) é essencial para os seres vivos, por estar envolvido na formação óssea e no metabolismo de macronutrientes, sendo presente em pequenas quantidades no corpo humano. É utilizado na siderurgia e na metalurgia para fabricar ligas, por isso é de extrema importância para a economia global. Os seres vivos estão expostos a este metal pelos alimentos, água, solo e ar; porém, se expostos a níveis elevados, pode haver toxicidade (MANZINI, 2010).

Danos histológicos foram encontrados em peixes-zebra adultos induzidos por cloreto de manganês, além de danos genotóxicos e comportamentais. Avaliando o cérebro, fígado e sangue, para analisar possíveis efeitos que concentrações ambientalmente relevantes desse metal poderiam causar, o estudo mostrou que houve vacuolização dos hepatócitos, indução de micronúcleos em eritrócitos, comportamento tipo ansiogênico e redução de neurônios no núcleo dorsal (RODRIGUES, 2020). Ainda, danos histológicos, como a vacuolização de hepatócitos, foram encontrados no fígado de peixes-zebra após indução por manganês, especialmente em concentrações mais altas (RODRIGUES, 2019).

3.5.1.9 Níquel

O níquel (Ni) é um dos metais pesados mais comuns no solo e está presente na natureza em meteoritos, vulcões, poeira do solo e dos incêndios florestais. Por fontes antropogênicas ocorre na mineração, refinamento e derretimento de aço inoxidável, reciclagem de sucata, extração de ouro, entre outras formas (BERTON, 2006; CAMERON, 2011).

Como para a maioria dos metais conhecidos, a toxicidade do Ni também é dependente da exposição, dosagem, idade do organismo em contato com este metal e da solubilidade dos compostos. Seus efeitos são imensuráveis para a saúde. Uma forma de exposição humana bem comum é por meio do uso de joias, relógios de pulso, moedas e botões de roupa metálicos, e por isso foram colocados limites para o uso do níquel na fabricação destes objetos, por estarem diretamente em contato com a pele (ALI, 1987; RANA, 2006; BRANDÃO, 2010).

Diante de alguns estudos já realizados, foi constatado que o níquel pode causar toxicidade no fígado, pulmão, rins, testículos, sistemas imunológico e neurológico (DAS, 2008). Um estudo realizado com zebrafish (*Danio rerio*), larvas e adultos, para avaliar os possíveis efeitos da exposição aguda e subcrônica deste metal, foi observado que no estágio larval ocorreram alterações morfológicas, fisiológicas, e déficits na cognição e locomoção; já nos peixes adultos, teve efeito ansiogênico, comprometimento de memória e diminuição do comportamento agressivo. Com isso, foi inferido que estas alterações podem estar associadas a efeitos neurotóxicos que são causados por este metal (NABINGER, 2017).

3.5.1.10 Zinco

O zinco é um dos elementos mais comuns e pode ser encontrado no solo, no ar, na água e também nos alimentos. Além disso, é um constituinte de proteínas e participa como cofator enzimático em muitas reações químicas de síntese e degradação de metabólitos maiores (CRUZ & SOARES, 2011). É utilizado em processos industriais, como fundição e refinação na metalurgia, produção de zinco primário, combustão de madeira, incineração de resíduos, e produção de herbicidas, inseticidas, fertilizantes, cosméticos, entre outros (FILHO, 2001). O zinco é um elemento essencial para o ser humano, animais e plantas; portanto, só se torna prejudicial à saúde quando ingerido em concentrações altas. Níveis altos desse metal são introduzidos no ambiente por atividades antropogênicas como mineração, produtos agrícolas, cosméticos e queima de lixo (BEEGAM, 2019).

Os ambientes aquáticos são contaminados por este metal e, com isso, pode afetar os peixes e causar danos em órgãos alvo. No fígado, o acúmulo de zinco pode provocar

vacuolização intensa, congestão e degeneração hepática (BEEGAM, 2019). Zinco, manganês e cobre foram encontrados em elevadas concentrações no fígado de peixes e esse acúmulo foi relacionado com os mecanismos de depuração dos diferentes elementos; este órgão acumula poluentes de vários tipos em concentrações muito mais altas que aquelas encontradas no meio ambiente (CARMO, 2011). Em estudo realizado por Song *et al.* (2017) usando carpas jovens (*Ctenopharyngodon idella*) foi constatado que a deficiência de zinco também pode ser prejudicial para o intestino, diminuindo a barreira física e as funções imunológicas intestinais.

3.6 Morfologia do intestino de Teleósteos e toxicidade por metais pesados

O intestino dos teleósteos (peixes ósseos) é uma estrutura tubular enovelada, relativamente simples, com duas porções: a anterior que é ligada ao estômago, composta pelo intestino delgado, e a posterior, composta pelo intestino grosso. No entanto, como o diâmetro dessas duas porções é, geralmente, parecido, há divergências sobre esta divisão. Na primeira porção ocorre a absorção de nutrientes como os monossacarídeos, aminoácidos e ácidos graxos; já a segunda é responsável pela entrada de macromoléculas pelo mecanismo de pinocitose (ROTTA, 2003).

Esse órgão possui muitas glândulas digestivas, vasos sanguíneos e vasos linfáticos, devido à sua função de realizar o processo de digestão dos alimentos. O intestino nos peixes também pode ser responsável pela osmorregulação e pela respiração. Uma estrutura importante e característica deste órgão é a prega intestinal localizada na camada mucosa, com a função de aumentar a superfície de contato e, conseqüentemente, a secreção, digestão e absorção realizada pelas células que compõem o epitélio, as células caliciformes e as absorptivas, respectivamente. Outra estrutura importante é o ceco pilórico, presente em algumas espécies de peixes, são divertículos com formato digitiforme, encontrados na região pilórica e na porção anterior do intestino médio, podem estar livres entre si ou fundidos à parede do estômago (ROTTA, 2003). Segundo George *et al.* (1998) na camada mucosa desse grupo não existem estruturas equivalentes às glândulas mucosas ou criptas de Lieberkühn, como ocorre em outros grupos de peixes. Pequenos vasos sanguíneos estão presentes no conjuntivo da mucosa (lâmina própria), inclusive na base do epitélio de revestimento. A camada submucosa é formada por tecido conjuntivo com vasos sanguíneos e linfáticos. Adjacente à camada submucosa está localizada a camada muscular circular, seguida da camada muscular longitudinal. A camada serosa que fica externamente às camadas musculares possui uma morfologia típica, sendo constituída por tecido conjuntivo frouxo revestido por mesotélio (ALMEIDA, 2015).

Em peixes, o intestino é um órgão com grande importância no sistema imunológico, contendo células de defesa na camada mucosa como os linfócitos B e T, macrófagos, mastócitos e células *rodlet*, onde essa última é exclusiva dessa classe. Além disso, o muco produzido pelas células caliciformes é responsável pela primeira barreira física contra os microrganismos. Os linfócitos produzem anticorpos e proporcionam um ambiente tolerante contra antígenos, atuando na resposta imune inata diante de patógenos ou de substâncias estranhas no organismo, sendo que cada linfócito possui especificidade a um determinado epítipo e assim, ao encontrar o seu antígeno, gera células efetoras e de memória (MATTOS *et al.*, 2021; SANTOS, 2018). Os macrófagos são células apresentadoras de antígenos que secretam citocinas, atuam na fagocitose e na destruição de microrganismos, promovendo a defesa do organismo contra corpos estranhos (GEREMIA *et al.*, 2021). As células *rodlet* são um tipo celular exclusivo de peixes teleósteos e estão presentes, geralmente, no epitélio do intestino, coração, brânquias, entre outros órgãos. São células que ainda há questões que não estão bem elucidadas, mas sabe-se que sua presença tem sido relacionada a respostas imunes a estressores como patógenos, poluentes, toxinas, neoplasias e lesões teciduais gerais (ZACHEO *et al.*, 2018; ZACHEO *et al.*, 2017).

De acordo com Costa *et al.* (2016) e Becker *et al.* (2010), a morfologia do trato gastrointestinal costuma apresentar variações específicas relacionadas à dieta, à morfologia corporal e ao ambiente em que esses peixes se encontram, e também características que refletem a diferenciação funcional. As estruturas morfológicas do trato gastrointestinal fornecem informações sobre a ecologia alimentar de uma determinada espécie, uma vez que as particularidades morfológicas presentes nela sugerem como é capaz de se alimentar. Sabe-se, diante de estudos concluídos, que espécies herbívoras e detritívoras tendem a ter intestinos mais longos, finos e estreitos que os carnívoros; já o intestino das espécies onívoras tem comprimento intermediário (BECKER, 2010). Um estudo realizado afim de comparar morfológicamente o intestino de *Hoplias malabaricus* (espécie carnívora) e *Hypostomus pusalum* (espécie herbívora) confirmou estes hábitos alimentares e ainda, foi visto que o intestino de *H. malabaricus* é curto e de *H. pusalum* é muito longo. Além disso, foi verificado que os cecos pilóricos de *H. malabaricus* são curtos, numerosos e ramificados, estando no início do intestino, já em *H. pusalum* o intestino não possui cecos pilóricos. (PESSOA *et al.* 2013).

Os peixes, por estarem sempre em contato direto com a água, estão conseqüentemente em contato com os contaminantes, e devido às respectivas funções já citadas, o intestino é um órgão que pode ser diretamente afetado. Segundo Deb & Fükushima (1999), os órgãos possuem capacidades diferentes de concentrar metais pesados, e em estudo realizado por Zhang *et al*

(2007), os autores concluíram que o intestino tem potencial relativamente alto para acumular estes metais, pois em comparação com o músculo, foi o órgão com maiores níveis, inferindo-se então, que o intestino é um bom bioindicador destes elementos químicos presentes no ambiente.

Dane & Fat (2020) fizeram um estudo morfo-histopatológico do trato digestivo de peixes de água doce e encontraram alterações histológicas nos animais de locais poluídos, como degenerações gástricas, vacuolização, congestão, degenerações epiteliais, hiperplasia, entre outras. Em uma pesquisa com diferentes espécies de peixes e diferentes órgãos, foi detectado que o intestino é o segundo órgão com maiores concentrações de metais pesados bioacumulados (ENEJI, 2011). Segundo Asghar *et al.* (2015), sobre o uso da nanotecnologia para avaliar possíveis danos causados por nanopartículas de zinco em peixes, foi visto que amostras de brânquias e intestino apresentaram alterações significativas em peixes adultos, como células epiteliais com alterações e ausência de escamas.

4. REFERÊNCIAS

- ALI, S. A.; GROTTI, A.; RISCALA, C. M. O níquel e suas ações sobre o organismo humano. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 62:85-96, 1987.
- ALMEIDA, S. S. N. DE *et al.* Descrição histológica de órgãos viscerais de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, p. 3582–3591, 2015.
- AMORIM, Nathan Pereira Lima. **Avaliação ecotoxicológica de contaminantes ambientais em populações de peixes de Unidade de Conservação e ambiente antropizado**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e conservação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde, GO, p. 44, 2020.
- ANA, Agência Nacional de Águas. **Bacias Hidrográficas do Atlântico Sul - Trecho Leste**. Sinopse de informações do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Sergipe, CD N°4. Série: Sistema Nacional de informações sobre Recursos Hídricos - Documentos ANA. Brasília, 2001.
- ANA, Agência Nacional de Águas. **Encarte especial sobre a bacia do rio Doce**. Rompimento da Barragem em Mariana-MG. Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil. Informe 2015. Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos. Brasília, 2016.
- ANGELIS, C. D. *et al.* The environment and male reproduction: The effect of cadmium exposure on reproductive function and its implication in fertility. **Reproductive Toxicology**, 73: 105-127, 2017.

- ARAI, T.; OHJI, M.; HIRATA, T. Trace metal deposition in teleost fish otolith as an environmental indicator. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 179, p. 255-263, 2007.
- ASGHAR, M. S. *et al.* Toxicity of zinc nanoparticles in fish: a critical review. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences** [online], v. 7, n.1, p. 431-439, 2015.
- ASSUNÇÃO, I. C. O. *et al.* A ação de metais pesados no organismo e a presença do material em cosméticos do cotidiano. **Anais do Congresso Nacional Universidade EAD e Software Livre**, v. 2, n. 11, 2020.
- 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-SANTOS, V. M. *et al.* A dura lição com a tragédia do rio Doce. **Associação Brasileira de Limnologia**, v. 42, p. 9-13, 2016.
- BAGCHI, D. *et al.* Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. **Toxicology**, v. 180, n. 1, p. 5-22, 2002.
- BAKSHI, A. & PANIGRAHI, A. K. A comprehensive review on chromium induced alterations in fresh water fishes. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 440-447, 2018.
- BARROS, LUCAS CAETANO de. **Diferenciação vicariante recente de *Oligosarcus argenteus* Günther, 1864 e *Oligosarcus solitarius* Menezes, 1987 nas Bacias dos Rios Doce e São Francisco, Minas Gerais, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, p. 67, 2012.
- BECKER, ALEXSSANDRO GEFERSON *et al.* Morphometric parameters comparisons of the digestive tract of four teleosts with different feeding habits. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 4, p.862-866, abr. 2010.
- BERTOLINI, W. Z. & CHEREM, L. F. S. Relação entre o relevo e a rede de drenagem na análise da condição de equilíbrio no alto rio Piranga (MG). **Revista Geografias**, p. 102–118. 2017. DOI: <https://doi.org/10.35699/2237-549X.13417>.
- BEEGAM, A. *et al.* Multiorgan histopathological changes in the juvenile seabream *Sparus aurata* as a biomarker for zinc oxide particles toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, 3 ago, 2019.
- BERTON, R. S. *et al.* Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 41, n. 8, p. 1305-1312, 2006.
- BLUST, RONNY. Cobalt. **Fish Physiology**, v. 31, p. 291-326, 2011.
- BOOCK, M.V. & NETO, J. G. M. Estudos toxicológicos do oxiclreto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 215-221, 2000.

BRANDÃO, M. H. T. *et al.* Ear piercing as a risk factor for contact allergy to nickel. **Jornal de Pediatria**, v. 86, n. 2, p.149-154, 2010.

Brasil: Informações gerais. Exportações, importações e balança comercial. **COMEX STAT, Estatísticas de Comércio Exterior**. 2019. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>>.

BUHARI, T. R. & ISMAIL, A. Correlations between Geo-chemical speciation of heavy metals (Cu, Zn, Pb, Cd and Ni) in surface sediments and their concentrations in Giant Mudskipper (*Periophthalmodon schlosseri*) collected from the west coast of Peninsular Malaysia. **Journal of Geoscience and Environment Protection**, v. 4, n. 1, 2016.

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.

CAMERON, K. S.; BUCHNER, V.; TCHOUNWOU, P. B. Exploring the Molecular Mechanisms of Nickel-Induced Genotoxicity and Carcinogenicity: A Literature Review. **Reviews on Environmental Health**, v. 26, n. 2, p. 81-92, 2011.

CARDONE, ISABELLA BRAZ. **Dieta e morfologia trófica de espécies do gênero *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Ostariophysi, Loricariidae) no alto curso do Rio Corumbataí – SP**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 85p. 2006.

CARMO, C. A. do; ABESSA, D. M. de S.; NETO, J. G. M. Metais em águas, sedimentos e peixes coletados no estuário de São Vicente-SP, Brasil. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, p. 64-70, 2011.

CARVALHO, Marllon Santos de *et al.* Concentration of metals in the Doce river in Mariana, Minas Gerais, Brazil. **Acta Brasiliensis**, v. 1, p. 37-41, 2017.

CASTRO, A. L. C. **Manual de planejamento em defesa civil**. Vol.1. Brasília: Ministério da Integração Nacional/Departamento de Defesa Civil, p. 133. 1999.

CBH-DOCE, Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Doce. **Plano integrado de recursos hídricos da bacia hidrográfica do rio Doce: planos de ações para as unidades de planejamento e gestão de recursos hídricos no âmbito da bacia do Rio Doce**. Relatório Final, v. 1, 2010.

CBH-DOCE, Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Doce. **A Bacia**. Disponível em: <http://www.cbhdoce.org.br/institucional/a-bacia>. 2016.

COELHO, A. L. N. **Bacia hidrográfica do Rio Doce (MG/ES): uma análise socioambiental integrada**. Geografares, n. 7. DOI: 10.7147/GEO7.156. 2009.

COMISSÃO TEMPORÁRIA DA POLÍTICA NACIONAL DE SEGURANÇA DE BARRAGENS (CTPNB). **Relatório Final da Comissão Temporária da Política Nacional de Segurança de Barragens**. 2016.

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

CORREIA, TIAGO GABRIEL. **Evidências de desregulação endócrina causada pela exposição aquática ao alumínio e ao manganês em *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758)**. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 140, 2012.

COSTA, L. X. *et al.* Morfologia comparativa do tubo digestório de *Cichlasoma* sp. e *Geophagus* sp. (Cichliformes, Cichlidae). **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, p. 1240–1249, 2016.

COSTA, S. S.; FILHO, L. L. V.; JUNIOR, J. M. B. O. Esforços da pesquisa brasileira sobre mineração e impactos ambientais: uma visão geral de cinco décadas (1967-2017). **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, p. 296-313, 2020.

CUPERTINO, M. C. *et al.* Differential Susceptibility of Germ and Leydig Cells to Cadmium-Mediated Toxicity: Impact on Testis Structure, Adiponectin Levels, and Steroidogenesis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 1, n. 11, 2017.

CRUZ, J. B. F.; SOARES, H. F. Uma revisão sobre o zinco. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 1, p. 207-222, 2011.

DAS, K. K.; DAS, S. N.; DHUNDASI, S. A. Nickel, its adverse health effects and oxidative stress. **Indian Journal of Medical Research**, v. 128, p. 412-425, 2008.

DÁVILA, M. L. F., *et al.* Aluminum- induced oxidative stress and neurotoxicity in grass carp (Cyprinidae - *Ctenopharingodon idella*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 87-92, 2012.

DEB, S.C. & FÜKUSHIMA T. Metal in aquatic ecosystems: mechanisms of uptake, accumulation and release. **Int. J. Environ. Stud.** 56 (3), 385, 1999.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL (DNPM). **Anuário Mineral Brasileiro 2016**. Relatório. DNPM, Ministério de Minas e Energia, Brasília, 2016.

DRUZIAN, R. A. *et al.* Small hydroelectric power plant affects the population structure of lambari of the red tail *Psalidodon aff. fasciatus* (Cuvier 1819). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, 2021.

- ENEJI, I. S.; SHA'ATO, R.; ANNUNE, P. A. Bioaccumulation of Heavy Metals in Fish (Tilapia Zilli and Clarias Gariepinus) Organs From River Benue, North - Central Nigeria. **Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry**, v. 12, p. 25-31, 2011.
- ESPINDOLA, H. S. *et al.* Desastre da Samarco no Brasil: desafios para a conservação da biodiversidade. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science** (online), n. 3, p. 72-100, 2016.
- ESPINDOLA, H. S.; NODARI, E. S.; SANTOS, M. A. dos. Rio Doce: riscos e incertezas a partir do desastre de Mariana (MG). **Revista Brasileira de História**, São Paulo, v. 39, n. 81, 2019.
- FERNANDES, KÊNIA NASSAU. **Qualidade das águas nos rios Gualaxo do Norte, Gualaxo do Sul e do Carmo - afluentes do Alto rio Doce (Watu): metais, metaloides e Índice de Qualidade das Águas antes e após o rompimento da barragem de rejeitos Fundão da Samarco/VALE/BHP Billiton, em Mariana, MG.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, p. 224, 2017.
- FILHO, J. T. de S. *et al.* Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do teleostei (pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, 2000.
- FILHO, Edmar Augusto Campanha. **Avaliação preliminar dos níveis de Cd, Cr, Cu, Pb e Zn em peixes do sistema estuarino da Baía de Vitória – ES.** Monografia (Especialização em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, p. 55, 2001.
- FONGARO, GISLAINE *et al.* Mineral Waste Containing High Levels of Iron from an Environmental Disaster (Bento Rodrigues, Mariana, Brazil) is Associated with Higher Titers of Enteric Viruses. **Food and Environmental Virology**, v. 11, p. 178-183, 2019.
- GATESOUBE, F. L. *et al.* Early weaning of seabass larvae, *Dicentrarchus Labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes. **Aquaculture**, 158: 117-127, 1997.
- GEORGE, L. L., ALVES, C. E. R., CASTRO, R. R. L. Histologia comparada. São Paulo: **Editora Roca**, p. 286. 1998.
- GEREMIA, D. A. A. *et al.* O papel do intestino na homeostase imunológica. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba- PR, v. 7, n. 6, p. 55181-55191, 2021.
- GLÓRIA, W. L. R. & H. M. P. Análise ambiental do rio Casca (MG): contribuições para o diagnóstico geoquímico e ambiental da bacia do rio Doce. **Águas e Florestas: desafios para a conservação e utilização** [livro eletrônico]. Guarujá, São Paulo, 1 ed., p. 400, 2021.

- GOLDHABER, S. B. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 38:232-242. 2003.
- GOYER, R. A. Toxic effects of metals. **Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons**. New York: McGraw Hill, p. 691-736, 1996.
- HADI, A. A. & ALWAN, S. F. Histopathological changes in gills, liver and kidney of fresh water fish, *Tilapia zillii*, exposed to aluminum. **International Journal of Pharmacy and Life Science**, v. 3, n. 11, nov. 2012.
- HASSAN, A.; MOHARRAM, S.; EL HELALY, H. Role of Parasitic Helminths in Bioremediating Some Heavy Metal Accumulation in the Tissues of *Lethrinus mahsena*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 18, n. 3, p.435-443, 2018.
- IBIO, Instituto BioAtlântica. **A Bacia**. IBIO-AGB Doce. Disponível em: <https://www.ibioagbdoce.org.br/a-bacia/>. 2014.
- IBRAHIM, D.; Froberg, B., Wolf, A., Rusyniak, D. E. Heavy Metal Poisoning: Clinical Presentations and Pathophysiology. **Clinics in Laboratory Medicine**, 26: 67-97. 2006.
- Panorama da Mineração em Minas Gerais. **IBRAM, Instituto Brasileiro de Mineração**. Brasília: IBRAM/ SINFERBASE - Sindicato Nacional da Indústria da Extração do Ferro de Metais, 2015. Disponível em: <<https://ibram.org.br/wp-content/uploads/2021/02/Panorama-da-Mineracao-em-Minas-Gerais-2016.pdf>>.
- Informações sobre a Economia Mineral do Estado de Minas Gerais. **IBRAM, Instituto Brasileiro de Mineração**. Brasília, 2014. Disponível em: < <https://ibram.org.br/noticia/acesse-aqui-os-dados-sobre-economia-mineral/>>. Acesso em: Janeiro, 2021.
- JANG, D. H.; HOFFMAN, R. S. Heavy metal chelation in neurotoxic exposures. **Neurologic Clinics**, 29: 607-622, 2011.
- JESUS, I.S. *et al.* Genotoxicity effects in freshwater fish from a Brazilian impacted river. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, n. 4, p. 490-495, 2016.
- LASSEN, MANOEL FRANCISCO MENDES. **Alterações histopatológicas, genotóxicas e estresse oxidativo em peixes submetidos a águas superficiais antropizadas**. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis) – Universidade Federal da Fronteira Sul. Cerro Largo, RS, 97p. 2020.
- LATIF, M. *et al.* Bioaccumulation of lead in different organs of *Ctenopharyngodon idella* (grass fish) and *Tor putitora* (Mahseer) fish. **Brazilian Journal of Biology**, v. 4, 2022.
- LEONARD, A.; LAUWERYS, R. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of cobalt metal and cobalt compounds. **Mutation Research Amsterdam**, v. 239, p. 17-27, 1990.

- LIMA, Verônica Ferreira; MERÇON, Fábio. Metais pesados no estudo de Química. **Química Nova na Escola**, v. 33, n. 4, p. 199-205, 2011.
- LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. da S. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba-PR, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.
- LIU, J.; GOYER, R. A.; WAALKES, M. P. Toxic effects of metals. **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. New York: McGraw Hill, v. 7, p. 931-979, 2008.
- LOPES, C.; HERVA, M.; FRANCO-URÍA, M.; ROCA, E. Inventory of heavy metal content in organic waste applied as fertilizer in agriculture: evaluating the risk of transfer into the food chain. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 6, p. 918-939, 2011.
- LORANDI, R.; SANTOS, F. M.; LOLLO, J. A. Processo Investigativo do Potencial de Contaminação de Aquíferos por Atividades Antrópicas da Bacia Hidrográfica do Ribeirão das Pedras (SP). **Revista Brasileira de Geografia Física**, São Carlos-SP, v. 12, n. 7, 2019.
- 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.
- MAGALHÃES, D. P. & FERRÃO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Revista Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.
- MAIA, FÁBIO FERNANDES. **Elementos traços em sedimentos e qualidade da água de rios afetados pelo rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana, MG**. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 44 p., 2017.
- MANABI LOGÍSTICA S.A. **EIA – Estudo de Impacto Ambiental do Mineroduto Morro do Pilar/MG a Linhares/ES e Porto Norte Capixaba**. Relatório Técnico – RT-ECV-002/13, anexo XIV, 2013.
- MANSOURI, *et al.* Effects of cobalt oxide nanoparticles and cobalt ions on gill histopathology of zebrafish (*Danio rerio*). **AACL Bioflux**, v. 8, n. 3, p. 438-444, 2015.
- MANZINI, F. F.; SÁ, K. B.; PLICAS, L. M. de A. Metais pesados: fonte e ação toxicológica. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 6, 2010.
- MARCELINO, S. A. C. **Avaliação da toxicidade dos metais chumbo e ferro em zebrafish (*Danio rerio*), com ênfase em achados clínico-patológicos**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 105 p., 2021.

- MAROUANI, N. *et al.* Mechanisms of chromium hexavalent-induced apoptosis in rat testes. **Toxicology and Industrial Health**, v. 33. n. 2, p. 97–106, 2017.
- MARQUES, B. S.; BELEI, F.; SAMPAIO, W. M. S. Ictiofauna do baixo rio Manhuaçu (bacia do médio rio Doce). **Evolução e conservação da biodiversidade**, v. 4, n. 1, p. 32-41, 2013.
- MARQUES, M. B. L. & AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. Efeitos ecotoxicológicos de metais aos organismos aquáticos. **Fórum ambiental da Alta Paulista**, v. 14, n. 4, p. 85-95, 2018.
- MARSHALL, J. W.; BANGERT, S.K. Clinical biochemistry metabolic and clinical aspects. **New York: Churchill Livingstone**, p. 182-183, 1995.
- MATTA, S. L. P.; GOMES, M. L. M.; ANDRADE, D. R. de. Reproductive biology of *Oligosarcus argenteus* (Gunther, 1864) adult males and description of the gonadal maturation stages. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 1, 2009.
- MATTOS, B. O. *et al.* Aquicultura na Amazônia: estudos técnico-científicos e difusão de tecnologias. **Repositório ALICE- EMBRAPA**, Editora Atena, Ponta Grossa - PR, capítulo 19, p. 277-293, 2021.
- MELO, M. C. *et al.* **Desastre de Fundão- Ações e Desafios da Recuperação**. Caderno 5 anos-Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM). 2020.
- MOTA, T. G. & PINTO-COELHO, R. M. **Peixes encontrados na bacia do médio rio Doce**. Rio Doce - Biblioteca digital. Projeto: FAPEMIG/FUNDEP/RIO DOCE 5734. 2005.
- NABINGER, D. D. **Exposição aguda e subcrônica ao níquel em peixe-zebra (*Danio rerio*): avaliação de parâmetros morfológicos e comportamentais**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 54 p., 2017.
- 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, p. 55-63, 2006.
- OLIVEIRA, VAGNE DE MELO. **Aplicação de hidrolases de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) como biomarcadores de exposição ao alumínio**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p. 89, 2011.
- PALANI, SUGANTHI *et al.* Toxicological effect of cobalt chloride on freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. **International Journal of Applied Research**, v. 1, n. 3, p. 331-340, 2015.
- PACHECO, J. T. R. *et al.* **O meio ambiente sustentável**. Atena Editora [recurso eletrônico] - Ponta Grossa/PR, 2019.

- PEDROZO, M. F. M.; LIMA, I. V. Ecotoxicologia do cobre e seus compostos. **Cadernos de Referência Ambiental – Centro de Recursos Ambientais**, Salvador, v. 2, p.128, 2001.
- PEREIRA, E. H. L.; VIEIRA, F.; REIS, R. E. A new species of sexually dimorphic *Pareiorhaphis* Miranda Ribeiro, 1918 (Siluriformes, Loricariidae) from the rio Doce basin, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 4, p. 443 - 448, 2007.
- PEREIRA, E. R.; COGO, A. J. D.; CRUZ, Z. M. A. Biomarcadores enzimáticos em *Holothuria grisea* (Selenka, 1867) expostas ao chumbo, cádmio e cobre. **Revista Natureza**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2014.
- PEREIRA, F. O. P.; SANTOS, L.; SANCHES, P. J. F. Avaliação da contaminação ambiental por metais pesados, através da análise de peixes coletados da Lagoa Mangueira/RS. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 1, p. 180-194, 2019.
- PESSOA, E. K. R. *et al.* Morfologia comparativa do trato digestório dos peixes *Hoplias malabaricus* e *Hypostomus puarum* do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Biota Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 48-57, 2013.
- PIRH DOCE, **Plano Integrado de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Doce e dos Planos de Ações de Recursos Hídricos para as Unidades de Planejamento e Gestão de Recursos Hídricos no Âmbito da Bacia do Rio Doce**. Consórcio Ecoplan - LUME. Relatório final, v. 1, 2010.
- PIRH DOCE, **Plano Integrado de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Doce e dos Planos de Ações de Recursos Hídricos para as Unidades de Planejamento e Gestão de Recursos Hídricos no Âmbito da Bacia do Rio Doce**. Consórcio Ecoplan - LUME. Relatório final, v. 3, 2010.
- RANA, S. V. S. Environmental pollutions: health and toxicology. **Alpha Science International**, 1-269, 2006.
- REDE UFES-RIO DOCE. **Estratégia de ação**. Universidade Federal do Espírito Santo. 2016. Disponível em: <<https://redeufes-riodoce.ufes.br/estrat%C3%A9gia-de-a%C3%A7%C3%A3o>>. Acesso em: Fevereiro de 2021.
- REIA, L. *et al.* Ichthyofauna of the ribeirão Sucuri, a tributary of the rio Tietê, upper rio Paraná basin, southeastern Brazil. Check List- **The Journal of Biodiversity Data**, 16 (3): 711–728, 2020.
- RODRIGUES, FRANCISCO ADELVANE DE PAULO. *et al.* **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. São Paulo, p. 441-478, 2016.
- RODRIGUES, G. Z. P. *et al.* Histopathological, genotoxic, and behavioral damages induced by manganese (II) in adult zebrafish. **Journal Chemosphere**, v. 244, 2020.

- ROTTA, M. A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2003.
- SALVADOR, G. N. *et al.* Length-weight relationship of 21 fish species from Rio Doce River. **Journal of Applied Ichthyology**, Minas Gerais, Brazil, v. 34, p. 1198-1201, 2018.
- SAMPAIO, F. G.; BOIJINK, C. de L.; RANTIN, F. T. O uso do sulfato de cobre em ecossistemas aquáticos: fatores que afetam sua toxicidade em peixes de água doce. **EMBRAPA Meio Ambiente**, Jaguariúna, SP, p. 101, 2013.
- SANTOS, L. P. dos; AFFONSO, E. G.; ONO, E. A. Avaliação bacteriológica do trato intestinal e caracterização hematológica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetido a diferentes concentrações de ferro na dieta. **XV Jornada de Iniciação Científica do PIBIC CNPq FAPEAM/INPA**, Manaus, AM, 2006.
- SANTOS, D. A. *et al.* Behavior as an early sign of toxicity and respiratory system injury induced by cadmium in zebrafish. **Atas de Saúde Ambiental**, São Paulo (online), v. 6, p. 16-33, 2018.
- SANTOS, LAUANA APARECIDA. A microbiota intestinal e sua relação com o sistema imunológico. **Revista Eletrônica da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16, n. 2, 2018.
- SILVA, J. M. F.; ANDRADE, D. R.; SOUZA, J. R.; BRAGA FILHO, J. M. Efeito do consórcio com lambaris-bocarras (*Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864) no aumento da produtividade de tilápias-nilóticas (*Oreochromis niloticus* L.) alimentadas com ração farelada. **Revista Ceres**, v. 238, p. 595-607, 1994.
- SILVA, DANYELLE ALVES *et al.* Ecologia alimentar de *Astyanax lacustris* (Osteichthyes: Characidae) na Lagoa do Piató, Assu, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Biota Amazônica**, Macapá, v. 2, n. 1, p. 74-82, 2012.
- SILVA, CLÁUDIA DE LIMA E. **Estudo da qualidade da água na sub-bacia do Ribeirão do Carmo (MG), com ênfase na geoquímica e na comunidade zooplanctônica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) - Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, 157 p. 2013.
- SMITH, W. S. *et al.* An updated list of the ichthyofauna of Ipanema National Forest, São Paulo, Brazil. **Check List - The Journal of Biodiversity Data**, v. 17, n. 3, p. 827–840, 2020.
- SOUZA, A. K. R., MORASSUTI, C. Y., DEUS, W. B. de. Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 9, n. 3, 2018.

SOUZA, S. R.; FURBINO, E. & MARTINS, H. C. **A influência da governança corporativa e seus fatores ambientais na prática de gestão de riscos: um estudo na Fundação Renova.**

Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Administração- ANPAD. IX Encontro de Estudos em Estratégia, Evento online, 2020.

SONG, ZHENG-XING *et. al.* Dietary zinc deficiency reduced growth performance, intestinal immune and physical barrier functions related to NF- κ B, TOR, Nrf2, JNK and MLCK signaling pathway of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 66, p. 497-523, 2017.

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

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

TEIXEIRA, D. C. L. *et al.* Exposição a contaminantes ambientais inorgânicos e danos à saúde humana. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 10353-10369, 2020.

TERÁN, G. E., BENITEZ, M. F. & MIRANDE, J. M. Opening the Trojan horse: phylogeny of *Astyanax*, two new genera and resurrection of *Psalidodon* (Teleostei: Characidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 190(4), 1217-1234, 2020.

TRAVIÑO, J. R. *et. al.* Toxic Effect of Cadmium, Lead, and Arsenic on the Sertoli Cell: Mechanisms of Damage Involved. **Dna and Cell Biology**, v. 1, n. 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.

VILANI, R. M. *et al.* **Pós-extratativismo e devastação socioambiental na Bacia do Rio Doce: ecoturismo como alternativa econômica.** Revista: O social em questão (online). PUCRIO, Rio de Janeiro, n. 48, p. 143-164. 2020.

VIEIRA, F.; POMPEU, P. S.; GARAVELLO, J. C. *Steindachneridion doceanum* (Eigenmann & Eigenmann 1889). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Belo Horizonte: **Fundação Biodiversitas**, 2008.

VIEIRA, FÁBIO. Distribuição, impactos ambientais e conservação da fauna de peixes da Bacia do Rio Doce. **Revista Biota**, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2010.

VIEIRA, F. *et al.* Peixes do Quadrilátero Ferrífero: guia de identificação. **Fundação Biodiversitas**, Belo Horizonte, p. 208, 2015.

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.

ZACHEO, E. S. *et al.* Células rodlet no tubo digestivo de *Leporinus macrocephalus* (Characiformes, Anostomidae). **Anais do XI Encontro de Ciências da Vida**, Ilha Solteira-SP [recurso eletrônico]: Unesp/FEIS, p. 299, 2017.

ZACHEO, E. S. *et al.* Células Rodlet no tubo digestivo de *Gymnocorymbus ternetzi*. **Anais do XI Encontro de Ciências da Vida**, Ilha Solteira-SP [recurso eletrônico]: Unesp/FEIS, p. 240, 2018.

ZAGATTO, P. A. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. **IV Seminário sobre Ecotoxicologia**, 2015.

ZENDRON, RAQUEL. Mecanismos de neurotoxicidade e doenças neurológicas relacionadas à intoxicação por metais pesados. *Revista Brasileira de Nutrição Funcional*, ano 15, n. 64, 2015.

ZHANG, Z. Analysis of Heavy Metals of Muscle and Intestine Tissue in Fish – in Banan Section of Chongqing from Three Gorges Reservoir, China. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 16, n. 6, p. 949-958, 2007.

**EFEITOS DOS METAIS PESADOS NO INTESTINO DE TRÊS ESPÉCIES DE
PEIXES NO ALTO RIO DOCE CINCO ANOS APÓS O ROMPIMENTO DA
BARRAGEM EM MARIANA-MG**

1. INTRODUÇÃO

As atividades antrópicas acontecem há séculos e têm aumentado cada vez mais. Com isso, um dos grandes problemas atuais é a concentração de metais pesados que vem aumentando no ambiente. Estes metais causam prejuízos, e uma das causas é a capacidade de se acumularem em tecidos de animais e plantas, pois não são biodegradáveis e muitos não possuem papel biológico estabelecido, podendo ser tóxicos mesmo em baixas concentrações (MARQUES, 2018).

Devido às contaminações aquáticas crescentes, parâmetros biológicos são utilizados para avaliar a qualidade da água com base nas respostas de organismos ao meio onde vivem. Assim, esses organismos bioindicadores são usados para realizar monitoramento ambiental por serem sensíveis às mudanças nos ambientes. O uso de peixes como bioindicadores ambientais tem demonstrado resultados satisfatórios nas avaliações dos ambientes aquáticos, uma vez que habitam quase todos os rios e lagos, são fáceis de manusear e coletar, e possuem a capacidade de bioacumular alguns componentes, como os metais pesados (LASSEN, 2020; MARENGONI, 2008).

Alterações histológicas têm sido empregadas como biomarcadores para avaliar peixes expostos a poluentes, pois é possível avaliar órgãos-alvo específicos, responsáveis pelas funções vitais. O trato digestivo é muito relevante nesses estudos, visto que é por onde os alimentos passam, e conseqüentemente, a principal via de contaminantes para os órgãos internos do corpo, como fígado, rim e o próprio intestino (LIMA, 2013).

Na cidade de Mariana-MG, situada no Sudeste brasileiro, no dia 5 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da barragem de Fundão, uma barragem de rejeitos de minério de ferro que pertencia à mineradora Samarco, controlada pelas empresas VALE e BHP Billiton. A enxurrada de lama com rejeitos de minério atingiu o distrito de Bento Rodrigues, matando muitas pessoas e animais que ali habitavam, além de funcionários da empresa. Houve despejo de mais de 60 milhões de metros cúbicos de rejeitos de minério na forma de lama tóxica, atingindo 39 municípios dos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo, impactando todo o Rio Doce e entorno (MARQUES, 2018). Esse vazamento é considerado o maior da história em volume de material despejado por barragens de rejeitos de mineração e causou aumento da biodisponibilidade de uma série de componentes tóxicos, incluindo metais pesados, em níveis superiores aos estabelecidos nas leis brasileiras.

Sendo assim, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar os possíveis efeitos dos metais pesados, advindos do rompimento da barragem de rejeitos de minério de Ferro em

Mariana-MG, no intestino de três espécies de peixes com hábitos alimentares diferentes, coletados no alto curso da Bacia do Rio Doce. Estudos envolvendo o trato gastrointestinal de peixes e os efeitos tóxicos dos contaminantes têm aumentado (SANTOS *et al.*, 2007). Contudo, informações na literatura sobre alterações histológicas intestinais causadas por metais pesados em peixes ainda são escassas, sendo este trabalho inovador nessa área, em especial por considerar o hábito alimentar das espécies. Dada a escassez de informações, fez-se necessário recorrer a estudos sobre alterações histológicas intestinais ocasionadas por outros tipos de contaminantes e/ou a estudos sobre alterações histológicas geradas por metais pesados em outros órgãos, como referências para embasamento teórico e discussão dos resultados do nosso trabalho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos animais

As coletas ocorreram na estação seca do ano de 2020, em áreas do alto curso da Bacia do Rio Doce afetadas pelo rompimento da barragem de rejeitos de Mariana- MG, e também em áreas controles, ou seja, locais que não foram impactados pela lama de rejeitos. O Rio do Carmo, na cidade de Rio Doce- MG (-20.279825, -42.924855); o Rio Doce, em Rio Doce- MG (-20.207984, -42.876355) e em São José do Goiabal- MG (-20.014661, -42.744473) são os locais afetados pela lama de rejeitos. O Rio Piranga, em Guaraciaba- MG (-20.546203, -42.990348) e em Ponte Nova- MG (-20.445307, -42.984918); e o Rio Casca, em Jequeri- MG (-20.482148, -42.675485) são os locais não afetados.

Foram coletados sessenta animais adultos, machos e fêmeas, sendo vinte indivíduos de cada espécie, e sendo dez de áreas afetadas e dez de áreas não afetadas. Cascudo *Hypostomus luetkeni*, espécie herbívora; lambari do rabo amarelo *Astyanax lacustris*, espécie onívora com tendência à insetivoria; e lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus*, espécie carnívora, com tendência à piscivoria.

Este trabalho foi conduzido de acordo com as normas do Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), com número de protocolo 798/2018, da Universidade Federal de Viçosa e licença do ICMBio/IBAMA (licença/autorização número 71706-2). As atividades envolvendo o uso de animais foram realizadas no Laboratório de Morfologia do Departamento de Biologia Animal (DBA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em parceria com o Laboratório de Sistemática Molecular – DBA/UFV.

2.2 Coleta e análises físico-químicas da água

Amostras de água foram coletadas nos mesmos pontos de coleta dos animais, em horário padronizado, sendo realizada uma medição por amostra e uma amostra por ponto/por dia. Foram medidos pH, temperatura e saturação de oxigênio dissolvido, utilizando um medidor multiparâmetro, da marca AKSO, modelo AK 88. Antes de cada medição fez-se lavagem do equipamento com água destilada.

2.3 Eutanásia, biometria corporal e do intestino

Os animais foram capturados utilizando tarrafas e posteriormente, ficaram armazenados em bombonas com aeradores até o momento da eutanásia, que ocorreu por meio da utilização do anestésico Eugenol (óleo de cravo) diluído em água (400 mg/L de água), seguindo as normas do Conselho Brasileiro para Ensino e Pesquisa com Animais.

Logo após a eutanásia, os animais tiveram sua cavidade celomática exposta por meio de incisão ventral longitudinal para fixação em solução de formol a 4% tamponado, por uma semana, e depois, transferidos para álcool 70%. Posteriormente, foi realizada a identificação das espécies e biometria corporal, afim de adquirir informações de comprimento total e peso dos animais.

Os intestinos foram devidamente retirados e transferidos para álcool 70%, no qual foram mantidos para conservação dos tecidos. Depois foi feita a biometria deste órgão, quando o intestino de cada animal foi medido com uso de fita métrica, pesado com o conteúdo intestinal, por meio de balança analítica, para obtenção de pesos e comprimentos absolutos e relativos (medida intestinal/medida corporal x 100).

2.4 Determinação das concentrações de metais pesados do trato intestinal

Amostras do trato intestinal foram pesadas em balança digital analítica para obter o peso úmido. Posteriormente, foram secas em estufa a 60°C até atingirem peso seco constante de 0,1 gramas.

Para iniciar o processo de digestão, as amostras foram transferidas para tubos de digestão, adicionando-se 1,5 mL de ácidos (HNO_3 - ácido nítrico e HClO_4 ácido perclórico), na proporção de 3:1 (nítrico: perclórico) e colocadas na placa digestora aquecida dentro da estufa. A temperatura do bloco digestor começou em 50°C e foi elevada gradualmente até atingir 200°C, de forma a proporcionar a digestão completa, que se dá quando há formação de fumaça branca nos tubos de digestão. A seguir, os tubos são retirados da placa digestora e resfriados na

capela. Depois do resfriamento, as amostras foram transferidas para balão volumétrico de 10 mL, os tubos foram lavados com água destilada, até completar para 10 mL e as amostras foram filtradas em papel de filtro (após filtrar a amostra de cada tubo digestor, o papel de filtro foi trocado e os demais utensílios lavados com água destilada, para não haver interferência nos resultados). Após essas etapas, as amostras foram acondicionadas em tubos falcons e mantidas em temperatura ambiente até o dia de fazer a leitura para determinar as concentrações dos metais pesados. E para isso, dois tubos falcons contendo somente água destilada foram usados também para a leitura, sendo então, os controles.

A leitura para determinação das concentrações dos metais pesados (alumínio, cádmio, chumbo, cromo, cobalto, cobre, ferro, manganês, mercúrio e níquel) foi realizada por meio de duas técnicas: a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), usando o espectrômetro Optima 7000DV (Perkin Elmer, Estados Unidos), e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) usando o espectrômetro NexION™ 300 (Perkin Elmer, Estados Unidos). Todas as amostras foram testadas para cada tipo de metal, incluindo os controles. Os dados foram expressos em mg/g de massa seca.

2.5 Processamento histológico

Os intestinos foram pesados, medidos e seccionados. Foram coletados fragmentos do intestino delgado, na sua parte proximal, com cerca de 1 centímetro de comprimento. Estes foram devidamente separados para a microscopia de luz, desidratados em séries de concentrações crescentes de álcool etílico, incluídos em resina glicol-metacrilato (Historesin®, Leica), cujos blocos foram cortados de forma semi-seriada na espessura de 3 µm com auxílio de navalhas de vidro, em micrótomo rotativo (RM 2265 - Leica). As secções foram dispostas de maneira uniforme e intervalada, dez em cada lâmina, 30 µm entre secções, os cortes foram distendidos em água fria, coletados em lâminas histológicas e foram coradas de acordo com procedimento padrão: a coloração Azul de Toluidina, para análises histométricas e histopatológicas; e a reação Ácido Periódico de Schiff (PAS) conjugado com Alcian Blue (AB) (modificada para material em resina), para identificação de mucinas e sua quantificação nas células caliciformes. A natureza dos glicoconjugados presentes nas mucinas permitiu a coloração azul para as mucinas ácidas (AB+), em rosa para as neutras (PAS+) e em roxo para as mistas, ou seja, presença de ambas (AB/PAS+). Após realização dos procedimentos de coloração, as lâminas foram montadas com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha).

2.6 Análises histométricas

As lâminas foram observadas em microscópio de luz Olympus BX-50 e fotografadas usando fotomicroscópio Zeiss AXIO Scope A1, obtendo-se imagens para as análises morfométricas. Estas foram analisadas com a utilização do *software* ImageJ. Para cada secção nas lâminas, foram capturadas duas imagens digitais em campos aleatórios, totalizando 10 fotografias por lâmina de azul de toluidina (capturadas na objetiva de 10x) e 10 por lâmina de PAS-AB (capturadas na objetiva de 20x).

Para as análises histométricas, foram medidos, utilizando imagens em azul de toluidina, em aumento de 10x, os seguintes parâmetros intestinais: altura da prega (AP) e do seu epitélio de revestimento (AE), largura média da prega (LP), altura da camada muscular circular (AMC), da camada muscular longitudinal (AML) e da muscular total (AMT). A área da prega foi calculada multiplicando-se sua altura pela sua largura média, sendo esta última, a média entre as larguras apical e basal da prega. Para a comparação entre as espécies, foram criados índices expressos em porcentagem: altura do epitélio/altura da prega; altura da mucosa/altura da parede; altura da muscular total/altura da parede (e todos multiplicados por 100).

Além disso, foram feitas contagens de pontos nas lâminas de Azul de Toluidina, sobre epitélio de revestimento (E), células absortivas (CA), células caliciformes (CC), tecido conjuntivo (C), vasos sanguíneos (VS) e vasos linfáticos (VL). A contagem de pontos de cada uma destas estruturas foi estimada a partir da contagem de 3.000 pontos por animal, usando retículo com 300 intersecções (pontos), em aumento de 10x, realizando-se a contagem de 10 campos aleatoriamente distribuídos nas preparações histológicas do intestino de cada animal, onde foram registrados pontos coincidentes sobre essas estruturas do intestino. A densidade volumétrica (%) destas estruturas foi calculada utilizando-se a seguinte equação: densidade volumétrica (%) = $(NP/NTP) \times 100$, onde NP = número de pontos contados sobre a estrutura e NTP = número total de pontos contados sobre o intestino.

A quantificação das mucinas foi feita por colorimetria utilizando as lâminas de PAS-AB, com tons de azul para as mucinas ácidas (AB+), tons de rosa para as neutras (PAS+) e tons de roxo para as mistas (AB/PAS+) (Figura 1), obtendo-se a densidade (número amostral por pixels) e a área para cada tipo de mucina. Para a comparação entre espécies, foi também calculado o índice de cada tipo de mucina, utilizando-se a seguinte equação: índice (%) = $(\text{área da mucina}/\text{área da prega}) \times 100$.

Figura 1 – Paleta de cores utilizadas na identificação e quantificação de mucinas ácidas (AB+), neutras (PAS+) e mistas (AB/PAS+) pela técnica colorimétrica com coloração pelo Alcian Blue (AB)/ Ácido Periódico de Schiff (PAS).



2.7 Análises histopatológicas

As análises histopatológicas foram feitas observando-se diferentes parâmetros, como a organização das pregas intestinais, a existência de ramificações nas pregas intestinais e a composição celular nas camadas mucosa, submucosa e muscular. Para a mucosa foram analisadas a quantidade de células apoptóticas, de células *rodlet*, de células calciformes degeneradas, de linfócitos, de infiltrados linfocitários e de células calciformes metacromáticas. Para a submucosa foi avaliada a quantidade de mastócitos. Para as camadas musculares foram avaliadas a morfologia e a organização das células musculares.

Foi conduzida uma comparação das alterações histológicas entre os animais de área afetada e área não afetada, para as três espécies, por meio da frequência com que essas alterações ocorreram. A frequência foi analisada de modo semiquantitativo, usando sistema de cruces, com observação de três secções intestinais aleatórias por lâmina corada em azul de toluidina. Para obtenção de um dado representativo dos parâmetros para cada espécie, foi calculado o percentual dessas cruces, ou seja, dividiu-se o somatório de cruces dos animais do grupo pelo número total de cruces (número máximo de cruces), multiplicado por 100. A partir desses percentuais, considerou-se: zero = 0 a 10%, + = 11 a 40%, ++ = 41 a 70%, +++ = 71 a 100%.

2.8 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* Statistica. Para comparação entre as áreas analisadas, foi realizado o teste Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Quando ocorreu distribuição normal, realizou-se o teste *t* para variáveis

independentes, por grupo; quando a distribuição foi não-normal, realizou-se o teste Mann-Whitney.

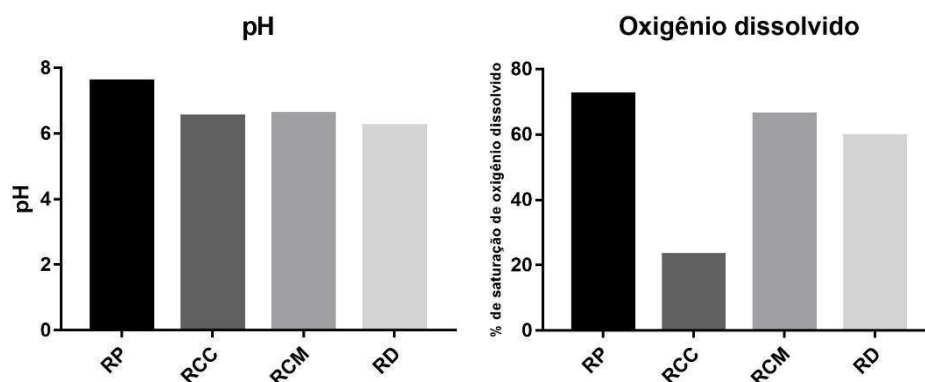
Para a comparação entre as três espécies, realizou-se, primeiramente, o teste Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Quando ocorreu distribuição normal, realizou-se a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste Student -Newman-Keuls (SNK); quando a distribuição foi não-normal, realizou-se o teste Kruskal-Wallis. O nível de significância considerado foi de 5% ($p \leq 0,05$). Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão.

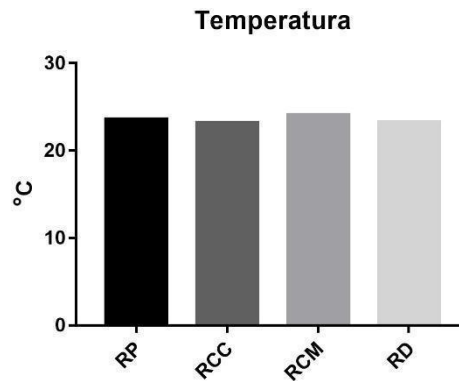
3. RESULTADOS

3.1 Análises físico-químicas da água

O pH e a temperatura da água não diferiram entre as áreas afetadas (nos rios Doce e do Carmo) e não afetadas (nos rios Piranga e Casca) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG, mas o nível de oxigênio dissolvido esteve abaixo no Rio Casca, se comparado com os demais rios analisados. Os valores médios estão expressos na figura 4.

Figura 1 – Valores médios de parâmetros físico-químicos da água nas áreas afetadas (nos rios Doce - RD e do Carmo - RCM) e não afetadas (nos rios Piranga - RP e Casca - RCC) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.





3.2 Concentração de metais pesados no trato intestinal

A análise para detecção de metais pesados mostrou presença dos mesmos nas amostras de intestino de exemplares das três espécies.

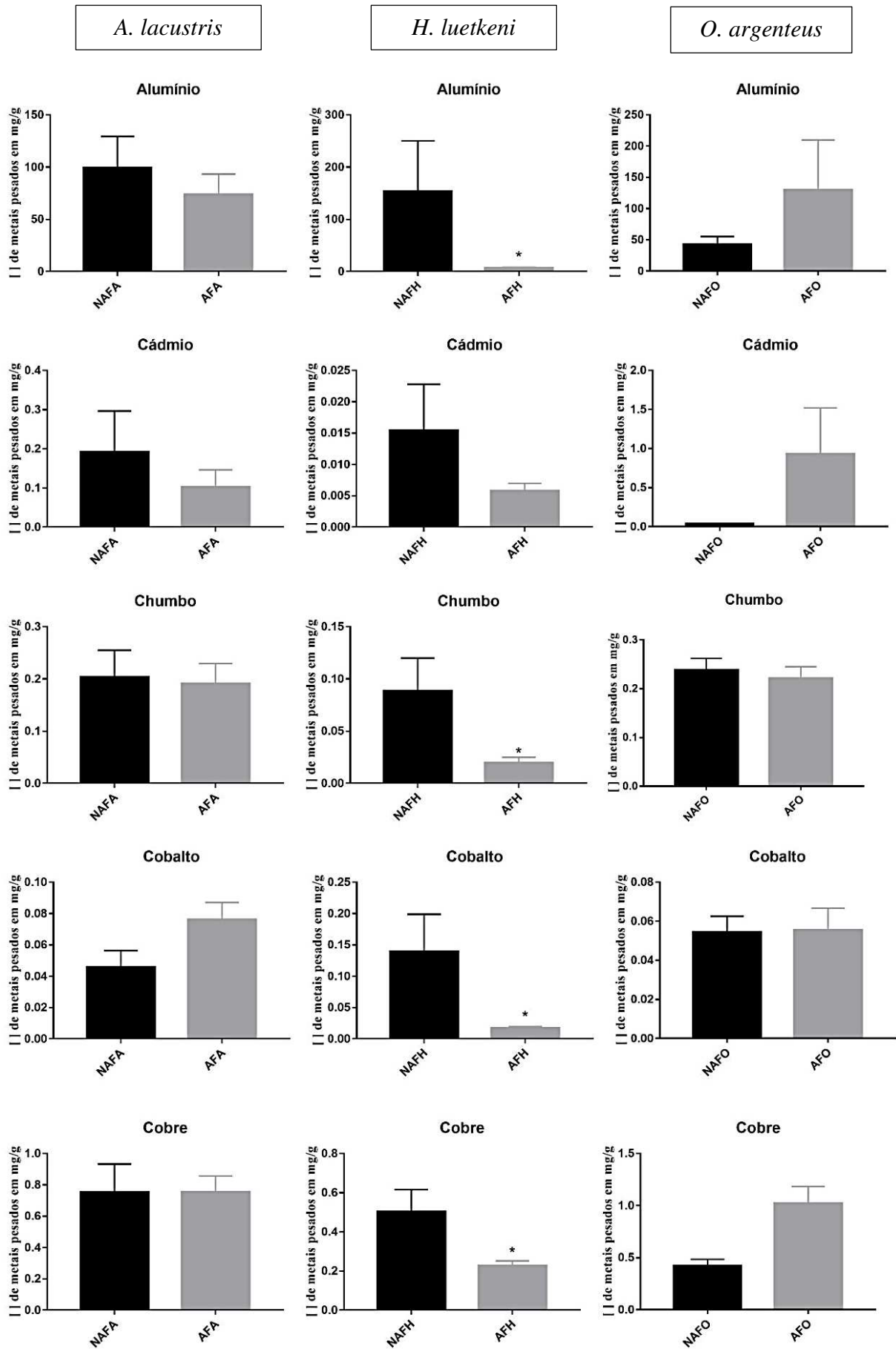
A concentração dos metais, em ordem decrescente, para o lambari do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) da área afetada foi Fe > Al > Zn > Mn > Cu > Cr > Ni > Pb > Cd > Co, enquanto para aqueles da área não afetada foi Fe > Al > Zn > Cu > Mn > Pb > Cd > Cr > Ni > Co.

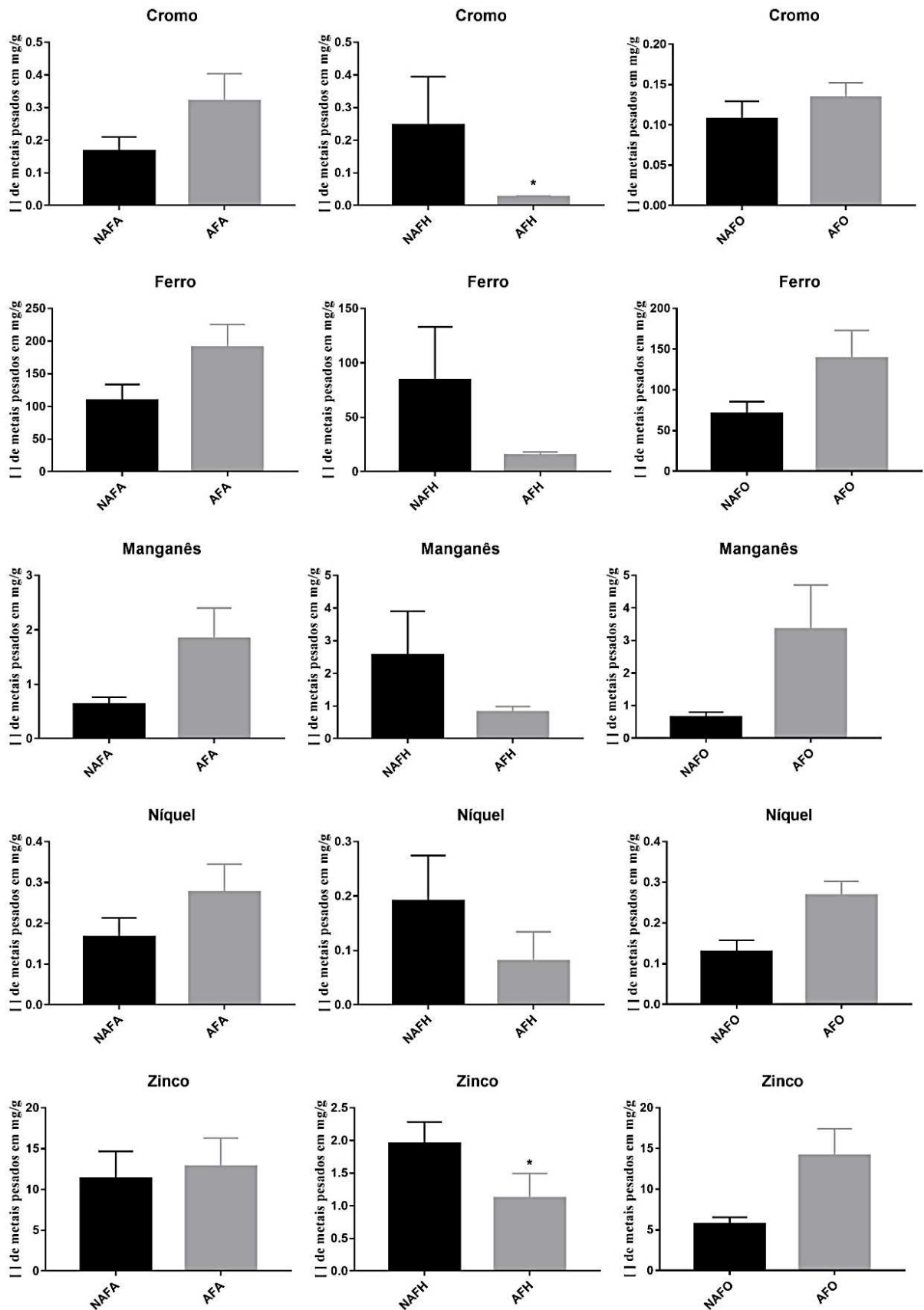
Para o cascudo (*Hypostomus luetkeni*) da área afetada a análise mostrou Fe > Al > Zn > Mn > Cu > Ni > Cr > Pb > Co > Cd, enquanto para os da área não afetada observou-se Al > Fe > Mn > Zn > Cu > Cr > Ni > Co > Pb > Cd.

Para o lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) da área afetada o registro em ordem decrescente foi Fe > Al > Zn > Mn > Cu > Cd > Ni > Pb > Cr > Co, enquanto para a espécie na área não afetada o resultado foi Fe > Al > Zn > Mn > Cu > Pb > Ni > Cr > Co > Cd.

A comparação da concentração de metais pesados das áreas afetadas e não afetadas, para cada espécie, se encontra na figura 2, enquanto a comparação entre as três espécies se encontra na figura 3.

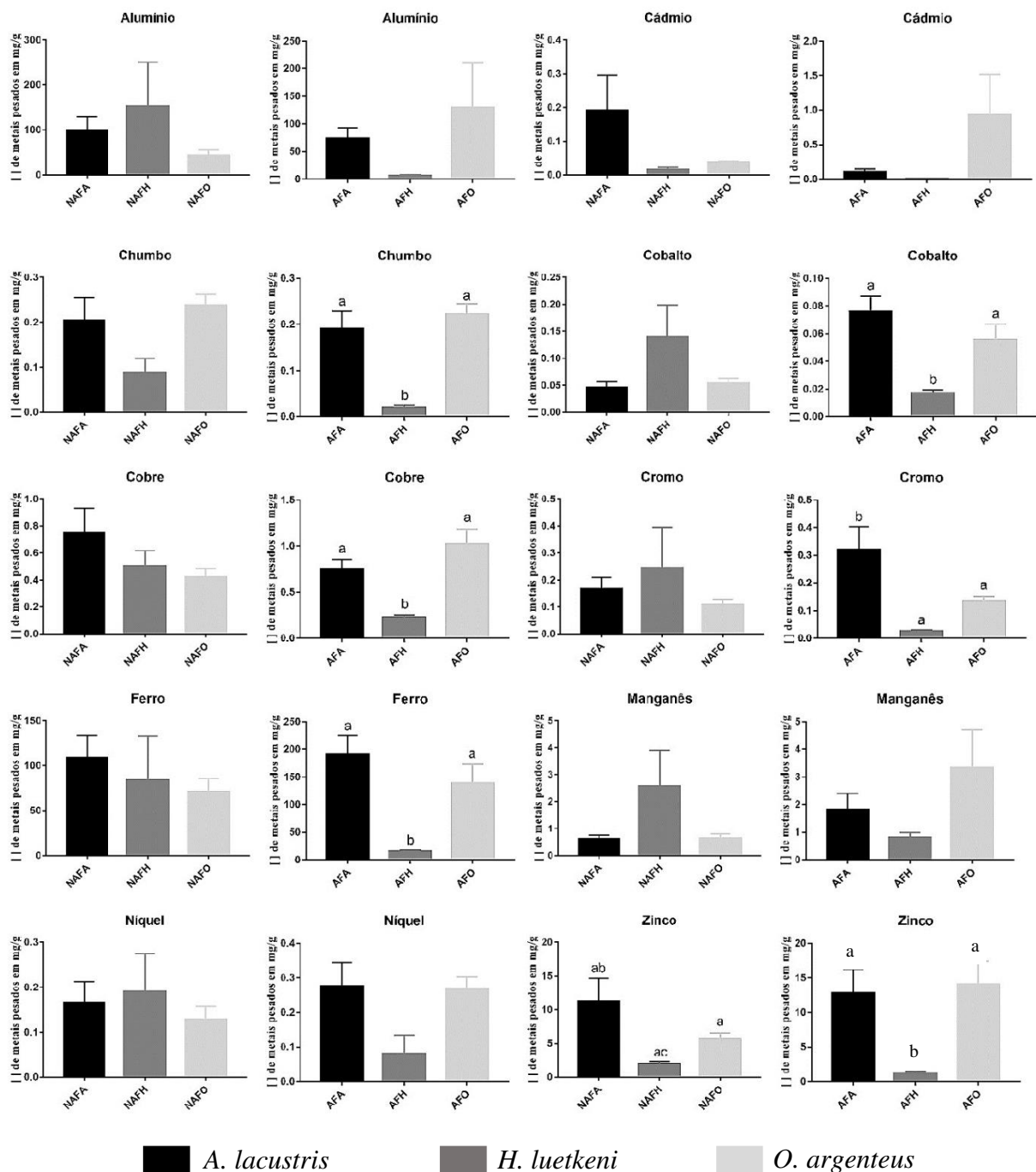
Figura 2 – Concentração de metais pesados no trato intestinal de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na bacia do rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.





Dados expressos em média \pm erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) para cada espécie, apontada pelo teste *t* ao nível de 5% de significância.

Figura 3 – Concentração de metais pesados no trato intestinal de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAFA, NAFH, NAFO, respectivamente) e em área afetada (AFA, AFH, AFO, respectivamente) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.



Dados expressos em média \pm erro padrão. NAFA: *A. lacustris* de área não afetada, NAFH: *H. luetkeni* de área não afetada, NAFO: *O. argenteus* de área não afetada. AFA: *A. lacustris* de área afetada, AFH: *H. luetkeni* de área afetada, AFO: *O. argenteus* de área afetada. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies dentro de cada área, apontada pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste SNK, ao nível de 5% de significância.

3.3 Dados biométricos corporais e intestinais

Os dados biométricos da comparação entre as áreas afetada e não afetada, para cada espécie, são apresentados nas tabelas 1, 2 e 3. Observou-se redução significativa no peso corporal e comprimento corporal total somente de *Astyanax lacustris* na área afetada. E houve redução significativa no peso intestinal de *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* na área afetada. Os dados biométricos da comparação entre as três espécies são apresentados nas tabelas 4 e 5. Tanto na área afetada quanto na área não afetada, o peso intestinal relativo diferiu significativamente entre as três espécies, sendo maior em *H. luetkeni* e menor em *O. argenteus*; e o comprimento intestinal relativo de *H. luetkeni* foi maior o das demais.

Tabela 1 – Dados biométricos corporais e intestinais de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na bacia do rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG

	<i>Astyanax lacustris</i>	
	NAF	AF
PC(g)	18,40 ± 3,75	10,50 ± 0,81*
CT(cm)	8,30 ± 0,38	7,31 ± 0,18*
PI (g)	0,62 ± 0,16	0,29 ± 0,03
CI (m)	6,59 ± 1,04	5,03 ± 0,37
PIR (%)	3,28 ± 0,43	2,87 ± 0,35
CIR (%)	76,70 ± 9,15	69,43 ± 5,73

Dados expressos em média ± erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) apontada pelo teste *t* ao nível de 5% de significância. PC: peso corporal, CT: comprimento corporal total, PI: peso intestinal, CI: comprimento intestinal, PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao peso corporal.

Tabela 2 – Dados biométricos corporais e intestinais de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Hypostomus luetkeni</i>	
	NAF	AF
PC (g)	198,90 ± 20,43	153,20 ± 29,45
CT (cm)	20,23 ± 0,79	17,94 ± 0,97
PI (g)	11,65 ± 1,28	7,70 ± 1,28*
CI (cm)	287,17 ± 28,65	227,30 ± 21,19
PIR (%)	6,00 ± 0,55	5,26 ± 0,55
CIR (%)	1419,99 ± 122,37	1250,35 ± 66,91

Dados expressos em média ± erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo teste *t* ao nível de 5% de significância. PC: peso corporal, CT: comprimento corporal total, PI: peso intestinal, CI: comprimento intestinal, PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao peso corporal.

Tabela 3 – Dados biométricos corporais e intestinais de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Oligosarcus argenteus</i>	
	NAF	AF
PC (g)	32,50 ± 5,38	24,00 ± 3,04
CT (cm)	12,34 ± 0,64	11,08 ± 0,38
PI (g)	0,41 ± 0,08	0,26 ± 0,04*
CI (cm)	6,16 ± 0,41	5,65 ± 0,36
PIR (%)	1,32 ± 0,15	1,06 ± 0,09
CIR (%)	50,03 ± 2,17	51,29 ± 3,32

Dados expressos em média ± erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. PC: peso corporal, CT: comprimento corporal total, PI: peso intestinal, CI: comprimento intestinal, PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao peso corporal.

Tabela 4 – Dados biométricos intestinais de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
PIR (%)	3,28 ± 0,43 ^b	6,00 ± 0,55 ^a	1,32 ± 0,15 ^c
CIR (%)	76,70 ± 9,15 ^a	1419,99 ± 122,37 ^b	50,03 ± 2,17 ^a

Dados expressos em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies, apontada pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao comprimento corporal.

Tabela 5 – Dados biométricos intestinais de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
PIR (%)	2,87 ± 0,35 ^b	5,26 ± 0,55 ^a	1,06 ± 0,09 ^c
CIR (%)	69,43 ± 5,73 ^a	1250,35 ± 66,91 ^b	51,29 ± 3,32 ^a

Dados expressos em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies, apontada pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao comprimento corporal.

3.4 Análises histométricas

As medidas lineares e a densidade volumétrica dos componentes do intestino das três espécies, comparando áreas afetada e não afetada, estão presentes nas tabelas 6, 7 e 8. Para a espécie *Astyanax lacustris* houve redução significativa na largura de pregas intestinais e aumento da camada muscular longitudinal, ambos na área afetada. Para a espécie *Oligosarcus argenteus* houve redução nas alturas das três camadas musculares, na área afetada. Os mesmos parâmetros, comparando as três espécies, estão apresentados nas tabelas 9 e 10.

Tabela 6 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.

	<i>Astyanax lacustris</i>	
	NAF	AF
AP	334,02 \pm 16,78	326,42 \pm 21,57
LP	153,68 \pm 6,59	128,04 \pm 4,64*
AE	55,75 \pm 2,27	50,62 \pm 2,45
AMC	23,70 \pm 6,78	29,56 \pm 8,91
AML	29,59 \pm 14,68	23,13 \pm 9,94
AMT	54,50 \pm 22,13	53,49 \pm 18,95
E	62,30 \pm 7,05	55,74 \pm 4,39
C	34,44 \pm 3,85	28,77 \pm 2,58
MC	6,57 \pm 1,26	7,35 \pm 1,57
ML	6,47 \pm 1,54	8,13 \pm 1,59*
CA	38,09 \pm 4,57	29,75 \pm 3,47
CC	16,03 \pm 2,56	18,11 \pm 2,32
VS	0,21 \pm 0,03	0,76 \pm 0,43
VL	0,14 \pm 0,05	0,31 \pm 0,14

Dados expressos em média \pm erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. Medidas lineares (μm) - AP: altura de pregas, LP: largura de pregas, AE: altura do epitélio das pregas, AMC: altura da camada muscular circular, AML: altura da camada muscular longitudinal, AMT: altura da camada muscular total. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático. ML

Tabela 7 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Hypostomus luetkeni</i>	
	NAF	AF
AP	353,43 \pm 37,77	326,91 \pm 50,81
LP	152,51 \pm 17,47	179,71 \pm 17,99
AE	55,96 \pm 6,07	55,73 \pm 5,74
AMC	46,86 \pm 6,28	37,47 \pm 6,12
AML	26,14 \pm 2,58	21,73 \pm 3,19
AMT	73,23 \pm 8,70	59,20 \pm 8,99
E	67,03 \pm 7,20	65,05 \pm 1,76
C	26,24 \pm 2,89	19,23 \pm 2,27
MC	10,08 \pm 1,36	8,42 \pm 0,72
ML	7,66 \pm 1,04	7,31 \pm 1,00
CA	45,81 \pm 5,61	40,57 \pm 2,44
CC	15,42 \pm 1,65	13,32 \pm 1,22
VS	0,73 \pm 0,32	0,57 \pm 0,10
VL	0,08 \pm 0,03	0,15 \pm 0,03

Dados expressos em média \pm erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. Medidas lineares (μm) - AP: altura de pregas, LP: largura de pregas, AE: altura do epitélio das pregas, AMC: altura da camada muscular circular, AML: altura da camada muscular longitudinal, AMT: altura da camada muscular total. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula calciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Tabela 8 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Oligosarcus argenteus</i>	
	NAF	AF
AP	374,50 \pm 30,56	384,89 \pm 26,08
LP	123,89 \pm 6,81	124,50 \pm 10,53
AE	54,08 \pm 3,57	52,40 \pm 2,91
AMC	18,84 \pm 1,75	13,47 \pm 1,66*
AML	14,26 \pm 1,26	10,87 \pm 1,65*
AMT	34,08 \pm 2,85	24,47 \pm 3,03*
E	69,80 \pm 1,60	74,34 \pm 2,72
C	20,69 \pm 1,08	18,16 \pm 2,03
MC	5,59 \pm 0,43	4,20 \pm 0,58
ML	3,92 \pm 0,31	3,29 \pm 0,33
CA	51,79 \pm 1,93	55,51 \pm 2,55
CC	13,00 \pm 1,77	13,20 \pm 1,73
VS	0,21 \pm 0,06	0,21 \pm 0,07
VL	0,13 \pm 0,05	0,07 \pm 0,03

Dados expressos em média \pm erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. Medidas lineares (μm) - AP: altura de pregas, LP: largura de pregas, AE: altura do epitélio das pregas, AMC: altura da camada muscular circular, AML: altura da camada muscular longitudinal, AMT: altura da camada muscular total. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Tabela 9 – Índices histométricos e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
AE/AP	16,96 ± 0,93	16,86 ± 1,92	14,98 ± 1,14
AP/ATP	87,24 ± 4,02 ^a	82,68 ± 0,92 ^{ab}	91,28 ± 0,85 ^{ac}
AMT/ATP	12,76 ± 4,02 ^a	17,32 ± 0,92 ^{ab}	8,72 ± 0,85 ^{ac}
E	62,30 ± 7,05	67,03 ± 7,20	69,8 ± 1,60
C	34,44 ± 3,85 ^b	26,24 ± 2,89 ^a	20,69 ± 1,08 ^a
MC	6,57 ± 1,26	10,08 ± 1,36	5,59 ± 0,43
ML	6,47 ± 1,54	7,66 ± 1,04	3,92 ± 0,31
CA	38,09 ± 4,57	45,81 ± 5,61	51,79 ± 1,93
CC	16,03 ± 2,56	15,42 ± 1,65	13,00 ± 1,77
VS	0,21 ± 0,03	0,73 ± 0,32	0,21 ± 0,06
VL	0,14 ± 0,05	0,08 ± 0,03	0,13 ± 0,05

Dados expressos em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies (*Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus*) apontada pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. AP: alturas de pregas, AE: altura de epitélio, AMT: altura da camada muscular total, ATP: altura total da parede intestinal. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

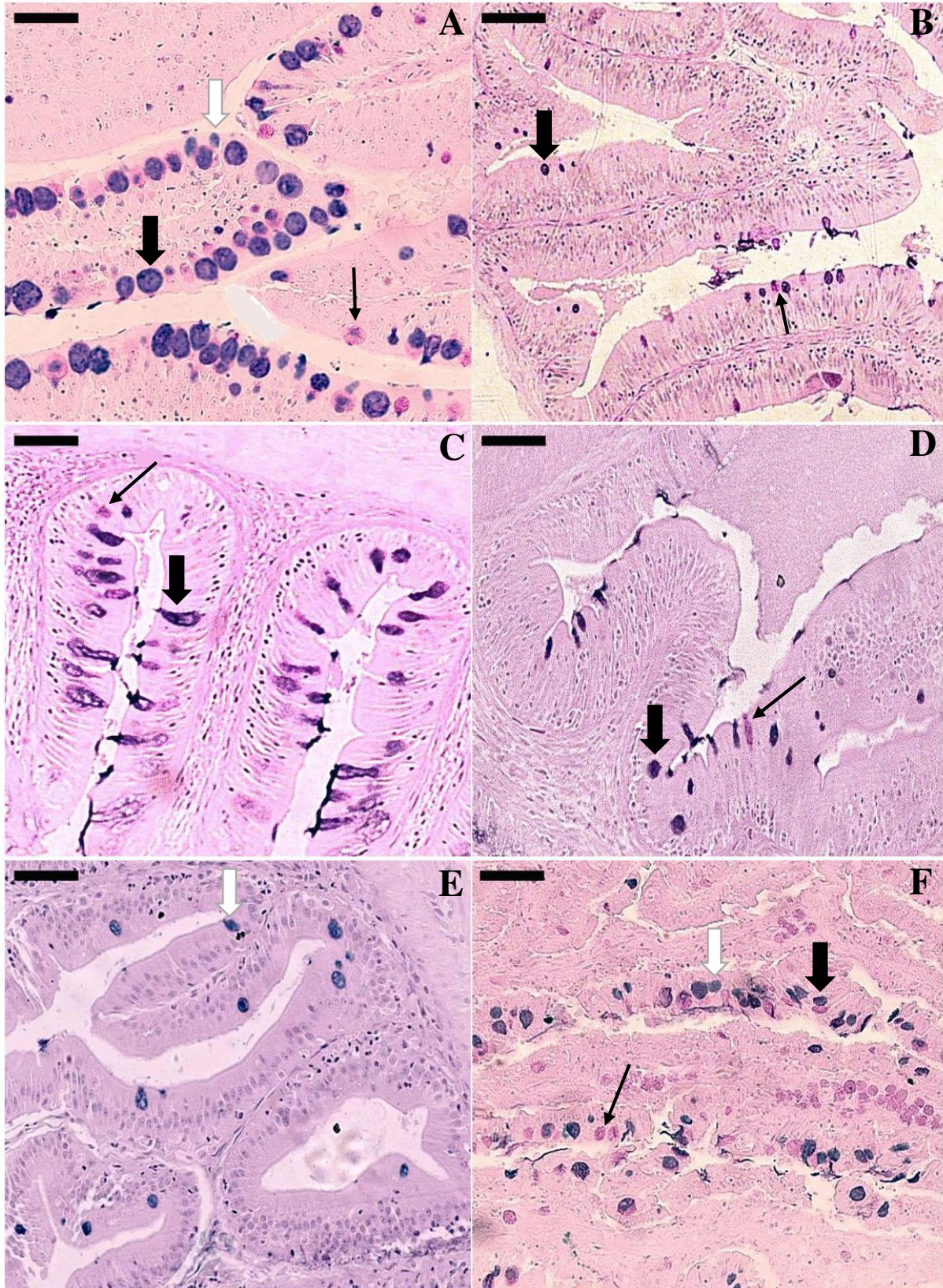
Tabela 10 – Índices histométricos e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
AE/AP	15,79 ± 0,74	19,85 ± 2,68	14,50 ± 1,82
AP/ATP	86,74 ± 3,71 ^a	84,58 ± 0,95 ^a	93,99 ± 0,63 ^b
AMT/ATP	13,26 ± 3,71 ^a	15,42 ± 0,95 ^a	6,01 ± 0,63 ^b
E	55,74 ± 4,39	65,05 ± 1,76	74,34 ± 2,72
C	28,77 ± 2,58 ^b	19,23 ± 2,27 ^a	18,16 ± 2,03 ^a
MC	7,35 ± 1,57 ^a	8,42 ± 0,72 ^a	4,20 ± 0,58 ^b
ML	8,13 ± 1,59 ^a	7,31 ± 1,00 ^a	3,29 ± 0,33 ^b
CA	29,75 ± 3,47 ^c	40,57 ± 2,44 ^b	55,51 ± 2,55 ^a
CC	18,11 ± 2,32	13,32 ± 1,22	13,20 ± 1,73
VS	0,76 ± 0,43	0,57 ± 0,1	0,21 ± 0,07
VL	0,31 ± 0,14	0,15 ± 0,03	0,07 ± 0,03

Dados expressos em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies (*Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus*) apontada pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. AP: alturas de pregas, AE: altura de epitélio, AMT: altura da camada muscular total, ATP: altura total da parede intestinal. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Os três tipos de mucinas, ácidas, neutras e mistas, se mostraram presentes em quantidades diferentes para os exemplares das três espécies analisadas nas áreas, afetada e não afetada (Figura 5). Dentre os tipos de mucinas, as mistas foram encontradas em maior quantidade nas três espécies. Os dados referentes à quantificação de mucinas nos animais das áreas afetada e não afetada, para cada espécie, são apresentados nas tabelas 11, 12 e 13. Os dados referentes à quantificação de mucinas para comparação entre as três espécies são apresentados nas tabelas 14 e 15.

Figura 4 – Fotomicrografias de secções histológicas intestinais evidenciando os diferentes tipos de mucinas nas células caliciformes de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus*, coletados na bacia do rio Doce, em áreas afetada e não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.



A) *A. lacustris* de área não afetada, B) *A. lacustris* de área afetada, C) *H.luetkeni* de área não afetada, D) *H.luetkeni* de área afetada, E) *O. argentus* de área não afetada, F) *O. argentus* de área afetada. Setas brancas: células com mucinas ácidas (AB+). Setas pretas grossas: células com mucinas mistas (PAS/AB+). Setas pretas finas: células com mucinas neutras (PAS+). Coloração: Ácido Periódico de Schiff conjugado com Alcian Blue (PAS-AB). Barra = 50µm.

Tabela 11 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Astyanax lacustris</i>	
	NAF	AF
ARP (10⁴ µm²)	5,12 ± 0,30	4,19 ± 0,35
AMN (µm²)	78,15 ± 23,86	30,76 ± 6,32
AMM (µm²)	181,54 ± 42,30	65,24 ± 17,68*
AMA (µm²)	69,86 ± 16,15	25,34 ± 5,94
DMN	359,89 ± 111,43	364,13 ± 106,51
DMM	472,13 ± 86,95	426,58 ± 64,58
DMA	165,46 ± 39,45	151,01 ± 23,66
IMN (%)	0,16 ± 0,05	0,07 ± 0,02
IMM (%)	0,41 ± 0,12	0,17 ± 0,05*
IMA (%)	0,15 ± 0,04	0,06 ± 0,02

Dados expressos em média ± erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, ARP: área da prega (em 10⁴), DMN: densidade de mucina neutra, DMM: densidade de mucina mista, DMA: densidade de mucina ácida, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida. Índice calculado pela área de mucina pela área da prega intestinal.

Tabela 12 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Hypostomus luetkeni</i>	
	NAF	AF
ARP ($10^4 \mu\text{m}^2$)	5,57 ± 0,88	5,88 ± 1,04
AMN (μm^2)	32,13 ± 11,16	16,37 ± 4,26
AMM (μm^2)	85,08 ± 14,53	55,27 ± 10,51
AMA (μm^2)	23,51 ± 5,95	36,24 ± 8,72
DMN	221,39 ± 75,20	131,82 ± 50,21
DMM	491,42 ± 84,89	250,07 ± 43,67*
DMA	132,64 ± 24,86	174,18 ± 39,90
IMN (%)	0,07 ± 0,03	0,04 ± 0,01
IMM (%)	0,17 ± 0,03	0,10 ± 0,02
IMA (%)	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,02

Dados expressos em média ± erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, ARP: área da prega (em 10^4), DMN: densidade de mucina neutra, DMM: densidade de mucina mista, DMA: densidade de mucina ácida, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida. Índice calculado pela área de mucina pela área da prega intestinal.

Tabela 13 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Oligosarcus argenteus</i>	
	NAF	AF
ARP ($10^4 \mu\text{m}^2$)	4,73 ± 1,04	4,67 ± 0,38
AMN (μm^2)	13,84 ± 3,23	29,28 ± 9,31
AMM (μm^2)	26,21 ± 3,26	36,07 ± 7,91
AMA (μm^2)	25,44 ± 6,01	33,41 ± 8,55
DMN	97,90 ± 24,95	181,45 ± 41,01
DMM	174,48 ± 25,65	241,53 ± 77,69
DMA	168,53 ± 23,50	201,65 ± 56,18
IMN (%)	0,03 ± 0,01	0,08 ± 0,04
IMM (%)	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,03
IMA (%)	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,02

Dados expressos em média ± erro padrão. * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Test t ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, ARP: área da prega (em 10^4), DMN: densidade de mucina neutra, DMM: densidade de mucina mista, DMA: densidade de mucina ácida, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida. Índice calculado pela área de mucina pela área da prega intestinal.

Tabela 14 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
IMN (%)	0,16 ± 0,05 ^a	0,07 ± 0,03 ^{ab}	0,03 ± 0,01 ^{ac}
IMM (%)	0,41 ± 0,12 ^b	0,17 ± 0,03 ^a	0,06 ± 0,01 ^a
IMA (%)	0,15 ± 0,04	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01

Dados expressos em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies dentro de cada área, apontada pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida. Índice calculado pela área de mucina pela área da prega intestinal.

Tabela 15 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletadas na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
IMN (%)	0,07 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,04
IMM (%)	0,17 ± 0,05	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,03
IMA (%)	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,08 ± 0,02

Dados expressos em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies dentro de cada área, apontada pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida. Índice calculado pela área de mucina pela área da prega intestinal.

3.5 Análises histopatológicas

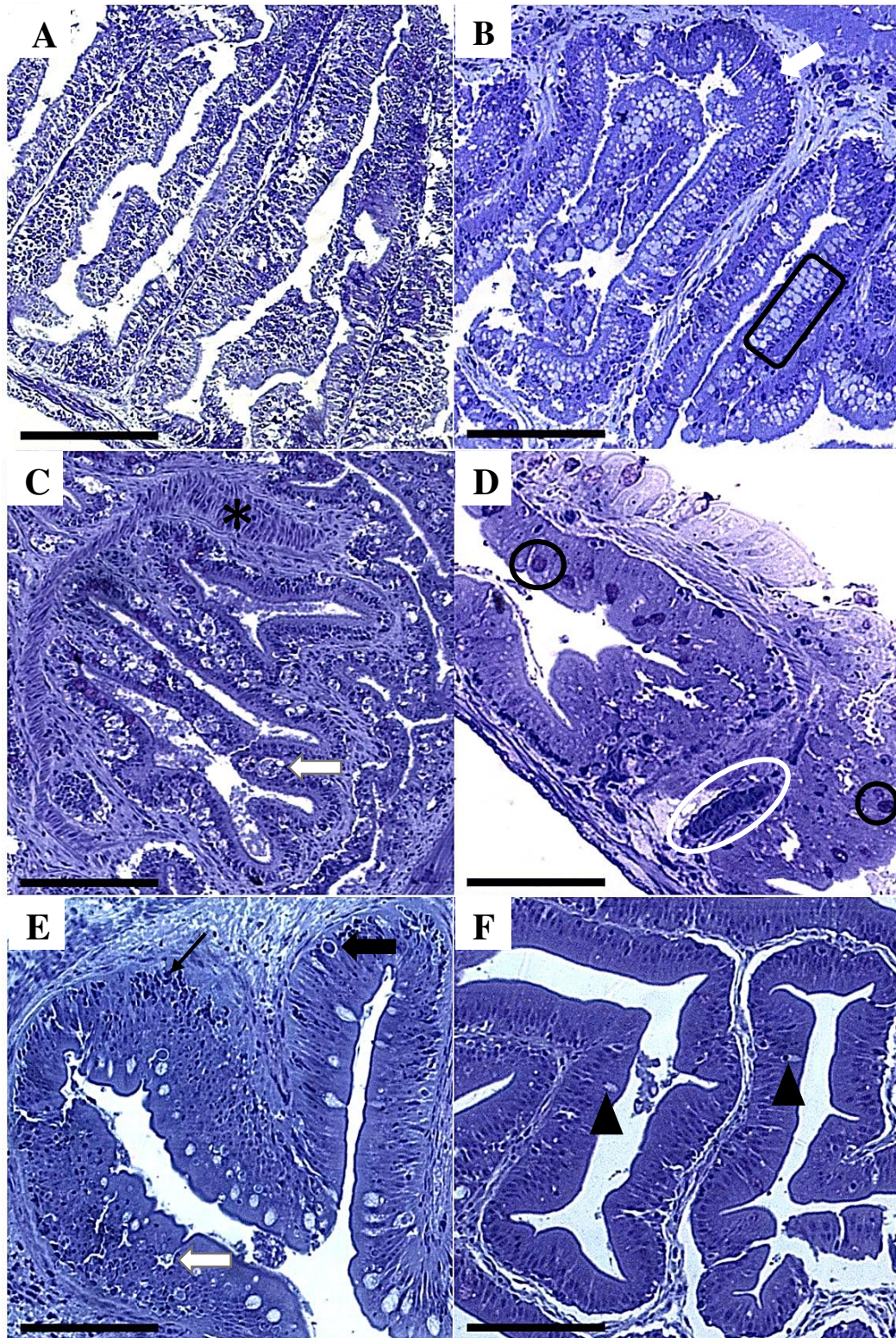
A frequência de alterações histológicas foi expressa de modo semiquantitativo, usando um sistema de cruces (Tabela 16). Tais alterações histológicas estão ilustradas na figura 6. Além destas, outras também foram encontradas mais raramente, como camada muscular entre as pregas intestinais, células absortivas vacuolizadas, epitélio desorganizado e aglomerados de mastócitos.

Tabela 16 – Análises semiquantitativas de alterações histológicas, no intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus*, coletados na Bacia do Rio Doce em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.

	<i>A. lacustris</i>		<i>H. luetkeni</i>		<i>O. argenteus</i>	
	NAF	AF	NAF	AF	NAF	AF
CR	+	+	+	+	+	+
CCD	+	++	++	++	+	++
CA	0	+	0	+	0	+
CCM	++	+++	+	+	++	+++
L	++	++	++	+++	++	+++
IL	++	++	+	++	+	++
M	++	++	++	++	+++	+++
PR	++	++	+	+	++	++

CR: células *rodlet*, CCD: células caliciformes degeneradas, CA: células apoptóticas, CCM: células caliciformes metacromáticas, L: linfócitos, IL: Infiltrado linfocitário, M: mastócitos, PR: pregas ramificadas. Dados de frequência de observação das lesões: 0 = nenhuma, + = 1 a 30%, ++ = 31 a 60%, +++ = 61 a 100%.

Figura 5– Fotomicrografias de secções histológicas intestinais evidenciando as alterações encontradas em *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus*, coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada e, especialmente, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.



Desorganização epitelial em todo o revestimento das pregas. B) Seta branca: presença de prega ramificada. Retângulo preto: células absortivas vacuolizadas. C) Asterisco: camada muscular intraprega. Seta branca: célula

caliciforme degenerada. D) Círculo preto: célula caliciforme metacromática. Círculo branco: aglomerado de mastócitos. E) Seta preta grossa: célula apoptótica. Seta branca: célula caliciforme degenerada. Seta preta fina: infiltrado linfocitário. F) Cabeça de seta: célula rodlet. Coloração: Azul de toluidina. Barra: 100 µm.

4. DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros físico-químicos da água

Os valores de pH dos quatro rios analisados mostraram variação relativamente baixa, com valores entre 6,2 - 7,6. O mesmo ocorreu com a temperatura, com variação entre 23,2 - 24,1 °C. Todavia, a saturação de oxigênio dissolvido no Rio Casca foi menor que nos demais rios (Piranga, Carmo e Doce), mas ainda dentro do limite mínimo exigido, que é de 5,0 mg/L (Resolução CONAMA 357/05). Para a saturação de oxigênio dissolvido, tem-se que a sobrevivência de peixes requer concentrações mínimas entre 10% e 60%, dependendo da espécie e de outras características da água. A saturação de oxigênio pode sofrer alterações por estar sujeita a influências da temperatura, atividade fotossintética, turbulência da água, disponibilidade de matéria orgânica e oxidação abiótica de substâncias com íons metálicos, como o ferro (FIORUCCI, 2005; PALMA-SILVA *et al*, 2010). Sua aferição em rios é de extrema importância, uma vez que a partir disto, podem ser avaliados impactos ambientais (CARMOUZE, 1994). Segundo dados da literatura, o oxigênio dissolvido em baixas concentrações na água, em locais poluídos, pode causar atraso no crescimento e redução na eficiência alimentar dos peixes (PANORAMA DA AQUICULTURA, 1998).

A Fundação Renova faz monitoramento da Bacia do Rio Doce, tanto em locais afetados pelo rompimento da barragem quanto em locais não afetados. Uma das análises realizadas é para verificar a concentração de metais pesados na água. A base para as análises e comparações os limites máximos para cada metal devem estar em acordo com a Resolução CONAMA 357/05. Segundo análises feitas em 2019 no Rio Piranga, local não afetado pelo rompimento da barragem, foi verificado que os valores de Al e Mn, na maioria dos meses analisados, se mantiveram dentro do limite máximo que é de 0,1 mg/L para estes dois metais, com ressalva para três meses da estação chuvosa em que o Al ficou acima do limite e um mês da estação seca em que o Mn ficou acima. Para o Cd, Pb, Cr, Ni e Zn, em todos os meses analisados, os níveis ficaram dentro do limite máximo para cada metal (Cd: 0,001 mg/L, Pb: 0,01 mg/L, Cr: 0,05 mg/L, Ni: 0,025 mg/L, e Zn: 0,18 mg/L). Quanto ao Fe, os valores tiveram variação maior ao

longo deste ano, e em sete meses ficaram acima do limite máximo (0,3 mg/L), sendo que destes, seis meses são da estação chuvosa.

Para o Rio Casca, local também não afetado pelo rompimento da barragem, as análises foram bem mais frequentes após o rompimento. Foi verificado que, para os metais Al, Cd, Pb, Cr, Ni e Zn, em todos os meses analisados ao longo de 2019, os valores ficaram abaixo do limite máximo. Para os metais Fe e Mn, em cinco meses os valores ficaram acima do limite máximo, sendo que para ambos metais, três meses são da estação chuvosa e dois da estação seca.

O IGAM (Instituto Mineiro de Gestão das Águas) e a Fundação Renova realizam análises da água dos rios da Bacia do Rio Doce afetados pelo rompimento da barragem em Mariana-MG. De acordo com relatório publicado pelo IGAM (2020) e com os dados no site da própria Fundação, de 2014 a 2019, no Rio do Carmo foi observado que, antes do rompimento da barragem os valores de Al, Pb e Fe já estavam no limite máximo e após o rompimento, em alguns meses, os valores ficaram acima do limite máximo. Para o Al e Pb ficou acima do limite somente em um mês, da estação chuvosa, e para o Fe ficou acima em três meses da estação chuvosa e um mês da seca. Para o Mn, em alguns meses antes do rompimento os valores já estavam acima do limite e após o rompimento, na maioria dos meses analisados, os valores continuaram acima do limite, ressaltando que a maioria dos meses foi da estação chuvosa. Para o Cd, na maioria dos meses analisados, os valores ficaram dentro do limite máximo, com ressalva para quatro meses em que os valores ficaram exatamente no limite, sendo dois meses da estação chuvosa e dois da estação seca. Para o Cr, Ni e Zn, tanto antes quanto após o rompimento, os valores ficaram abaixo do limite máximo, em todos os meses analisados.

Os dados para o Rio Doce, nos pontos de coleta de material para este trabalho, são escassos nos sites da Fundação Renova e do IGAM. Neste sentido, as considerações a seguir foram com base nos dados do Rio Doce na cidade de Rio Doce, para análises realizadas de 2014 a 2019. Foi observado que antes do rompimento da barragem os valores de Al, Fe, Mn já estavam no limite máximo e após o rompimento, em muitos meses, os valores ficaram acima do limite máximo, ressaltando que para ambos metais, a maioria dos meses foram da estação chuvosa. Para o Cd e Ni, tanto antes quanto após o rompimento, os valores ficaram abaixo do limite máximo, em todos os meses analisados. Para o Pb, antes do rompimento os valores estavam todos abaixo do limite máximo e após o rompimento, nos dois meses seguintes à tragédia e, posteriormente, em mais um mês da estação chuvosa, os valores ficaram acima do limite máximo. Para Cr e Zn, antes do rompimento os valores estavam todos abaixo do limite máximo e após o rompimento, para ambos metais, apenas em dois meses da estação chuvosa os valores ficaram acima do limite máximo.

4.2 Concentração de metais pesados no trato intestinal

Tendo em vista os resultados obtidos neste estudo, das concentrações de metais pesados no trato intestinal das três espécies, pode ser inferido que estão de acordo com os resultados das análises da água da Bacia do Rio Doce realizadas pelo IGAM, uma vez que as maiores concentrações de metais pesados encontradas no intestino das três espécies, em ambas as áreas, foram para alumínio e ferro, os quais estavam acima do limite legal no ano de 2019 (IGAM, 2020).

Comparando as áreas afetadas e não afetadas para cada espécie, as concentrações da maioria dos metais mostraram tendência de valores mais elevados na área afetada, com ressalva para o cascudo, em que as concentrações de vários metais foram significativamente menores na área afetada. Comparando as três espécies, as concentrações da maioria dos metais pesados foram maiores para os lambaris bocarra e do rabo amarelo na área afetada, o que pode ser reflexo das diferenças no hábito alimentar, com implicações sobre o bioacúmulo. É importante mencionar que o intestino, pelas suas funções absorptiva e secretória, é local de intenso trânsito de substâncias e, sendo assim, as concentrações de metais no trato intestinal podem oscilar consideravelmente e, independente dos valores encontrados no presente estudo, foram capazes de provocar alterações morfofisiológicas intestinais, como mostrado nos resultados a seguir.

4.3 Parâmetros morfológicos e histométricos

4.3.1 Comparação entre as áreas afetada e não afetada para cada espécie

De acordo com os resultados biométricos corporais de comprimento e peso, não houve diferença significativa entre as áreas afetada e não afetada para cascudos *Hypostomus luetkeni* e lambaris-bocarra *Oligosarcus argenteus*. Porém, observou-se redução significativa nesses dois parâmetros para lambaris de rabo amarelo *Astyanax lacustris* na área afetada. Alguns estudos demonstraram que o crescimento e o desenvolvimento de peixes foram afetados por metais pesados, como cobre, chumbo, cádmio, mercúrio e cromo. Um estudo realizado com enguia-europeia *Anguilla anguilla*, afim de avaliar a infecção pelo nematoide parasita *Anguillicola crassus* e a contaminação química por metais pesados, verificou que os metais chumbo e cádmio contribuíram para a infecção nematoide e a redução do tamanho corporal do animal (NETO, 2008). Segundo Liang *et al* (1999), o acúmulo de metais é inversamente proporcional ao tamanho do peixe, uma vez que o fator determinante do acúmulo está relacionado à velocidade de sequestro e eliminação dos metais; então, peixes menores teriam

uma maior velocidade de absorção dos metais e de concentração destes nos órgãos (BONIFACIO, 2017; ABDEL-HAKIM, 2016). No caso do presente estudo, a espécie com menor tamanho dentre as três analisadas foi a que apresentou os parâmetros biométricos corporais afetados.

Quanto aos resultados biométricos intestinais, não houve diferença significativa no comprimento intestinal das três espécies; contudo, houve redução significativa do peso intestinal dos cascudos e lambaris-bocarra na área afetada. Vale ressaltar que o peso intestinal foi obtido com o conteúdo alimentar, devido à dificuldade de retirada do mesmo, havendo então influência do estado alimentar dos animais. Para os parâmetros intestinais relativos, tanto de comprimento quanto de peso, não houve diferença significativa para nenhuma das três espécies.

Com base nas análises histométricas, pode-se dizer que existem evidências de alterações nas camadas intestinais. Em relação à largura das pregas intestinais houve diferença significativa para os lambaris do rabo amarelo, com menor valor na área afetada. Na região cranial do intestino, as pregas são mais salientes, permitindo expansão para receber o alimento vindo do estômago (CORDEIRO, 2019; FACCIOLI, 2014); logo, a diminuição das pregas pode refletir em prejuízo na absorção. Sabe-se que a mucosa gastrointestinal está envolvida com a absorção dos metais pesados e pode ser diretamente impactada pelos mesmos (DAMATO & BARBIERI, 2012). Segundo um estudo realizado para avaliar efeitos do cádmio, a mucosa gastrointestinal foi alterada quando exposta a concentrações maiores deste metal, havendo descamação e necrose (FRIBERG, ELINDER & KJELLSTR, 1992).

Para a altura das camadas musculares (circular, longitudinal e total) houve diferença significativa nos lambaris-bocarra, com redução destes parâmetros em área afetada. As camadas musculares intestinais, de modo geral, são bem desenvolvidas, visto que o movimento peristáltico realizado por elas proporciona o trânsito dos alimentos ao longo do órgão e a mistura com os sucos digestivos (CORDEIRO, 2019). Portanto, a redução na espessura dessas camadas pode ser reflexo de desorganização estrutural que levaria à menor eficiência na atividade peristáltica.

Por outro lado, a densidade volumétrica da camada muscular longitudinal dos lambaris do rabo amarelo foi maior na área afetada, fato que pode ser indicativo de inflamação ou até mesmo uma resposta à infecção parasitária. De acordo com Duarte (2019) em seu estudo que avaliou ectoparasitas nos peixes *Rhamdia branneri* e *Hypostomus* sp. como bioindicadores de alterações ambientais, foi sugerido que a abundância destes organismos pode ser favorecida por alterações nos fatores ambientais, como a presença de metais pesados. Matos *et al.* (2014) observaram em um estudo utilizando tambaquis *Colossoma macropomum* parasitados pelo

acantocéfalo *Neoechinorhynchus* sp., diversas alterações, entre elas, o espessamento da camada muscular.

No que diz respeito às análises histoquímicas dos três tipos de mucinas (ácidas, neutras e mistas), nos animais de ambas as áreas ocorreu predominância de mucinas mistas; porém, essa predominância tendeu a reduzir na área afetada, com redução significativa nos lambaris do rabo amarelo (área e índice das mucinas mistas) e nos cascudos (densidade das mucinas mistas). As mucinas conferem proteção físico-química ao revestimento intestinal, dificultam a adesão de patógenos (proteção física) e ainda, proporcionam a primeira linha de defesa do intestino, interagindo com o sistema imunológico (PELASEYED *et al.*, 2014). Cordeiro (2019) e Liu *et al.* (2019) verificaram em seus estudos usando peixes teleósteos que a exposição a compostos químicos como os metais pesados gerou aumento significativo do número de células caliciformes. Assim, a hiperplasia destas células e o aumento na produção de mucinas pode ocorrer, em um primeiro momento, como uma reação à contaminação, sendo um mecanismo fisiológico protetor; mas, a depender do grau de contaminação, as células caliciformes e suas funções podem ser comprometidas.

4.3.2 Comparação entre as espécies em cada área

A partir dos resultados biométricos corporais, verificaram-se maiores peso e comprimento para o cascudo *Hypostomus luetkeni* em ambas as áreas, e menor comprimento para o lambari do rabo amarelo *Astyanax lacustris* também em ambas as áreas, o que era de se esperar dado as diferenças naturais de tamanho entre as espécies. Para melhor comparação entre espécies, podemos calcular a razão P/A (peso dividido pelo comprimento) e o IMC (peso dividido pelo comprimento ao quadrado) das espécies. Para *A. lacustris* temos: P/A de 2,22 e IMC de 0,27 em área não afetada; e P/A de 1,44 e IMC de 0,20 em área afetada. Para *H. luetkeni* temos: P/A de 9,83 e IMC de 0,49 em área não afetada; e P/A de 8,54 e IMC de 0,48 em área afetada. E para lambari-bocarra, *O. argenteus*, temos: P/A de 2,63 e IMC de 0,21 em área não afetada; e P/A de 2,16 e IMC de 0,20 em área afetada. Assim sendo, percebe-se que o cascudo tem parâmetros corporais mais expressivos que os lambaris bocarra e do rabo amarelo, e dentre esses, o lambari do rabo amarelo, *A. lacustris*, é o que apresentou variação considerável da área não afetada para a afetada. O maior impacto sobre essa espécie pode ter relação com o seu menor porte corporal. Estudos tem mostrado maiores efeitos de contaminantes sobre animais de menor tamanho. Em uma pesquisa utilizando *Astyanax bimaculatus*, *Hoplias malabaricus* e *Oreochromis niloticus* e quantificando alguns metais pesados no músculo, foi verificado concentrações maiores e significativas na espécie *A. bimaculatus* que é de pequeno porte, e isso

pode oferecer risco para a saúde humana, uma vez que a carne desses peixes é consumida (NUNES & JESUS, 2019).

Analisando os resultados biométricos intestinais, absolutos e relativos, observaram-se igualmente maiores valores para o cascudo em ambas as áreas, o que é condizente com o seu hábito alimentar herbívoro, assim como os menores valores de peso intestinal relativo para o lambari-bocarra *O. argenteus*, espécie carnívora (BECKER, 2010).

Abordando as análises histométricas, foi possível perceber maiores alterações nos lambaris, *O. argenteus* e *A. lacustris*. Para o lambari-bocarra, *O. argenteus*, vale apontar a maior representatividade na altura da prega, o que pode indicar uma reação protetora, e menor na altura da camada muscular, em ambas as áreas, assim como menor percentual de camada muscular na área afetada, indicando possível comprometimento da motilidade intestinal. Os maiores efeitos na estrutura intestinal de *O. argenteus* provavelmente tem relação com a maior bioacumulação de metais, tendo em vista o seu hábito alimentar carnívoro. Igualmente, o estudo de CRAFFORD & AVENANT-OLDEWAGE (2010) mostrou maior diversidade de elementos metálicos em amostras do peixe carnívoro *Micropterus salmoide* e maior potencial de biomagnificação trófica, ou seja, o acúmulo gradual de um nível trófico para outro ao longo da cadeia alimentar. Assim sendo, os predadores de topo tendem a apresentar maiores concentrações de metais que suas presas.

Para *A. lacustris* vale apontar o maior percentual de tecido conjuntivo (da lâmina própria e submucosa) que, atrelado aos maiores percentuais de vasos sanguíneos e linfáticos nesse tecido, em animais da área afetada, pode representar maior aporte de células de defesa para o trato intestinal. Além disso, o menor percentual de células absortivas nos animais de área afetada certamente implica em menor capacidade de digestão e absorção, e consequentemente compromete aspectos nutricionais. Tal achado corrobora os dados biométricos de diminuição do peso corporal nos lambaris da área afetada.

Em relação à quantificação de mucinas no trato intestinal, identificou-se, de maneira geral, predomínio de mucinas mistas nas três espécies em ambas as áreas, chamando atenção para o maior índice de mucinas mistas de *A. lacustris* na área não afetada, o que pode ser uma característica da espécie. A grande quantidade de mucinas mistas no lambari do rabo amarelo reforça a importância das mesmas e o forte impacto na proteção do trato intestinal quando da redução na sua produção, o que ocorreu nos lambaris em área afetada.

4.4 Análises histopatológicas

A partir das análises histopatológicas semiquantitativas, observou-se a presença de células relacionadas à defesa, como células *rodlet* no epitélio, linfócitos intraepiteliais e grande densidade de linfócitos, especialmente na base do epitélio, além de mastócitos. Dentre esses mecanismos de defesa, chama atenção o maior desenvolvimento linfocitário em animais da área afetada, especialmente no cascudo e no lambari-bocarra.

No epitélio de revestimento, observou-se a ocorrência de células apoptóticas, células calciformes degeneradas e metacromáticas, e células absortivas vacuolizadas, sendo que elas foram mais frequentes nos animais da área afetada. Em relação às células apoptóticas, sua presença é normal, pois a apoptose é ação natural do organismo; porém, a maior frequência nos indivíduos da área afetada pode indicar efeitos prejudiciais dos metais pesados no intestino. Em um estudo morfo-histopatológico do trato digestivo de peixes, encontraram anormalidades no intestino, como vacuolização, degenerações epiteliais, hiperplasia e fibrose em peixes de locais impactados por metais pesados (DANE & ŞİŞMAN, 2020). Em uma pesquisa que avaliou os efeitos do dióxido de titânio, alterações morfológicas como a vacuolização de células epiteliais foram detectadas no intestino de peixes-zebra (CUNHA & BRITO-GITIRANA, 2020). Evidências apontam que as células *rodlet* estão associadas ao sistema imunológico dos peixes teleósteos. Uma pesquisa feita para avaliar o papel potencial dessas células, em relação aos mastócitos na defesa contra helmintos, mostrou que as células *rodlet* estavam presentes em quantidade mais elevada que os mastócitos nos tecidos epiteliais de indivíduos infectados com vermes (REITE, 2005).

Além disso, houve ocorrência de pregas intestinais ramificadas, especialmente nos lambaris bocarra e do rabo amarelo, mas com frequência semelhante entre as áreas de estudo, o que pode representar um padrão dessas espécies para maior superfície absortiva, e não necessariamente uma alteração histológica.

5. CONCLUSÃO

O intestino do lambari do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*), cascudo (*Hypostomus luetkeni*) e lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*), coletados em áreas afetadas e não afetadas pelo rompimento da barragem em Mariana- MG, apresentou níveis acima do limite legal de metais pesados, em especial ferro e alumínio. Na área afetada, alguns metais, incluindo o ferro, estiveram mais concentrados no intestino da espécie carnívora *O. argenteus* e da onívora *A. lacustris*. Alterações histológicas intestinais foram encontradas nas três espécies, mais frequentes nos exemplares da área afetada, permitindo, então, relacioná-las com a presença dos

metais pesados. Além disso, as alterações morfológicas foram, geralmente, mais expressivas em *O. argenteus* e *A. lacustris*, concordando com os achados de concentração de metais, e assim, pode-se inferir que o hábito alimentar influencia no bioacúmulo e nos impactos causados pelos metais pesados no trato intestinal .

6. REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAKIM, N.; HELAL, A.; SALEM, M.; ZAGHLOUL, A.; HANBAL, M., Effect of some heavy metals on physiological and chemical parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Journal of Egyptian Academic Society for Environmental Development. D, Environmental Studies**, v. 17, p. 81–95, 2016.
- BECKER, ALEXSSANDRO GEFERSON *et al.* Morphometric parameters comparisons of the digestive tract of four teleosts with different feeding habits. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 4, p.862-866, abr. 2010.
- BONIFACIO, EVANDRO. **Avaliação de bioacumulação de chumbo e sua influência sobre o crescimento em alevinos de tilápia do Nilo**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 40p. 2017.
- BOSI, G. *et al.* Protective responses of intestinal mucous cells in a range of fish–helminth systems. **Journal of Fish Diseases**, v. 40, n. 8, p. 1001–1014, 2017.
- BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. **Conselho Nacional de Meio Ambiente**. Disponível em: <www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 21 out. 2022.
- CARMOUZE, J. P. O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas. **Edgard Blucher/FAPESP**, São Paulo, 253 p., 1994.
- CORDEIRO, JÉSSICA YELLE FERREIRA. **As espécies de Nematoda e a histopatologia do tubo digestivo de *Auchenipterus nuchalis* (Spix & Agassiz, 1829) (Siluriformes: Auchenipteridae) de lagos de várzea da Amazônia**. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 70 p. 2019.
- CRAFFORD, D. & AVENANT-OLDEWAGE, A. Bioaccumulation of non-essential trace metals in tissues and organs of *Clarias gariepinus* (sharp-tooth catfish) from the Vaal River system - strontium, aluminium, lead and nickel. **Water SA**, v. 36, n. 5, p. 621-640, 2010.
- CUNHA, R. L. D. da & BRITO-GITIRANA, L. de. Effects of titanium dioxide nanoparticles on the intestine, liver, and kidney of *Danio rerio*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 203, 2020.

- DAMATO, M. & BARBIERI, E. Estudo da toxicidade aguda e alterações metabólicas provocadas pela exposição do cádmio sobre o peixe *Hyphessobrycon callistus* utilizado como indicador de saúde ambiental. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, 2012.
- DANE, H. & ŞİŞMAN, T. A morpho-histopathological study in the digestive tract of three fish species influenced with heavy metal pollution. **Chemosphere**, v. 242, 2020.
- DUARTE, GISELE SILVA COSTA. **Parasitas de peixes como bioindicadores de alterações ambientais**. Tese (Doutorado em Biologia Comparada) - Universidade Estadual de Maringá, 66 p, 2019.
- FACCIOLI, C. K. Morphology and histochemistry of the digestive tract in carnivorous freshwater *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). **Journal Micron**, 64: 10-19, 2014.
- FIORUCCI, A. R.; FILHO, E. B. A importância de oxigênio dissolvido em ambientes aquáticos. **Química e Sociedade**, v. 22, p. 10-16, 2005.
- FRIBERG, L., ELINDER, C.G., KJELLSTR, T. Environmental Health Criteria 134- Cadmium, **The International Programme on Chemical Safety**, Geneva, 1992. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc134.htm>>.
- FUNDAÇÃO RENOVA. **Gráficos- Monitoramento Rio Doce**. Monitoramento convencional. Disponível em < <https://monitoramentoriadoce.org/graficos/> >. Acesso em: 23 out. 2022.
- IGAM, Instituto Mineiro de Gestão das Águas. **Encarte especial sobre a qualidade das águas do Rio Doce após 4 anos de rompimento da barragem de Fundão 2015-2019**. Belo Horizonte, 77 p., 2020.
- KAUD, H. A. *et al.* Amelioration the toxic effects of cadmium-exposure in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by using *Lemna gibba* L. **Life Sciences Journal**, v. 8, p. 185-195. 2011.
- LANNA, E. A. T. & BOMFIM, M. A. D. Fatores que afetam os coeficientes de digestibilidade nos alimentos para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 1, n. 1, p. 20-30, 2004.
- LASSEN, MANOEL FRANCISCO MENDES. **Alterações histopatológicas, genotóxicas e estresse oxidativo em peixes submetidos a águas superficiais antropizadas**. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis) – Universidade Federal da Fronteira Sul. Cerro Largo, RS, 97p. 2020.
- LIANG, Y. et al. Reclamation of wastewater for polyculture of freshwater fish: fish culture in ponds. **Water Research**, v. 33, p. 2099- 2109, 1999.
- LIMA, DANIEL PANDILHA. **Avaliação da contaminação por metais pesados na água e nos peixes da bacia do Rio Cassiporé, Estado do Amapá, Amazônia, Brasil**. Dissertação

(Mestrado em Biodiversidade Tropical) - Universidade Federal do Amapá. Macapá, p. 147, 2013.

LIU, J. *et al.* The accumulation, histopathology, and intestinal microorganism effects of waterborne cadmium on *Carassius auratus gibelio*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 231–243, 2019.

MARENGONI, N. G. *et al.* Performance e retenção de metais pesados em três linhagens de juvenis de tilápia-do-Nilo em hapas. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p. 351–358, nov. 2008.

MARQUES, M. B. L. & AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. Efeitos ecotoxicológicos de metais aos organismos aquáticos. **Fórum ambiental da Alta Paulista**, v. 14, n. 4, p. 85-95, 2018.

MATOS, L.V. *et al.* Alterações morfológicas em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) associadas à infecção maciça pelo acantocéfalo intestinal *Neoechinorhynchus* sp. **XIII ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS**, Aracaju. p. 279, 2014.

NETO, ANA FILIPA GOMES. **Susceptibilidade da enguia-europeia (*Anguilla anguilla*) à degradação ambiental no estuário do Tejo: contaminação biológica pelo parasita *Anguillicola crassus* e contaminação química por metais pesados**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental) - Universidade de Lisboa, p. 97, 2008.

NUNES, V. de J. & JESUS, T. B. Determinação de metais pesados (Mn, Cd, Cr, Cu, Pb) em peixes das espécies *Astyanax bimaculatus*, *Hoplias malabaricus* e *Oreochromis niloticus* presente na Lagoa Salgada – Rio Subaé – Feira de Santana (Bahia). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 5, n. 1, p. 002-013, 2019.

OSTASZEWSKA, T. *et al.* Histopathological effects of silver and copper nanoparticles on the epidermis, gills, and liver of Siberian sturgeon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 2, p. 1621–1633, 2016.

PALMA-SILVA, G. M. *et al.* Diagnóstico ambiental, qualidade da água e índice de depuração do Rio Corumbataí - SP. **Revista Geociências**, v. 29, n. 4, p. 643-657, 2010.

PANORAMA DA AQUICULTURA. Qualidade da água na produção de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 8, n. 47, 1998.

PELASEYED, T. *et al.* The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. **Immunological Reviews**, v. 260, n. 1, p. 8-20, 2014.

PEREIRA, F. O. P.; SANTOS, L.; SANCHES, P. J. F. Avaliação da contaminação ambiental por metais pesados, através da análise de peixes coletados da Lagoa Mangueira/RS. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 1, p. 180-194, 2019.

REITE, O. B. The *rodlet* cells of teleostean fish: their potential role in host defence in relation to the role of mast cells/eosinophilic granule cells. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 19, n. 3, 2005.

ROTTA, M. A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2003.

SANTOS, C. M. *et al.* Histologia e caracterização histoquímica do tubo gastrointestinal de *Pimelodus maculatus* (Pimelodidae, Siluriformes) no reservatório de Funil, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, 97 (4): 411-417, 2007.

ANEXO I - TABELAS SUPLEMENTARES

Tabela 1 – Dados biométricos corporais e intestinais de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Astyanax lacustris</i>	
	NAF	AF
PC (g)	13,50 (12,25-20,75)	10,00 (9,00-10,75)*
CT (cm)	7,85 (7,53-8,88)	7,20 (6,95-7,50)*
PI (g)	0,43 (0,31-0,84)	0,30 (0,24-0,32)
CI (cm)	5,70 (3,80-8,60)	5,10 (4,20-5,50)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). *Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) da espécie *Astyanax lacustris*, apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. PC: peso corporal, CT: comprimento corporal total, PI: peso intestinal, CI: comprimento intestinal.

Tabela 2 – Dados biométricos corporais e intestinais de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Hypostomus luetkeni</i>	
	NAF	AF
PIR (%)	5,23 (4,80-7,35)	4,68 (4,33-6,18)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). *Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) da espécie *Hypostomus luetkeni*, apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. PIR: peso intestinal relativo.

Tabela 3 – Dados biométricos corporais e intestinais de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Oligosarcus argenteus</i>	
	NAF	AF
PC (g)	24,00 (19,50-45,50)	21,50 (20,00-24,00)
CT (cm)	11,50 (10,68-14,15)	11,00 (10,75-11,28)
PI (g)	0,32 (0,30-0,40)	0,24 (0,20-0,27)*
PIR (%)	1,31 (0,88-1,64)	1,02 (0,93-1,31)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). *Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) da espécie *Oligosarcus argenteus*, apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. PC: peso corporal, CT: comprimento corporal total, PI: peso intestinal, PIR: peso intestinal relativo.

Tabela 4 – Dados biométricos corporais e intestinais de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
PIR (%)	3,38 (2,28-4,05) ^b	5,23 (4,80-7,35) ^a	1,31 (0,88-1,64) ^c
CIR (%)	71,45 (50,23-99,33) ^a	1403,84 (1257,27-1665,74) ^b	49,59 (44,88-55,00) ^a

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies, apontada pelo Teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao comprimento corporal.

Tabela 5 – Dados biométricos corporais e intestinais de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
PIR (%)	3,17 (2,20-3,58) ^b	4,68 (4,33-6,18) ^a	1,02 (0,93-1,31) ^c
CIR (%)	69,39 (54,41-77,76) ^a	1276,52 (1055,16-1418,70) ^b	51,17 (44,85-60,11) ^a

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as espécies, apontada pelo Teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. PIR: peso intestinal relativo ao peso corporal, CIR: comprimento intestinal relativo ao comprimento corporal.

Tabela 6 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana-MG.

	<i>Astyanax lacustris</i>	
	NAF	AF
LP	155,70 (135,56-169,84)	126,67 (119,10-136,72)*
AMC	18,96 (14,01-22,61)	19,54 (16,92-26,39)
AML	13,17 (11,75-19,17)	13,48 (11,64-15,33)
AMT	30,69 (27,37-43,47)	31,83 (30,49-46,61)
E	63,65 (50,57-65,41)	57,84 (49,28-65,65)
MC	5,22 (4,13-6,51)	5,33 (5,08-7,25)
ML	4,34 (4,08-5,66)	6,31 (5,85-7,57)*
VS	0,16 (0,14-0,28)	0,34 (0,25-0,51)
VL	0,08 (0,05-0,20)	0,12 (0,07-0,43)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). *Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) da espécie *Astyanax lacustris*, apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. LP: larguras de pregas, AMC: altura da camada muscular circular, AML: altura da camada muscular longitudinal, AMT: altura da camada muscular total, E: epitélio das pregas, CA: célula absorptiva, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Tabela 7 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Hypostomus luetkeni</i>	
	NAF	AF
E	61,11 (54,79-68,19)	65,05 (62,12-67,13)
C	24,43 (20,06-26,98)	21,58 (12,94-22,66)
ML	6,11 (5,93-9,67)	6,39 (5,95-7,04)
CA	39,61 (34,27-50,32)	41,90 (36,63-44,66)
VS	0,40 (0,21-0,79)	0,48 (0,38-0,90)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). *Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) da espécie *Hypostomus luetkeni*, apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. E: epitélio das pregas, C: tecido conjuntivo, ML: altura da camada muscular longitudinal, CA: célula absorptiva, VS: vaso sanguíneo.

Tabela 8 – Medidas lineares (em μm) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Oligosarcus argenteus</i>	
	NAF	AF
AML	13,23 (11,81-15,63)	9,20 (8,11-11,55)*
CC	10,64 (9,42-14,28)	11,09 (9,19-14,28)
VS	0,15 (0,06-0,32)	0,15 (0,01-0,32)
VL	0,08 (0,01-0,18)	0,00 (0,00-0,18)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). *Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF) da espécie *Oligosarcus argenteus*, apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. ML: altura da camada muscular longitudinal, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Tabela 9 – Índices histométricos (%) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
AE/AP	16,88 (14,44-18,65)	15,59 (13,35-18,25)	14,39 (13,90-17,81)
AP/ATP	91,50 (87,71-93,02) ^a	82,49 (82,03-83,46) ^{ab}	91,24 (89,20-93,06) ^{ac}
AMT/ATP	8,50 (6,98-12,29) ^a	17,51 (16,54-17,97) ^{ab}	8,76 (6,94-10,80) ^{ac}
E	63,65 (50,57-65,41)	61,11 (54,79-68,19)	69,93 (67,45-71,62)
C	30,16 (26,31-39,09) ^b	24,43 (20,06-26,98) ^a	20,19 (19,17-22,38) ^a
MC	5,22 (4,13-6,51)	8,35 (7,60-11,98)	5,86 (4,30-6,82)
ML	4,34 (4,08-5,66)	94,00 (91,87-05)	95,95 (95,23-96,78)
VS	0,16 (0,14-0,28)	0,40 (0,21-0,79)	0,15 (0,06-0,32)
VL	0,08 (0,05-0,20)	0,06 (0,01-0,09)	0,08 (0,01-0,18)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies, apontadas pelo Teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. AE: altura de epitélio, AP: altura de pregas, AMT: altura da camada muscular total, ATP: altura total de parede. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Tabela 10 – Índices histométricos (%) e densidade volumétrica (%) dos componentes do intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletados na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
AE/AP	15,27 (14,43-15,94)	18,56 (13,56-26,09)	12,79 (11,50-15,21)
AP/ATP	90,07 (88,54-91,53) ^a	85,03 (83,30-86,47) ^a	94,46 (94,11-95,22) ^b
AMT/ATP	9,93 (8,47-11,46) ^a	14,97 (13,53-16,70) ^a	5,54 (4,78-5,89) ^b
E	57,84 (49,28-65,65)	65,05 (62,12-67,13)	76,51 (68,91-71,62)
MC	5,33 (5,08-7,25) ^a	8,92 (6,34-10,41) ^a	3,79 (3,52-6,82) ^b
ML	93,69 (92,43-94,15) ^a	93,61 (92,96-94,05) ^a	96,91 (96,21-96,78) ^b
VS	0,34 (0,25-0,51)	0,48 (0,38-0,90)	0,15 (0,01-0,32)
VL	0,12 (0,07-0,43)	0,13 (0,10-0,19)	0,00 (0,00-0,18)

Dados expressos em mediana (quartil 25%- quartil 75%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies, apontadas pelo Teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. AE: altura de epitélio, AP: altura de pregas, AMT: altura da camada muscular total, ATP: altura total da parede. Densidade volumétrica (%) - E: epitélio de revestimento, C: tecido conjuntivo, CA: célula absorptiva, CC: célula caliciforme, VS: vaso sanguíneo, VL: vaso linfático.

Tabela 11 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de lambaris do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Astyanax lacustris</i>	
	NAF	AF
IMN (%)	0,11 (0,08-0,16)	0,07 (0,04-0,08)
IMM (%)	0,29 (0,19-0,40)	0,13 (0,06-0,23)
IMA (%)	0,10 (0,06-0,23)	0,06 (0,02-0,10)

Dados expressos em mediana (quartil 25%-quartil 75%). * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, DMN: densidade de mucina neutra, DMM: densidade de mucina mista, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida.

Tabela 12 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de cascudos (*Hypostomus luetkeni*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Hypostomus luetkeni</i>	
	NAF	AF
IMN (%)	0,03 (0,02-0,06)	0,02 (0,01-0,05)
IMA (%)	0,03 (0,02-0,08)	0,05 (0,04-0,11)

Dados expressos em mediana (quartil 25%-quartil 75%). * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMA: área de mucina ácida, DMN: densidade de mucina neutra, IMN: índice de mucina neutra e IMA: índice de mucina ácida.

Tabela 13 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de lambaris-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) coletados na Bacia do Rio Doce, em área não afetada (NAF) e em área afetada (AF) pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>Oligosarcus argenteus</i>	
	NAF	AF
IMN (%)	0,03 (0,02-0,04)	0,03 (0,02-0,10)
IMM (%)	0,05 (0,04-0,06)	0,06 (0,04-0,09)
IMA (%)	0,05 (0,03-0,07)	0,06 (0,03-0,09)

Dados expressos em mediana (quartil 25%-quartil 75%). * Indica diferença significativa entre grupos (NAF x AF), apontada pelo Teste U de Mann-Whitney ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, DMM: densidade de mucina mista, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida.

Tabela 14 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletadas na Bacia do Rio Doce, em área não afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
IMN (%)	0,11 (0,08-0,16) ^{ab}	0,03 (0,02-0,06) ^a	0,03 (0,02-0,04) ^{ac}
IMM (%)	0,29 (0,19-0,40) ^b	0,18 (0,11-0,22) ^a	0,05 (0,04-0,06) ^a
IMA (%)	0,10 (0,06-0,23)	0,03 (0,02-0,08)	0,05 (0,03-0,07)

Dados expressos em mediana (quartil 25%-quartil 75%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies dentro de cada área, pelo Teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, DMN: densidade de mucina neutra, DMM: densidade de mucina mista, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida.

Tabela 15 – Quantificação de mucinas, por colorimetria, no intestino de *Astyanax lacustris*, *Hypostomus luetkeni* e *Oligosarcus argenteus* coletadas na Bacia do Rio Doce, em área afetada pelo rompimento da barragem em Mariana- MG.

	<i>A. lacustris</i>	<i>H. luetkeni</i>	<i>O. argenteus</i>
IMN (%)	0,07 (0,04-0,08)	0,02 (0,01-0,05)	0,03 (0,02-0,10)
IMM (%)	0,13 (0,06-0,23)	0,09 (0,05-0,13)	0,06 (0,04-0,09)
IMA (%)	0,06 (0,02-0,10)	0,05 (0,04-0,11)	0,06 (0,03-0,09)

Dados expressos em mediana (quartil 25%-quartil 75%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as três espécies dentro de cada área, pelo Teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. ARP: área da prega (em 10⁴), AMN: área de mucina neutra, AMM: área de mucina mista, AMA: área de mucina ácida, DMN: densidade de mucina neutra, DMN: densidade de mucina neutra, DMM: densidade de mucina mista, DMA: densidade de mucina ácida, IMN: índice de mucina neutra, IMM: índice de mucina mista e IMA: índice de mucina ácida.