



UNIVERSIDADE FEDERAL
DO **TOCANTINS**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE

CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS

LIANA BEZERRA DIAS DE LIMA

AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO POR XENOBIÓTICOS ASSOCIADO
ÀS ATIVIDADES AGRÍCOLAS

PALMAS – TO

2015

LIANA BEZERRA DIAS DE LIMA

**AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO POR XENOBIÓTICOS ASSOCIADO
ÀS ATIVIDADES AGRÍCOLAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências do Ambiente.

Orientadora: Prof. Dr^a. Paula Benevides de Morais

Co-orientador: Prof. Dr. Sandro Estevan Moron

PALMAS – TO

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Palmas

L732a Lima, Liana Bezerra Dias de.
Avaliação do risco ecológico por xenobióticos associado às atividades agrícolas / Liana Bezerra Dias de Lima. - Palmas, 2015.
112f.

Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Tocantins,
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, 2015.

Linha de pesquisa: Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Prof. Dr^a. Paula Benevides de Moraes.

1. Concentração de metais. 2. Rios Formoso e Javaés. 3. Biomarcadores. 4. *Cichla* sp. I. Moraes, Paula Benevides de. II. Universidade Federal do Tocantins. III. Título.

CDD: 664

Bibliotecário: Marcos Maia
CRB2: 1.445

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

LIANA BEZERRA DIAS DE LIMA

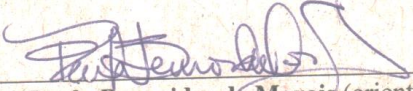
**AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO POR XENOBIÓTICOS ASSOCIADO
ÀS ATIVIDADES AGRÍCOLAS**

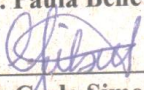
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, da Universidade Federal do Tocantins.

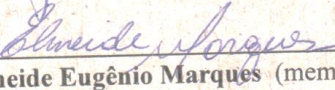
BANCA EXAMINADORA:

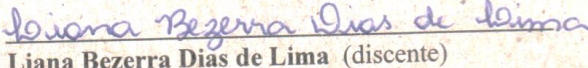
Palmas – TO, 22 de Abril de 2015.

Banca:


Dra. Paula Benevides de Moraes (orientadora)


Dra. Carla Simone Seibert (membro interno)


Elineide Eugênio Marques (membro interno)


Liana Bezerra Dias de Lima (discente)

*Dedico este trabalho à toda minha família!!!
Aos meus pais, Neli e João Batista,
Aos meus irmãos Aline e Handel,
e ao meu marido, José Duarte de Lima Júnior,
que sempre me deram apoio!!!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu soberano Deus, por ter andado ao meu lado em todos os momentos dessa caminhada, me dando proteção, sabedoria, direcionamento e providenciando tudo o que eu precisava.

Agradeço à minha orientadora, professora Dr^a. Paula Benevides de Moraes pelo desenvolvimento do projeto.

Ao meu co-orientador, professor Dr. Sandro Estevan Moron, pelas orientações e ajuda.

À todo o pessoal do laboratório de Coleções Biológicas – UFT/Palmas que me ajudaram durante as análises de água e com a logística das coletas, sendo eles: Deusiano, Fabrício, Gustavo, Daiane, Lícia, Alberico, Elias e Bené.

Às técnicas do Laboratório de Microbiologia Ambiental – UFT/Palmas, Márcia Regina e Cristiane Coelho, por sempre me ajudarem no que era preciso.

À Fazenda Dois Rios, em especial à bióloga Deborah Rodello, que forneceu todo apoio logístico para realização das coletas de campo no município de Lagoa da Confusão.

À todos que participaram das (cansativas) coletas: Alberico, Elias, Bené, Jefferson, Laiza, Amanda, Aluísio e Sandro.

Ao grupo do Laboratório de Morfofisiologia e Bioquímica de Peixes Neotropicais – UFT/EMVZ/Araguaína pelo apoio e compreensão nos meus momentos de correria.

Ao professor Dr. Ricardo Lopes Tortorela e à técnica do Laboratório Integrado de Pesquisa em Química – LIPEQ/UFMT, Luciana Mattos, agradeço por me receberem tão bem, pelo aprendizado e acompanhamento durante as análises de metais pesados.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto e viabilização da pesquisa.

À Universidade Federal do Tocantins por ter dado condições da realização desta pesquisa.

À todos os trabalhadores do Centro de Pesquisa Canguçu, em especial ao Roberto por ajudar com a pesca dos animais e ao professor Dr. Tarso da Costa Alvim, por ajudar com a logística no Canguçu.

Ao meu marido, José Duarte de Lima Júnior por toda ajuda com a preparação para coletas, pelo apoio e compreensão durante esse período.

À minha irmã, Aline Bezerra Dias, que sempre me acolheu e deu espaço para minhas amostras e material de coleta em sua casa.

À todos os amigos e família agradeço pelo apoio, carinho e compreensão.

Aos meu colegas de turma pelos aprendizado e experiências interdisciplinares.

Muito obrigada!!!

RESUMO GERAL

O uso de agrotóxicos e fertilizantes está gerando risco ecológico aos ecossistemas aquáticos em função da disponibilização de diferentes xenobióticos para a biota e para o meio, expondo as populações aquática e humana a substâncias tóxicas por meio do consumo de água e animais contaminados. Na região de Lagoa da Confusão, há décadas tem sido uma região de importância para o agronegócio e a falta de monitoramento de contaminantes oriundos desta atividade pode comprometer a qualidade do ecossistema aquático. O presente estudo teve como objetivo avaliar o risco ecológico por xenobióticos, utilizando o Tucunaré (*Cichla sp.*) como bioindicador para avaliação dos possíveis efeitos de xenobióticos associados às atividades de agricultura na cidade de Lagoa da Confusão – TO. Foram realizadas coletas de água e peixes no período de setembro de 2013 a outubro de 2014 em três pontos (A – rio Javaés/Pium, B – rio Javaés/Lagoa da Confusão e C – rio Formoso/Lagoa da Confusão). Para avaliação da qualidade da água utilizou-se parâmetros físico-químicos e concentração de metais pesados (Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni e Zn). Para avaliar o risco ecológico do bioindicador utilizou-se a determinação da concentração de metais (Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni e Zn) no fígado e músculo e os seguintes biomarcadores: genotóxico (teste Micronúcleo), bioquímicos (níveis séricos de glicose, AST e ALT) e histológicos (brânquias e fígado). Em relação aos parâmetros físico-químicos, o fósforo total no Ponto C apresentou-se acima do valor de referência. Não houve diferença significativa para concentração de metais na água entre os três pontos amostrados ($p > 0,05$) em relação ao ponto A. A média das concentrações de Cu, Cr e Mn nos três pontos coletados excederam os valores para rios de Classe 1, segundo Resolução Conama 357, indicando contaminação dos recursos hídricos por esses metais. Apenas o Cr estava acima do limite máximo permitido para consumo humano, porém não foi significativamente diferente em relação ao ponto A ($p > 0,05$). O teste de micronúcleo revelou uma baixa frequência nos três locais de coleta. Observou-se hiperglicemia nos animais do ponto C. Nas brânquias, as alterações mais frequentes foram: descolamento epitelial, hiperplasia e hipertrofia do epitélio lamelar, congestão, fusão lamelar parcial e total, edema, infiltrado inflamatório, dilatação capilar e em menor frequência aneurisma e necrose focal. No fígado, as alterações histopatológicas mais frequentes foram vacuolização citoplasmática, hipertrofia nuclear, dilatação dos sinusóides, desarranjo dos cordões hepáticos, estagnação biliar, congestão dos vasos, infiltrado inflamatório e núcleos picnóticos. Observou-se também a ocorrência de necrose focal. A avaliação integrada da concentração de metais na água e nos tecidos dos peixes e dos biomarcadores indica a contaminação tanto da água quanto do peixe por metal, provavelmente proveniente das atividades agrícolas, sendo necessário o monitoramento da qualidade do ecossistema aquático na região, uma vez que os tucunarés além do seu papel ecológico, também fazem parte da alimentação da população local.

Palavras – chave: Concentração de metais. Rios Formoso e Javaés. Biomarcadores. *Cichla sp.*

ABSTRACT

The use of pesticides and fertilizers is generating ecological risk to aquatic ecosystems depending on availability of different xenobiotics for biota and the environment, exposing the aquatic and human populations to toxic substances through drinking water and animals contaminated. Confusion Lagoon region, for decades has been an important area for agribusiness and the lack monitoring of contaminants derived from this activity can compromise the quality of the aquatic ecosystem. This study aimed to evaluate the ecological risk by xenobiotics, using the Peacock Bass (*Cichla sp.*) as bioindicator for evaluation of possible xenobiotic effects associated with agricultural activities in the city of Confusion Lagoon - TO. Water and fish samples were carried out from September 2013 to October 2014 in three points (A - River Javaés/Pium, B - Javaés river/Confusion Lagoon and C - Formoso River/Confusion Lagoon). To evaluate the water quality was used physicochemical parameters and concentration of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni and Zn). To assess the ecological risk of bioindicator was used to determine the concentration of metals (Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni and Zn) in the liver and muscle, and the following biomarkers: genotoxic (micronucleus test) and biochemical (serum glucose, AST and ALT) and histological (liver and gills). Regarding the physical and chemical parameters, the total phosphorus at point C showed above the reference value. There was no significant difference in concentration of metals in the water among the three sampling sites ($p > 0.05$) at point A. The average of Cu, Cr and Mn in the three points collected exceeded the values for Class 1 rivers, according to Conama Resolution 357, indicating contamination of water resources for these metals. Only Cr was above the maximum allowed for human consumption, but was not significantly different at point A ($p > 0.05$). The micronucleus test revealed a low frequency in the three collection sites. Hyperglycemia was observed in the animals of point C. In the gills, the most frequent changes were epithelial lifting, hyperplasia and hypertrophy of the lamellar epithelium, congestion, partial lamellar fusion and total, edema, inflammatory infiltration, capillary dilatation and less frequently aneurysm and focal necrosis. In the liver, the most common histopathological changes were stage I and II, as cytoplasmic vacuolization, nuclear hypertrophy, dilation of sinusoids, derangement of hepatic cords, bile stagnation, congestion of vessels, inflammatory infiltrate and pyknotic nuclei. It was also observed the occurrence of focal necrosis. Integrated assessment of the concentration of metals in water and tissues of fish and biomarkers indicates contamination both water and fish by metal, probably from agricultural activities, requiring the monitoring of the quality of the aquatic ecosystem in the region, as tucunarés beyond its ecological role, also part of the food for the local population.

Key-words: Metals concentration. Rivers Formoso and Javaés. Biomarkers. *Cichla sp* ..

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos da água nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Canguçu), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). V. M. P é o valor de referência baseado na resolução CONAMA 357. Dados são a média \pm erro padrão. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.55

Tabela 2: Concentração de metais na água nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Canguçu), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). V.M.P é o Valor máximo Permitido baseado na resolução CONAMA 357 para Classe 1. Dados são a média \pm erro padrão.56

Capítulo III

Tabela 1 – Classificação das alterações histopatológicas encontradas nas brânquias de *Cichla sp.* quanto ao estágio de comprometimento da função branquial adaptado de Poleksic e Mitrovic-Tutundžic (1994).74

Tabela 2 – Classificação das alterações histopatológicas encontradas no Fígado de *Cichla sp.* quanto ao estágio de comprometimento da função hepática adaptado de Poleksic e Mitrovic-Tutundžic (1994).75

Tabela 3– Dados de peso e comprimento de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta. Dados são apresentados como média \pm desvio padrão.76

Tabela 4 – Concentração de metais em mg.kg^{-1} no fígado e músculo de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Canguçu; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão.76

Tabela 5 – Frequência de micronúcleo (MN) de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Canguçu; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da

Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão.80

Tabela 6 – Parâmetros bioquímicos de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Canguçu; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão.80

Tabela 7 – Frequência das alterações histopatológicas nas brânquias de *Cichla sp.* coletados nos rios Javaés (Pontos A e B) e Formoso (Ponto C). 0 = alterações ausentes; 0+ = alterações raramente frequentes; + = alterações frequentes; ++ = alterações muito frequentes; +++ = alterações extremamente frequentes.81

Tabela 8 – Frequência das alterações histopatológicas no fígado de *Cichla sp.* coletados nos rios Javaés (pontos A e B) e Formoso (ponto C). 0 = alterações ausentes; 0+ = alterações raramente frequentes; + = alterações frequentes; ++ = alterações muito frequentes; +++ = alterações extremamente frequentes.84

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1 – Fotos da área de estudo. A - Rio Formoso/Lagoa da Confusão (abril/2014). B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão (setembro/2014). C – Rio Javaés/Pium (outubro/2014).32

Figura 2 - Exemplar de *Cichla sp.* (Perciformes: Cichlidae) – tucunaré.33

Capítulo II

FIGURA 1 – Área de estudo: Ponto A - rio Javaés (localizado na cidade de Pium – Centro de Pesquisa Canguçu), Ponto B – rio Javaés (Lagoa da Confusão) e Ponto C – rio Formoso (Lagoa da Confusão).53

Capítulo III

FIGURA 1 – Localização dos pontos de estudo no Estado do Tocantins: ponto A – rio Javaés (Pium) e pontos B – rio Formoso e C – rio Javaés (Lagoa da Confusão).....70

Figura 2 – Concentração de metais no fígado de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Canguçu), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). Barras representam valores de média \pm erro padrão. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.77

Figura 3 – Concentração de metais no músculo de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Canguçu), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). Barras representam valores de média \pm erro padrão. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.78

Figura 4 – Alterações histopatológicas mais frequentes nas brânquias de *Cichla sp.* dos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Pium), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). (A) filamento branquial sem alterações – lamela secundária (seta preta) e filamento (seta branca). (B) descolamento epitelial das lamelas. (C) hiperplasia do tecido proliferativo do filamento (seta menor) com fusão parcial das lamelas (seta maior). (D) congestão (setas) e edema (estrela). (E) hipertrofia das células pavimentosas na lamela secundária (seta). (F) desorganização da estrutura lamelar com fusão completa de lamelas (seta branca), necrose focal (seta preta) e presença de infiltrado inflamatório (cabeça da seta). Aumento de 400x. Coloração HE. Figura A – exemplar coletado no ponto A. Figuras B, C e E – exemplares coletados no ponto C. Figuras D e F – exemplares coletados no ponto B.....82

Figura 5 – Valores médio de VMA e IAH nas brânquias de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Canguçu; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média ± erro padrão. Considerou-se diferença significativa $p < 0,05$. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.83

Figura 6 – Alterações histopatológicas no fígado de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A (rio Javaés - Pium), ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). (A) tecido hepático com morfologia normal - sinusóides (seta branca), hepatócitos (área circular), célula de Kupffer (seta preta fina) e veia central (seta preta larga). (B) vacuolização citoplasmática nos hepatócitos e dilatação e congestão dos sinusóides (seta preta). (C) estagnação biliar (área quadriculada), núcleos picnóticos (seta preta) e deformação do contorno nuclear (seta branca). (D) desarranjo dos cordões hepáticos com vacuolização nuclear (seta preta) e ausência de nucléolo (seta branca). (E) hipertrofia nuclear (seta), ausência de núcleos (área circular) e ruptura do vaso (estrela). (F) área de necrose focal com presença de infiltrado inflamatório (seta). Aumento de 400x (A e F) e aumento de 1000x (B, C, D e E). Coloração HE. Figura A – exemplar coletado no ponto A. Figuras B, C e D – exemplares coletados no ponto C. Figuras E e F – exemplares coletados no ponto B.85

Figura 7 – Valores médio de VMA e IAH no fígado de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Canguçu; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média ± erro padrão. Considerou-se diferença significativa $p < 0,05$. (*) diferença significativa em relação ao ponto A.86

LISTA DE ABREVIATURAS

ALFAC – Fixador a base de álcool 80%, formol e ácido acético glacial
ALT – Alanina Amino Transferase
ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
APA – Área de Proteção Ambiental
AST – Aspartato Amino Transferase
Cd – cádmio
Cu – cobre
CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente
Cr – cromo
g - grama
g/dL – grama por decilitro
HE – hematoxilina-eosina
IAH – índice de alteração histopatológica
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
mL/L – mililitro por litro
Mn – manganês
MN – micronúcleo
Ni – níquel
OD – Oxigênio Dissolvido
Pb – chumbo
pH - potencial hidrogeniônico
SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
VMA – valor médio de alteração
V.M.P – valor máximo permitido
Zn – zinco

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Concentração de Metais	19
2.2 Uso de Peixes como Bioindicadores	21
2.3 Biomarcadores em Peixes	22
2.3.1 <i>Avaliação de genotoxicidade pelo teste de Micronúcleo</i>	23
2.3.2 <i>Biomarcadores Bioquímicos</i>	24
2.3.3 <i>Biomarcadores Histológicos</i>	26
2.3.3.1 <u>Brânquias</u>	26
2.3.3.2 <u>Fígado</u>	28
3 ÁREA DE ESTUDO	29
4 ESPÉCIE EM ESTUDO	33
5 OBJETIVOS	34
5.1 – Objetivo Geral.....	34
5.2 – Objetivos Específicos.....	35
REFERÊNCIAS	35

CAPÍTULO II

RESUMO	48
ABSTRACT	49
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1 Área de estudo	52
2.2 Análises da água	54
2.3 Análise Estatística	54
3 RESULTADOS	55
4 DISCUSSÃO	56
5 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	60

CAPÍTULO III

RESUMO	66
ABSTRACT	67
1 INTRODUÇÃO	68
2 MATERIAL E MÉTODOS	70
2.1 Área de estudo e coletas.....	70
2.2 Acúmulo de Metais.....	71
2.3 Avaliação genotóxica – teste do Micronúcleo.....	72
2.3 Análises Bioquímicas.....	72
2.5 Histopatologia de Brânquias e Fígado.....	73
2.6 Análise Estatística.....	75
3 RESULTADOS	76
3.1 Acúmulo de Metais.....	76
3.2 Avaliação genotóxica – teste do Micronúcleo.....	79
3.3 Análises Bioquímicas.....	80
3.4 Análises Histopatológicas.....	81
3.4.1 Brânquias.....	81
3.4.2 Fígado.....	83
4 DISCUSSÃO	86
5 CONCLUSÃO	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS	99
REFERÊNCIAS	100

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

Desde a Revolução Verde, na década de 1950, o processo tradicional de produção agrícola sofreu drásticas mudanças, com a inserção de novas tecnologias, visando a produção extensiva de *commodities* agrícolas, as quais envolvem, em sua maioria, o uso extensivo de agrotóxicos, com a finalidade de controlar doenças e aumentar a produtividade (CARNEIRO et al., 2012).

O uso de insumos agrícolas é considerado extremamente importante no modelo de desenvolvimento da agricultura no país, sendo o Brasil um dos maiores consumidores de agroquímicos no mundo (PELAEZ et al., 2013). A intensificação do uso de agrotóxicos e a não utilização de práticas conservacionistas comprometem a qualidade do solo, das águas superficiais e subterrâneas, acarretando graves impactos ao meio ambiente e à saúde humana (CARNEIRO et al., 2012; IBGE, 2012).

Os agrotóxicos (herbicidas, inseticidas, fungicidas), íons inorgânicos (metais), entre outros, de origem antropogênica (GUARATINI et al., 2008), são substâncias potencialmente tóxicas aos seres vivos, podendo causar em homens e animais efeitos no sistema nervoso central e periférico, ter ação imunodepressora e causar câncer (CALDAS; SOUZA, 2000).

Os padrões de qualidade da água são baseados em um conjunto de parâmetros e respectivos limites estabelecidos com base em critérios científicos que avaliam o risco para o ambiente e a saúde humana e animal. Desta forma, a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, no. 357 de 2005, estabelece os limites máximos permitidos de poluentes em águas superficiais, considerando o enquadramento dos cursos de água e seus diferentes usos (BRASIL, 2005).

Neste contexto, o monitoramento do ambiente aquático é essencial para a avaliação das modificações nas características da água e compreensão dos processos físicos, químicos e biológicos no ambiente aquático. Além disso, estes estudos permitem avaliar a interferência antrópica na qualidade da água e auxilia na aplicação de medidas mitigadoras na tentativa de minimizar os seus danos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O ambiente aquático está exposto a processos de poluição causados pela variedade e quantidade de substâncias químicas que ingressam nele, que podem ser produzidas pelo homem ou podem ser de origem natural, sendo chamadas de “xenobióticos” e sua quantidade e variedade estão em contínuo aumento (LIVINGSTONE, 1993, 1998).

A agricultura moderna tem gerado impactos ambientais que comprometem o equilíbrio dos ecossistemas a médio e longo prazos, embora esteja elevando a produtividade e permitindo atingir níveis de produção que atendem as demandas do mercado (IBGE, 2010, 2012). Como exemplos de substâncias xenobióticas utilizados em larga escala na agricultura estão os agrotóxicos e fertilizantes.

Os agrotóxicos são produtos químicos aplicados em plantações com o objetivo de combater pragas e parasitas e os fertilizantes são produtos químicos aplicados no solo, a fim de enriquecê-lo ou torná-lo mais propício aos produtos cultivados, modificando seus minerais e nutrientes (IBGE, 2012).

Os fertilizantes e agrotóxicos são usados para o aumento da produtividade agrícola, estando associados a eutrofização dos rios e lagos, a acidificação dos solos e a contaminação da água, com riscos a qualidade da água de lagos, aquíferos subterrâneos e rios, além dos problemas à saúde humana que são causadas por substâncias tóxicas presentes nos compostos, como os metais pesados (IBGE, 2012).

A avaliação do risco ecológico utiliza-se de diversas ferramentas que permitem identificar quali e quantitativamente a probabilidade e ocorrência de um determinado dano à saúde dos indivíduos, populações ou comunidades diante da exposição a material perigoso, proveniente de atividades antrópicas, que são lançados no meio ambiente (HACON, 2003; SPADOTTO, 2006).

O monitoramento ambiental necessita de diferentes formas de avaliação da qualidade da água desde as variáveis físicas e químicas, a utilização de organismos sentinelas. A análise da qualidade da água através da análise das características físicas e químicas da água pode indicar alterações nas substâncias naturalmente presentes na água assim com a presença de contaminantes, mas não proporciona indicação dos possíveis efeitos nos

organismos aquáticos e está limitada a sensibilidade dos métodos de análises e instrumentos de medições.

A utilização de organismos sentinelas em programas de monitoramento deve-se ao fato de que esses organismos podem acumular substâncias presentes na água muito acima do nível ambiental e, portanto, informam a presença de substâncias na água em concentrações abaixo do nível de detecção dos métodos físicos e químicos (JOBILING, 1995).

As substâncias químicas não naturais e estranhas ao sistema biológico, os xenobióticos, podem ser ou não tóxicos para os organismos, dependendo da concentração da substância na água, das características da água em relação ao pH, dureza, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade e do tempo de duração da exposição do peixe ao agente tóxico (JOBILING, 1995).

Os toxicantes absorvidos podem ser retidos nos organismos e provocar efeitos deletérios quando níveis elevados são atingidos (AZEVEDO; CHAZIN, 2003). Os processos de bioacumulação nos organismos são biomagnificação e a bioconcentração. A bioacumulação é um termo que descreve a transferência dos contaminantes do meio externo para um organismo, no qual as concentrações observadas são superiores às do meio (MANAHAN, 2003).

No caso dos peixes, a bioacumulação, se dá pela grande quantidade de água que passa pelas brânquias (HEATH, 1995). Esses contaminantes podem se acumular por meio da alimentação, sendo esse processo chamado de biomagnificação, que é o aumento da concentração dos xenobióticos nos tecidos dos organismos à medida que se encontra em um nível trófico superior (MANAHAN, 2003). E a bioconcentração é a assimilação do toxicante no organismo pela absorção via superfícies respiratórias e dérmicas (FERNICOLA et al., 2003, p. 238-240).

A ação do xenobiótico inclui efeitos locais – pele e brânquias – e os efeitos no sistema, pela superfície de contato e transporte via corrente sanguínea para os demais órgãos distantes do ponto original de contato (HEATH, 1995). A habilidade do organismo de metabolizar um composto modifica a biodisponibilidade toxicológica e sua taxa de excreção depende da susceptibilidade da espécie que pode (ou não) reduzir a toxicidade dos compostos químicos absorvidos (FERNANDES; MAZON, 2003).

Para conhecer os efeitos desses contaminantes na biota aquática, utilizam-se testes de toxicidades e avaliações de efeitos de exposição com organismos de águas, em condições laboratoriais ou de campo (PASSOS et al., 2007; CAMARGO; MARTINEZ, 2007; BENZE, 2013, BOTELHO, 2013).

Os estudos de campo são ferramentas importantes para a avaliação do risco ecológico e compreensão dos efeitos biológicos e/ou ecológicos de agentes químicos sob condições naturais uma vez que os organismos são expostos a uma variedade de estressores químicos e físicos, que ocorrem naturalmente com flutuações sazonais e que são potencialmente estressores para o organismo (WINKALER et al., 2001).

As medidas de bioacumulação e respostas de biomarcadores em peixes de locais contaminados são fontes de informações para os programas de monitoramento ambiental, desenvolvidos para avaliação de risco ambiental, devendo-se considerar o uso integrado de diferentes biomarcadores devido a complexidade dos processos envolvidos na metabolização dos toxicantes (OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

2.1 Concentração de metais em peixes

Metal é o elemento químico que apresenta ligações químicas fortes entre seus átomos (ligação metálica) e três características físicas definidas, quais sejam: conduzir eletricidade, ter brilho, ser maleável e flexível (MANAHAN, 2003). O que dá ao metal tais características é o arranjo regular em que se encontram os cátions, cercados por um grande número de elétrons, cuja mobilidade, por exemplo, confere brilho ao metal (MANAHAN, 2003).

Alguns deles participam de reações químicas com enzimas no metabolismo, sendo também conhecidos como elementos traço ou metais traço (ESTEVES, 1998). Entre eles estão cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), níquel (Ni), manganês (Mn) e zinco (Zn) os quais são foco de estudos de contaminação em peixes (FERREIRA, 2009; CARMO; ABESSA; NETO, 2011; YI; ZANG, 2012).

Diante da preocupação das consequências das atividades antrópicas sobre ambientes aquáticos, estudos são desenvolvidos utilizando peixes como

bioindicadores dos efeitos da poluição no ambiente natural, uma vez que esses organismos mostram o verdadeiro grau de poluição do ambiente avaliado (BARROS et al., 2010; MAHARAJAN et al., 2012), pois sob condições naturais, estes metais podem acumular-se a um nível tóxico causando danos ecológicos e à saúde humana (UYSAL; EMRE; KOSE, 2008; REPULA et al., 2012; STORELLI et al., 2013; ZRNCIC et al., 2013; WEI et al., 2014).

Segundo Esteves (1998) as principais fontes de metais para os ambientes aquáticos continentais são o intemperismo de rochas, erosão de solos, atividades industriais, atividades de mineração, efluentes domésticos e por águas superficiais/subterrâneas provenientes de atividades agrícolas e de pecuária, através de efluentes sólidos e líquidos que são lançados diretamente ou indiretamente em pequenos córregos, lagos e rios.

Nos sistemas aquáticos, os metais pesados podem ser encontrados na coluna d'água, nos sólidos suspensos e sedimentados, nos organismos e nas plantas aquáticas. Sua disponibilização no sistema biológico pode provocar risco ecológico aos organismos devido à uma série de alterações (bioquímicas, histológicas, ecológicas) na biota (HEATH, 1995).

Os resíduos e efluentes gerados pelas atividades agrícolas constituem uma das mais importantes fontes não pontuais de poluição por metais em corpos d'água (LIMA, 2013). As principais fontes liberadoras são os fertilizantes (Cd, Cr, Pb, Zn), os pesticidas (Cu, Pb, Mn, Zn), os preservativos de madeira e fertilizantes (Cu, Cr) e dejetos de produção pecuária intensiva (Cu, As, e Zn) (PEDROSO; LIMA, 2001; SANTOS et al., 2002).

O uso de fertilizantes químicos e pesticidas em áreas agrícolas levam para água parte desses compostos, persistindo no meio aquático por apresentar forma livre ou iônica, o que facilita sua acumulação nos tecidos, principalmente dos peixes, o que conseqüentemente causa a contaminação desses organismos pelos metais pesados, dentre eles o cromo que é cancerígeno para o homem (RASHED, 2001; QUEIROZ, 2006; VINODHINI; NARAYANAN, 2008). Segundo Pandey et al. (2008) baixas concentrações de metais traço parecem comprometer a defesa antioxidante das brânquias por meio de alterações funcionais e interferência nos processos fundamentais do órgão, como a

manutenção de osmorregulação, trocas gasosas e metabolismo de xenobióticos nas populações de peixes expostos.

A concentração dos metais pesados tem sido uma importante ferramenta de sinalização de contaminação em programas de monitoramento ambiental, o qual considera os diferentes fatores que interferem na bioacumulação dessas substâncias nos peixes devido às suas características ecológicas, como a locomoção no ambiente, ciclo de vida, local de exposição e hábitos alimentares, além disso, são parte de uma atividade econômica e a principal rota de exposição da população humana à esses contaminantes que podem ser tóxicos, persistentes e tendem a ser acumulados (DALMAN; DEMIRAK; BALCI, 2006; YI; YANG; ZHANG, 2011; ELNABRIS et al., 2013; SANCHES-FILHO; FONSECA; HOLBIG, 2013; WEI et al., 2014).

As formas inorgânicas da maioria dos metais tendem a se ligar fortemente às proteínas em diferentes tecidos, e tais ligações aumentam a bioacumulação e inibem a excreção desses toxicantes (MANAHAN, 2003).

Ferreira (2009) sugere que para melhor compreensão da toxicidade de metais para o ambiente é necessário entender os processos de exposição, uma vez que alterações nas condições naturais por atividades humanas frequentemente alteram sua disponibilidade para biota.

2.2 Uso de Peixes como Bioindicadores

Os bioindicadores são organismos sentinelas ecologicamente importantes utilizados para avaliar a saúde e integridade dos ecossistemas aquáticos comprometidos por diversos agentes estressores, uma vez que são indicativos biológicos (um alerta) da existência de perturbações no ambiente, sendo importantes para avaliar fatores antrópicos com potencial impactante, (ADAMS; GREELEY, 2000; AGOSTINHO; THOMAZ; GOMES, 2005; CALLISTO; GONÇALVES; MORENO, 2005). Segundo Bernet et al. (1999) a sensibilidade da ictiofauna aos poluentes pode variar de acordo com a suscetibilidade da espécie, a sazonalidade e sua capacidade de migração.

Esses bioindicadores refletem tanto a qualidade da água quanto a saúde dos próprios indivíduos desde os níveis moleculares com alterações fisiológicas, histológicas e bioquímicas como em níveis de indivíduos (crescimento), populações (reprodução) e comunidades (diversidade e riqueza de espécies) para uma avaliação da qualidade ambiental (ADAMS; GREELEY, 2000; SCHULZ; MARTINS-JUNIOR, 2001).

Estudos utilizando peixes como bioindicadores em ambientes aquáticos naturais tem sido realizados com o uso de vários tipos de biomarcadores como fisiológicos, bioquímicos, histológicos (AL-ATTAR, 2007) hematológicos e genotóxicos para avaliação de contaminação por xenobióticos e suas alterações brânquias, fígado, rins, músculo e sangue (RIBEIRO *et.al.*, 2013), bem como para detectar os níveis ambientais de poluentes antropogênicos (KALAY; CANLI, 2000).

O uso dos organismos sentinelas permite verificar a bioacumulação de metais, por exemplo, em função do tamanho e nível trófico da espécie estudada (CANLI; ATLI, 2003; COSTA; HARTZ, 2009; SOUZA *et.al.*, 2013), dentre elas, o tucunaré, da bacia amazônica (KEHRIG; HOWARD; MALM, 2008).

2.3 Biomarcadores em peixes

O uso de biomarcadores em programas de biomonitoramento é uma técnica moderna na avaliação de danos ecológicos sofridos por ambientes poluídos e podem ser empregados na prevenção de impactos ambientais (GUARATINI, 2008, p. 137). O uso integrado desses indicadores aumenta a faixa de resposta na espécie estudada com aplicação em programas de biomonitoramento por serem respostas rápidas, sensíveis e alertarem previamente sobre riscos de danos ambientais no ecossistema aquático (PEREIRA *et.al.*, 2011), bem como evidenciam o estado de saúde dos peixes (SOUZA *et.al.*, 2013).

Os biomarcadores podem ser definidos como variações bioquímicas, celulares, fisiológicas ou comportamentais desencadeadas por mecanismos adaptativos em nível celular/bioquímico ou de organismos completos com

alterações que podem ser irreversíveis dependendo da capacidade de adaptação da espécie afetada, logo, representam a associação entre a dose interna do contaminante e a exposição/efeitos/susceptibilidade a um ou mais contaminantes (HACON, 2003).

Segundo Oost, Beyer e Vermeulen (2003) apenas as análises físico-químicas dos diferentes compartimentos do ecossistema, como água e sedimento, são insuficientes para avaliar os efeitos dos contaminantes nos organismos. Muitas vezes superestima-se a proporção e a duração de exposição ao agente tóxico, logo é necessário correlacionar os níveis externos da exposição com os níveis internos de contaminação dos tecidos, para se determinar a extensão e gravidade de tal contaminação

Os estudos utilizando biomarcadores são essenciais para complementar os programas de monitoramento ambiental, a fim de se conhecer os efeitos da poluição nos ecossistemas aquáticos por diversas atividades antrópicas (CAMARGO; MARTINEZ, 2007). Dentre os biomarcadores amplamente utilizados pode-se citar o teste do micronúcleo, testes bioquímicos, avaliação da concentração de metais nos tecidos e análises histopatológicas.

2.3.1 Avaliação de genotoxicidade pelo teste de micronúcleo

Dentre os diversos testes de mutagênese que podem ser realizados, o teste de micronúcleo tem sido aplicado com sucesso por ser simples, confiável, sensível e não depender fortemente do cariótipo da espécie (HEDDLE *et.al.*, 1983).

O teste permite uma ampla utilização em pesquisas de avaliação de genotoxicidade em ambientes aquáticos poluídos, por meio da análise da frequência de micronúcleos em eritrócitos de peixes (LEMOS *et.al.*, 2007). Esta é influenciada pela diferente sensibilidade das espécies aos contaminantes, pelas mudanças de comportamento devido ao estado de poluição do ambiente (GRISOLIA *et.al.*, 2009) e pelos dos hábitos alimentares – detritívoros, omnívoros e piscívoros, por exemplo (PORTO; ARAUJO; FELDBERG, 2005).

Os micronúcleos aparecem quando um cromossomo inteiro ou um fragmento do cromossomo não conseguem migrar durante a mitose (HEDDLE,

1973). O primeiro caso (perda do cromossomo) é devido a um evento aneuploídico relacionadas com o aparelho de fuso, enquanto o segundo ocorre após a ruptura do cromossomo. Estas alterações podem ser vistas em qualquer tipo de célula, tanto somática quanto germinal. Portanto, o teste do micronúcleo pode ser realizado em qualquer tipo de tecido ativo (UDROIU, 2006).

Biomarcadores de genotoxicidade têm sido utilizados em estudos de toxicidade, os quais usam peixes como bioindicadores para avaliação do potencial genotóxico de metais (cadmio, arsênio, mercúrio e cobre) no sangue periférico. A análise da frequência de micronúcleos pode ser realizada tanto em experimentos de laboratório com compostos químicos (AYLLON; GARCIA-VAZQUEZ, 2000; OZKAN et al., 2009; YADAV, TRIVEDI, 2009; ROCHA et al., 2011) em condições naturais, para avaliação dos danos genotóxicos em peixes expostos à contaminantes aquáticos (RODRIGUEZ-CEA, AYLLON, GARCIA-VAZQUEZ; 2003; PANTALEÃO et al., 2006; GRISOLIA et al., 2009, ARSLAN et al., 2010).

De acordo com Udriou (2006) a aplicação do teste de micronúcleos em amostras de sangue periférico é indicada para as condições da exposição crônica, como no caso de estudos ecotoxicológicos utilizando espécies marinhas ou de água doce *in situ*, desse modo, essa metodologia fácil e rápida se torna mais adequado para estudos de mutagêneses provocadas por poluição ambiental do que para simples localização de aberrações cromossômicas, tornando os peixes importantes para avaliação da qualidade do ambiente aquático.

2.3.2 Biomarcadores Bioquímicos

Parâmetros bioquímicos de peixes tem sido utilizados como biomarcadores devido às suas respostas a substâncias tóxicas como por exemplo os níveis plasmáticos de glicose, a alteração nas atividades de enzimas hepáticas (PARVATHI et al., 2011).

A concentração de glicose plasmática representa uma medida útil do estado energético de um organismo num dado momento, visto que um aumento na sua

disponibilidade pode indicar a ocorrência de uma situação de estresse (WINKALER et al., 2001).

A presença de contaminantes na água pode resultar em um estresse metabólico devido a um aumento da demanda energética, podendo afetar as reservas de nutrientes do animal (DIGIULIO et al., 1995), sendo uma das primeiras respostas o aumento da glicose no sangue e a diminuição do glicogênio no fígado, na tentativa de suprir a demanda energética (VUTUKURU, 2005).

Muitos compostos orgânicos e inorgânicos causam um rápido aumento na concentração de glicose no plasma uma vez que estudos observaram a hiperglicemia e alterações em enzimas hepáticas como resultado da exposição de peixes à xenobióticos como pesticidas e herbicidas (AGUIAR et al., 2004; GLUSCZAK et al., 2005; LANGIANO, 2006; GALEB, 2010) e metais como chumbo (MARTINEZ et al., 2004), cromo (VUTUKURU, 2005; PARVATHI et al., 2011) e cádmio (CICIK; ENGIN, 2005), por exemplo.

Alguns desses biomarcadores são órgão-específicos como enzimas que são lançadas na corrente sanguínea logo após lesão em tecidos, como as proteínas ALT (alanina aminotransferase) que extravasam dos hepatócitos e AST (aspartato aminotransferase) que podem estar presentes tanto no hepatócitos quanto nas células musculares dos animais, sendo indicadoras de respostas adaptativas e/ou lesões no fígado/músculo dos animais expostos a agentes estressores (BAYNES; DOMINICZAC, 2007).

A ALT está relacionada com a reação reversível de interconversão de alanina em piruvato por doação de um grupamento amina para um composto alfa-cetoglutarato, o qual é convertido a glutamato que é o produto final da via glicolítica que ocorre fora da mitocôndria e a AST está relacionada com a reação de interconversão de aspartato em oxalacetato por doação de uma amina do ácido aspártico para um alfa-cetoglutarato, o qual é convertido a glutamato, tendo participação fundamentais na respiração celular (BAYNES; DOMINICZAC, 2007).

Sendo assim os parâmetros bioquímicos são uma ferramenta útil para diagnosticar situações de estresse por contaminantes ambientais presentes na água os quais alteram a fisiologia normal dos peixes e podem comprometer seu

desenvolvimento, bem como, para detectar o estado de saúde dos órgãos afetados pelos agentes tóxicos (PARVATHI et. al., 2011).

2.3.3 Biomarcadores histológicos

O uso da histopatologia como um indicador da presença de contaminantes no meio representa uma ferramenta útil para avaliação dos efeitos da exposição a poluentes (BERNET et al., 1999), uma vez que as análises microscópicas permitem classificar semiquantitativamente as lesões histopatológicas, possibilitando assim, relacionar os danos encontrados com alterações em outro tipos de biomarcadores em peixes (SCHWAIGER et al., 1997).

As análises histopatológicas são sensíveis para detectar efeitos diretos de compostos químicos em órgãos-alvo, como brânquias e fígado, tanto em pesquisas em condições experimentais (MAHARAJAN et al., 2012; BENZE, 2013) como em ambientes naturais contaminados, por meio de pesquisas de campo (MONTES et al., 2010; FLORES-LOPES; THOMAZ, 2011; RIBEIRO et al., 2013).

2.3.3.1 Brânquias

As brânquias são um órgão multifuncional que está diretamente envolvido nas trocas de gases respiratórios (O_2/CO_2), regulação iônica e osmótica, no equilíbrio ácido-base, na excreção de produtos nitrogenados e metabolismo de xenobióticos (FERNANDES; MORON, 2014).

Na maioria dos peixes teleósteos as brânquias são constituídas por quadro arcos branquiais em cada lado da faringe, de onde estendem-se duas fileiras de filamentos branquiais ou lamelas primárias, e acima e abaixo destes filamentos, regularmente distribuídas, elevam-se as lamelas secundárias que são sítios de trocas gasosas (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995).

O epitélio branquial é constituído por diferentes tipos celulares: as células pavimentosas, as células cloreto, as células mucosas, células indiferenciadas e células neuroepiteliais, sendo que o epitélio do filamento é estratificado, formado

principalmente por células pavimentosas e células indiferenciadas (EVANS et al., 2005).

As lamelas secundárias são constituídas basicamente por células pavimentosas apoiadas na membrana basal e pelas células pilares cujas projeções da membrana celular em contato com os prolongamentos das células pilares adjacentes formam espaços por onde circula o sangue (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995; FERNANDES; MAZON, 2003). Nas lamelas podem estar presentes as células cloreto ou mucosas dependendo da espécie e das condições do ambiente aquático.

Na lamela, o sangue flui entre os espaços formados pelas extensões das células pilares, os canais marginal e proximal, em contracorrente ao fluxo de água no espaço interlamelar, ocorrendo assim, as trocas gasosas. Estas ocorrem por meio de um mecanismo de ventilação unidirecional do meio externo e de um sistema de difusão em contracorrente entre a água e o sangue (FERNANDES; MAZON, 2003, FERNANDES; MORON, 2014).

O fato desse órgão funcionar como uma barreira entre o meio externo e interno faz com que a morfologia branquial passe por constantes modificações durante a adaptação do peixe às alterações ambientais, logo, as brânquias atuam como órgão alvo dos peixes para os poluentes, por estarem em contato permanente com o ambiente aquático e apresentarem uma extensa área superficial (FLORES-LOPES; THOMAZ, 2011).

Alterações na morfologia branquial são consideradas como respostas adaptativas a contaminantes presentes no ambiente aquático como por exemplo, pelos metais lançados nos corpos hídricos em função de atividades antropogênicas, dentre eles o cádmio (GARCIA-SANTOS et al., 2007), o chumbo (MARTINEZ et al., 2004), o cobre (ARELLANO; STORCH; SARASQUETE, 1999; CHEN et al., 2012), o níquel (AL-ATTAR, 2007) e o zinco (SANTOS et al., 2011). Além disso, esse biomarcador é importante para avaliação *in situ* do estado de saúde do ambiente físico e biológico, como os rios que recebem constantemente resíduos e efluentes resultantes de atividades antrópicas como agricultura, sendo assim, úteis para programas de biomonitoramento ambiental (FERNANDEZ et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011; DEVI; MISHRA, 2013).

Estudos de biomonitoramento realizados por Montes et al. (2010) na Baía do Guajará, no estado do Pará, mostraram que o exame histopatológico realizado em brânquias de *Brachyplatystoma rousseauxii* foi considerado um excelente biomarcador e que essa espécie nativa pode ser utilizada como bioindicadora de ambientes impactados ou protegidos daquela região. Sousa, Almeida e Carvalho-Neta (2013) também utilizaram lesões branquias como biomarcadores importantes para o biomonitoramento ambiental em espécies de peixes de importância econômica no Estado do Maranhão.

Os autores Capkin et al. (2010), Flores-Lopes e Thomaz (2011), Chen et al. (2012) e Ribeiro et al. (2013) utilizaram as brânquias dos peixes como uma ferramenta para o biomonitoramento da presença de poluentes em ambientes naturais. Iwanovicz et al. (2012) relatam a importância da avaliação integrada de diferentes respostas biológicas em estudos de campo, pois mostram os efeitos adversos da degradação dos ecossistemas aquáticos e do estado de saúde dos organismos e fornece informações para tomada de medidas de remediação.

2.3.3.2 Fígado

O fígado é um órgão fundamental para o metabolismo quando se considera a ação dos poluentes químicos sobre o peixe, sendo o principal órgão na biotransformação e excreção dos xenobióticos e metais (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995). Assim, muitos compostos químicos como metais e agrotóxicos podem se acumular no fígado, de modo que suas células ficam expostas a um nível elevado de agentes químicos presentes no meio ambiente, alterando e danificando as funções hepáticas normais (HEATH, 1995) e, conseqüentemente comprometendo a saúde dos animais afetados (BENZE, 1013; BOTELHO, 2013).

Devido às suas várias funções e à sua sensibilidade a poluentes ambientais, alterações histopatológicas neste órgão tem sido utilizadas em estudos ecotoxicológicos relacionados à contaminação de várias espécies de peixes por agentes químicos orgânicos e inorgânicos disponíveis no meio aquático (LANGIANO, 2006; CRESTANI et al., 2007; RIBEIRO et al., 2013; SANTOS-FILHO et al., 2014).

A estrutura morfológica do fígado de peixes varia em função da espécie, sendo formado principalmente pelos hepatócitos, os quais são células parenquimatosas que geralmente estão arranjados como cordões celulares margeando os canalículos biliares e sinusóides (capilares sanguíneos) (HEATH, 1995).

Esse órgão é composto de 12 a 15% por sangue, porém apesar de haver uma grande quantidade de sangue no fígado, a taxa de fluxo de sangue através do tecido dos peixes é pequena em comparação com mamíferos. Nos peixes, os nutrientes, drogas e xenobióticos absorvidos são direcionados para o fígado por meio do sangue venoso que vem do intestino (HEATH, 1995).

As principais funções do órgão são: conversão de alimentos, estoque de glicogênio, remoção e metabolismo de substâncias químicas estranhas no sangue, formação da bile, síntese de proteínas plasmáticas, síntese do colesterol utilizados nos hormônios e membranas celulares, produção de secreções exócrinas e metabolismo de hormônios (HEATH, 1995). Portanto é um tecido que apresenta uma alta atividade metabólica para manutenção da homeostase dos nutrientes (MANAHAN, 2003).

Alterações histológicas nos hepatócitos que podem danificar e comprometer o funcionamento normal do órgão foram identificadas em peixes expostos a diferentes compostos químicos presentes no meio aquático provenientes de atividades humanas com metais como cobre, mercúrio, zinco e níquel (LIU et al., 2010; RABITTO et al., 2011; ZHENG et al., 2011) e agrotóxicos (JIRAUNGKOORSKULL et al., 2001; FANTA et al., 2003), bem como em animais provenientes de rios poluídos por efluentes industriais, domésticos e agrícolas (CAMARGO; MARTINEZ, 2007; FERNANDEZ et al., 2011).

3 ÁREA DE ESTUDO

A disponibilidade de água, as condições climáticas e a extensão territorial conferem ao Estado do Tocantins grande potencial para produção agrícola, ressaltando-se as culturas de grãos, dentre estas, o arroz irrigado por inundação (SANTOS; RABELO, 2004). No vale dos rios Javaés e Formoso, situados no município de Lagoa da Confusão, tem-se uma imensa área de várzea, com mais

de 500 mil hectares, entre os rios Araguaia e seus afluentes Urubu, Javaés e Formoso, que é considerada a maior área contínua para irrigação por gravidade do mundo (SANTOS, RABELO, 2004).

O município de Lagoa da Confusão localiza-se na Planície do Araguaia - Javaés, sendo predominante clima úmido com moderada deficiência hídrica no inverno e no verão com temperatura mais elevada), os solos são do tipo plintossolos com escoamento superficial lento ou médio; a região é formada por solos de significado agrícola, os quais são profundos, porosos e bem permeáveis - mesmo quando muito argilosos e as formações fitoecológicas são do tipo Cerrado e Floresta Estacional (SEPLAN, 2012).

Nesta região está implantado um projeto de agricultura irrigada, o Projeto Formoso-Javaés, cujas principais culturas, entre temporárias e permanentes estão o arroz, soja, feijão, melancia, banana e milho. Esse projeto é considerado o maior produtor de arroz irrigado do estado do Tocantins e segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2013) a produção vem aumentando ao longo dos anos. Conseqüentemente, há o aumento do uso de insumos agrícolas para manutenção dos atuais níveis de demanda do mercado produtor.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (2001), esse projeto vem causando impactos de grandes proporções na região visto que, para a irrigação das plantações são drenadas as águas dos rios Formoso e o rio Javaés (tributários do rio Araguaia), por meio de bombas d'água, ocasionando a mudança no regime hídrico destes rios e contaminação dos corpos d'água por agrotóxicos (IBAMA, 2001).

Estes impactos ambientais vem sendo percebidos pelos Karajá, Javaé, populações ribeirinhas e assentados rurais, fixados ao longo do rio Javaés, os quais relatam a diminuição de algumas espécies de peixes, por exemplo, o que reflete diretamente em impactos nos modos de vida dessas populações (IBAMA, 2001).

Nesse contexto, é urgente uma avaliação de risco ecológico nessa área, uma vez que espécies nativas estão suscetíveis aos impactos de agentes xenobióticos e tais interferências podem resultar em bioacumulação, alterações no ambiente e biota, bem como contaminação das comunidades ribeirinhas e indígenas devido à utilização de peixes em sua alimentação (LIMA, 2013).

Além disso, é necessário conhecer a influência das atividades agrícolas no estado de saúde dos organismos, ambiente aquático e das comunidades ribeirinhas, que também estão sujeitas às contaminações, pois mantém uma estreita relação sociobiológica com o ambiente em que vivem.

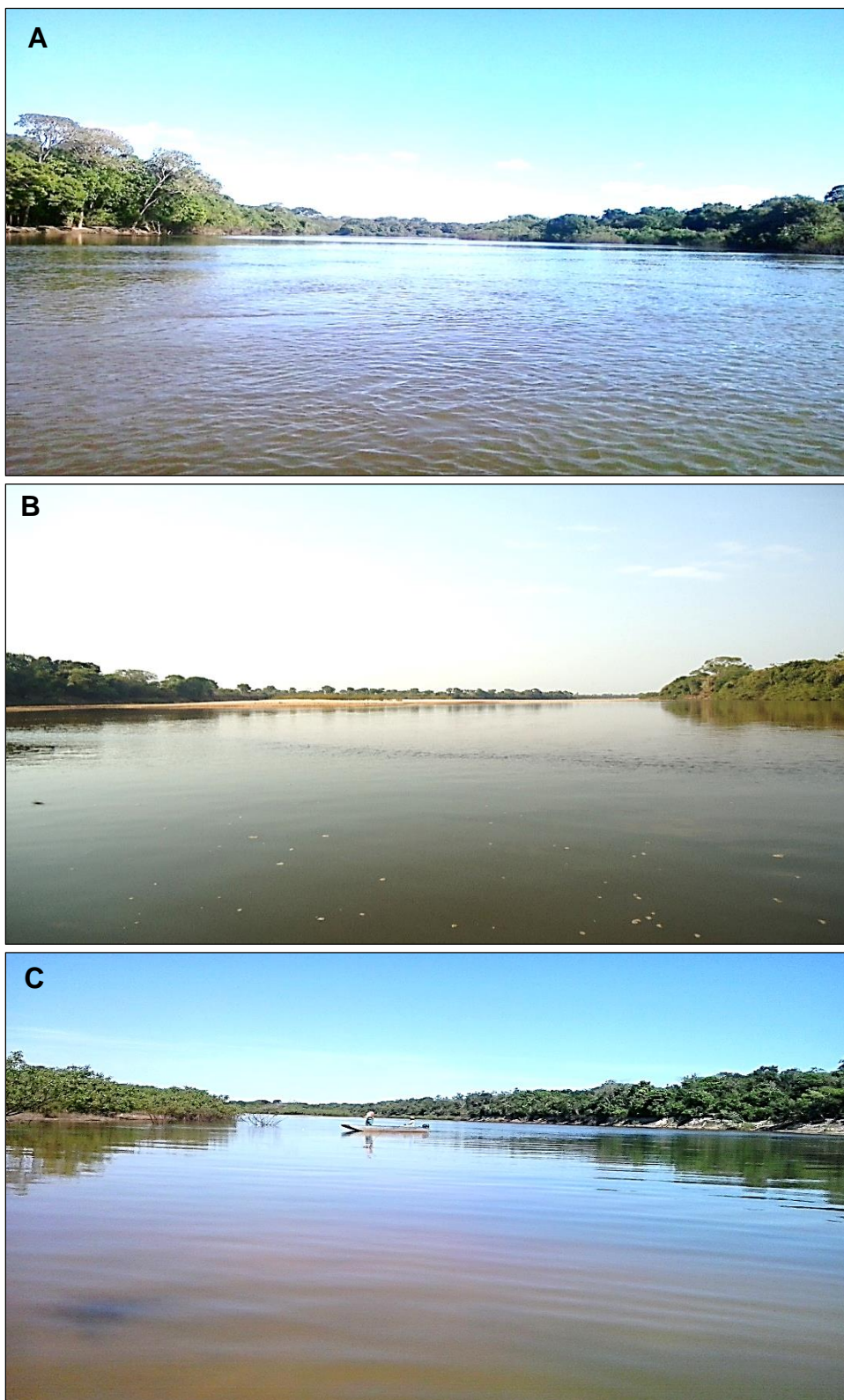
Como área de referência considerou-se um ponto no rio Javés, município de Pium, localizado em uma Área de Proteção Ambiental (APA) – Parque Nacional do Araguaia, criado pelo Decreto nº 47.570 de 31 de dezembro de 1959. Nessa cidade, existem lavouras de seringueira, abacaxi e rizicultura (irrigado e não irrigado), mas 77% da área dedicada a agricultura é ocupada com pastagens naturais e plantadas e a produção é parcialmente tradicional com pouco emprego de insumos modernos e tecnologia (IBAMA, 2001).

Os rios Formoso e Javaés são afluentes do rio Araguaia, cujas nascentes situam-se na Serra do Caiapó, na divisa de Goiás com Mato Grosso, acerca de 850 metros de altitude e possui 2.115 Km de extensão (IBAMA, 2001).

A drenagem desses rios orienta-se no sentido sul-norte. O rio Formoso desagua no rio Javaés, na região de Lagoa da Confusão, o qual segue seu percurso no sentido de Pium. Assim, os produtos químicos utilizados nas áreas agrícolas podem atingir os canais de irrigação e rios, o que pode comprometer a qualidade dos recursos naturais no Parque Nacional do Araguaia – Pium, pois se trata de uma área de proteção ambiental que recebe numerosos cursos de água que se originam de áreas agricultadas por grandes projetos, como é o caso dos rios Formoso e Javaés (IBAMA, 2001).

Apesar das diferentes intensidades nos modos de produção agrícola entre as cidades de Lagoa da Confusão e Pium, todos os locais de estudo são semelhantes quanto a fitofisionomia (Cerrado) e ao estado de preservação da mata ciliar, como pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 – Fotos da área de estudo. A - Rio Formoso/Lagoa da Confusão (abril/2014). B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão (setembro/2014). C – Rio Javaés/Pium (outubro/2014).



Fonte: Fotos de Liana B. D. de Lima.

Considerando que os testes em laboratório não conseguem reproduzir exatamente as condições de campo, estudos *in situ* podem fazer uma melhor avaliação das condições reais de exposição e efeitos a toxicantes sobre a biota e o ambiente, pois estão expostos a múltiplas combinações de fatores físicos/químicos/biológicos (CHAPMAN, 2000).

Segundo Zagatto e Bertolotti (2006) é importante conhecer os riscos potenciais desses poluentes à biota, incluindo o homem, pois o efeito ecotoxicológico pode não ser o resultado da ação de apenas uma substância isolada, mas da interação e magnificação de vários agentes presentes num determinado ambiente.

4 ESPÉCIE EM ESTUDO

O gênero *Cichla*, conhecido como tucunaré (Figura 2) é basicamente restrito a águas transparentes, uma vez que são predadores que se orientam, principalmente, pela visão e à habitats lânticos para a alimentação e reprodução. Esta espécie distribui-se geograficamente nas Bacias Amazônica e Araguaia-Tocantins (WINEMILLER; TAPHORN; BARBARINO-DUQUE, 1997).

Figura 2 - Exemplar de *Cichla* sp. (Perciformes: Cichlidae) - tucunaré.



Fonte: Foto de Liana B. D. de Lima.

Pertence à família dos ciclídeos (Cichlidae) que tem como ponto marcante a linha lateral seccionada e um ocelo característico na cauda (SANTOS; SANTOS; ARAÚJO, 2011). Por ser um predador, geralmente piscívoro, não migratório,

fazer parte de alto nível trófico na teia alimentar, estando sujeito ao processo de biomagnificação e por ser um recurso alimentar importante para comunidades ribeirinhas, o tucunaré tem sido amplamente utilizado como bioindicador de contaminação ambiental por xenobióticos (FOSBERG; KEMENES, 2006; DÓREA; BARBOSA, 2007; BASTOS et al., 2008; KEHRIG; HOWARD; MALM, 2008; RABITTO et al., 2011; SILVA et a., 2013).

Sua captura no período chuvoso é dificultada pois se abrigam na mata inundada (lagos/lagoas) durante a cheia e durante o período seco ficam geralmente próximos às margens dos rios. Formam casais, se reproduzem em ambientes lênticos, onde constroem ninhos e cuidam da prole. Os machos adultos apresentaram protuberância cefálica pós-occipital, de caráter sexual secundário extragenital, com reserva lipídica. O sucesso reprodutivo desse peixe é atribuído a sua alta capacidade reprodutiva e plasticidade fenotípica, que permitem sua adaptação às condições adversas (CHELLAPPA et al., 2003).

Podem apresentar hábitos de canibalismo em condições de abundância de indivíduos adultos que levam à competição intra-específica (GOMIERO; BRAGA, 2004). Em reservatório possuem um período de reprodução prolongado (CHELLAPPA et al., 2003), sendo que a variação sazonal na hidrologia, o uso de habitats, as interações predador-presa podem influenciar a desova (JEPSEN; WINEMILLER; TAPHORN, 1997) que é do tipo parcelada (SOUZA et.al., 2008), com fecundação externa, cuidado parental da prole (GOMIERO; VILLARES JUNIOR; NAOUS, 2010) e altas taxas reprodutivas (LUIZ et al., 2011).

Suas características ecológicas (hábitos alimentares, reprodutivos, nível trófico) os tornam bem sucedidas em relação às espécies nativas (PELICICE; AGOSTINHO, 2009).

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Objetivou-se avaliar o risco ecológico por xenobióticos, utilizando o Tucunaré (*Cichla sp.*) como bioindicador para avaliação dos possíveis efeitos de xenobióticos associados às atividades de agricultura nos rios Formoso e Javaés, no município de Lagoa da Confusão – TO.

5.2 Objetivos Específicos

- Detectar, nos rios Formoso e Javaés, a presença de metais (Cádmio, Cobre, Cromo, Chumbo, Níquel, Manganês e Zinco), bem como obter os parâmetros físico-químicos de pH, temperatura, oxigênio dissolvido (OD), nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal e fósforo total analisando-os segundo a resolução CONAMA 357.
- Determinar a concentração de metais nos tecidos muscular e hepático de *Cichla sp.*;
- Verificar alterações genotóxicas;
- Analisar alterações histopatológicas nos tecidos branquial e hepático;
- Avaliar os níveis plasmáticos de glicose e a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT);
- Obter informações sobre o risco ecológico no ambiente aquático em estudo que possam subsidiar programas de monitoramento ambiental na região.

REFERÊNCIAS

ADAMS, S. M.; GREELEY, M. S.. Ecotoxicological indicators of water quality: using multi-response indicators to assess the health of aquatic ecosystems.

Water, Air, and Soil Pollution, v. 123, p. 103–115, 2000.

AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S.M.; GOMES, L.C. Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. **Megadiversidade**, v.1, n.1. 70 - 78, 2005.

AGUIAR, L. H.; MORAES, G.; AVILEZ, I. M.; ALTRAN, A. E.; CORREA, C. F.. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus*. **Environ Res**, v. 95, p. 224–230, 2004.

AL-ATTAR, A. M.. The influence of nickel exposure on selected physiological parameters na Gill structure in the Teleost fish, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Biological Sciences**. v. 7, n. 1, p. 77-85, 2007.

ALMEIDA, F. V.; CENTENO, A. J.; BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F.. Substâncias Tóxicas Persistentes (STP) No Brasil. **Quim. Nova**. v. 30, n. 8, p.1976-1985, 2007.

ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C.. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales *Sole solea*

senegalensis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 44, n. 1, p 62-72, 1999.

ARSLAN, O. C.; PARLAK, H.; KATALAY, S.; BOYACIOGLU, M.; KARAASLAN, M. A.; GUNER, H.. Detecting micronuclei frequency in some aquatic organisms for monitoring pollution of Izmir Bay (Western Turkey). **Environ. Monit. Assess.**, v. 66, p. 165:55–66, 2010.

AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E.. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. **Mutation Research**, v. 467, p. 177–186, 2000.

AZEVEDO, F. A. de; CHASIN, A. A. da M. (Coord.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: RiMa, 2003.

BARROS, S. B. de M.; DAVINO, S. C..Avaliação da Toxicidade. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. de A.; BATISTUZZO, J. A. de O. (EDITORES). **Fundamentos de Toxicologia**. 3. ed.. Atheneu Editora: São Paulo, 2008. p. 61-70.

BARROS, B. C. V.; PEREIRA, S. F. P.; PALHETA, D. C.; SILVA, C. S.. Determinação de Cd, Cr e Al em tecido de peixes provenientes do Rio Gelado/APA, Floresta de Carajás-PA. **Holos Environment**, v. 10, n. 2, p. 195 – 208, 2010.

BASTOS, W. R.; REBELO, M. F.; FONSECA, M. F.; ALMEIDA, R.; MALM, O.. A description of mercury in fishes from the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 3, p. 431 – 438, 2008.

BENZE, T. P.. **Efeitos da exposição ao inseticida difluzenzuron em curimatá, Prochilodus lineatus (Teleósteo, Prochilodontidae)**. São Carlos, 2013. 71f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2013.

BERNET, D.; SCHIMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T.. Histopathology in Fish: Proposal for a Protocol to Assess Aquatic Pollution. **J. Fis. Disea.**, v.22, p.25-34, 1999.

BOTELHO, R. G.. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba (SP) e efeito da vinhaça para organismos aquáticos antes e após correção do pH**. Piracicaba, 2013. 170 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2013.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Brasília, 2005.

- BYNES, J. W.; BOMINICZAK, M. H.. **Bioquímica Médica**. 2. ed.. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.
- CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista Saúde Pública**. São Paulo, 34: (5), 529-537, 2000.
- CALLISTO, M.; GONÇALVES, J.F.; MORENO, P. **Invertebrados Aquáticos como bioindicadores**. In: GOULART, E.M.A. (Ed.). Navegando o Rio das Velhas das Minas aos Gerais. Belo Horizonte: UFMG, 2005. p.555-567.
- CAMARGO, M. M.; MARTINEZ, C. B. R.. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.
- CANLI, M.; ATLI, G.. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. **Environmental Pollution**, v. 121, p.129–136, 2003.
- CAPKIN, E.; TERZI, E.; BORAN, H.; YANDI, I.; ALTINOK, I.. Effects of some pesticides on the vital organs of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Tissue and Cell**, v. 42, p. 376–382, 2010.
- CARMO, C. A.; ABESSA, D. M. S.; MACHADO NETO, J. G.. Metais em águas, sedimentos e peixes coletados no estuário de São Vicente-SP, Brasil. **O Mundo da Saúde**, v.35, n. 1, p. 64-70, 2011.
- CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C.. Dossiê ABRASCO –**Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. ABRASCO, Rio de Janeiro, abril de 2012. 1ª Parte. 98p.
- CHAPMAN, M.G.. Poor design of behavioural experiments gets poor results: Examples from intertidal habitats. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** v 250, p. 77–95, 2000.
- CHELLAPPA, S.; CÂMARA, M. R.; CHELLAPPA, N. T.; BEVERIDGE, M. C. M.; HUNTINGFORD, F. A.. REPRODUCTIVE ECOLOGY OF A NEOTROPICAL CICHLID FISH, *Cichla monoculus* (Osteichthyes: Cichlidae). **Braz. J. Biol.**, v. 63, n. 1, p. 17-26, 2003.
- CHEN, Q. L.; LUO, Z.; ZHENG, J. L.; LI, X. D.; LIU, C. X.; ZHAO, Y. H.; GONG, Y. Protective effects of calcium on copper toxicity in *Pelteobagrus fulvidraco*: Copper accumulation, enzymatic activities, histology. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 126–134, 2012.
- CICIK, B.; ENGIN, K.. The Effects of Cadmium on Levels of Glucose in Serum and Glycogen Reserves in the Liver and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). **Turk J Vet Anim Sci**, v. 29, p. 113-117, 2005.

COSTA, S. C.; HARTZ, S. M.. Evaluation of trace metals (cadmium, chromium, copper and zinc) in tissues of a commercially important fish (*Leporinus obtusidens*) from Guaíba Lake, Southern Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 52 n. 1, p. 241-250, 2009.

CRESTANI, M.; MENEZES, C.; GLUSCZAK, L.; MIRON, D. S.; SPAVANELLO, R.; SILVEIRA, A.; GONÇALVES, F. F.; ZANELLA, R.; LORO, V. L.. Effect of clomazone herbicide on biochemical and histological aspects of silver catfish (*Rhamdia quelen*) and recovery pattern. **Chemosphere**, v. 67, p. 2305–2311, 2007.

DALMAN, O. M.; DEMIRAK, A.; BALCI, A.. Determination of heavy metals (Cd, Pb) and trace elements (Cu, Zn) in sediments and fish of the Southeastern Aegean Sea (Turkey) by atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 95, p. 157–162, 2006.

DEVI, Y.; MISHRA, A.. Histopathological Alterations in Gill and Liver Anatomy of Fresh Water, Air Breathing Fish *Channa punctatus* after Pesticide Hilban® (Chlorpyrifos) Treatment. **Adv. Biores.**, v. 4, n. 2, p. 57- 62, 2013.

DIGIULIO, R.T.; BENSON, W.H.; SANDERS, B.M.; VANVELD, P.A.. Biochemical mechanisms: metabolism, adaptation and toxicity. In: Rand, G.M. (Ed.). **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment**. Taylor and Francis, London, 1995.

DÓREA, J. G.; BARBOSA, A. C.. Anthropogenic Impact of Mercury Accumulation in Fish from the Rio Madeira and Rio Negro Rivers (Amazonia). **Biological Trace Element Research**, v. 115,p. 243-254, 2007.

ELNABRIS, K.; MUZYED, S. K.; EL-ASHGAR, N. M.. Heavy metal concentrations in some commercially important fishes and their contribution to heavy metals exposure in Palestinian people of Gaza Strip (Palestine). **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v.13,p. 44–51, 2013.

ESTEVEES, F. A.. **Fundamentos de Limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

EVANS, D. H.; PIERMARINI, P. M.; CHOE, K.. The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. **Physiol Ver.** v. 85, p. 97–177, 2005.

FANTA, E.; RIOS, F.S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A.C.G.; FREIBERGER, S.. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated in water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 119-130, 2003.

FERNANDES, N.M.; MAZON, A.F. **Fish Adaptations**. São Carlos: Science Publishers, 2003. 418p.

FERNANDES; M. N.; MORON, S. E.. **Respiração e Adaptações Respiratórias**. In: BALDISSEROTTO; B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. (Org.). *Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais de Água Doce*. Jaboticabal: FUNEP, UNESP, 2014, 336 p.

FERNANDEZ, W. S.; DIAS, J. F.; RIBEIRO, C. A. O.; AZEVEDO, J. de S.. Liver Damages And Nuclear Abnormalities In Erythrocytes of *Atherinella Brasiliensis* (Actynopterigii, Atherinopsidade) from Two Beaches In Southeast Of Brazil. **Brazilian Journal Of Oceanography**. v. 59, n. 2, p. 163-169, 2011.

FERNICOLA, N. A. G. de; BOHRER-MOREL, M. B. C.; BAINY, A. C. D.. Ecotoxicologia. In: AZEVEDO, F. A. de; CHASIN, A. A. da M. (Coord.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. RiMa: São Paulo, 2003. p. 221-243.

FERREIRA, A. P. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, água e em *Leucopternis lacernulata* (gavião-pomba). Estudo de caso: Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Gaia Scientia**. v. 3, n. 2, p. 23-31, 2009.

FLORES-LOPES, F.; THOMAZ, A. T.. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. **Braz. J. Biol.**,v. 71, n. 1, p. 179-188, 2011.

FOSBERG, B.R.; KEMENES, A. **Análise do Eia-Rima sobre os aproveitamentos hidrelétricos de Santo Antônio e Jirau, rio Madeira-Ro: avaliação dos estudos hidrobiogeoquímicos com atenção específica à dinâmica do mercúrio**. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (Inpa). Manaus, 2006.

GALEB, L. do A.G.. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial Jundiá (*Ramdia quelen*)**. São Joé dos Pinhais, 2010. 70f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, São José dos Pinhais (PR), 2010.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilotica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.2, p.376-381, 2007.

GLUSCZAK, L.; MIRON, D.S.; CRESTANI, M.; FONSECA, M.B.; PEDRON, F.A.; DUARTE, M.F.; VIEIRA, V.L.P. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, p. 237–241, 2006.

GOMIERO, L. M.; BRAGA, F. M. S.. Feeding of introduced species of Cichla (Perciformes, Cichlidae) in Volta Grande reservoir, River Grande (MG/SP). **Braz. J. Biol.**, São Carlos, v. 64, n. 4, nov. 2004.

GOMIERO, L. M.; VILLARES-JUNIOR, G. A.; NAOUS, F.. Seasonal and ontogenetic variations in the diet of *Cichla kelberi* Kullander and Ferreira, 2006 introduced in an artificial lake in southeastern Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 70, n. 4, p. 1033-1037, 2010.

GRISOLIA, C. K.; RIVERO, C. L. G.; STARLING, F. L. R. M.; SILVA, I. C. R. da; BARBOSA, A. C.; DOREA, J. G.. Profile of micronucleus frequencies and DNA damage in different species of fish in a eutrophic tropical lake. **Genetics and Molecular Biology**. v. 32, n. 1, p. 138-143, ago. 2009.

GUARATINI, T.; CARDOZO, K. H. M.; PAVANELLI, D. D.; COLEPICCOLO, P.; PINTO, E.. Ecotoxicologia. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. de A.; BATISTUZZO, J. A. de O. (EDITORES). **Fundamentos de Toxicologia**. 3. ed.. Atheneu Editora: São Paulo, 2008. p. 126-141.

HACON, S. de S.. Avaliação e Gestão do Risco Ecotoxicológico à Saúde Humana. In: AZEVEDO, F. A. de; CHASIN, A. A. da M. (Coord.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. RiMa: São Paulo, 2003. p. 245-322.

HEATH, A. G.. Water pollution and fish physiology. 2ed. Lewis Publishers, Boca Raton, 1995.

HEDDLE, J. A.; HITE, M.; KIRKHART, B.; MAVOURNIN, K.; MCGREGOR, J. T.; NEWELL, G. W.; SALAMONE, M. F.. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**. v. 123, p. 61-118, 1983.

HEDDLE, J. A.. A rapid in vivo test for chromosomal damage. **Mutation Research**. v. 18, p. 187-190, 1973.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável – Brasil 2012**. Disponível em <ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/indicadores_desenvolvimento_sustentavel/2012/ids2012.pdf> Acesso em: 04 mar. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal 2011 - 2013**. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=171190>>. Acesso em: 29 jan. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Plano de Manejo Ecológico: Parque Nacional do Araguaia – TO**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2001.

IWANOWICZ, L. R.; BLAZER, V. S.; HITT, N. P.; MCCORMICK, S. D.; DEVAULT, D. S.; OTTINGER, C. A.. Histologic, immunologic and endocrine biomarkers indicate contaminant effects in fishes of the Ashtabula River. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 165–182, 2012.

JEPSEN, D. B.; WINEMILLER, K. O.; TAPHORN, D. C.. Temporal patterns of resource partitioning among *Cichla* species in a Venezuelan blackwater river. **Journal of Fish Biology**, v. 51, p. 1085–1108, 1997.

JIRAUNGKOORSKUL, W.; UPATHAM, E. S.; KRUATRACHUE, M.; SAHAPHONG, S.; VICHASRI-GRAMS, S.; POKETHITIYOOK, P.. Histopathological Effects of Roundup, a Glyphosate Herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **ScienceAsia**, v. 28, p. 121-127, 2001.

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes**. New York: Chapman & Hall, 1995. 455p.

KALAY, M.; CANLI, M. Elimination of Essential (Cu, Zn) and Non-Essential (Cd, Pb) Metals from Tissues of a Freshwater Fish *Tilapia zilli*. **Turkish Journal of Zoology**, v. 24, p. 429-436, 2000.

KEHRIG, H.A.; HOWARD, B. M.; MALM, O.. Methylmercury in a predatory fish (*Cichla spp.*) inhabiting the Brazilian Amazon. **Environ Pollut**, v. 154, p. 68–76, 2008.

LANGIANO, V. C.. **Toxicidade do Roundup® e seus efeitos para o peixe neotropical *Prochilodus lineatus***. Londrina, 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, da Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2006.

LEMONS, C. T. de; RODEL, P. M.; TERRA, N. R.; OLIVEIRA, N. C. D. de; ERDTMAN, B.. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 66, p. 391–401, 2007.

LIMA, D. P.. **Avaliação da contaminação por metais pesados na água e nos peixes da bacia do Rio Cassiporé, Estado do Amapá, Amazônia, Brasil**. Macapá, 2013. 147 f.. Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, 2013.

LIMA, R. A. M.. **Avaliação da contaminação de *Leptodactylus ocellatus*, ocasionada por agrotóxicos, na sub-bacia do rio Urubu – TO**. Palmas, 2010. 176f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2010.

LIU, X. J.; LUO, Z.; XIONG, B. X.; ZHAO, Y. H.; HU, G. F.; LV, G. J.. Effect of waterborne copper exposure on growth, hepatic enzymatic activities and histology in *Synechogobius hasta*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 1286–1291, 2010.

LIVINGSTONE, D. R.. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarker in the aquatic environment . **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, v.57, p. 195-211, 1993.

LIVINGSTONE, D. R.. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physio*, v 120, p. 43-49, 1998.

LUIZ, T. F.; VELLUDO, M. R.; PERETI, A. C.; RODRIGUES-FILHO, J. L.; PERETI, A. M.. Diet, reproduction and population structure of the introduced Amazonian fish *Cichla piquiti* (Perciformes: Cichlidae) in the Cachoeira Dourada reservoir (Paranaíba River, central Brazil. *Rev. Biol. Trop.*, v. 59, n. 2, p. 727-741, 2011.

MAHARAJAN, A.; RAJALAKSHMI, S.; VIJAYAKUMARAN, M.; KUMARASAMY, P. Sublethal Effect of Copper Toxicity Against Histopathological Changes in the Spiny Lobster, *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758). *Biol Trace Elem Res*, v. 145, p. 201–210, 2012.

MANAHAN, S. E.. **Toxicological chemistry and biochemistry**. 3. ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2003.

MARTINEZ, C. B. R.; NAGAE, M. Y.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M.. Morphological and physiological acute effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian Journal Biology*, v. 64, p. 797-807, 2004.

MONTES, C.S.; FERREIRA, M.A.P; SANTOS, S.S.D.; VON LEDEBUR, E.I.C.F.; ROCHA, R.M.. Branchial histopathological study of *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) in the Guajará Bay, Belém, Pará state, Brazil. **Acta scientiarum biological science**, vol. 32, n. 1, p. 87-92, 2010.

NASCIMENTO, K. M.; SANTOS, D. C.; PEREIRA, S. F. P.; SILVA, C. S.; COUTINHO, R. M. P.; MIRANDA, R. G.; MORAES, W. N.; PEREIRA, J. S.; BITTENCOURT, J. A.; OLIVEIRA, M. S.; PONTES, R. G.; SANTOS, L. P.. **Avaliação da concentração de Fe, Cr, Al, Ni e Cu na musculatura de tucunaré (*cichla spp.*), oriundo do lago da usina hidrelétrica de tucuruí-PA**. 51º Congresso Brasileiro de Química – Energia e Ambiente. São Luís – MA, out. 2011.

NASCIMENTO, J.B.do. **Tocantins: história e geografia**. 7 ed. Goiânia: Bandeirante, 2011. 136 p.

OOST, V. D.; BEYER, R.; VERMEULEN, J. N. P. E.. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environ Toxicol Pharmacol.**, v. 13, p. 57-149, 2003.

ÖZKAN, F.; GÜNDÜZ, S. G.; BERKÖZ, M.; HUNT, A. O.. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, following exposure to sublethal cadmium doses. **Turk J Zool.** v. 35, n. 4, p. 585-592, 2011.

PANDEY, S.; PARVEZ, S.; ANSARI, R. A.; ALI, M.; KAUR M.; HAYAT, F.; AHMADA, F.; RAISUDDIN, S.. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish,

Channa punctata Bloch. **Chemico-Biological Interactions**, v. 174, p. 183–192, 2008.

PANTALEÃO, S. M.; ALCÂNTARA, A. V.; ALVES, J. P. H.; SPANÓ, M. A.. The PiscineMicronucleus Test to Assess the Impact of Pollution on the Japaratuba River in Brazil. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 47, p. 219-224, 2006.

PARVATHI, K.; SIVAKUMAR, P.; RAMESH, M.; SARASU. SUBLETHAL EFFECTS OF CHROMIUM ON SOME BIOCHEMICAL PROFILES OF THE FRESH WATER TELEOST, *CYPRINUS CARPIO*. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, p. 295-300, 2011.

PASSOS, C. J. S.; MERGLER, D.; LEMIRE, M.; FILLION, M.; GUIMARÃES, J. R. D.. Fish consumption and bioindicators of inorganic mercury exposure. **Science of the Total Environment**, v. 373, p. 68–76, 2007.

PEDROZO; M. F. M.; LIMA, I. V. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos**. Salvador: CRA, 2001. 128 p.

PELAEZ, V; SILVA, L. R.; ARAÚJO, E. B. **Regulation of pesticides: a comparative analysis**. 2011. Disponível em:
<<http://spp.oxfordjournals.org/content/early/2013/04/03/scipol.sct020.abstract>>. Acesso em: 04 mar. 2015.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A.. Fish fauna destruction after the introduction of a non-native predator (*Cichla kelberi*) in a Neotropical reservoir. **Biol. Invasions**, v. 11, p.1789–1801, 2009.

PEREIRA, C. D. S.; MARTIN-DIAZ, M. L.; ZANETTE, J.; CESAR, A.; CHOUERI, A. B.; ABESSA, D. M. de S.; CATARINO, M. G. M.; VASCONCELLOS, M. B. A.; BAINY, A. C. D.; SOUSA, E. C. P. M de; DEL VALLS, T. A.. Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone (São Paulo, Brazil). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 74, p. 1257–1264, 2011.

PORTO, J. I. R.; ARAÚJO, C. S. O.; FELDBERG, E.. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. **Environmental Research**, v. 97, p. 287–292, 2005.

PRADO, G. L. do. **Avaliação da susceptibilidade à contaminação de corpos hídricos, em áreas de cultivo e do entorno (Reservas Indígenas), pelo uso de agrotóxicos**. Palmas, 2013. 103f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2013.

QUEIROZ, M. T. A. **Bioacumulação de metais pesados no Rio Piracicaba, Minas Gerais, aplicando a análise por ativação Neutrônica Instrumental**.

2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial) – Centro Universitário do Leste.

RABITTO, I. S.; BASTOS, W. R.; ALMEIDA, R.; ANJOS, A.; HOLANDA, I. B. B.; GALVÃO, R. C. F.; FILIPAK NETO, F.; MENEZES, M. L.; SANTOS, C. A. M.; RIBEIRO, C. A. O.. Mercury and DDT exposure risk to fish-eating human populations in Amazon. **Environment International**, v. 37, p. 56–65, 2011.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment**. 2 ed., Taylor & Francis: Washington, 1995, cap. 1.

RASHED, M. N.. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. **Environment International**, v. 27, p. 27-33, 2001.

REPULA, C. M. M.; CAMPOS, B. K.; GANZAROLLI, E. M.; LOPES, M. C.; QUINÁIA, S. Q. Biomonitoramento de Cr e Pb em peixes de água doce. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 905-909, 2012.

RIBEIRO, C. A. O.; KATSUMITI, A.; FRANÇA, P.; MASCHIO, J.; ZANDONÁ, CESTARI, M. M.; VICARI, T.; ROCHE, H.; ASSIS, H. C. S.; FILIPAK NETO, F.. Biomarkers responses in fish (*Atherinella brasiliensis*) of Paranaguá Bay, Southern Brazil, for assessment of pollutant effects. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 61, n. 1, p. 1-11, 2013.

ROCHA, C. A. M. da; CUNHA, L. A. da; PINHEIRO, R. H. da S.; BAHIA, M. de O.; BURBANO, R. M. R.. Studies of micronuclei and other nuclear abnormalities in red blood cells of *Colossoma macropomum* exposed to methylmercury. **Genetics and Molecular Biology**. v. 34, n. 4, p. 694-697, ago. 2011.

RODRIGUEZ-CEA, A.; AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E.. Micronucleus test in freshwater fish species: an evaluation of its sensitivity for application in field surveys. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 442–448, 2003.

SANCHES-FILHO, P. J.; FONSECA, V. K.; HOLBIG, L.. Avaliação de metais em pescado da região do Pontal da Barra, Laguna dos Patos, Pelotas-RS. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 8, n. 1, p. 105-111, 2013.

SANTOS, A. F. G.; SANTOS, L. N.; ARAÚJO, F. N.. Digestive tract morphology of the Neotropical piscivorous fish *Cichla kelberi* (Perciformes: Cichlidae) introduced into an oligotrophic Brazilian reservoir. **Rev. Biol. Trop.**, v. 59, n. 3, p. 1245-1255, 2011.

SANTOS, A.; ALONSO, E.; CALLEJÓN, M.; JIMÉNEZ, J. C. Distribution of Zn, Cd, Pb and Cu metals in groundwater of the guadamar river basin. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 134, p. 275-286, 2002.

SANTOS, A. B. dos; RABELO, R. R. **Cultivo do Arroz irrigado no Estado do Tocantins**. In: Embrapa Arroz e Feijão – Sistemas de Produção. Versão

eletrônica. n. 3. ISSN 1679-8869. nov.2004. Disponível em: <
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoTocantins/#topo>>. Acesso em: 18 jun. 2013.

SANTOS, D. C. M.; MATTA, S. L. P.; OLIVEIRA, J. A.; SANTOS, J. A. D..
Histological alterations in gills of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute
exposition to zinc. **Experimental and Toxicologic Pathology**, 2011.

SANTOS FILHO, F. M.; REZENDE, K. F. O.; EMERENCIANO, A. K.;
MOREIRA, L. M.; VILA, V. B.; BORGES, R. M.; PRESSINOTTI, L. N..
Avaliação de biomarcadores histológicos em peixes coletados a montante e a
jusante da mancha urbana. **ASA**, v. 2, n. 1, 2014.

SCHULZ, U. H.; MARTINS-JUNIOR, H.. *Astyanax fasciatus* as bioindicator of
water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 61, n. 4, p. 615-
622, 2001.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W. &
TRIEBSKORN, R.. The use of histopathological indicators to evaluate
contaminant related stress in fish. Dordrecht. **Journal Aquatic Ecosystem
Stress Recovery**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.

SECRETARIA DO PLANEJAMENTO E DA MODERNIZAÇÃO DA GESTÃO
PÚBLICA - SEPLAN. **Atlas do Tocantins: subsídios ao planejamento da
gestão territorial**. 6. ed. rev. atu. Palmas: Seplan, 2012. 80 p.

SILVA, K. C. C.; ASSIS, C. R. D.; OLIVEIRA, V. M.; CARVALHO JUNIOR, L.
B.; BEZERRA, R. S.. Kinetic and physicochemical properties of brain
acetylcholinesterase from the peacock bass (*Cichla ocellaris*) and in vitro effect
of pesticides and metal ions. **Aquatic Toxicology**, v. 126, p. 191– 197, 2013.

SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F..
Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa
Maranhense, Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.369-376, 2013

SOUZA, I. C.; DUARTE, I. D.; PIMENTEL, N. Q.; ROCHA, L. D.; MOROZESK,
M.; BONOMO, M. M.; AZEVEDO, V. C.; PEREIRA, C. D. S.; MONFERRÁN, M.
V.; MILANEZ, C. R. D.; MATSUMOTO, S. T.; WUNDERLIN, D. A.;
FERNANDES, M. N.. Matching metal pollution with bioavailability,
bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*)
resident in neotropical estuaries. **Environmental Pollution**, v. 180, p. 136-144,
2013.

SOUZA, J. E.; MOURA, E. N. F.; VERANI, N. F.; ROCHA, O.; VERANI, J. R..
Population structure and reproductive biology of *Cichla kelberi* (Perciformes,
Cichlidae) in Lobo Reservoir, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 2, p.
201-210, 2008.

SPADOTTO, C.A. **Avaliação de Riscos Ambientais de Agrotóxicos em Condições Brasileiras**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 22 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 58).

STORELLI, M. M.; BARONE, G.; PERRONE, V. G.; STORELLI, A.. Risk characterization for polycyclic aromatic hydrocarbons and toxic metals associated with fish consumption. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, p. 115–119, 2013.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology normal and pathological features**. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag, 1995.

UYSAI, K.; EMRE, Y.; KOSE, E.. The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey). *Microchemical Journal*, v. 90, p. 67–70, 2008.

UDROIU, I.. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**. v. 79, p. 201–204, jun. 2006.

VINODHINI, R.; NARAYANAN, M. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). **Intitute Journal Environment Science Technology**, v. 5, n. 2, p. 179-182, 2008.

VUTUKURU, S. S. Acute Effects of Hexavalent Chromium on Survival, Oxygen Consumption, Hematological Parameters and Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. **International Journal of Environmental Research Public Health**, v.2, n.3, p. 456-462, 2005.

WEI, Y. H.; ZHANG, J. Y.; ZHANG, D. W.; TU, T. H.; LUO, L. G.. Metal concentrations in various fish organs of different fish species from Poyang Lake, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 104, p. 182–188, 2014.

WINEMILLER, K. O.; TAPHORN, D. C.; BARBARINO-DUQUE, A.. Ecology of Cichla (Cichlidae) in Two Blackwater Rivers of Southern Venezuela. **Copeia**. v. 1997, n. 4., p. 690-696, dez. 1997.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. R.. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Maringá**, v. 23, n. 2, p. 507-514, 2001.

YI, Y.; ZHANG, S. Heavy metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) concentrations in seven fish species in relation to fish size and location along the Yangtze River. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, p. 3989–3996, 2012.

YADAV, K. K.; TRIVEDI, S. P.. Sublethal exposure of heavy metals induces micronuclei in fish, *Channa punctate*. **Chemosphere**, v. 77, p. 1495–1500, 2009.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RIMA, 2006. 478p.

ZHENG, J. L.; LUO, Z.; CHEN, Q. L.; LIU, X.; ZHAO Y. H.; GONG, Y.. Effect of waterborne zinc exposure on metal accumulation, enzymatic activities and histology of *Synechogobius hasta*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1864–1873, 2011.

ZRNČIĆ, S.; ORAIĆ, D.; ČALETA, M.; MIHALJEVIĆ, Z.; ZANELLA, D.; BILANDŽIĆ, N.. Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. **Environ Monit Assess**, v. 185, p. 1189–1198, 2013.

CAPÍTULO II

Parâmetros físico-químicos e concentração de metais na água dos rios Formoso e Javaés – TO

RESUMO

Os rios Javaés e Formoso, região da Lagoa da Confusão – TO, há anos tem sido o destino final de diversos contaminantes resultantes de atividades agrícolas intensivas, as quais podem comprometer a qualidade do ecossistema aquático que fornece o sustento das comunidades ribeirinhas e indígenas locais. O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade da água destes rios por meio da análise de parâmetros físico-químicos e da concentração de metais na água comparando-os com os valores permitidos para Águas Doces de Classe 1 previstos na resolução CONAMA 357. As coletas de água foram realizadas no período de setembro de 2013 a outubro de 2014 em três pontos (A – rio Javaés/Pium, B – rio Javaés/Lagoa da Confusão e C – rio Formoso/Lagoa da Confusão). Foram analisados pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura, nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal, fósforo e a concentração dos metais Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni e Zn, por Espectrofotômetro de Absorção Atômica. Os valores obtidos para pH, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal apresentaram-se dentro da faixa recomendável. Apenas o fósforo total no ponto C apresentou-se acima do valor de referência. Para o oxigênio dissolvido houve diferença significativa no ponto C, que obteve maior valor de OD médio de 6,89 mg.L⁻¹ em relação ao ponto A, o qual obteve a menor concentração média de 5,59 mg.L⁻¹, inferior ao previsto para águas de Classe 1 (≥ 6 mg.L⁻¹). A análise estatística mostrou que as diferenças entre as concentrações de metais pesados por local de amostragem não foram significativas ($p > 0,05$) em relação ao ponto A. Cd e Pb apresentaram concentrações abaixo do nível de detecção. A média das concentrações de Cu, Cr e Mn nos três pontos coletados excederam os valores para rios de Classe 1. Para o Cu os pontos A, B e C apresentaram concentrações de 0,02, 0,03 e 0,03, para o Cr 0,33, 0,19 e 0,43 mg.L⁻¹ e para o Mn 0,97, 1,2 e 1,2 mg.L⁻¹. Esses valores encontram-se acima do limite permitido pela Águas Doces de Classe 1 pela resolução CONAMA 357, indicando contaminação dos recursos hídricos por esses metais.

Palavras – chave: Concentração de metais. Rios Formoso e Javaés.

CAPÍTULO II

Physicochemical parameters and concentration of metals in the water of Formoso and Javaés rivers – TO

ABSTRACT

Rivers Javaés and Formoso, Confusion Lagoon's region - TO, for years has been the final destination of many contaminants resulting from intensive agricultural activities, which may compromise the quality of the aquatic ecosystem that provides the livelihood of coastal and local indigenous communities. This study aimed to evaluate the water quality of Javaés and Formoso rivers by the analysis of physical-chemical parameters and the concentration of metals in water by comparing them to the allowed values for Class I fresh waters set out in Resolution CONAMA 357. Water samples were carried out from September 2013 to October 2014 in three points (A - Javaés river/Pium, B - Javaés river/Confusion Lagoon and C - Formoso river/Confusion Lagoon). They were analyzed pH, dissolved oxygen (DO), temperature, nitrite, nitrate, ammonia nitrogen, phosphorus and the concentration of the metals Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni and Zn by Atomic Absorption Spectrophotometer. The values for pH, nitrite, nitrate and ammonia were within the recommended range. Only the total phosphorus in point C showed above the reference value. For the dissolved oxygen was no significant difference in point C, which obtained the highest average OD value of 6.89 mg L⁻¹ relative to point A, which obtained the lowest average concentration of 5.59 mg L⁻¹, lower than expected for Class 1 waters (≥ 6 mg.L⁻¹). Statistical analysis showed that the differences between the concentrations of heavy metals by sampling site were not significant ($p > 0.05$) compared to Point A. Cd and Pb exhibited concentrations below the level of detection. The average concentrations of Cu, Cr and Mn in the three points collected exceeded the values for Class 1 rivers. For Cu points A, B and C had concentrations of 0.02, 0.03 and 0.03 mg.L⁻¹, for Cr 0.33, 0.19 and 0.43 mg.L⁻¹ and for Mn 0.97, 1.2 and 1.2 mg.L⁻¹. These values are above the limit allowed by Fresh Waters Class 1 by CONAMA Resolution 357, indicating contamination of water resources for these metals.

Key - words: Concentration of metals. Formoso and Javaés rivers.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, observamos que a demanda e a oferta dos recursos hídricos está cada vez mais comprometida em algumas regiões do Brasil. As águas superficiais e as subterrâneas estão sendo contaminadas com esgotos industriais, agrícolas e urbano, pondo em risco a saúde humana e dos ecossistemas.

A contaminação aquática compromete a qualidade da água que é um recurso indispensável à manutenção de diversas atividades econômicas e à vida. Dentre as várias classes de substâncias químicas que podem alcançar o meio aquáticos, destacam-se os agrotóxicos (herbicidas, inseticidas, fungicidas) e metais pesados ou elementos-traço, que são moléculas não biodegradáveis (ABEL, 1996; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Os agrotóxicos são considerados extremamente relevantes no modelo de desenvolvimento da agricultura no país, sendo o Brasil um dos maiores consumidores de agroquímicos no mundo (IBEGE, 2012; PELAEZ, et al., 2011). Na safra de 2011 no Brasil, foram plantados 71 milhões de hectares de lavoura temporária (soja, milho, cana, algodão) e permanente (café, cítricos, frutas, eucaliptos), o que corresponde a cerca de 853 milhões de litros (produtos formulados) de agrotóxicos pulverizados, principalmente de herbicidas, fungicidas e inseticidas, representando média de uso de 12 litros/hectare e exposição média ambiental/ocupacional/alimentar de 4,5 litros de agrotóxicos por habitante (IBGE, 2012).

A agricultura representa uma das mais importantes fontes não pontuais de poluição por metais em corpos d'água, sendo as principais fontes liberadoras desses elementos, os fertilizantes (Cd, Cr, Pb, Zn), os pesticidas (Cu, Pb, Mn, Zn) e os preservativos de madeira (Cu, Cr) (PEDROZO; LIMA, 2001; SANTOS et al., 2002).

Os metais podem ser introduzidos nos ecossistemas aquáticos de maneira natural por meio do aporte atmosférico, fluvial e intemperismo a partir da rocha matriz ou de outros compartimentos do solo onde estão naturalmente ou artificial por fontes antropogênicas de diversos ramos: efluentes de esgoto, efluentes de indústrias, atividades agrícolas, rejeitos de áreas de mineração e garimpos (YABE; OLIVEIRA, 1998; FARIAS, 2006; PAULA, 2006; SANTANA;

BARRONCAS, 2007; GOMES; SATO, 2011). Os metais lançados no solo, a partir das atividades agrícolas são carreados para os rios pelo escoamento de águas superficiais provenientes das chuvas, persistindo no meio aquático por apresentar forma livre, ou iônica, o que facilita sua acumulação nos tecidos principalmente dos peixes (QUEIROZ, 2006; VINODHINI; NARAYANAN, 2008).

Além dos perigos aos seres humanos nos aspectos ocupacionais, alimentares e de saúde pública, sabe-se que a introdução de agrotóxicos no ambiente pode provocar efeitos indesejáveis, tendo como consequência mudanças no funcionamento do ecossistema afetado (SPADOTTO, 2006).

A cidade de Lagoa da Confusão, localizada no Estado do Tocantins, é conhecida pelo crescente desenvolvimento de sua principal atividade econômica, a agricultura irrigada (SANTOS; RABELO, 2004).

Segundo dados do IBGE, só entre os anos de 2011 e 2013 foram produzidos na região mais de 1.074.753 toneladas de alimentos, sendo que dentre os alimentos produzidos, 169.600 toneladas foram de soja, 487.380 toneladas de arroz, 35.360 toneladas de feijão, 236.000 toneladas de melancia, 713 toneladas de milho sendo que a produção vem aumentando ao longo dos anos, porém não há dados sobre o consumo anual de agrotóxicos nessa região. Consequentemente, há o aumento do uso de insumos agrícolas para manutenção dos atuais níveis de demanda do mercado produtor.

Em rios, a carga total de elementos-traço depende das características geológicas e ecológicas das bacias de drenagem e do tipo de atividade humana nelas presentes (ESTEVEES, 1998). Como os metais pesados não podem ser degradados, eles são depositados, assimilados ou incorporados na água, nos sedimentos e animais aquáticos podendo acumular na carne de peixes e se concentrar nos altos níveis tróficos (DOREA; BARBOSA, 2007; CASTRO-GONZALEZ; MENDEZ-ARMENTA, 2008; RAHMAN et al., 2012; STORELLI et al, 2013; ELNABRIS et al., 2013).

Sua toxicidade é devida à sua capacidade de interferir em processos enzimáticos e na sua pouca mobilidade no organismo em função do pequeno tamanho e das cargas duplas/triplas e esta baixa mobilidade faz com que os elementos se acumulem, provocando modificações no metabolismo que podem resultar na morte do organismo afetado (ESTEVEES, 1998).

Parâmetros físico-químicos como temperatura, oxigênio dissolvido, pH, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal são frequentemente utilizados para avaliar a qualidade da água tanto em ambientes naturais (SILVA; MARTINEZ, 2004; SOUSA; ALMEIDA; CARVALHO-NETA et.al., 2013) como experimentais (GARCIA-SANTOS et. al, 2007; ZHENG et.al., 2011;) assim como os dados de concentração de metais na água (PANDEY et al., 2003; AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2011; ZRNČIĆ et.al., 2013).

Sendo assim este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade da água dos rios Javaés e Formoso em uma área agrícola na região de Lagoa da Confusão – TO, por meio da análise de parâmetros físico-químicos e da concentração de metais na água comparando-os com os valores permitidos para Águas Doces de Classe 1, previstos na resolução CONAMA 357.

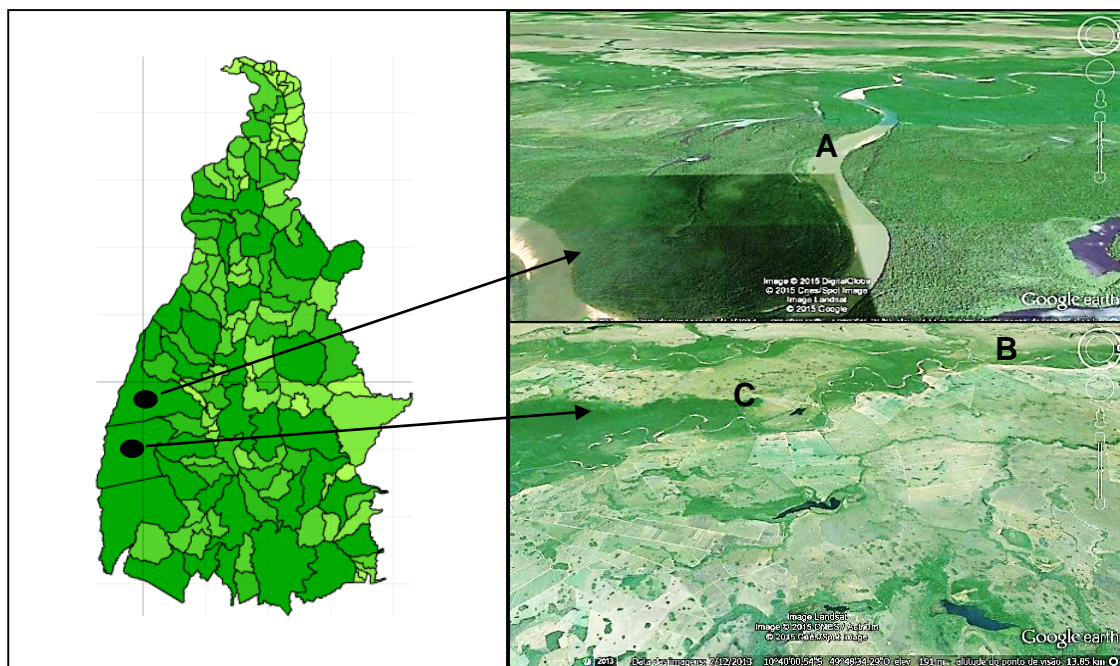
2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

Como área de estudo, escolheu-se 3 regiões entre as cidades de Pium e Lagoa da Confusão, Estado do Tocantins, com áreas economicamente agrícola, preservação ambiental e com comunidades indígenas (Figura 1).

As coletas de água foram no período de setembro de 2013 a outubro de 2014. Foram duas coletas por ponto, sendo uma no período de estiagem e outra no período de cheia (PAULINO et al., 2014).

FIGURA 1 – Área de estudo: Ponto A - rio Javaés (Pium), Ponto B – rio Javaés (Lagoa da Confusão) e Ponto C – rio Formoso (Lagoa da Confusão).



FONTE: WebCart IBGE
(<http://www.ibge.gov.br/webcart/swf/swf.php?nFaixas=5&ufs=17>) e Google Earth .

O Ponto A, rio Javaés, foi considerado como área de referência e localiza-se em uma Área de Proteção Ambiental (APA) – Parque Nacional do Araguaia, localizado no município de Pium. Os pontos B e C, rios Javaés e Formoso respectivamente, situam-se na cidade de Lagoa da Confusão (latitude $10^{\circ} 47'37''$ S e longitude $49^{\circ} 37'25''$ W), onde ocorre intensa atividade agrícola com utilização da água dos rios para irrigação das plantações, presença de reservas indígenas (Karajá, Javaé e Khraô-Canela), sendo por esse motivo escolhidos como foco de investigação do presente estudo.

Os valores de referência para os parâmetros físico-químicos e de concentração de metais na água foram baseados na resolução CONAMA 357 para águas doces de Classe 1.

O sentido do fluxo dos rios nos pontos: passa primeiro no ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão), em seguida no ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão) e segue em direção ao o ponto A (rio Javaés - Pium).

2.2. Análises da água

O pH, oxigênio dissolvido (OD) e a temperatura foram medidas nos locais de coleta com o analisador multiparâmetro Horiba modelo U-22XD. As amostras foram coletadas imersas a ± 30 cm, em uma distância aproximada de 2 m da margem e armazenadas em frascos de polietileno de 1000 mL previamente lavadas com HNO_3 1 mol/L e água destilada, mantidas em gelo (4°C) dentro de uma caixa de isopor até o momento da análise. Os parâmetros de nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal e fósforo total foram analisados no espectrofotômetro Hach modelo DR500.

Para análise de metais Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Mn, e Zn as amostras foram inicialmente concentradas com ácido nítrico em placas aquecedoras e mantidas refrigeradas (4°C) até o momento da leitura em espectrofotômetro de Absorção Atômica Varian (modelo AA140). Toda a vidraria utilizada permaneceu previamente em imersão por no mínimo 24 horas em HNO_3 a 10%, com a finalidade de evitar a contaminação por metais e lavadas com água destilada antes da utilização.

A qualidade físico-química e concentração de metais na água foi determinada pela média obtida para cada parâmetro, em duplicata, comparada com o valor máximo permitido (V.M.P) para Águas Doces de classe 1 estabelecidas pela Resolução nº 357 do CONAMA (BRASIL, 2005), definidas como: águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado, à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contato primário (natação, esqui aquático e mergulho), à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película e à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

2.3. Análise Estatística

Os dados dos parâmetros físico-químicos e de concentração de metais foram submetidos ao teste paramétrico ANOVA seguidos do teste Post Hoc de Tukey utilizando-se o programa estatístico software GraphPad InStat v 3.00 para

Windows 95® (GRAPHPAD INSTAT, 1998). Para diferenças significativas, foi considerada a probabilidade de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos temperatura, pH, OD, fósforo total, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal dos locais de coleta não apresentaram diferenças significativas em relação ao ponto A (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos da água nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Pium), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). V.M.P é o valor de referência baseado na resolução CONAMA 357. Dados são a média. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.

Parâmetros	Ponto A	Ponto B	Ponto C	V.M.P
Temperatura (°C)	29,8	30,7	30,63	-
pH	6,5	6,2	6,4	6,0 - 9,0
OD (mg.L ⁻¹)	5,6	6	6,89*	≥ 6 (mg.L ⁻¹)
Fósforo total (mg.L ⁻¹)	0,07	0,06	0,21 *	0,1 (mg.L ⁻¹)
Nitrito (mg.L ⁻¹)	0	0	0	1 (mg.L ⁻¹)
Nitrato (mg.L ⁻¹)	0,16	0,05	0,31	10 (mg.L ⁻¹)
Nitrogênio Amoniacal (mg.L ⁻¹)	0,15	0,16	0,13	3,7 (mg.L ⁻¹)

A concentração de nitrito apresentou valor zero em uma faixa de detecção de leitura $> 0,002$ mg.L⁻¹.

Os dados de concentração de metais na água estão apresentados na Tabela 2. A análise estatística mostrou que as diferenças entre as concentrações de metais pesados por local de amostragem não foram significativas em relação ao Ponto A. Cd e Pb apresentaram concentrações abaixo do nível de detecção do aparelho.

A média das concentrações de Cu, Cr e Mn nos três pontos coletados excederam os valores para rios de Classe 1 pela resolução 357 do CONAMA, que são 0,009 mg.L⁻¹ para o cobre, 0,05 mg.L⁻¹ para o cromo e 0,1 mg.L⁻¹ para o manganês.

Tabela 2: Concentração de metais na água nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Pium), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). V.M.P é o Valor máximo Permitido baseado na resolução CONAMA 357 para Classe 1. Dados são a média.

Metal (mg.L⁻¹)	Ponto A	Ponto B	Ponto C	V. M. P. (mg.L⁻¹)
Cu	0,02	0,03	0,03	0,009
Cr	0,33	0,19	0,43	0,05
Mn	0,97	1,6	1,2	0,1
Ni	0,01	0,03	0,01	0,025
Zn	0,02	0,01	-	0,18

4. DISCUSSÃO

Parâmetros como temperatura, oxigênio dissolvido, pH, nitrogênio e fósforo influenciam no metabolismo, desenvolvimento dos organismos, disponibilidade de nutrientes, toxicidade de contaminantes e produtividade do ecossistema aquático (MORO et al., 2013).

Os parâmetros físico-químicos são influenciados por processos naturais e antrópicos (MALIK et al., 2010). Neste estudo, a temperatura média da água variou entre 28,5 a 32,7 °C entre períodos de estiagem e chuvoso. As variações de temperatura são parte do regime climático normal, e corpos de água naturais apresentam variações sazonais e diurnas, bem como estratificação vertical (ESTEVES, 1998).

Os resultados de pH apresentaram-se ligeiramente ácidos com variação de 5,6 a 7,3. Os valores obtidos para pH, nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal se enquadram nos valores recomendados para Águas Doces de Classe 1 segundo o a resolução CONAMA 357 (BRASIL, 2005) e estão dentro da faixa adequada para o desenvolvimento normal da maioria dos teleósteos (RODRIGUES et al., 2013).

Para o oxigênio dissolvido houve diferença significativa no ponto C, que registrou-se maior valor de OD médio (6,89 mg.L⁻¹) em relação ao ponto A, o qual obteve a menor concentração (5,59 mg.L⁻¹) entre os três pontos amostrados, sendo inferior à concentração prevista para águas de Classe 1 (≥ 6 mg.L⁻¹). Esse fato pode ser devido à uma característica intrínseca do

ecossistema aquático da região uma vez que esse ponto está localizado em uma Área de Preservação Ambiental e portanto não sofre influência direta de atividades antrópicas. Segundo Esteves (1998) nas águas continentais, o oxigênio dissolvido sofre variações diárias, dependendo de fatores abióticos como temperatura, incidência de raios solares, matéria orgânica dissolvida, profundidade, biomassa de produtores primários e fotoperíodo, entre outros.

Porém, apesar da menor concentração de oxigênio dissolvido no ponto A, esse nível encontra-se dentro dos valores esperados para o bom desenvolvimento dos organismos de ecossistemas aquáticos tropicais e acima do nível crítico de 3 mg.L^{-1} (MORO et al., 2013).

Apenas o fósforo total no ponto C apresentou-se acima do valor de referência, o que pode ser resultado da lixiviação de compostos químicos utilizados nas atividades agrícolas, somado à presença de matéria orgânica dissolvida. Segundo Moro et al. (2013) esse nutriente, apesar de estar presente naturalmente em rochas, detritos e membranas celulares, por exemplo, apresenta-se em concentrações elevadas no ambiente devido a influência de fontes antropogênicas.

Outro fato relevante é que o fósforo faz parte da composição de fertilizantes utilizados nas atividades agrícolas, sendo o Tocantins o terceiro maior consumidor de fertilizantes da região Norte (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2011), podendo ser disponibilizados a partir da aplicação desses ingredientes na agricultura, em quantidades significativas no rio Formoso, em Lagoa da Confusão.

Em relação a baixa concentração de nitrito detectada nos três pontos, de acordo com Esteves (1998) esse nutriente é encontrado em baixas concentrações em ambientes aquáticos oxigenados.

Dos metais analisados, o cobre, cromo, manganês e zinco são essenciais aos seres vivos, em pequenas concentrações, pois tem papel importante no metabolismo dos organismos aquáticos, uma vez que participam dos processos fisiológicos, porém em altas concentrações podem apresentar toxicidade. Por outro lado, níquel, cádmio e chumbo não tem função biológica conhecida e são

geralmente tóxicos para maioria dos organismos (HEATH, 1995; ESTEVES, 1998).

A média das concentrações de Cu, Cr e Mn nos três pontos coletados excederam os valores para rios de Classe 1 pela resolução 357 do CONAMA. Pesquisas revelam que a lixiviação das águas superficiais e a infiltração da água intersticial para rios e lagos podem introduzir nutrientes a partir de fertilizantes e agrotóxicos nos corpos d'água em áreas onde se desenvolvem atividades de agricultura (ABEL, 1996; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Ferreira (2009) ao estudar o acúmulo de metais pesados em água ao longo da Baía de Sepetiba (RJ), impactada por atividades de indústria e agricultura, registrou valores acima do limite máximo permitido pela legislação onde o cromo obteve uma concentração de $0,0532 \text{ mg.L}^{-1}$ e o cobre de $0,0364 \text{ mg.L}^{-1}$ em pontos que não apresentam boas condições de saneamento, impactando significativamente o meio ambiente. Esses resultados são semelhantes aos observados para o Cu e Cr nos pontos B e C, que estão próximos às áreas agrícolas, onde a concentração média foi de $0,03$ e $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Cu e $0,19$ e $0,43 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Cr.

No Estado do Rio Grande do Sul, Porto e Ethur (2009) avaliaram a disponibilidade de metais na água em três pontos, em rios da Bacia Hidrográfica Butuí-Icamaquã (RS), a qual localiza-se em uma região cuja economia está baseada na atividade agropecuária com uso intensivo do solo e dos recursos hídricos com larga aplicação de agroquímicos. Nesta área detectou-se valores semelhantes aos do presente estudo, logo, acima do previsto pelo CONAMA.

No Brasil pesquisas tem verificado diversas fontes de contaminação de corpos hídricos em função de entrada de poluentes de origem antrópica como a descarga de efluentes urbanos, domésticos, industriais (SANTANA; BARRONCAS, 2007; FERREIRA; HORTA; CUNHA, 2010; GOMES et. al., 2013) e de atividades de agropecuária pelo uso intensivo de agrotóxicos (PORTO; ETHUR, 2009). Os corpos hídricos vem apresentando níveis preocupantes de metais, evidenciando o potencial dos efeitos biológicos adversos nos diferentes níveis tróficos, o que sinaliza para a saúde dos organismos aquáticos e para população.

As concentrações acima do nível permitido pela legislação, registradas no presente estudo, podem estar relacionadas com as atividades econômicas que são desenvolvidas na região de Lagoa da Confusão e Pium. Segundo dados do IBGE (2013), nessa região há o desenvolvimento de culturas como arroz, feijão, soja, milho, melancia, mandioca e banana.

As atividades agrícolas no Brasil tem aumentado o consumo dos agrotóxicos, tornando-se necessário mais estudos de monitoramento para verificar possível contaminação dos recursos hídricos por essas substâncias químicas. Britto et.al (2012) também verificaram a presença de herbicidas na Sub-bacia do Rio Poxim, que abastece a cidade de Aracaju (SE), constatando que a qualidade da água está sendo influenciada pelo uso de herbicidas na região. Filizolla et.al. (2002) observaram a contaminação de águas superficiais por pesticidas utilizados na agricultura no ribeirão Jardim que abastece a cidade de Guaira (SP).

No Tocantins, Prado (2013) em um estudo sobre a susceptibilidade de contaminação dos recursos hídricos na Bacia Araguaia-Tocantins verificou que nas águas superficiais de áreas agrícolas podem ocorrer 28 diferentes compostos químicos dissolvidos. Lima (2010) constatou a utilização de mais de 70 compostos químicos, principalmente herbicidas e inseticidas, utilizados por produtores rurais na região de Lagoa da Confusão, nos projetos de agricultura irrigada.

Além disso, os valores de pH em torno de 6,3, tal como registrados na água dos rios Javaés e Formoso propicia a existência de um ambiente redutor e facilita uma maior mobilidade dos metais no sistema hídrico (SILVA et al., 2004).

Os dados dos parâmetros físico – químicos encontram-se próximas ou dentro da faixa prevista para água doce de Classe 1. Por outro lado, os teores dos metais pesados (Cu, Cr e Mn) na água dos rios Javaés e Formoso tanto para Pium (ponto A) quanto para as área impactadas pela agricultura na cidade de Lagoa da Confusão (pontos B e C), foram registrados acima do limite permitido pela Águas Doces de Classe 1 da resolução CONAMA 357, o que pode indicar uma contaminação em função dos agrotóxicos e/ou fertilizantes utilizados, sendo necessário estudos mais específicos para determinação de quais compostos de origem agroquímica estão presentes nos diferentes

compartimentos do ecossistema (ar, água, solo, sedimento, e nos diversos níveis tróficos) e em quais concentrações para se conhecer melhor sobre sua biodisponibilidade e possíveis riscos de contaminação para população humana.

5. CONCLUSÃO

- A água dos rios Formoso e Javaés apresenta-se contaminada por metais pesados, em detrimento da atividade agrícola da região, que está disponibilizando compostos xenobióticos para o ambiente.
- A população que utiliza desta água estará exposta a estes compostos, podendo desenvolver problemas de saúde em função da absorção e acúmulo dessas substâncias no organismo.

REFERÊNCIAS

- ABEL, P. D.. **Water Pollution Biology**. 2.ed. Taylor & Francis. 1996. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=1qkFs3VflkYC&printsec=frontcover&hl=ptBR&vq=%22Biology+of+Freshwater+Pollution%22&source=gbs_citations_module_r&cad=2#v=onepage&q=%22Biology%20of%20Freshwater%20Pollution%22&f=false>. Acesso em 31 de jan. de 2015.
- AKTAR, M. W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A.. Occurrence of heavy metals in fish: a study for impact assessment in industry prone aquatic environment around Kolkata in India. **Environ Monit Assess**, v.181, p. 51–61, 2011.
- ALVES, R. I. S.; TONANI, K. A. A.; NIKAIDO, M.; CARDOSO, O. O.; TREVILATO, T. M. B.; SEGURA-MUNOZ, S. I.. Avaliação da concentração de metais pesados em águas superficiais e sedimentos do Córrego Monte Alegre e afluentes, Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Ambi-Água**, Taubaté. v.5, n.3, p. 122-132, 2010.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Alterada pela Resolução 410/2009 e pela Resolução 430/2011. Brasília, 2005.

BRITTO, F. B.; *et al.* Herbicidas no alto rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. **Revista de Ciência Agronômica**. v.43, n.2, p. 390-398, 2012.

BOTELHO, R. G. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba (SP) e efeito da vinhaça para organismos aquáticos antes e após a correção do pH**. Piracicaba, 2013. 107f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

CAMARGO, M. M.; MARTINEZ, C. B. R.. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.

CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C.. Dossiê ABRASCO –**Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. ABRASCO, Rio de Janeiro, abril de 2012. 1ª Parte. 98p.

CASTRO-GONZALEZ, M. I.; MENDEZ-ARMENTA, M.. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 26, p. 263–271, 2008.

CHEN, Q. L.; LUO, Z.; ZHENG, J. L.; LI, X. D.; LIU, C. X.; ZHAO, Y. H.; GONG, Y. Protective effects of calcium on copper toxicity in *Pelteobagrus fulvidraco*: Copper accumulation, enzymatic activities, histology. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 126–134, 2012.

DOREA, J. G.; BARBOSA, A. C.. Anthropogenic Impact of Mercury Accumulation in Fish from the Rio Madeira and Rio Negro Rivers (Amazonia). **Biological Trace Element Research**. V. 115, 2007. 243 A 254 P.

ELNABRIS, K.; MUZYED, S. K.; EL-ASHGAR, N. M.. Heavy metal concentrations in some commercially important fishes and their contribution to heavy metals exposure in Palestinian people of Gaza Strip (Palestine). *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, v.13, p. 44–51, 2013.

ESTEVEES, F. A.. **Fundamentos de Limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FERREIRA, A. P. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, água e em *Leucopternis lacernulata* (gavião-pomba). Estudo de caso: Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Gaia Scientia**. v. 3, n. 2, p. 23-31, 2009.¹

FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A.; CUNHA, C. L. N.. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de

Nycticorax nycticorax (Garça-da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. **Revista da Gestão Costeira Integrada**. v.10, n.2, p. 229-241, 2010.

FILIZOLA, H. F.; *et al.* Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. Brasília, v.37, n.5, p. 659-667, 2002.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.2, p.376-381, 2007.

GOMES, M. V. T.; SATO, Y. Avaliação da contaminação por metais pesados em peixes do Rio São Francisco à jusante da represa de Três Marias, Minas Gerais, Brasil. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 6, n. 1, p. 24-30, 2011.

GOMES, O. V. O.; MARQUES, E. D.; SOUZA, M. D. C.; SILVA-FILHO, E. V.. Influência antrópica nas águas superficiais da cidade de Três Rios, (RJ). **Geochimica Brasiliensis**, v. 27, n. 1, p. 77-86, 2013.

GUARATINI, T.; CARDOZO, K. H. M.; PAVANELLI, D. D.; COLEPICOLO, P.; PINTO, E.. Ecotoxicologia. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. de A.; BATISTUZZO, J. A. de O. (EDITORES). **Fundamentos de Toxicologia**. 3. ed.. Atheneu Editora: São Paulo, 2008. p. 126-141.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J.. **Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro**. 3. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2011. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n. 319)

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável – Brasil 2012**. Disponível em <ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/indicadores_desenvolvimento_sustentavel/2012/ids2012.pdf> Acesso em 04 mar. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola em 2014**. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistemático_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Comentarios/lspa_201412comentarios.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistemático_da_Producao_Agricola_[mensal]/Comentarios/lspa_201412comentarios.pdf)>. Acesso em: 30 jan. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção Agrícola Municipal 2011 - 2013**. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=171190>>. Acesso em: 29 de jan. de 2015.

LIMA, R. A. M.. **Avaliação da contaminação de *Leptodactylus ocellatus*, ocasionada por agrotóxicos, na sub-bacia do rio Urubu – TO**. Palmas, 2010. 176f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em

Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2010.

MAZON, A. F.; CERQUEIRA, C. C. C.; FERNANDES, M. N. Gill Cellular Changes Induced by Copper Exposure in the South American Tropical Freshwater Fish *Prochilodus scrofa*. **Environmental Research Section**, v.88, p. 52-63, 2002.

MALIK, N.; BISWAS, A. K.; QURESHI, T. A.; BORANA, K.; VIRHA, R.. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. **Environ Monit Assess**, v. 160, p. 267–276, 2010.

MONTES, C. S.; ROSA FILHO, J. S.; ROCHA, R. M.. Histological Biomarker as Diagnostic Tool for Evaluating the Environmental Quality of Guajará Bay – PA – Brazil. **Environmental Monitoring - InTech**. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/environmental-monitoring/histological-biomarker-as-diagnostic-tool-for-evaluating-the-environmental-quality-of-guajara-bay-pa>>. Acesso em 20 de nov. de 2014.

MORO, G. V.; TORATI, L. S.; LUIZ, D. B.; MATOS, F. T.. **Monitoramento e manejo da qualidade da água em pisciculturas**. In: Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Editores Técnicos: Rodrigues, A. P. O.; Lima, A. F.; Alves, A. L.; Rosa, D. K.; Torati, L. S.; Santos, V. R. V.. Brasília – DF: Embrapa, 2013. 440 p.

PANDEY, S.; PARVEZ, S.; ANSARI, R. A.; ALI, M.; KAUR, M.; HYAT, F.; AHMAD, F.; RAISUDDIN, S.. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. **Chemico-Biological Interactions**. v. 174, p. 183–192, 2008.

PAULINO, M. G.; BENZE, T. P.; SADAUSKAS-HENRIQUE, H.; SAKURAGUI, M. M.; FERNANDES, J. B.; FERNANDES, M. N.. The impact of organochlorines and metals on wild fish living in a tropical hydroelectric reservoir: bioaccumulation and histopathological biomarkers. **Science of the Total Environment**. v.497, n. 498, p. 293–306, 2014.

PEDROZO; M. F. M.; LIMA, I. V. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos**. Salvador: CRA, 2001. 128 p.

PELAEZ, V.; SILVA, L. R.; ARAÚJO, E. B. **Regulation of pesticides: a comparative analysis**. 2011. Disponível em: <<http://spp.oxfordjournals.org/content/early/2013/04/03/scipol.sct020.abstract>>. Acesso em: 04 mar. 2015.

PORTO, L. C. S.; ETHUR, E. M. Elementos traço na água e em vísceras de peixes da Bacia Hidrográfica Butuí-Icamaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.39, n.9, p. 2512-2518, dez, 2009.

PRADO, G. L. do. **Avaliação da susceptibilidade à contaminação de corpos hídricos, em áreas de cultivo e do entorno (Reservas Indígenas), pelo uso de agrotóxicos.** Palmas, 2013. 103f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2013.

QUEIROZ, M. T. A. **Bioacumulação de metais pesados no Rio Piracicaba, Minas Gerais, aplicando a análise por ativação Neutrônica Instrumental.** 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial) – Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, Coronel Fabriciano, 2006.

RAHMAN, M. S.; MOLLA, A. H.; SAHA, N.; RAHMAN, A.. Study on heavy metals levels and its risk assessment in some edible fishes from Bangshi River, Savar, Dhaka, Bangladesh. **Food Chemistry**. n. 134, p. 1847-1854, 2012.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment.** 2 ed., Taylor & Francis: Washington, 1995, cap. 1.

RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V.. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos.** Editores Técnicos: Brasília – DF: Embrapa, 2013. 440 p.

SANTANA, G.P.; BARRONCAS, P.S.R. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu Manaus – (AM). **Acta Amazônica**, Manaus, AM, v.37, n.1, p.111-118, 2007.

SANTOS, A.; ALONSO, E.; CALLEJÓN, M.; JIMÉNEZ, J. C. Distribution of Zn, Cd, Pb and Cu metals in groundwater of the guadamar river basin. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 134, p. 275-286, 2002.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.

SILVA, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores da contaminação aquática.** Londrina, 2004. 80f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia e Botânica da Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2004.
SILVA, A.C.; DEZOTTI, M.; SANT'ANNA Jr., G.L.. Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. **Chemosphere**, v.55, p. 207-214, 2004.

SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F.. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.369-376, 2013.

SPADOTTO, C.A. **Avaliação de Riscos Ambientais de Agrotóxicos em Condições Brasileiras**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 22 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 58).

SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; LUCHINI, L. C.; ANDREA, M. M. de. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 42).

STORELLI, M. M.; BARONE, G.; PERRONE, V. G.; STORELLI, A.. Risk characterization for polycyclic aromatic hydrocarbons and toxic metals associated with fish consumption. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 31, p. 115–119, 2013.

VINODHINI, R.; NARAYANAN, M. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Intitute Journal Environment Science Technology*, v. 5, n. 2, p. 179-182, 2008.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**. São Carlos: Rima, 2006. p. 55-87.

ZRNČIĆ, S.; ORAIĆ, D.; ČALETA, M.; MIHALJEVIĆ, Z.; ZANELLA, D.; BILANDŽIĆ, N.. Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. *Environ Monit Assess*, v. 185, p. 1189–1198, 2013.

WARD, D. M.; MAYES, B.; STURUP, S.; FOLT, C. L.; CHENA, C. Y.. Assessing element-specific patterns of bioaccumulation across New England lakes. *Total Environ*, p.230–237, 2012.

CAPÍTULO III

Uso de biomarcadores para avaliação do risco ecológico por xenobióticos associado à atividades agrícolas

RESUMO

Os peixes tem sido frequentemente utilizados como bioindicadores de impactos ambientais causados por diferentes atividades antrópicas, como por exemplo, atividades agrícolas, onde alterações de respostas biológicas são usadas como biomarcadores na avaliação do bem estar animal. Objetivou-se neste trabalho avaliar por meio de biomarcadores o risco ecológico por xenobióticos associados às atividades agrícolas utilizando o tucunaré (*Cichla sp.*) como bioindicador. O trabalho foi realizado na região sudoeste do estado do Tocantins, nas cidades de Lagoa da Confusão e Pium. As coletas dos exemplares de *Cichla sp.* foram realizadas nos rios Javaés e Formoso em três pontos, chamados de A, B e C. Os peixes foram analisados por meio da concentração de metais Cd, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni e Zn no fígado e músculo, e com os seguintes biomarcadores: teste Micronúcleo, bioquímicos (níveis séricos de glicose, AST e ALT) e histológicos (brânquias e fígado). A acumulação dos metais foi maior para o Zn e menor para o Cd no fígado e músculo. Apenas o Cr estava acima do limite máximo permitido para consumo humano, porém não foi significativamente diferente em relação ao ponto A ($p>0,05$). O teste de micronúcleo revelou uma baixa frequência nos três locais de coleta. Observou-se hiperglicemia significativa e diminuição da atividade de AST dos animais do ponto C. Nas brânquias, as alterações mais frequentes foram de Estágio I e II, de leves a moderadas mas que podem prejudicar o funcionamento normal do órgão, sendo elas: descolamento epitelial, hiperplasia e hipertrofia do epitélio lamelar, congestão, fusão lamelar parcial e total, edema, infiltrado inflamatório, dilatação capilar e em menor frequência aneurisma (Estágio II) e necrose focal (Estágio III). As alterações histológicas observadas no fígado mais frequentes foram de Estágio I e II, como vacuolização citoplasmática, hipertrofia nuclear, dilatação dos sinusóides, desarranjo dos cordões hepáticos, estagnação biliar, congestão dos vasos, infiltrado inflamatório e núcleos picnóticos. Observou-se também a ocorrência de necrose focal. A avaliação integrada desses biomarcadores permite inferir que os animais provenientes de áreas com intensas atividades de agricultura estão apresentando respostas adaptativas. Isso provavelmente se deve à disponibilização e bioacumulação de alguns xenobióticos presentes no meio, sendo necessário o monitoramento da qualidade do ecossistema aquático na região, uma vez que os tucunarés além do seu papel ecológico no ecossistema aquático, também fazem parte da alimentação da população local.

Palavras-chave: Concentração de metais. Biomarcadores. *Cichla sp.*.

CAPÍTULO III

Use of biomarkers for assessment of ecological risk by xenobiotics associated with agricultural activities

ABSTRACT

Fish has often been used as bio-indicators of environmental impacts caused by various human activities, such as agricultural activities, where biological response changes are used as biomarkers in assessing the health status of the animals. The aim of this study was to evaluate biomarkers through the ecological risk by xenobiotics associated with agricultural activities using the peacock bass (*Cichla sp.*) As a bioindicator. The study was conducted in the southwestern region of the state of Tocantins, in the cities of Confusion Lagoon and Pium. Samplings of specimens of *Cichla sp.* were held in Javaés and Formoso rivers in three points, called A, B and C. The fish was analyzed using the concentration of Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni and Zn in the liver and muscle, and the following biomarkers: genotoxic (micronucleus test) and biochemical (serum glucose, AST, ALT and ChE) and histological (liver and gills). The trend of accumulation suggested that the deposition was highest for Zn and damn Cd in the liver and muscle. Only Cr was above the maximum allowed for human consumption, but was not significantly different at point A ($p > 0.05$). The micronucleus test revealed a low frequency in the three collection sites. There was a significant hyperglycemia and decreased AST activity of the animals from the point C. In the gills, the most frequent changes were stage I and II, from mild to moderate but can disrupt the normal functioning of the organ, namely: epithelial lifting, hyperplasia and hypertrophy of the lamellar epithelium, congestion, partial lamellar fusion and total, edema, inflammatory infiltration, capillary dilatation and less frequently aneurysm (Stage II) and focal necrosis (Stage III). The observed histological changes in the liver were more frequent of stage I and II as cytoplasmic vacuolization and nuclear hypertrophy, dilated sinusoids disarrangement of hepatic cords, bile stagnation, congestion of blood vessels, inflammatory infiltrate and pyknotic nuclei. We also observed the occurrence of focal necrosis. The integrated evaluation of these biomarkers may infer that the animals from areas with intense agricultural activities are presenting adaptive responses. This is probably due to the availability and bioaccumulation of some xenobiotics in the environment, being necessary to monitor the quality of the aquatic ecosystem in the region, as the peacock bass in addition to their ecological role in the aquatic ecosystem, are also part of the food for the local population.

Key-words: Concentration of metals. Biomarkers. *Cichla sp.*.

1. INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de insumos agrícolas, bem como o manejo do solo, aliado a falta de consciência da população na proteção do solo e da água, aumentam a probabilidade de poluição ambiental (RHEINHEIMER et al., 2003).

No Tocantins, no Vale dos rios Javaés e Formoso, situados no município de Lagoa da Confusão, há uma imensa área de várzea, com mais de 500 mil hectares, entre os rios Araguaia e seus afluentes Urubu, Javaés e Formoso, que é considerada a maior área contínua para irrigação por gravidade do mundo (SANTOS; RABELO, 2004).

Nesta área está implantado um projeto de agricultura irrigada, o Projeto Javaés, cujas principais culturas, entre temporárias e permanentes estão o arroz, soja, feijão, melancia, banana e milho, sendo o maior produtor de arroz irrigado do estado do Tocantins (IBGE, 2013). A altitude da área está em torno de 200 m e o relevo tem inclinação menor que 0,05%, o que favorece as inundações periódicas, dando origem a solos mal drenados (SANTOS; RABELO, 2004).

Lima (2010) observou a utilização de mais de 70 compostos químicos diferentes nas lavouras de Lagoa da Confusão, sendo a maioria herbicida e inseticidas, além disso, 31% dos princípios ativos utilizados na bacia Araguaia – Tocantins tem alto potencial de contaminação para águas superficiais (PRADO, 2013).

Em ecossistemas aquáticos, os peixes são considerados como bons indicadores da saúde do ambiente devido às diferentes posições que ocupam na cadeia alimentar, especialmente os piscívoros (ADAMS; GREELEY, 2000), sendo frequentemente usados como bioindicadores do estado de saúde dos ecossistemas aquáticos (JESUS; CARVALHO, 2008; RODRIGUES et al., 2010; IWANOWICZ et al., 2012).

Os bioindicadores são organismos sentinelas que respondem por meio de alterações em vários níveis estruturais desde celular, fisiológico, bioquímico, genético, histológico até mudanças nos padrões de comportamentos que podem afetar a estrutura populacional da espécie, como resposta aos agentes estressores presentes no meio (RODRIGUES et. al., 2010; RABITTO, et. al., 2011; VELUSAMY et. al., 2014).

Os biomarcadores podem ser definidos como variações bioquímicas, celulares, fisiológicas ou comportamentais que podem ser medidas em amostras de tecido ou fluidos corporais, ou no nível de organismos completos (DEPLEDGE, 1994). Essas alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas são utilizados de maneira complementar em programas de biomonitoramento ambiental, pois funcionam como sinais de problemas ambientais emergentes e para proporcionar provas de exposição e/ou efeitos de um ou mais contaminantes (VAN DER OOST et al., 2003; CAMARGO; MARTINEZ, 2007; SANCHEZ et al., 2010).

A frequência de micronúcleos, alterações de parâmetros bioquímicos como glicemia e mudanças na atividades de enzimas hepáticas, a análise das histopatologias são alguns exemplos de biomarcadores amplamente utilizados para avaliação dos efeitos para saúde dos organismos que estão expostos a contaminantes ambientais em seus habitats naturais (AL-SABITI; METCALFE, 1995; AHMED et. al.; 2011; PARVATHI et. al., 2011; GLUSCZAK et al., 2006; JESUS, FERNANDEZ, QUEIROZ, 2008; FU et. al., 2013; ZHENG et. al., 2011; SCHWEIGER et. al., 1997).

O presente estudo utilizou *Cichla sp.*, conhecido como Tucunaré, como bioindicador, uma espécie predadora e um recurso alimentar importante para comunidades ribeirinhas, sendo por isso, amplamente utilizado como indicador de contaminação ambiental por xenobióticos (FOSBERG; KEMENES, 2006; DOREA et. al., 2007; KEHRIG; HOWARD; MALM, 2008).

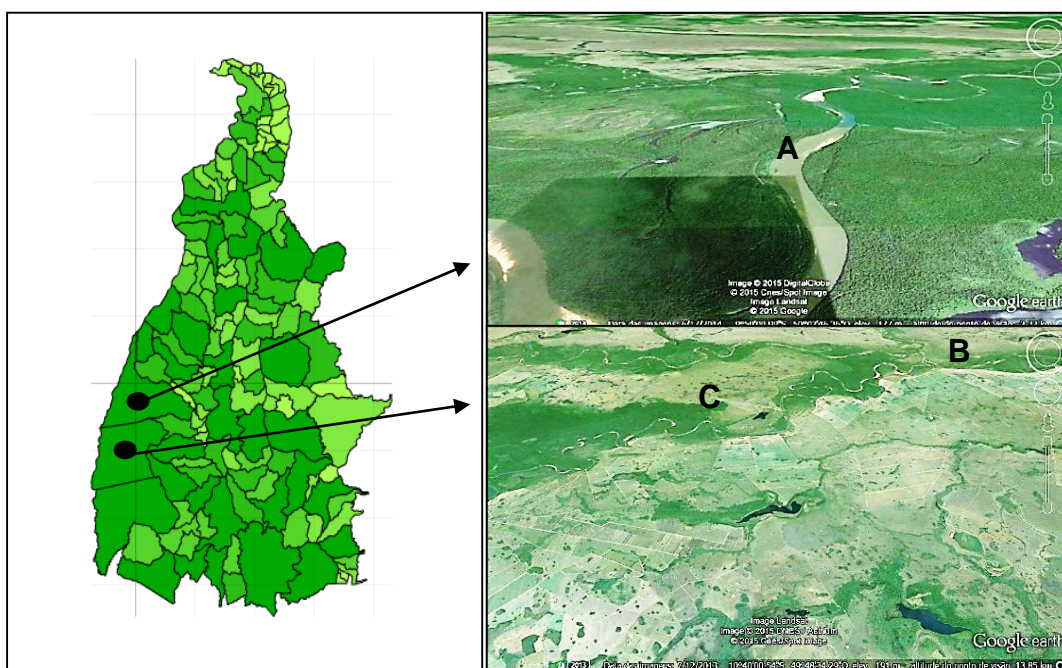
Uma vez que o ecossistema aquático dessa região e as comunidades ribeirinhas estão expostas à contaminação, pois mantém uma estreita relação sociobiológica com o ambiente em que vivem, objetivou-se avaliar por meio de bioindicador e biomarcadores o risco ecológico, por xenobióticos associados à atividades agrícolas na região de Lagoa da Confusão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo e coletas

Realizado na região sudoeste do Estado do Tocantins, as coletas dos exemplares de *Cichla sp.* foram nos rios Javaés e Formoso, dois tributários do rio Araguaia, no período de setembro de 2013 a outubro de 2014 em três pontos, denominados A, B e C (Figura 1), nas estações de estiagem e de cheia. O Ponto A é o rio Javaés, localizado na cidade de Pium. O ponto B é o rio Javaés, na cidade de Lagoa da Confusão e o ponto C – rio Formoso também localizado na cidade de Lagoa da Confusão.

FIGURA 1 – Localização dos pontos de estudo no Estado do Tocantins: ponto A – rio Javaés (Pium) e pontos B – rio Formoso e C – rio Javaés (Lagoa da Confusão).



FONTE: WebCart IBGE (<http://www.ibge.gov.br/webcart/swf/swf.php?nFaixas=5&ufs=17>) e Google Earth .

O ponto A foi considerado como local de referência pois trata-se de uma Área de Proteção Ambiental (APA) – Parque Nacional do Araguaia, e localiza-se no município de Pium (latitude 10°26'33" S e longitude 49°10'56" W), as coletas foram realizadas próximas ao Centro de Pesquisa Canguçu, da Universidade Federal do Tocantins/UFT. E os pontos B e C são o foco de investigação do presente estudo, pois situam-se na cidade de Lagoa da Confusão (latitude 10° 47'37" S e longitude 49° 37'25" W), onde ocorre intensa

atividade agrícola e utilização de diversos agrotóxicos, além da utilização da água dos rios para irrigação das plantações.

Os animais foram coletados por meio de linha e isca artificial apropriada para a espécie em estudo, autorizado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, por meio da licença SISBIO número 40542-2. Capturou-se um total 197 exemplares. Os dados biométrico (massa e comprimento) e número de exemplares coletados por ponto foram registrados.

2.2 Acúmulo de metais

Os animais foram sacrificados por secção medular para coleta dos órgãos e tecidos. Fragmentos de fígado e músculo foram acondicionados em sacos plásticos individuais, mantidos a 4°C e levados para o laboratório, onde foram armazenados à temperatura de -18°C.

Para análise do acúmulo de metais nos órgãos dos exemplares de *Cichla sp* utilizou-se o método de digestão úmida por ácido sulfúrico (H₂SO₄) no qual amostras foram pesadas (peso úmido de 0,3 a 2g) e transferidas para tubos contendo 8mL de H₂SO₄. A mistura foi deixada em repouso durante uma hora a temperatura ambiente. Acrescentou-se 4 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Os tubos foram transferidos para um bloco digestor a 250 °C por 2 horas. Após o resfriamento, à temperatura ambiente, foram adicionados mais 4 mL de H₂O₂ até o clareamento da solução. Quando a solução atingiu 25 °C a mesma foi transferida para um balão volumétrico para diluição com água destilada de volume final de 25 mL (HSEU, 2004). As amostras não foram filtradas.

A concentração de metais foi determinada por Espectrofotômetro de Absorção Atômica Varian (modelo AA140) utilizando diferentes lâmpadas de cátodo pelo método de chama por acetileno. Toda a vidraria utilizada permaneceu previamente em imersão por no mínimo 24 horas em HNO₃ a 10%, com a finalidade de evitar a contaminação por metais e lavadas com água destilada antes da utilização. As amostras foram analisadas no Laboratório Integrado de Pesquisas Químicas da Universidade Federal do Mato Grosso, *Campus Sinop* (Lipeq/UFMT/Sinop/MT).

Os níveis de contaminação por metais no músculo dos tucunarés foram baseados no Valor Máximo Permitido para consumo humano de acordo com o Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965 e Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998.

2.3 Avaliação genotóxica – Teste do Micronúcleo (MN)

A possível ação dos estressores químicos na biota local foi verificada a partir do teste de frequência de micronúcleo nos eritrócitos periféricos dos peixes no intuito de verificar a presença de potenciais efeitos genotóxicos.

O teste do micronúcleo seguiu a metodologia descrita por Grisolia *et.al.* (2009). Utilizou uma gota sangue para confecção da distensão sanguínea em lâmina, em triplicata para cada animal. Os esfregaços sanguíneos secaram a temperatura ambiente por 24 horas. Após secas, as lâminas foram fixadas em Metanol absoluto por 15 minutos e coradas com Giemsa 5% por 20 minutos. Um total de 3000 eritrócitos examinados para cada peixe, ao microscópio de luz com aumento de 100x. Os micronúcleos, considerados os corpúsculos que em relação ao núcleo apresentarem aproximadamente 1/3 do seu tamanho, estando nitidamente próximos, mas separados, com bordas distinguíveis, mesma cor e refringência em relação ao núcleo. A frequência de micronúcleos foi de acordo com Nwani *et. al.* (2011) pela seguinte fórmula:

$$\%MN = \frac{\text{n}^\circ \text{ de MN encontrados}}{\text{n}^\circ \text{ de células contadas}} \times 100$$

2.4 Análises Bioquímicas

O sangue foi coletado via punção da veia caudal, utilizando-se seringas de 5 mL e tubos tipo vacutainer com ativador de coágulo para obtenção do soro. As amostras permaneceram refrigeradas em caixas de isopor no momento da coleta até serem transportadas para o laboratório. A concentração de glicose e das enzimas AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) foram realizadas por espectrofotometria (ASYS UVM 340). As

enzimas AST e ALT utilizadas para avaliar possíveis danos teciduais hepáticos nos peixes (AL-ATTAR, 2007). Para obtenção dos níveis de glicose, AST e ALT foram utilizados kits bioquímicos Bioclin.

2.5 Histopatologia de Brânquias e Fígado

Amostras de tecido branquial e fígado foram lavados com solução salina 0,9% e posteriormente fixadas por 16 horas em Alfac e armazenadas em álcool 70%. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em banhos sucessivos de álcool (80%, 90%, 95%, e 100%) e clarificadas em xilol (FERNANDEZ *et.al.*, 2011). Após os processos de desidratação e clarificação, as amostras foram incluídas em parafina para confecção de cortes histológicos de 5µm de espessura usando micrótomo manual, os quais foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE), para posterior análise em microscopia de luz.

Todas as seções foram analisadas usando imagens obtidas em um microscópio LEICA ICC50HD conectado a um computador pelo o programa LAZ 2.0. Para análise das alterações histopatológicas foram utilizados 10 animais (escolhidos aleatoriamente) por período e pontos de coleta. Nas brânquias, as alterações foram analisadas nos filamentos e lamelas usando 10 campos aleatórios e 5 lamelas por campo em aumento de 40x. No fígado, foi realizada a análise de 5 campos em aumento de 100x.

A análise histopatológicas em brânquias e fígado foi avaliada por dois métodos semiquantitativos: Valor Médio de Alterações (VMA) e pelo Índice de Alterações Histológicas (IAH).

O cálculo do (VMA) é baseado na incidência de lesões, de acordo com Schwaiger et al. (1997). Para tanto, atribuiu-se um valor numérico para cada animal conforme a escala: grau 1 (ausência de alteração histopatológica), grau 2 (ocorrência de lesões pontualmente localizadas) e grau 3 (lesões amplamente distribuídas pelo órgão).

Para avaliar a severidade das alterações nas brânquias e no fígado utilizou-se o Índice de Alterações Histológicas (IAH) segundo Poleksic e Mitrovic-Tutundžic (1994), onde cada alteração foi classificada em graus progressivos

quanto ao comprometimento das funções teciduais: estágio I, alterações que não comprometem o funcionamento do órgão; estágio II para alterações mais severas que comprometem o funcionamento do órgão, mas são reversíveis; e estágio III, para as alterações mais graves que comprometem de forma irreversível o funcionamento do órgão (Tabelas 1 e 2). Um valor de IAH foi calculado para cada animal, de acordo com a fórmula: $IAH = (1 \times \sum I) + (10 \times \sum II) + (100 \times \sum III)$, onde $\sum I$, $\sum II$ e $\sum III$ correspondem ao número de alterações de estágio I, II e III respectivamente.

Tabela 1 – Classificação das alterações histopatológicas encontradas nas brânquias de *Cichla sp.* quanto ao estágio de comprometimento da função branquial adaptado de Poleksic e Mitrovic-Tutundžic (1994).

Alterações Histológicas nas Brânquias	Estágio
Hipertrofia do epitélio lamelar	I
Hiperplasia do epitélio lamelar	I
Descolamento do epitélio lamelar	I
Fusão lamelar parcial	I
Congestão vascular	I
Edema	I
Dilatação capilar	I
Infiltrado Inflamatório	I
Aneurisma lamelar	II
Fusão lamelar completa	II
Necrose focal	III

Tabela 2 – Classificação das alterações histopatológicas encontradas no Fígado de *Cichla sp.* quanto ao estágio de comprometimento da função hepática adaptado de Poleksic e Mitrovic-Tutundžic (1994).

Alterações Histológicas no Fígado	Estágio
Vacuolização citoplasmática	I
Hipertrofia nuclear	I
Deformação do contorno nuclear	I
Dilatação dos sinusóides	I
Desarranjo dos cordões hepáticos	I
Ausência de núcleo	II
Ausência de nucléolo	II
Estagnação biliar	II
Vacuolização nuclear	II
Degeneração nuclear	II
Congestão	II
Infiltrado Inflamatório	II
Ruptura de vasos	II
Núcleos picnóticos	II
Necrose focal	III

Os valores de IAH entre 0 e 10 indicam funcionamento normal do tecido; entre 11 e 20 indicam danos leves ao órgão; entre 21 e 50 indicam danos moderados; de 51 a 99, danos severos e maiores que 100 indicam danos irreversíveis no tecido.

2.6 Análises estatísticas

Os dados foram apresentados como a média \pm erro padrão da média. Foi realizada ANOVA (Teste de Dunnett), para os dados paramétricos, e aqueles que não apresentaram distribuição normal, foram submetidos à análise não paramétrica (Kruskall Wallis), através do programa estatístico software GraphPad InStat v 3.00 para Windows 95® (GRAPHPAD INSTAT, 1998). Para diferenças significativas, foi considerada a probabilidade de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Os dados biométricos e número de exemplares coletados por ponto de coleta estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3– Dados de peso e comprimento de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta. Dados são apresentados como média \pm desvio padrão.

Parâmetro	Ponto A	Ponto B	Ponto C
Nº animais	68	65	64
Massa (g)	538,3 \pm 260,4	779,2 \pm 561,6	399.8 \pm 207,1
Comprimento (cm)	33,5 \pm 4,7	35 \pm 7,3	29,4 \pm 3,9

3.3 - Acúmulo de metais

A concentração de Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni e Zn encontradas no fígado e músculo de exemplares de *Cichla sp.* coletados nos rios Javaés e Formoso estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Concentração de metais em mg.kg⁻¹ no fígado e músculo de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Pium; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão.

Metal	Ponto A	Ponto B	Ponto C	V.M.P (mg.kg ⁻¹)
Fígado				
Cd	0.05 \pm 0.01	0.47 \pm 0.16	0.19 \pm 0.04	-
Pb	0.42 \pm 0.05	0.38 \pm 0.06	0.44 \pm 0.04	-
Cu	6.6 \pm 0.52	5.8 \pm 0.43	6.4 \pm 0.62	-
Cr	2.85 \pm 0.21	1.62 \pm 0.26	1.88 \pm 0.25	-
Mn	1.26 \pm 0.05	1.01 \pm 0.05	1.13 \pm 0.06	-
Ni	0,33 \pm 0.04	0,29 \pm 0.03	0,47 \pm 0.06	-
Zn	18.35 \pm 0.47	16.25 \pm 0.50	17.4 \pm 0.78	-
Músculo				
Cd	0.01 \pm 0.003	0.01 \pm 0.005	0.027 \pm 0.008	1
Pb	0.16 \pm 0.02	0.33 \pm 0.03	0.27 \pm 0.03	2
Cu	0.18 \pm 0.01	0.13 \pm 0.014	0.1 \pm 0.007	30
Cr	1.1 \pm 0.11	0.97 \pm 0.08	1 \pm 0.10	0,1
Mn	0.24 \pm 0.01	0.24 \pm 0.01	0.19 \pm 0.01	-
Ni	0,24 \pm 0.02	0.12 \pm 0.02	0.16 \pm 0.02	5
Zn	4.06 \pm 0.50	4.19 \pm 0.23	4.2 \pm 0.27	50

V.M.P – valor máximo permitido pela legislação brasileira.

Houve diferenças significativas nos níveis nas concentrações de metais tanto no tecido hepático (Figura 2) quanto no tecido muscular (Figura 3).

Figura 2 – Concentração de metais no fígado de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Pium), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). Barras representam valores de média \pm erro padrão. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.

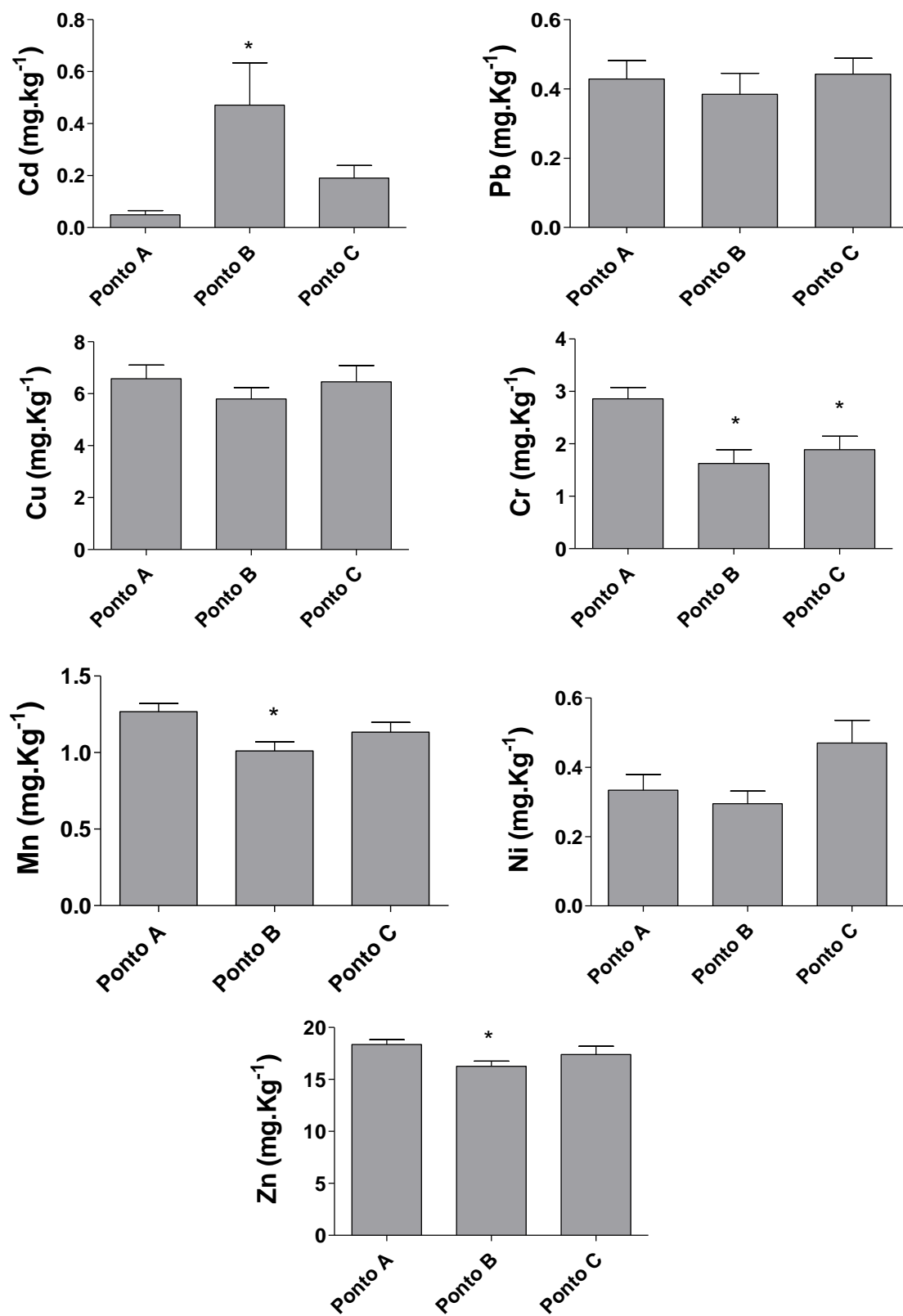
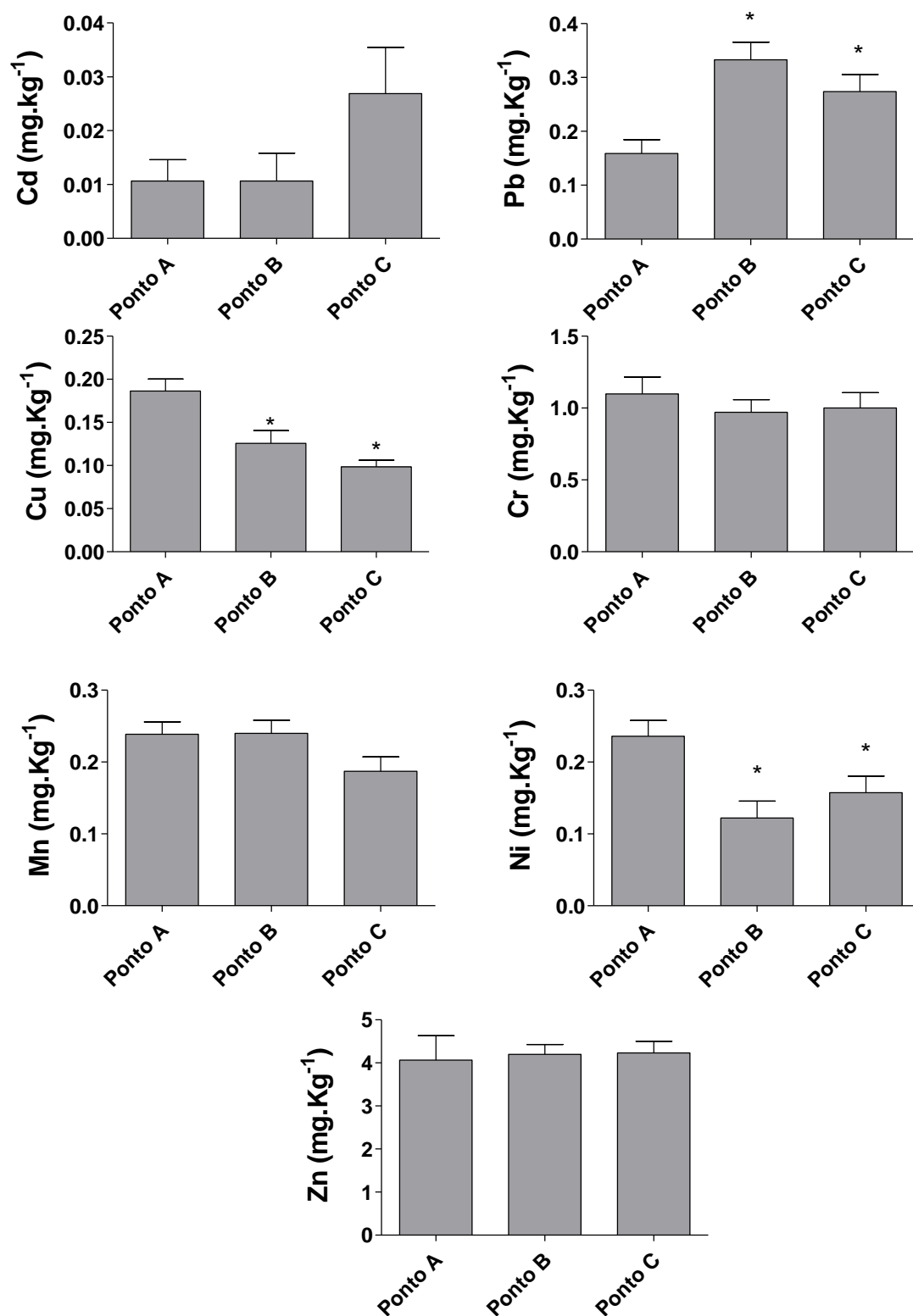


Figura 3 – Concentração de metais no músculo de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Pium), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). Barras representam valores de média \pm erro padrão. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A ($p < 0,05$).



Os dados obtidos demonstram uma acumulação na seguinte ordem Zn> Cu> Cr> Mn> Pb > Ni > Cd no fígado e Zn> Cr> Mn> Pb > Ni > Cu > Cd no músculo dos peixes. A deposição foi maior para o Zn e menor para o Cd tanto no fígado quanto no músculo. A concentração de metais foi maior no fígado do que no músculo.

A análise estatística mostrou que os níveis hepáticos dos metais foram significativamente menores no ponto B para o Cr, Mn e Zn e maiores para o Cd. No ponto C apenas para o Cr foi significativamente menor. Para os metais Cu, Pb e Ni não houve diferença significativa entre os três locais. Observou-se que o ponto A apresentou maiores resultados para o Cu ($6,6 \text{ mg.kg}^{-1}$), Zn ($18,35 \text{ mg.kg}^{-1}$), Cr ($2,85 \text{ mg.kg}^{-1}$) e Mn ($1,26 \text{ mg.kg}^{-1}$) comparado com os demais locais de coleta.

Em relação à concentração de metais no músculo dos exemplares analisados, constatou-se que nos pontos B e C o Cu e Ni foram significativamente menores níveis musculares do que nos animais capturados na área de referência (ponto A) e o Pb maior.

Apesar de não terem sido observadas diferenças significativas para os metais Zn, Cd e Pb, observou-se que os mesmos apresentaram maior concentração nos peixes oriundos das áreas onde se desenvolvem atividades de agricultura. O Cr não revelou concentração significativamente diferente, porém, nos três pontos, estava acima do limite máximo permitido.

3.2 Avaliação genotóxica

Os resultados de frequência de micronúcleos observados nos tucunarés nos diferentes pontos de coleta são apresentados na Tabela 5. O teste de Dunn's demonstrou que não houve diferença significativa na frequência de micronúcleos em relação ao ponto A.

Tabela 5 – Frequência de micronúcleo (MN) de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – rio Javaés/Pium; ponto B – rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão.

Pontos de coleta	%MN	Nº de animais
Ponto A	0.0043 \pm 0.001	61
Ponto B	0.01 \pm 0.003	61
Ponto C	0.0075 \pm 0.002	61

3.3 Análises Bioquímicas

Os resultados mostraram elevados níveis de glicose plasmáticos para os tucunarés coletados nos três pontos, sendo observadas maiores concentrações de glicose no sangue dos animais coletados nos pontos B e C, com média de 190,6 e 241,5 g/dL respectivamente. A atividade enzimática da aspartato amino transferase (AST) foi significativamente menor no ponto C. Apenas para enzima ALT foi observada um aumento nos níveis plasmáticos nos tucunarés coletados nos rios Javaés e Formoso, em relação aqueles coletados de Pium. Esses resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros bioquímicos de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – rio Javaés/Pium; ponto B – rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão.

Parâmetro	Ponto A	Ponto B	Ponto C
Glicose (g/dL)	169 \pm 10.7	190.6 \pm 12.8	241.5 \pm 13.9 ^a
AST (U/L)	112.9 \pm 2.7	107.3 \pm 3.8	101 \pm 2.6 ^a
ALT (U/L)	26 \pm 3.5	40.06 \pm 5.1	41.53 \pm 6.5

a = ($p < 0,05$) diferença significativa em relação ao Ponto A.

Observou-se um aumento significativo nos níveis de glicose apenas para o ponto C, bem como uma diminuição significativa nos níveis séricos de AST no soro dos animais desse ponto. Para a enzima alanina amino transferase (ALT) não foi constatada diferença significativa.

3.4 – Análises histopatológicas

3.4.1 – Brânquias

Várias alterações foram observadas nas brânquias dos peixes coletados nos rios Javaés e Formoso. As mais frequentes foram lesões de Estágio I e II, leves a moderadas, mas que podem comprometer o funcionamento normal do órgão. A frequência de ocorrência das alterações hepáticas e a classificação quanto ao grau de severidade e comprometimento da função branquial encontradas nos animais estão apresentadas na Tabela 7.

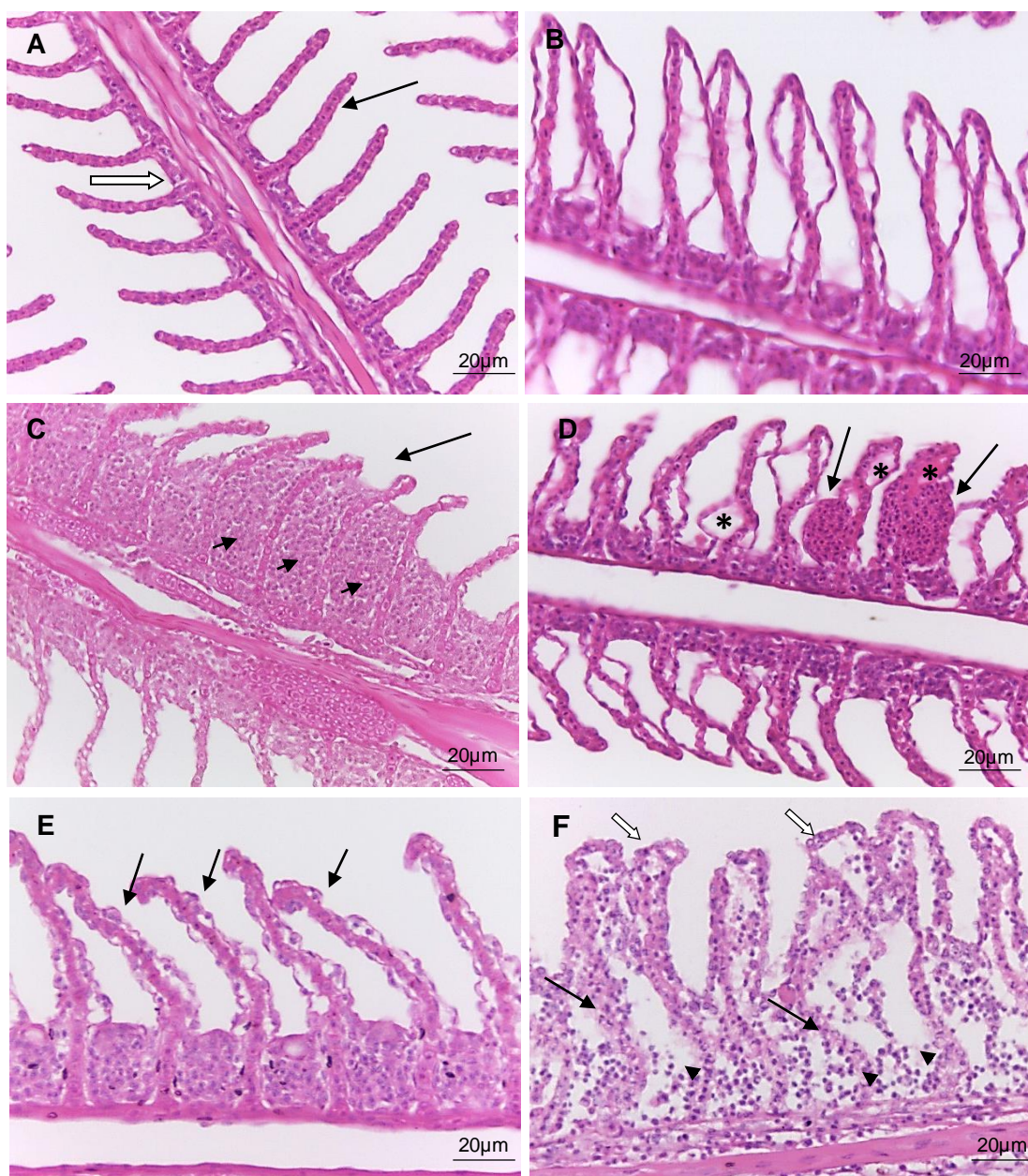
A análise estatística da frequência das alterações revelou que descolamento epitelial foi significativamente maior nos pontos B e C.

Tabela 7 – Frequência das alterações histopatológicas nas brânquias de *Cichla sp.* coletados nos rios Javaés (Pontos A e B) e Formoso (Ponto C). 0 = alterações ausentes; 0+ = alterações raramente frequentes; + = alterações frequentes; ++ = alterações muito frequentes; +++ = alterações extremamente frequentes.

Alteração	Estágio	Ponto A	Ponto B	Ponto C
Descolamento epitelial	I	+	+++	+++
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	0+	0+	0+
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	0+	0+	0+
Congestão vascular	I	0+	0+	0+
Fusão lamelar parcial	I	0+	0+	0+
Edema	I	0	0+	0+
Infiltrado Inflamatório	I	0	0+	0
Dilatação capilar	I	0+	0+	0
Aneurisma lamelar	II	0	0+	0+
Fusão lamelar completa	II	0	0+	0+
Necrose focal	III	0	+	0

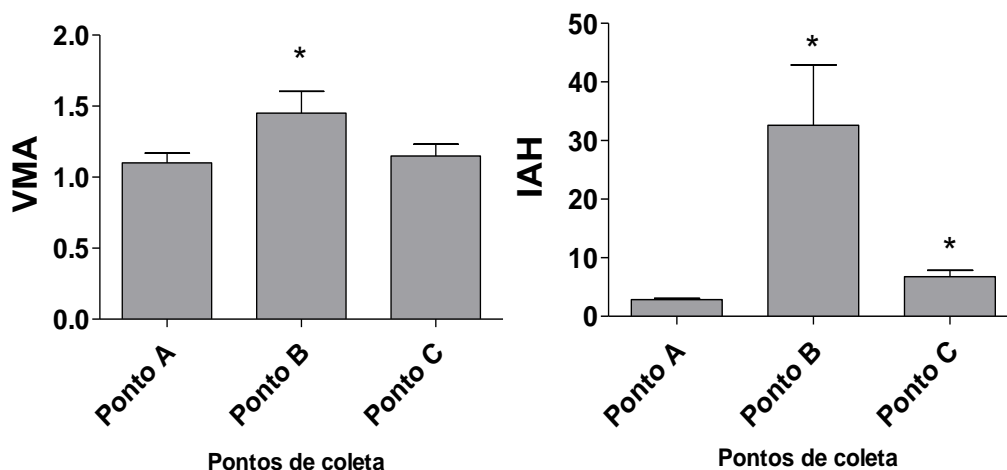
As alterações mais frequentes foram descolamento epitelial, hiperplasia do tecido proliferativo com fusão parcial e completa das lamelas secundárias, congestão, edema e necrose, esta última observada apenas nos animais do ponto B (Figura 4).

Figura 4 – Alterações histopatológicas mais frequentes nas brânquias de *Cichla sp.* dos diferentes pontos de coleta: Ponto A (rio Javaés - Pium), Ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), Ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). (A) filamento branquial sem alterações – lamela secundária (seta preta) e filamento (seta branca). (B) descolamento epitelial das lamelas. (C) hiperplasia do tecido proliferativo do filamento (seta menor) com fusão parcial das lamelas (seta maior). (D) congestão (setas) e edema (estrela). (E) hipertrofia das células pavimentosas na lamela secundária (seta). (F) desorganização da estrutura lamelar com fusão completa de lamelas (seta branca), necrose focal (seta preta) e presença de infiltrado inflamatório (cabeça da seta). Aumento de 400x. Coloração HE. Figura A – exemplar coletado no ponto A. Figuras B, C e E – exemplares coletados no ponto C. Figuras D e F – exemplares coletados no ponto B.



O VMA apresentou diferença significativa do ponto A, em relação apenas ao ponto B, porém em todos os pontos as alterações apresentaram-se como pontuais. Os valores médios de VMA variaram de 1,1 (ponto A), 1,45 (ponto B) e 1,14 (ponto C). O IAH foi significativamente maior no ponto B, que obteve uma média de 32,6, indicando danos ao tecido. Já para os pontos A e C, o valor médio não ultrapassou o índice 10. Esses resultados estão apresentados na Figura 5.

Figura 5 – Valores médio de VMA e IAH nas brânquias de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – Rio Javaés/Pium; ponto B – Rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – Rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão. Considerou-se diferença significativa $p < 0,05$. (*) diferença significativa em relação ao Ponto A.



3.4.2 – Fígado

Os peixes coletados nos Rios Javaés (pontos A e B) e Formoso (ponto C) apresentaram uma série de alterações histológicas no fígado, sendo as mais frequentes de Estágio I e II. A frequência de ocorrência das alterações hepáticas e a classificação quanto ao grau de severidade e comprometimento da função hepática encontradas nos grupos, estão apresentadas na Tabela 8.

As alterações encontradas nos hepatócitos dos tucunarés dos três pontos de coleta foram: vacuolização citoplasmática, hipertrofia nuclear, deformação do contorno nuclear, dilatação dos sinusóides, desarranjo dos cordões hepáticos, ausência de núcleo, ausência de nucléolo, estagnação biliar, vacuolização nuclear, degeneração nuclear, congestão dos vasos, infiltrado inflamatório,

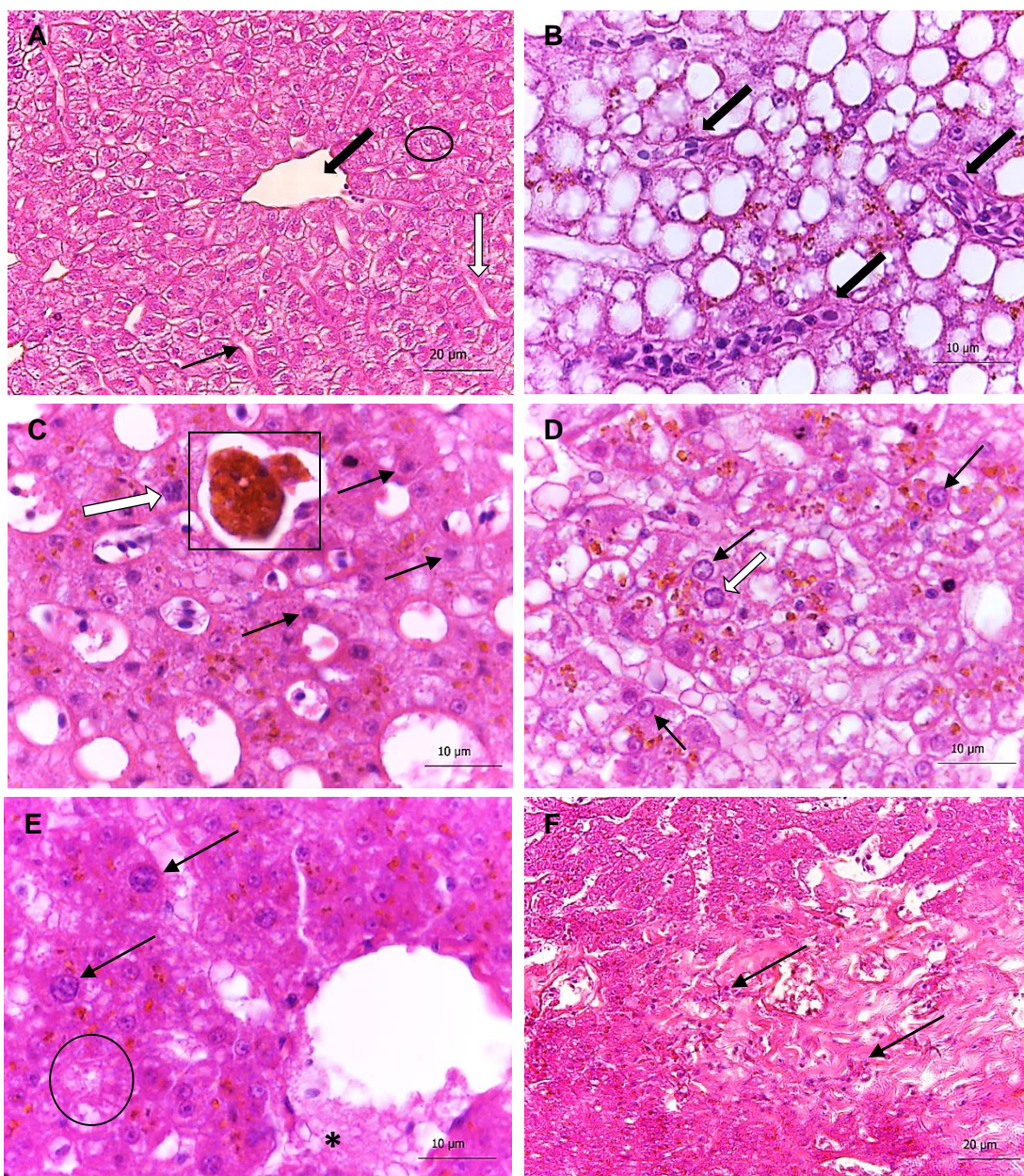
ruptura de vasos, e núcleos picnóticos. Observou-se também a ocorrência de necrose focal.

Tabela 8 – Frequência das alterações histopatológicas no fígado de *Cichla sp.* coletados nos rios Javaés (pontos A e B) e Formoso (ponto C). 0 = alterações ausentes; 0+ = alterações raramente frequentes; + = alterações frequentes; ++ = alterações muito frequentes; +++ = alterações extremamente frequentes.

Alteração	Estágio	Ponto A	Ponto B	Ponto C
Vacuolização citoplasmática	I	+	++	++
Hipertrofia nuclear	I	0+	+	0+
Deformação do contorno nuclear	I	0+	0+	0+
Dilatação dos sinusóides	I	0+	+	0+
Desarranjo dos cordões hepáticos	I	0	+	0+
Ausência de núcleo	II	0+	0+	0+
Ausência de nucléolo	II	0+	0+	0+
Estagnação biliar	II	+	+	+
Vacuolização nuclear	II	0+	0+	0+
Degeneração nuclear	II	0	0+	0+
Congestão	II	0+	0+	0+
Infiltrado Inflamatório	II	0+	0+	0+
Ruptura de vasos	II	0	0+	0+
Núcleos picnóticos	II	0+	0+	0+
Necrose focal	III	0	0+	0+

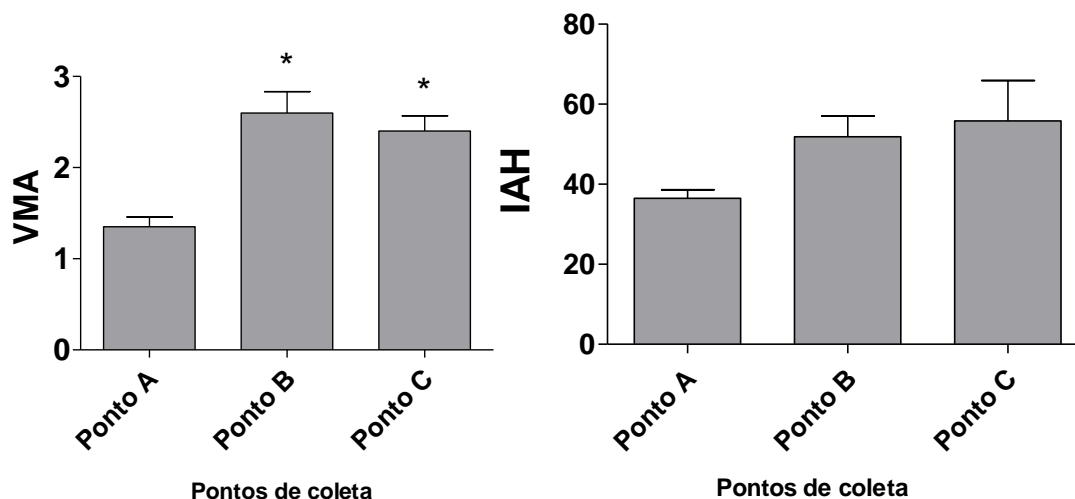
As alterações mais frequentes encontradas no fígado dos tucunarés estão apresentadas na Figura 6.

Figura 6 – Alterações histopatológicas no fígado de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A (rio Javaés - Pium), ponto B (rio Javaés – Lagoa da Confusão), ponto C (rio Formoso – Lagoa da Confusão). (A) tecido hepático com morfologia normal - sinusóides (seta branca), hepatócitos (área circular), célula de Kupffer (seta preta fina) e veia central (seta preta larga). (B) vacuolização citoplasmática nos hepatócitos e dilatação e congestão dos sinusóides (seta preta). (C) estagnação biliar (área quadriculada), núcleos picnóticos (seta preta) e deformação do contorno nuclear (seta branca). (D) desarranjo dos cordões hepáticos com vacuolização nuclear (seta preta) e ausência de nucléolo (seta branca). (E) hipertrofia nuclear (seta), ausência de núcleos (área circular) e ruptura do vaso (estrela). (F) área de necrose focal com presença de infiltrado inflamatório (seta). Aumento de 400x (A e F) e aumento de 1000x (B, C, D e E). Coloração HE. Figura A – exemplar coletado no ponto A. Figuras B, C e D – exemplares coletados no ponto C. Figuras E e F – exemplares coletados no ponto B.



Os resultados do valor médio de alterações e índice de alterações histopatológicas estão apresentados na Figura 7. O VMA apresentou diferença significativa nos pontos B e C em relação ao ponto A. O IAH não apresentou diferença significativa. O ponto C obteve valor médio de IAH, 55,75, apresentando alterações severas, assim como no ponto B em que o IAH médio foi de 51,85. Em relação ao o ponto A, a média foi de 36,45 com alterações de moderadas a severas.

Figura 7 – Valores médio de VMA e IAH no fígado de *Cichla sp.* nos diferentes pontos de coleta: ponto A – rio Javaés/Pium; ponto B – rio Javaés/Lagoa da Confusão; ponto C – rio Formoso/Lagoa da Confusão. Dados são média \pm erro padrão. Considerou-se diferença significativa $p < 0,05$. (*) diferença significativa em relação ao ponto A.



4 DISCUSSÃO

O fígado é o principal órgão a metabolizar a maioria das substâncias químicas absorvidas pelo organismo no ambiente (RASHED, 2001; MALIK et. al, 2010) e devido à sua alta vascularização, tende a acumular os compostos tóxicos ingeridos (AZEVEDO; LIMA, 2003).

No fígado apenas o Cd foi significativamente maior nos animais coletados no ponto B. O Cd é um metal não essencial, de alta toxicidade, de difícil excreção (CARDOSO; CHASIN, 2001), podendo apresentar efeitos tóxicos nos peixes mesmo em baixas concentrações (GARCIA-SANTOS et. al, 2007; FU et al., 2013). Esse metal é um elemento comum no ambiente, onde ocorre em

diferentes formas químicas e pode ser introduzido no meio aquático em função de atividades antrópicas como pelo uso de fertilizantes (CAMPOS et al., 2005).

Os dados de concentração de metais no músculo para o cádmio, chumbo, cobre, zinco, manganês e níquel nos três pontos amostrados estão dentro dos valores máximos permitidos pela legislação brasileira.

Os níveis musculares de metais revelaram que apenas o Pb teve maiores concentrações nos pontos B e C, em relação ao ponto A, porém dentro do limite máximo permitido pela legislação brasileira para o consumo humano. Entretanto, segundo Chen et al. (2014) mesmo em baixas concentrações os elementos não essenciais podem ser tóxicos por meio da interação com outros compostos químicos presentes no meio e outros fatores de estresse podem resultar em impactos significativos em indivíduos e populações de peixes e outros organismos aquáticos. Além disso, a exposição crônica e/ou aguda a metais traço podem se bioacumular em partes comestíveis e serem transferidos para populações humanas, por meio do consumo de peixes contaminados (LEUNG et al., 2014).

Apesar de não ter apresentado diferença significativa entre os três pontos de coleta, o cromo foi encontrado em concentrações acima dos limites legais em todos os locais (Tabela 4), mostrando que o ambiente está impactado por esse metal, o qual apresenta grande potencial de bioacumulação para os organismos aquáticos quando disponível (VELMA et al., 2009).

Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Barros et. al. (2010) para o tucunaré coletado no rio Gelado, localizado em uma APA. Esta recebe água de lavagem de minério onde detectou-se um valor médio de 1,45 mg.kg⁻¹, indicando a contaminação do local. Nascimento et.al (2011) registraram uma concentração de 0,105137 mg.kg⁻¹ de cromo no músculo de *Cichla sp.* coletados no reservatório da Usina Hidrelétrica de Tucuruí – PA.

Estudos com outras espécies de peixes carnívoros mostram que houve bioacumulação do cromo nesses animais. Uma concentração acima do que é permitido pela legislação foi observada para uma espécie carnívora da ordem Perciformes, a corvina (*Micropogonias furnieri*) (0,84 mg.kg⁻¹), coletadas no estuário Laguna dos Patos (RS) o qual recebe resíduos urbanos e de atividades agrícolas (SANCHES FILHO; FONSECA; HOLBIG, 2013).

O cromo é encontrado naturalmente em solos, rochas, animais, plantas, poeiras e névoas vulcânicas (ATSDR, 2000; VELMA et al., 2009), aparecendo na composição de óxidos, sulfatos, cromatos, dicromatos, sais básicos e na forma elementar recobrando peças metálicas e plásticas nos processos de tratamentos de superfícies (SILVA; PEDROZO, 2001).

De acordo com Parvathi et. al. (2011) e Shukla (2012) o cromo, apesar de ser um elemento essencial pode ser tóxico para organismos aquáticos quando disponível em concentrações elevadas.

Esse metal pode existir sob diferentes formas de oxidação, sendo os estados de oxidação mais importantes o cromo III, que é estável e essencial no sistema biológico e o Cr VI, altamente tóxico, oxidante, e geralmente de origem antropogênica (SILVA; PEDROZO, 2001). No ambiente aquático, estes compostos são persistentes e podem estar adsorvidos no sedimento ou na sua forma dissolvida, como ânion trivalente ou hexavalente (VELMA et al., 2009).

O cromo (VI) é acumulado por espécies aquáticas por difusão passiva (SILVA; PEDROZO, 2001), causando nos peixes diversas alterações como déficit dos níveis plasmáticos de glicogênio, proteínas, lipídeos, e alterações nos parâmetros hematológicos, irregularidade na respiração (CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; MAZON et. al, 2002; VUTUKURU, 2005; ADAKOLE, 2012) e alterações nos parâmetros bioquímicos como níveis de glicose a diminuição na atividades de enzimas hepáticas, bem como alterações histológicas em brânquias, músculo, fígado, coração e estresse oxidativo e genotoxicidade que podem levar à morte nos peixes quando expostos a elevadas concentrações do metal (LIU et.al., 2010; PARVATHI et.al., 2011; MAHARAJAN et. al., 2012; SHUKLA; SHUKLA; DUBEY, 2012; VELMA; TCHOUNWOU, 2013). No homem, a principal consequência é o câncer (SILVA; PEDROZO, 2001; PATLOLLA et al., 2009), além de efeitos genotóxicos sobre linfócitos e mucosa gástrica (TRZECIAK et al., 2000).

As principais atividades humanas na qual o cromo e seus compostos são encontrados são liberados para o meio ambiente, são emissões decorrentes de fabricação de cimento, soldagem de ligas metálicas, indústria de galvanoplastia, lixos urbanos e industrial, cinzas de carvão, curtumes, preservativos de madeira, fertilizantes e atividades de minério, entre outras (ATSDR, 2000; SILVA;

PEDROZO, 2001; BARROS et al., 2010; CARMO; ABESSA; MACHADO NETO, 2011; LIMA, 2013)

É provável que esse metal esteja sendo disponibilizado na área estudada em função da utilização de fertilizantes nas atividades de agricultura pelo uso de fertilizantes com altas concentrações de cromo na sua composição, como os fosfatados (CAMPOS et al., 2005). Entretanto, são necessários estudos sobre a concentração desse metal no solo e sedimentos da região, uma vez que esse elemento pode ser encontrado naturalmente na composição de rochas, bem como adsorvidos no sedimento (VELMA et al., 2009).

Queiroz (2006) identificou valores de 0,7 a 4,1 ppm de cromo para uma espécie onívora (*Geophagus basiliensis*) no rio Piracicaba (MG) e Repula et. al. (2012) registrou um conteúdo desse metal traço em amostras de peixes coletados em um córrego que recebe efluentes de curtume (PR) de 0,10-1,30 ug/g para o músculo e 0,45-15,90 ug/g para o fígado.

Níveis de Cr também foram encontrados acima dos valores máximos permitidos em diversas espécies de peixes coletadas no Rio Cassiporé (AP), que recebe xenobióticos pela liberação de rejeitos da exploração de ouro, que são fontes de metais pesados para o ambiente aquático, propiciando alta contaminação da biota aquática e riscos para populações ribeirinhas (LIMA, 2013). Jarapala et.al. (2014) detectaram a presença de cromo variando de 0,24 de 1,68 mg/kg em *Cyprinus carpio* e *Masto symbolon* provenientes de rios urbanos.

O acúmulo de metais pesados no organismo é resultado da diferença entre a absorção e metabolização, sendo que os processos de biodisponibilidade dependerão do tipo de absorção realizada pelo organismo, do tamanho das partículas ou da fase em que os metais se encontram (dissolvidos ou particulado) (CANLI; ATLI, 2003; JESUS; FERNANDEZ; QUEIROZ, 2008; SANTOS et. al., 2006).

Sendo assim, existe o risco de exposição a este metal para as pessoas que vivem e dependem desse ecossistema, já que o tucunaré é frequentemente utilizado como fonte de proteínas na alimentação das populações ribeirinhas, bem como pelas comunidades indígenas da região. Segundo Castro-Gonzalez

e Mendes-Armenta (2008) a dieta é a principal via de exposição a metais pesados para populações que não estão diretamente expostas a eles.

A comparação entre as médias de cobre, cromo, níquel e zinco nos peixes e na água dos rios indicou que os valores são maiores nos peixes do que na água. Assim, o ingresso desses elementos está ocorrendo por meio absorção dos metais presentes na água (bioconcentração) e bioacumulação, uma vez que são carnívoros e participam de um alto nível trófico na teia alimentar, logo, estão sujeitos à bioacumulação (WARD et al., 2012).

A avaliação da genotoxicidade possibilita identificar as alterações na estrutura geral ou disposição dos cromossomos (clastogenicidade) ou na sequência de pares de bases do DNA (mutagenicidade) por exposição a agentes tóxicos (AL-SABTI; METCALFE, 1995).

Apesar dos resultados obtidos no presente estudo terem revelado uma baixa frequência de micronúcleo no sangue periférico dos tucunarés coletados próximas às áreas agrícolas (pontos B e C), um monitoramento periódico na região deve ser realizado, em função dessas atividades. Lima (2010) registrou a comercialização de mais de 70 compostos químicos diferentes utilizados pelos produtores da região, sendo a maioria herbicidas e inseticidas.

Estudos com peixes expostos a diferentes substâncias como agrotóxicos (KAN et al., 2012; BOTELHO, 2013), metais como cromo (MATSUMOTO et al., 2006; AHMED et al., 2013; ARUNACHALAM et al., 2013), cobre (ROCHA et al., 2010), chumbo (FERRARO et al., 2004) e em ambientes naturais impactados por atividades antropogênicas (RIVERO, 2007; AZEVEDO et al., 2012) evidenciam o efeito genotóxico dos xenobióticos nos eritrócitos do animais expostos, assim como com a utilização do tucunaré como bioindicador de alterações clastogênicas (CASTILHOS et al., 2004; GRISOLIA et al., 2009;).

Considerando-se o que já foi registrado na literatura sobre os efeitos genotóxicos dos xenobióticos sobre organismos aquáticos, pode-se afirmar que a concentração de compostos químicos à qual os peixes dos rios Javaés e Formoso estão expostos, ainda não está causando danos (significativos) à estrutura do DNA desses animais.

Para resultados mais conclusivos, ensaios laboratoriais específicos necessitam ser realizados no sangue periférico de *Cichla sp.* para determinação

de genotoxicidade a diferentes xenobióticos, bem como para se conhecer a taxa de micronúcleos espontâneos para a espécie, uma vez que os peixes são considerados como organismos adequados no monitoramento de genotoxinas aquáticas, por serem capazes de metabolizar e acumular poluentes presentes no meio (DE FLORA et al., 1993).

O aumento da glicose plasmática como fonte de energia para a manutenção da homeostase (LANGIANO, 2006), é uma resposta secundária à situações de estresse muito comum em peixes que é desencadeada a partir de respostas hormonais primárias, como a hipersecreção de adrenalina e cortisol os quais podem desencadear uma série de alterações fisiológicas de adaptação à nova condição (MARTINEZ; CÓLUS, 2002; MARTINEZ et. al., 2004).

Os maiores níveis de glicose observados nos tucunarés coletados no rio Formoso, situado na cidade de Lagoa da Confusão, podem estar ligado a um estado fisiológico de maior demanda energética devido a possível ação de agentes estressores presentes no meio aquático.

Estudos relatam em diferentes espécies de peixes a ocorrência dessa resposta adaptativa ao estresse quando os animais foram submetidos a vários compostos químicos utilizados amplamente nas atividades agrícolas como clomazone e ametrina (CRESTANI et. al., 2007; PEREIRA, 2012), diflubenzuron (PEREIRA MADUENHO; MARTINEZ, 2008), glifosatos (GLUSCZAK et. al., 2006; LANGIANO, 2006), inseticidas organofosforados (SANCHO et. al, 1997; AGUIAR et. al., 2004) e metais pesados (MARTINEZ et. al., 2004) por exemplo.

Parvathi et. al. (2011) observou aumento significativo nos níveis séricos de glicose em *Cyprinus carpio* expostos a concentração subletal de cromo, sendo que para glicose os níveis médios variaram de 80,9 (controle) a 294,6 (32 dias de exposição). Semelhante aos animais coletados no rio Formoso que apresentaram níveis médio de glicose de 241,5 g/dL, o que revela que os tucunarés, coletados na Lagoa da Confusão, estão passando por alterações bioquímicas para se adaptarem a condições adversas no meio aquático.

O aumento nos níveis das enzimas AST e ALT revelam danos teciduais hepáticos (SZEGLITES et. al., 1995; WROBELSKI; LADUE, 1995). Entre as enzimas analisadas, registrou-se uma diminuição de AST quando comparada

com os animais do ponto A, demonstrando que não está ocorrendo danos significativos que promovem alterações na atividade dessa enzima.

Al-Attar (2007) observou um aumento da atividade de AST e ALT em *Oreochromis niloticus* expostos ao níquel e Parvathi et al. (2011) verificou maiores níveis dessas enzimas em animais expostos ao cromo, evidenciando prejuízo metabólico nesses animais. Já o resultado para a enzima ALT, não apresentou alterações nos níveis séricos, em relação aos peixes coletados no ponto A, indicando que não houve danos à atividade dessa enzima.

A brânquia é o sítio da respiração, osmorregulação, regula o equilíbrio ácido-base, realiza a excreção de resíduos nitrogenados, além de, controle neural e hormonal (EVANS; PIERMARINI; CHOE, 2005). Assim, uma vez que estão em contato direto com água, substâncias tóxicas podem facilmente interferir na morfofisiologia deste órgão, como por exemplo, pela presença de agrotóxicos (CAPKIN et. al., 2010; BENZE, 2013;), resíduos industriais e domésticos (MONTES et. al, 2010) e metais pesados (PANDEY et. al., 2008; SANTOS et. al, 2011; ZHENG et. al., 2011; MAHARAJAN et.al., 2012).

Na estrutura branquial, cada lamela é constituída por células pavimentosas, apoiadas na membrana basal, que revestem as células pilares, que formam o capilar por onde circula o sangue lamelar (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995). Alterações nesse padrão de morfologia são utilizados como biomarcadores de contaminação no ambiente aquático (MONTES et. al., 2010).

Os animais coletados nos pontos B e C tiveram o descolamento epitelial como alteração de ocorrência extremamente frequente. Essa alteração é considerada o primeiro sinal de patologia branquial e caracteriza-se pelo aumento da distância da membrana basal do epitélio respiratório para longe do sistema de células pilares, aumentando assim a distância entre o meio externo e o sangue e, apesar de ser uma alteração reversível, causa a absorção ineficiente de oxigênio, podendo resultar na morte do animal por asfixia, dependendo do tempo de exposição ao contaminante e da extensão da lesão (FERNANDES; MAZON, 2003; THOPHON et al., 2003).

A elevada concentração de Cr encontrada na água e nos tecidos (fígado e músculo) dos tucunarés, pode ter provocado modificações no tecido branquial uma vez que, estudos sobre os efeitos do metal em peixes evidenciam os danos

ao órgão respiratório dos animais. Roberts e Oris (2004) encontraram alterações como descolamento do epitélio lamelar e hiperplasia em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostos a concentrações de 10 mg.L⁻¹ de cromo. Mishra e Mohanty (2009) também observaram lesões histológicas como descolamento, fusão lamelar, hiperplasia, hipertrofia, edema e descamação do epitélio lamelar nas brânquias de *Channa punctatus*, expostos a concentrações subletais de cromo.

A hiperplasia das células epiteliais indiferenciadas é conhecido por desencadear uma alteração crônica não específica, a qual pode ser causada por uma variedade de agentes estressores (BERNET et al., 1999) tais como metais pesados (ZHENG et al., 2011;) ou presença de parasitas (SANTOS et al., 2012). Essa alteração pode levar à fusão parcial ou completa das lamelas, observadas nas brânquias de *Cichla sp.*, que prejudica a função respiratória do órgão, pois dificulta a passagem da água entre as lamelas (MELETTI; ROCHA; MARTINEZ, 2003).

Descolamento do epitélio lamelar, hiperplasia e fusão parcial ou total das lamelas, infiltrado inflamatório e edema observados nas brânquias de *Cichla sp.*, capturados nos três pontos de coleta, são alterações que diminuem a área de superfície das brânquias e aumentam a barreira de difusão ao poluente, no entanto, prejudica o processo de trocas gasosas, evidenciando que os animais estão expostos à substâncias que comprometem sua saúde (FERNANDES; MAZON, 2003).

Alterações no tecido branquial encontradas nos peixes dos rios Javaés e Formoso como aneurismas, hiperplasia, fusão das lamelas e elevação do epitélio lamelar também foram observadas em estudos de campo, por Ribeiro et.al. (2013) e Botelho (2013) ao avaliarem os efeitos de poluentes urbanos, industriais, e de atividades agrícolas presentes na água sobre o bioindicadores. Devi e Mishra (2013) registraram, em estudos experimentais, a presença dessas alterações ao verificarem os efeitos de um pesticida organofosforado sobre *Channa punctatus*, evidenciando que a exposição a contaminantes aquáticos de diversas origens comprometem a saúde dos peixes.

Essas modificações na morfologia branquial também foram observadas por Montes et al. (2010) em *Brachyplatystoma rousseauxii* as quais foram

relacionadas com a presença de contaminantes, como efluentes domésticos e industriais lançados na Baía de Guarajá (PA).

Lesões mais severas e irreversíveis como aneurisma, fusão completa das lamelas e necrose focal (Estágios II e III), foram registrados nos tucunarés coletados nos dois pontos que ficam próximos às áreas de intensa atividade agrícola, na região de Lagoa da Confusão.

Necrose só foi visualizada nos tucunaré coletados no Ponto B, localizado no rio Javaés (Lagoa da Confusão). Tal histopatologia geralmente é observada apenas sob condições de exposição a substâncias tóxicas no ambiente aquático (CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; MAZON et. al., 2002; GARCIA-SANTOS et. al., 2007; CHEN et. al., 2012), o que pode indicar a presença de compostos químicos estressores, provavelmente de origem agrícola, da região de Lagoa da Confusão, visto que identificou-se elevados níveis de cromo tanto na água quanto no peixe, mostrando que os animais estavam respondendo aos efeitos de substâncias tóxicas.

Os índices de alterações histopatológicas revelam a distribuição da frequência das alterações e o estado de funcionamento ou comprometimento dos órgãos estudados (SCHWEIGER et al., 1997). A distribuição das lesões encontradas (VMA) nas brânquias dos tucunarés mostrou que as alterações ocorreram de maneira pontual em todos os locais amostrados.

Quanto à gravidade das lesões, o IAH nos animais coletados nos pontos A e C evidenciou que as brânquias apresentaram modificações leves, com um funcionamento normal do órgão.

Já para os peixes coletados no rio Javaés, localizado na Lagoa da Confusão, o índice demonstrou que os compostos químicos presentes no rio Javaés estão provocando alterações de moderadas a severas, que podem comprometer o funcionamento normal do órgão, prejudicando as funções de respiração, equilíbrio ácido-base, regulação iônica e excreção de produtos nitrogenados caso haja prolongada exposição aos xenobióticos (FERNANDES; MAZON, 2003).

A incidência de alterações mais severas estão relacionadas a ambientes mais degradados (FLORES-LOPES et al., 2011) e, como a agricultura é a principal atividade econômica desenvolvida na região estudada, pode-se inferir

que está ocorrendo a disponibilização de agentes contaminantes no meio aquático. Segundo Prado (2013), há o uso de agrotóxico durante todo o ano e em alguns casos a aplicação do mesmo coincide com o período chuvoso, o que pode aumentar a quantidade desses xenobióticos por meio da lixiviação.

O fígado é um órgão de fundamental importância para o metabolismo e sobrevivência dos peixes. É o principal centro de detoxificação e biotransformação de xenobióticos no organismo, além de metabolizar proteínas, carboidratos e lipídeos e acumula nutrientes, principalmente o glicogênio (HEATH, 1995; THOPHON et al, 2003). Este órgão pode ter sua morfologia e funções alteradas quando exposto à concentrações significativas de contaminantes no meio, sendo frequentemente utilizado como biomarcador de alterações na saúde dos peixes por exposição à toxicantes (LANGIANO, 2006; CRESTANI et al., 2007; DEVI; MISHRA, 2013).

É composto basicamente por células parenquimatosas, os hepatócitos, os quais são células dispostas em cordões com um ou dois núcleos esféricos e centralmente localizados, com apenas um nucléolo evidente e citoplasma granular, além de células de Kupffer, células endoteliais, sinusoides e ductos biliares (TAKASHIMA; HIBYA, 1995).

Os hepatócitos dos tucunarés coletados nos rios Javés e Formoso apresentaram como alteração mais frequente a vacuolização citoplasmática que pode ser resultado tanto do armazenamento de glicogênio ou lipídeos, sendo que o glicogênio atua como uma reserva energética para fornecer glicose que podem ser necessárias em situações de estresse (TAKASHIMA; HIBYA, 1995).

Alterações observadas nos animais coletados nos pontos B e C, como hipertrofia nuclear, dilatação dos sinusoides, mais frequente no Ponto B, e congestão dos vasos também indicam aumento da atividade metabólica nos hepatócitos, podendo ser uma resposta à presença de agentes estressores.

Tais alterações também foram registradas por Langiano (2006) e Benze (2013) em experimentos em peixes foram expostos a um herbicida e inseticida amplamente utilizados como defensivos agrícolas e por Liu et al. (2010) ao avaliar os efeitos da exposição do zinco à exemplares de *Synechogobius hasta*.

Shiogiri et al. (2012) registrou a presença de mudanças no tecido hepático como deformação do contorno nuclear, hipertrofia nuclear, dilatação dos

sinusóides e necrose em *Piaractus mesopotamicus* expostos a um herbicida. Segundo Prado (2013), esse composto é um dos mais de 70 provavelmente presentes disponíveis em águas superficiais na região do presente estudo. Tais alterações também foram observadas nos tucunarés de todos os pontos de coleta, com exceção da necrose que só foi registrada nos Pontos B e C, localizados próximos às áreas de intensa atividade agrícola.

A necrose é uma lesão degenerativa caracterizado pela lise das células seguido por desorganização dos cordões hepáticos que leva à perda ou diminuição da função (RIBEIRO et al., 2013). Essa alteração mais severa foi observada em fígados de peixes expostos à contaminação por metais (ARELLANO; STORCH; SARASQUETE, 1999; RABITTO et al., 2011) e por pesticidas (RIBEIRO et al., 2005; MIRANDA et al., 2008).

Ribeiro et al. (2013) também observaram necrose no fígado de *Atherinella brasilienses* coletados na Baía de Paranaguá, que é um estuário afetado por atividades urbanas, industrial, portuária e agrícola. Assim, apesar da baixa incidência de necrose observada em *Cichla sp.* nos Pontos B e C, a presença desse tipo de alteração comprova que existem contaminantes no meio aquáticos promovendo danos severos no fígado desses animais, provavelmente resultado de um processo de exposição contínuo à diferentes compostos químicos.

Alterações como vacuolização citoplasmática, núcleos picnóticos, ruptura de vaso, dilatação de sinusóides e necrose foram identificados em peixes expostos à concentrações elevadas de cromo (MISHRA; MOHANTY, 2009; VELMA; TCHOUNWOU, 2010), assim como as verificadas no presente estudo, sendo um indício forte da exposição dos tucunarés a esse metal, o qual foi detectado em concentrações acima do limite permitido.

A estagnação biliar ou colestase caracteriza-se pelo acúmulo de bile nos hepatócitos em forma de grânulos amarelo-castanho no seu citoplasma, o que ocorre em função de uma mudança no metabolismo do órgão, comprometendo o metabolismo de lipídeos (PACHECO; SANTOS, 2002). Tal alteração foi observada com frequência nos tucunarés coletados nos três pontos do presente estudo. Esse acúmulo de bile indica possíveis danos ao metabolismo hepático em peixes de ambientes naturais poluídos (MELETTI; ROCHA; MARTINEZ,

2003; SILVA, 2004; CASTRO et al, 2014; SANTOS et al., 2014) e submetidos a testes com herbicidas (FANTA et al., 2003) e inseticidas (BENZE, 2013).

Observou-se a presença de infiltrado inflamatório no tecido hepático dos exemplares capturados no rios Javaés e Formoso. Infiltração de leucócitos é um sinal de processo inflamatório, que pode ser associada a vários fatores, não sendo, portanto, capaz de ser identificado uma única causa (BERNET et al., 1999).

Os dados de incidência de lesões pelo órgão, VMA, mostrou que as alterações hepáticas estavam espalhadas nos animais coletados nos pontos B e C, e apenas pontualmente localizadas nos animais da área controle.

Camargo e Martinez (2007) registraram um índice de alterações histopatológicas médio de 52,34 para animais coletados em um rio urbano que recebe influência de atividades antrópicas, entre elas agrícolas, indicando lesões hepáticas que causam danos de moderados a severos. Esses resultados são semelhantes aos obtidos no presente estudo que também foi realizado em rios que recebem resíduos da agricultura, onde o valor médio de IAH para os animais dos pontos B e C foi de 55,75 e 51,85 com lesões severas que prejudicam o funcionamento normal do órgão, mas podem ser reversíveis.

Os índices de alterações histopatológicas indicam que os peixes coletados nos rios Javaés e Formoso estavam expostos à contaminantes presentes na água, uma vez que o fígado que é o principal órgão de detoxificação e reage primariamente após o estresse causado por toxicantes (TAKASHIMA; HYBIA, 1995).

Apesar das alterações histopatológicas observadas nos peixes provenientes dos rios próximos às áreas agrícolas terem consequências danosas para os organismos, sua progressão geralmente depende da exposição contínua ao produtos químicos, ou seja, se a exposição deixar de acontecer a lesão para de progredir e o tecido recupera suas funções, permitindo o desenvolvimento e crescimento dos animais (CRESTANI et al., 2007; KAN et al., 2012).

5 CONCLUSÃO

- A bioacumulação foi evidente para Cr em todos os pontos de coleta.
- Uma atenção deve ser voltada para na área tomada como referência nesse estudo, visto que essa é uma área de proteção ambiental e os tucunarés encontram-se contaminados com cromo.
- Os resultados de alterações histopatológicas juntamente com os índices de alterações histopatológicas para brânquias e fígado indicam respostas adaptativas e que os animais estão expostos aos contaminantes na área de estudo.
- As respostas dos biomarcadores demonstram risco ecológico para os animais coletados próximos às áreas agrícolas, em função das alterações apresentadas, provavelmente, como resposta à presença de contaminantes no meio, caracterizando um perigo (danos) para saúde dos peixes em função da exposição aos xenobióticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os níveis de metais Cu, Cr e Mn acima do que é permitido pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente indica a necessidade monitoramento nos rios Javaés e Formoso, os quais são um recurso amplamente utilizado pela comunidade local e para as atividades de irrigação, apresentando assim, risco de contaminação aos diferentes compartimentos do ecossistema (bióticos e abióticos).

O uso de espécies nativas como bioindicador para o monitoramento ambiental é uma importante ferramenta uma vez que esse animal faz parte da alimentação das comunidades ribeirinhas e indígenas da região e portanto apresenta potencial toxicológicos para população humana.

A análise integrada dos parâmetros bióticos e abióticos neste estudo indica o risco de contaminação para população (ribeirinhos, pescadores e indígenas) que faz o consumo dos tucuranés, pois os mesmos encontram-se com níveis de cromo quase dez vezes acima do que é permitido pela legislação brasileira.

Embora o uso de agrotóxicos e fertilizantes seja utilizado para atender aos atuais níveis de produção/demanda, sua disponibilidade e efeitos ecológicos precisam ser monitorados periodicamente, a fim de detectar e/ou evitar perturbações nas condições de vida nos ecossistemas aquáticos, bem como evitar graves desequilíbrios ambientais e, conseqüentemente, perda da qualidade de vida para as futuras gerações.

Medidas de manejo e prevenção, como por exemplo, controle da quantidade e tipo de insumos utilizados, necessitam ser implementadas na área de estudo, pois os contaminantes estão impactando áreas próximas e distantes dos pontos de lançamento dos agrotóxicos, como foi observado no local selecionado como referência.

REFERÊNCIAS

- ADAKOLE, J. A.. Changes in some hematological parameters of the African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to a metal finishing company effluent. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 5, n. 4, 2012.
- ADAMS, S. M.; GREELEY, M. S.. Ecotoxicological indicators of water quality: using multi-response indicators to assess the health of aquatic ecosystems. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 123, p. 103–115, 2000.
- AGUIAR, L. H.; MORAES, G.; AVILEZ, I. M.; ALTRAN, A. E.; CORREA, C. F.. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus*. **Environ Res**, v. 95, p. 224–230, 2004.
- AHMED, M. K.; KUNDU, G. K.; AL-MAMUN, M. H.; SARKAR, S. K.; AKTER, M. S.; KHAN, M. S.. Chromium (VI) induced acute toxicity and genotoxicity in freshwater stinging catfish, *Heteropneustes fossilis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 92, p. 64–70, 2013.
- AKTAR, M. W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A.. Occurrence of heavy metals in fish: a study for impact assessment in industry prone aquatic environment around Kolkata in India. **Environ Monit Assess**, v.181, p. 51–61, 2011.
- AL-ATTAR, A. M.. The influence of nickel exposure on selected physiological parameters na Gill structure in the Teleost fish, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Biological Sciences**. v. 7, n. 1, p. 77-85, 2007.
- AL-SABIT, K.. Micronuclei induced by selenium, mercury, methylmercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocyte cells. **Mutation Research**, v. 320, p. 157-163, 1994.
- AL-SABTI, K., METCALFE, C. D.. Fish micronuclei for assessing genotoxicity. **Water. Mutat. Res.**, v. 343, p.121–135, 1995.
- ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C.. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales *Sole solea senegalensis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 44, n. 1, p 62-72, 1999.
- ARUNACHALAM, K. D.; ANNAMALAI, S. K.; KURUVA, J. K.. *In-vivo* evaluation of hexavalent chromium induced dna damage by alkaline comet assay and oxidative stress in *Catla catla*. **American Journal of Environmental Science**, v. 9, n. 6, p. 470-482, 2013.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Control). **CERCLA Priority List of Hazardous Substances**. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/clist.html>>. Acesso em 15 de fev. 2015.

AZEVEDO, F. A.; LIMA, I. V.. Toxicocinética. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M.. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: Rima, 2003. 340 p.

AZEVEDO, J. S.; BRAGA, E. S.; RIBEIRO, C. A. O.. Nuclear abnormalities in erythrocytes and morphometric indexes in the catfish *Cathorops spixii* (ariidae) from different sites on the Southeastern Brazilian Coast. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 60, n. 3, p. 323-330, 2012.

BARROS, B. C. V.; PEREIRA, S. F. P.; PALHETA, D. C.; SILVA, C. S.. Determinação de Cd, Cr e Al em tecido de peixes provenientes do Rio Gelado/APA, Floresta de Carajás-PA. **Holos Environment**, v. 10, n. 2, p. 195 – 208, 2010.

BENZE, T. P.. **Efeitos da exposição ao inseticida difluzenzuron em curimatá, Prochilodus lineatus (Teleósteo, Prochilodontidae)**. São Carlos, 2013. 71f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2013.

BERNET, D.; SCHIMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T.. Histopathology in Fish: Proposal for a Protocol to Assess Aquatic Pollution. **J. Fis. Disea.**, v.22, p.25-34, 1999.

BOTELHO, R. G.. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba (SP) e efeito da vinhaça para organismos aquáticos antes e após correção do pH**. Piracicaba, 2013. 170 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto Leinº 55.781, de 26 de março de 1965: **Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos e seu anexo Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos**. Presidência da República, Brasil.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Aprova o Regulamento Técnico: "**Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos**" e seu **Anexo: "Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos"**. Secretaria de Vigilância Sanitária, 1998.

CAMARGO, M. M.; MARTINEZ, C. B. R.. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.

CAMPOS, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R.. Histopathology of gills of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) infested by monogenean and myxosporea, caught in

Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal**, v. 20, n. 1, p. 67-70, jan.-mar. 2011.

CAMPOS, M. L.; SILVA, F. N.; FURTINI NETO, A. E.; GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; ANTUNES, A. S.. Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.40, n.4, p.361-367, 2005.

CANLI, M.; ATLI, G. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. **Environmental Pollution**, v. 121, p. 129–136, 2003.

CANTANHÊDE, S. M.; MEDEIROS, A. M.; FERREIRA, F. S.; ALVES, L. M. C.; CUTRIM, M. V. J.; SANTOS, D. M. S.. Uso de biomarcador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) na avaliação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna da Jansen, São Luís – MA. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.2, p.593-601, 2014.

CAPKIN, E.; TERZI, E.; BORAN, H.; YANDI, I.; ALTINOK, I..Effects of some pesticides on the vital organs of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Tissue and Cell**, v. 42, p. 376–382, 2010.

CARDOSO, L. M. N.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos**. Salvador: CRA. Cadernos de referência ambiental, v. 62001. 122p.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; TORRES Jr., A. R.; ABREU-SILVA, A. N.. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). **Appl Biochem Biotechnol**, v. 166, p. 1314–1327, 2012.

CASTILHOS, Z. C.; ALMONSY, N.; SOUTO, P. S.; SILVA, L. C. C. P.; LINDE, A. R.; BIDONE, E. D.. Bioassessment of Ecological Risk of Amazonian Ichthyofauna to Mercury. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 72, p. 671–679, 2004.

CASTRO-GONZALEZ, M. I.; MENDEZ-ARMENTA, M.. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 26, p. 263–271, 2008.

CASTRO, J. S.; SILVA, J. S.; FREITAS, L. C.; CARVALHO-NETA, R. N. F.. Biomarcadores histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma Unidade de Conservação de São Luís (MA). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.6, p.1687-1694, 2014.

CERQUEIRA, C. C. C.; FERNANDES, M. N. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 52, p. 83 – 91, 2002.

CHALID, A.; HILALI, M.; BENLHACHIMI, A.; BOUZID, T.. Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v.147, p. 357–360, 2014.

CHEN, Q. L.; LUO, Z.; ZHENG, J. L.; LI, X. D.; LIU, C. X.; ZHAO, Y. H.; GONG, Y. Protective effects of calcium on copper toxicity in *Pelteobagrus fulvidraco*: Copper accumulation, enzymatic activities, histology. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 126–134, 2012.

CRESTANI, M.; MENEZES, C.; GLUSCZAK, L.; MIRON, D. S.; SPAVANELLO, R.; SILVEIRA, A.; GONÇALVES, F. F.; ZANELLA, R.; LORO, V. L.. Effect of clomazone herbicide on biochemical and histological aspects of silver catfish (*Rhamdia quelen*) and recovery pattern. **Chemosphere**, v. 67, p. 2305–2311, 2007.

DE FLORA, S.; VIGANO, L.; AGOSTINI, F. D.; CAMOIRANO, A.; BAGNASCO, M.; BENNICELLI, C.; MELODIA, F.; ARILLO, A. Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. **Mutation Research**, n.319, p.167-177, 1993.

DEVI, Y.; MISHRA, A.. Histopathological Alterations in Gill and Liver Anatomy of Fresh Water, Air Breathing Fish *Channa punctatus* after Pesticide Hilban® (Chlorpyrifos) Treatment. **Adv. Biores.**, v. 4, n. 2, p. 57- 62, 2013.

DÓREA, J. G.; BARBOSA, A. C.. Anthropogenic Impact of Mercury Accumulation in Fish from the Rio Madeira and Rio Negro Rivers (Amazonia). **Biological Trace Element Research**, v. 115, p. 243-254, 2007.

ESTEVEES, F. A.. **Fundamentos de Limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

EVANS, D. H.; PIERMARINI, P. M.; CHOE, K.. The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. **Physiol Ver.** v. 85, p. 97–177, 2005.

FANTA, E.; RIOS, F.S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A.C.G.; FREIBERGER, S.. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated in water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 119-130, 2003.

FERRARO, M. V. M. et al. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. *Genetics and Molecular Biology*, v. 27, p.103-107, 2004.

FERNANDES, N.M.; MAZON, A.F.. In: VAL, L.; KAPOOR, B., G.. **Fish Adaptations**. São Carlos: Science Publishers, 2003. 418p.

FERNANDEZ, W. S.; DIAS, J. F.; RIBEIRO, C. A. O.; AZEVEDO, J. de S.. Liver Damages And Nuclear Abnormalities In Erythrocytes of *Atherinella Brasiliensis*

(Actynopterigii, Atherinopsidade) from Two Beaches In Southeast Of Brazil. **Brazilian Journal Of Oceanography**. v. 59, n. 2, p. 163-169, 2011.

FLORES-LOPES, F.; THOMAZ, A. T.. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. **Braz. J. Biol.**,v. 71, n. 1, p. 179-188, 2011.

FOSBERG, B.R.; KEMENES, A. **Análise do Eia-Rima sobre os aproveitamentos hidrelétricos de Santo Antônio e Jirau, rio Madeira-Ro: avaliação dos estudos hidrobiogeoquímicos com atenção específica à dinâmica do mercúrio**. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (Inpa). Manaus, 2006.

FU, J.; HU, X.; TAO, X.; YU, H.; ZHANG, X.. Risk and toxicity assessments of heavy metals in sediments and fishes from the Yangtze River and Taihu Lake, China. **Chemosphere**, v. 93, p. 1887–1895, 2013.

GALEB, L. do A.G.. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial Jundiá (*Ramdia quelen*)**. São Joé dos Pinhais, 2010. 70f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, São José dos Pinhais (PR), 2010.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilotica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.2, p.376-381, 2007.

GOMES, I. D.; NASCIMENTO, A. A.; SALES, A.; ARAÚJO, F. G.. Can fish gill anomalies be used to assess water quality in freshwater Neotropical systems?. **Environ Monit Assess**, v. 184, p. 5523-5531, 2012.

GLUSCZAK, L.; MIRON, D.S.; CRESTANI, M.; FONSECA, M.B.; PEDRON, F.A.; DUARTE, M.F.; VIEIRA, V.L.P. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, p. 237–241, 2006.

GRISOLIA, C. K.; RIVERO, C. L. G.; STARLING, F. L. R. M.; SILVA, I. C. R. da; BARBOSA, A. C.; DOREA, J. G.. Profile of micronucleus frequencies and DNA damage in different species of fish in a eutrophic tropical lake. **Genetics and Molecular Biology**. v. 32, n. 1, p. 138-143, ago. 2009.

HEATH, A. G. Water Pollution and Fish Physiology. 2. ed. C.R.C. Press, Lewia Publishers, 1987. 342 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Séries Estatísticas e Sé-ries Históricas: Defensivos agrícolas em linha de comercialização por classes toxicológicas 1992-2003**. Disponível em:

<<http://seriesestatisticas.ibge.gov.br/seri-es.aspx?vcodigo=IU19&t=uso-agrotoxicos-2-agrotoxicos-linha-comercializacao>>. Acesso em: 12 de set 2012. IWANOWICZ, L. R.; BLAZER, V. S.; HITT, N. P.; McCORMICK, S. D.; DE VAULT, D. S.; OTTINGER, C. A.. Histologic, immunologic and endocrine biomarkers indicate contaminant effects in fishes of the Ashtabula River. *Ecotoxicology*, v. 21, p. 165–182, 2012.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V.. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecol. Bras.*, v. 12, n. 4, p. 680-693, 2008.

JESUS, T. B., FERNANDEZ, L. G.; QUEIROZ, A. F. S.. Avaliação da concentração de cádmio, cobre, ferro, manganês, níquel e zinco em *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) provenientes de zonas de manguezal da região de São Francisco do Conde e Madre de Deus, Recôncavo Baiano, BA. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 3, n. 1, p. 77-84, 2008.

KALAY, M.; CANLI, M. Elimination of Essential (Cu, Zn) and Non-Essential (Cd, Pb) Metals from Tissues of a Freshwater Fish *Tilapia zilli*. **Turkish Journal of Zoology**, v. 24, p. 429-436, 2000.

KAN, Y.; CENGIZ, E. I.; UGURLU, P.; YANAR, M.. The protective role of vitamin E on gill and liver tissue histopathology and micronucleus frequencies in peripheral erythrocytes of *Oreochromis niloticus* exposed to Deltamethrin. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, p. 170–179, 2012.

KEHRIG, H.A.; HOWARD, B. M.; MALM, O.. Methylmercury in a predatory fish (*Cichla spp.*) inhabiting the Brazilian Amazon. **Environ Pollut**, v. 154, p. 68–76, 2008.

KORTE, F.. Ecotoxicology of Cadmium's. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 2, p. 184-208, 1982.

LANGIANO, V. C.. **Toxicidade do Roundup® e seus efeitos para o peixe neotropical *Prochilodus lineatus***. Londrina, 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, da Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2006.

LIMA, R. A. M.. **Avaliação da contaminação de *Leptodactylus ocellatus*, ocasionada por agrotóxicos, na sub-bacia do rio Urubu – TO**. Palmas, 2010. 176f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2010.

LIU, X. J.; LUO, Z.; XIONG, B. X.; ZHAO, Y. H.; HU, G. F.; LV, G. J.. Effect of waterborne copper exposure on growth, hepatic enzymatic activities and histology in *Synechogobius hasta*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 1286–1291, 2010.

MADUENHO, P. L.; MARTINEZ, C. B. R.. Acute effects of diflubenzuron on the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 148, p. 265-272, 2008.

MALIK, N.; BISWAS, A. K.; QURESHI, T. A.; BORANA, K.; VIRHA, R.. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. **Environ Monit Assess**, v. 160, p. 267–276, 2010.

MAHARAJAN, A.; RAJALAKSHMI, S.; VIJAYAKUMARAN, M.; KUMARASAMY, P. Sublethal Effect of Copper Toxicity Against Histopathological Changes in the Spiny Lobster, *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758). **Biol Trace Elem Res**, v. 145, p. 201–210, 2012.

MARTINEZ, C.B.R.; CÓLUS, I.M.S. 2002. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: Medri, M.E.; Bianchini, E.; Shibatta, O.A.; Pimenta, J.A. (Eds.). A bacia do Rio Tibagi. Londrina.

MARTINEZ, C. B. R.; NAGAE, M. Y.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M.. Morphological and physiological acute effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian Journal Biology*, v. 64, p. 797-807, 2004.

MASSOULIE, J.; PEZZEMENTI, L.; BON, S.; KREJCI, E.; VALLETTE, F. M.. Molecular and cellular biology of cholinesterases. **Prog Neurobiol (Oxf)**, v., 4, p. 31–91, 1993.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A.. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.

MAZON, A. F.; CERQUIERA, C.C.C; FERNANDES, M.N. Gill cellular changes induced by copper exposure in the south American tropical freshwater fish *Prochilodus scrofa*. **Environmental Research Section A**, v. 88, p. 52 – 63, 2002.

MAZON, A. F., MONTEIRO, E. A. S., PINHEIRO, G. H. D.; FERNANDES, M. N.. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. **Braz. J. Biol.**, v. 62, n. 4, p. 621-631, 2002.

MELETTI, P. C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C. B. R. **Avaliação da degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes**. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Org.). *Limnologia Fluvial - Um Estudo no Rio Mogi-Guaçu*. São Carlos, 2003, p. 149-180.

MIRANDA, A. L.; ROCHE, H.; RANDI, M. A. F.; MENEZES, M. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the

- tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological, physiological, and immunological findings. **Environ. Int.**, v. 34, p. 939-949, 2008.
- MISHRA, A. K.; MOHANTY, B.. Chronic exposure to sublethal hexavalent chromium affects organ histopathology and serum cortisol profile of a teleost, *Channa punctatus* (Bloch). **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 5031–5038, 2009.
- MONTES, C.S.; FERREIRA, M.A.P; SANTOS, S.S.D.; VON LEDEBUR, E.I.C.F.; ROCHA, R.M.. Branchial histopathological study of *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) in the Guajará Bay, Belém, Pará state, Brazil. **Acta scientiarum biological science**, vol. 32, n. 1, p. 87-92, 2010.
- MONTES, C. S.; ROSA FILHO, J. S.; ROCHA, R. M.. Histological Biomarker as Diagnostic Tool for Evaluating the Environmental Quality of Guajará Bay – PA – Brazil. **Environmental Monitoring**, Dr Ema Ekundayo (Ed.), ISBN: 978-953-307-724-6, InTech, Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/environmental-monitoring/histological-biomarker-as-diagnostic-tool-forevaluating-the-environmental-quality-of-guajara-bay-pa>>. Acesso em 01 de fev. De 2015.
- NASCIMENTO, K. M.; SANTOS, D. C.; PEREIRA, S. F. P.; SILVA, C. S.; COUTINHO, R. M. P.; MIRANDA, R. G.; MORAES, W. N.; PEREIRA, J. S.; BITTENCOURT, J. A.; OLIVEIRA, M. S.; PONTES, R. G.; SANTOS, L. P.. Avaliação da concentração de Fe, Cr, Al, Ni e Cu na musculatura de tucunaré (*Cichla spp.*), oriundo do lago da usina hidrelétrica de tucuruí-PA. 51º Congresso Brasileiro de Química – Energia e Ambiente. São Luís – MA, out. 2011.
- NWANI, C. D.; NAGPURE, N. S.; KUMAR, R.; KUSHWAHA, B.; KUMAR, P.; LAKRA, W. S.. Mutagenic and genotoxic assessment of atrazine-based herbicide to freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus test and single cell gel electrophoresis. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 31, p. 314–322, 2011.
- PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 331 – 347, 2002.
- PANDEY, S.; PARVEZ, S.; ANSARI, R. A.; ALI, M.; KAUR M.; HAYAT, F.; AHMADA, F.; RAISUDDIN, S.. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. **Chemico-Biological Interactions**, v. 174, p. 183–192, 2008.
- PARVATHI, K.; SIVAKUMAR, P.; RAMESH, M.; SARASU. Sublethal effects of chromium on some biochemical profiles of the fresh water teleost, *Cyprinus carpio*. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, p. 295-300, 2011.

PATLOLLA, A. K.; BARNES, C.; HACKETT, D.; TCHOUNWOU, P. B.. Potassium Dichromate Induced Cytotoxicity, Genotoxicity and Oxidative Stress in Human Liver Carcinoma (HepG2) Cells. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 6, p. 643-653, 2009.

PEREIRA, L.. Efeitos dos herbicidas clomazone e ametrina em parâmetros funcionais da espécie de peixe Neotropical *Prochilodus lineatus*. São Carlos, 2012. 85f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, São Carlos (SP), 2012.

PRADO, G. L. do. **Avaliação da susceptibilidade à contaminação de corpos hídricos, em áreas de cultivo e do entorno (Reservas Indígenas), pelo uso de agrotóxicos**. Palmas, 2013. 103f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2013.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDŽIC, V. **Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution**. In MÜLLER, R.; LLOYD, R. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Oxford: Fishing News Books, 1994. cap. 30, p. 339-352.

PORTO, L. C. S.; ETHUR, E. M. Elementos traço na água e em vísceras de peixes da Bacia Hidrográfica Butuí-Icamaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.39, n.9, p. 2512-2518, dez, 2009.

QUEIROZ, M. T. A. **Bioacumulação de metais pesados no Rio Piracicaba, Minas Gerais, aplicando a análise por ativação Neutrônica Instrumental**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial) – Centro Universitário do Leste.

RABITTO, I. S.; ALVES COSTA, J. R. M.; SILVA DE ASSIS, H. C., PELLETIER, E.; AKAISHI, F. M.; ANJOS, A.; RANDI, M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Effects of dietary Pb(II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: Histopathological and biochemical findings. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 60, p. 147-156, 2005.

RASHED, M. N.. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. **Environment International**, v. 27, p. 27-33, 2001.

REPULA, C. M. M.; CAMPOS, B. K.; GANZAROLLI, E. M.; LOPES, M. C.; QUINÁIA, S. Q. Biomonitoramento de Cr e Pb em peixes de água doce. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 905-909, 2012.

RHEINHEIMER, D. S.; GONCALVEZ, C. S.; PELLEGRINI, J. B. R. Impacto das atividades agropecuárias na qualidade da água. **Ciência & Ambiente**. Santa Maria, v, 27, n 2, p. 85-96, 2003.

RIBEIRO, C. A. O.; KATSUMITI, A.; FRANÇA, P.; MASCHIO, J.; ZANDONÁ, CESTARI, M. M.; VICARI, T.; ROCHE, H.; ASSIS, H. C. S.; FILIPAK NETO, F.. Biomarkers responses in fish (*Atherinella brasiliensis*) of Paranaguá Bay, Southern Brazil, for assessment of pollutant effects. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 61, n. 1, p. 1-11, 2013.

RIBEIRO, C. A. O.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A.; ROCHE, H.. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**. v. 74, p. 53–69, 2005.

RIVERO, C. L. G.. **Perfil da frequência de micronúcleos de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do Lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil**. Brasília, 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular da Universidade de Brasília. Brasília – DF, 2007.

ROCHA, C. A. M.; ALMEIDA, V. H. C.; SILVA PINHEIRO, R. H. S.; CUNHA, L. A. Micronuclei and other nuclear abnormalities in *A. tetramerus*. **UAKARI**, v.6, n.2, p. 57-66, 2010.

ROCHA, C. A. M.; CUNHA, L. A.; PINHEIRO, R. H. S.; BAHIA, M. O.; BURBANO, R. M. R.. Studies of micronuclei and other nuclear abnormalities in red blood cells of *Colossoma macropomum* exposed to methylmercury. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 4, p. 694-697, 2011.

RODRIGUES, A. P. C.; MACIEL, P. O.; SILVA, L. C. C.; ALBUQUERQUES, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M.; LINDE, A. R.; ALMOSNY, N. R. P.; ANDREATA, J. V.; BIDONE, E. D.; CASTILHOS, Z. C.. Biomarkers for Mercury Exposure in Tropical Estuarine Fish. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 5, n. 1, p. 9-18, 2010.

SANCHES-FILHO, P. J.; FONSECA, V. K.; HOLBIG, L.. Avaliação de metais em pescado da região do Pontal da Barra, Laguna dos Patos, Pelotas-RS. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 8, n. 1, p. 105-111, 2013.
SANCHEZ, W.; PICCINI, B.; MAILLOT-MARÉCHAL, E.; PORCHER, J. M.. Comparison of two reference systems for biomarker data analysis in a freshwater biomonitoring context. **Environ Int**, v.36, p. 377–82, 2010.

SANCHO, E.; FERRANDO, M.D.; ANDREU, E.. Sublethal effects of an Organophosphate Insecticide on the European Eel, *Anguilla anguilla*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 36, p. 57-65, 1997.

SANTOS, B. G.; ALBINATI, R. C. B.; MOREIRA, E. L. T.; LIMA, F. W. M.; AZEVEDO, T. M. P.; COSTA, D. S. P.; MEDEIROS, S. D. C.; LIRA, A. D.. Parâmetros hematológicos e alterações histopatológicas em bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) com amyloodiniose. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 11, p. 1184-1190, nov. 2012.

SANTOS, D. M., BOSSINI, J. AT., PREUSSLER, K. H., VASCONSELOS, E. C., CARVALHO-NETO, F. S.; CARVALHO-FILHO, M. A. S.. Avaliação de metais

pesados na Baía de Paranaguá, PR, Brasil, sob influência das atividades antrópicas. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 2, p. 157-160, 2006.

SANTOS, D. C. M.; MATTA, S. L. P.; OLIVEIRA, J. A.; SANTOS, J. A. D.. Histological alterations in gills of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute exposition to zinc. **Experimental and Toxicologic Pathology**, 2011. doi:10.1016/j.etp.2011.03.007.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W. & TRIEBSKORN, R.. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant related stress in fish. Dordrecht. **Journal Aquatic Ecosystem Stress Recovery**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.

SHIOGIRI, N. S.; PAULINO, M. G.; CARRASCHI, S.; BARALDI, F. G.; CRUZC, C.; FERNANDES, M. N.. Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the Neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, p. 388–396, 2012. Disponível em:< http://ac.els-cdn.com/S1382668912000786/1-s2.0-S1382668912000786-main.pdf?_tid=bbd0601c-b47f-11e4-9f47-00000aacb361&acdnat=1423942323_3a3e983a09c5fa52c2dcc8295a96f346>. Acesso em 04 de fev. de 2015.

SHUKLA, J. P.; SHUKLA, A.; DUBEY, R.. Deleterious effects of hexavalent chromium on the blood pyruvate level in the fingerlings of *Channa punctatus* (bl.), a tropical freshwater murrel. **Int J Pharm Bio Sci**, v. 3, n. 4, p. 789-794, 2012.

SILVA, C. S.; PEDROZO, A. F. M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: CRA, 2001. 100p. (Cadernos de referência ambiental, v. 5).

SILVA, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores da contaminação aquática**. Londrina, 2004. 80f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia e Botânica da Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2004.

SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F.. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.369-376, 2013.

SPONGBERG, A.; MARTIN-HAYDEN, J. M. Pesticide stratification in an engineered wetland delta. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 31, n. 11, p. 3161-3165, 1997.

STENTIFORD, G.D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B.P. JONES, G.; GREEN, M.; FEIST, S.W.. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environm. Resea.**, v.55, p.137-159, 2003.

- SZEGLETES, T.; POLYHOS, C. S.; BÁLINT, T.; RADY, A. A.; LÁNG, G.; KUFCSÁK, O.; NEMCSÓK, J.. In vivo effects of deltamethrin on some biochemical parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environment Monitoring and Assessment*, v. 35, p. 97-111, 1995.
- TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology normal and pathological features**. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag, 1995.
- TAWHEEL, A.; SHUHAIMI-OTHMAN, M.; AHMAD, A. K.. Assessment of heavy metals in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from the Lang at River and Engineering Lake in Bangi, Malaysia, and evaluation of the health risk from tilapia consumption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 93, p. 45–51, 2013.
- THOPHON, S.; KRUAETRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**. v. 121, p. 307 – 320, 2003.
- THRALL, M. A.; BAKER, C. D.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G.. *Hematologia e Bioquímica: clínica veterinária*. São Paulo: Roca, 2007.
- UDROIU, I.. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**. v. 79, p. 201–204, jun. 2006.
- TRZECIAK, A.; KOWALIK, J.; PANAS, E. M.; DRZEWOSKI, J.; WOJEWDZKA, M.; IWANEAKO, T.; BASIAK, J.. Genotoxicity of chromium in human gastric mucosa cells and peripheral blood lymphocytes evaluated by the single cell gel electrophoresis (comet assay). **Med Sci Monit**, v. 6, n. 1, p. 24-29, 2000.
- OOST, V. D.; BEYER, R.; VERMEULEN, J. N. P. E.. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environ Toxicol Pharmacol.**, v. 13, p. 57-149, 2003.
- VELMA, V.; TCHOUNWOU, P. B.. Oxidative Stress and DNA Damage Induced by Chromium in Liver and Kidney of Goldfish, *Carassius auratus*. **Biomarker Insights**, v.8, p. 43–51, 2013.
- VELMA, V.; VUTUKURU, S. S.; TCHOUNWOU, P. B.. Ecotoxicology of Hexavalent Chromium in Freshwater Fish: A Critical Review. **Rev Environ Health**, v. 24, n. 2, p. 129–145, 2009.
- VELUSAMY, A.; KUMAR, P. S.; RAM, A.; CHINNADURAI, S.. Bioaccumulation of heavy metals in commercially important marine fishes from Mumbai Harbor, India. **Marine Pollution Bulletin**, v. 81, p. 218–224, 2014.
- VUTUKURU, S. S. Acute Effects of Hexavalent Chromium on Survival, Oxygen Consumption, Hematological Parameters and Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. **International Journal of Environmental Research Public Health**, v.2, n.3, p. 456-462, 2005.

WARD, D. M.; MAYES, B.; STURUP, S.; FOLT, C. L.; CHEN, C. Y.. Assessing element-specific patterns of bioaccumulation across New England lakes. **Sci Total Environ**, v.1, 2012.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. R.. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Maringá**, v. 23, n. 2, p. 507-514, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental health criteria, 61, chromium**. New York: INCHEM/IPCS, 1988. 199p.

ZHENG, J. L.; LUO, Z.; CHEN, Q. L.; LIU, X.; ZHAO Y. H.; GONG, Y.. Effect of waterborne zinc exposure on metal accumulation, enzymatic activities and histology of *Synechogobius hasta*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1864–1873, 2011.