

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIAS E
TESTÍCULOS DE PEIXES DA REGIÃO
MARINHA ADJACENTE À FOZ DO RIO DOCE,
LINHARES/ES APÓS O ROMPIMENTO DA
BARRAGEM DE FUNDÃO.**

JÚLIA SACRAMENTO BARBOSA

São Mateus/ES

Maior/2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIAS E
TESTÍCULOS DE PEIXES DA REGIÃO
MARINHA ADJACENTE À FOZ DO RIO DOCE,
LINHARES/ES APÓS O ROMPIMENTO DA
BARRAGEM DE FUNDÃO.**

JÚLIA SACRAMENTO BARBOSA

Monografia de Conclusão de Curso
apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal
do Espírito Santo, como requisito
parcial para obtenção do título de
BACHAREL EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana Castro Monteiro Pirovani

Coorientadora: Msc. Lorena Ziviani Bevitório

São Mateus/ES

Maior/2021



FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: **JÚLIA SACRAMENTO BARBOSA**

Título: **HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIAS E TESTÍCULOS DE PEIXES DA REGIÃO MARINHA ADJACENTE À FOZ DO RIO DOCE, LINHARES/ES APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO.**

Monografia do Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado)
Defendida e aprovada em 04/05/2021.

Com nota 9,5 (nove vírgula cinco) pela comissão julgadora:

Lorena Ziviani Bevitório

Msc. Lorena Ziviani Bevitório
Coorientadora e presidente da Comissão Examinadora

Carlos Eduardo D. Vieira

Dr. Carlos Eduardo Delfino Vieira

Niumaique Gonçalves da Silva

Lic. Niumaique Gonçalves da Silva

Dedico este trabalho a minha família, namorado e amigos. Em especial, aos meus pais que sempre fizeram e fazem tudo por mim. Sem o carinho e apoio de vocês, eu não conseguiria!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por mais essa conquista, por ter me guiado a fazer a melhor escolha da minha vida e me permitir viver momentos maravilhosos durante esses quatro anos de graduação. Agradeço por toda sabedoria, saúde, força e por ter colocado pessoas tão especiais na minha vida, que com certeza fizeram que tudo se tornasse tão leve, verdadeiros anjos que serei eternamente grata e levarei comigo para sempre.

À minha família por todo amor, em especial aos meus maiores exemplos de vida, meus pais, Valdiva e João, que sempre apoiaram os meus sonhos e entraram de cabeça junto comigo e nunca deixaram eu desistir, sempre me incentivando a voar ainda mais alto. Tudo que sou e serei é graças a vocês e por vocês. Aos meus avós, vovó Lourdes, vovó Ceci e vovô Daniel: obrigada pela torcida, por todo carinho e por todas orações! Ao vovô João, que lá do céu está olhando por nós! É um orgulho ser neta de vocês! Agradeço também aos tios, tias, primas e primos que sonharam e torceram por mim. Amo muito vocês!

À minha irmã, Camila, por todo apoio, por todo amor, carinho e orações. Você foi essencial para que esse sonho fosse realizado, sempre me incentivando a ser melhor a cada dia e nunca desistir. Muito obrigada, te amo!

Ao meu companheiro de vida, melhor amigo e namorado, Mathielo, que me acompanha desde o início, e que eu tenho uma admiração enorme. Obrigada por tudo, por sempre acreditar em mim, por todo carinho, amor, e por todos os momentos incríveis que passamos juntos e sempre será lembrado com muito amor e carinho. Amo você!

À minha pessoa, Manu! Obrigada por tudo amiga, por toda troca, cada conselho e cada momento compartilhado. Estamos juntinhas desde o início, e continuaremos juntas para sempre, agradeço a Deus por ter você comigo, como amiga, parceira e confidente, Ele sabia que eu precisava de um anjo que me acompanhasse nos momentos mais importantes da minha vida, e me deu você. Te amo!

Aos meus amigos/família que a UFES me deu, os bacons: Caio Castro, Laura, Lucas, Paulo, Rafael e Ricardo, cada um de vocês tem um lugar muito especial em meu coração, obrigada por tornarem os dias em São Mateus mais leves e compartilharem comigo dessa trajetória.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a Juliana Castro Monteiro Pirovani, por ser uma mãezona com os orientados. Obrigada por ter me acolhido no laboratório, por todos os ensinamentos e

oportunidade. Você é uma orientadora incrível e se preocupou comigo em um momento muito delicado para nós duas, você ama e zela pela saúde dos seus orientados, obrigada por isso.

Ao grupo PET ProdBio por todas as experiências e conhecimento adquirido ao longo desses três anos, e que experiências!! O PET é o responsável pela profissional que me tornei e que continuarei me esforçando para ser. Agradeço, em especial, a tutora Marielce Tosta, por todos os puxões de orelhas, por todos conselhos, mensagens de carinho, por essa mãezona com os filhos petianos, muito obrigada!

Aos amigos que o PET me deu e vou levar para o resto da vida. Em especial, a minha tríplice aliança, composta pelos magníficos Juliana e Patrick, amigos vocês são muito importantes para mim, sou imensamente grata ao PET por ter nos unido, obrigada por toda cumplicidade, toda parceria, conselhos e os momentos que passamos juntos. Estendo os meus agradecimentos para Maykol, Karlinha, Bárbara, Eveline e Júlia, obrigada por toda troca naquela salinha que ficará marcada na gente.

Aos amigos que o Laboratório de Biologia Celular e Estrutural me deu: Isa, Ana, Brenda, Igor, Lucas, Eduardo e Leandro, obrigada por tudo que me ensinaram e que aprendemos juntos, por todo momento compartilhado, principalmente o cafézinho que não podia faltar.

As “negas” Thais e Layra, companheiras de turma, de laboratório e da vida. Obrigada por todos os momentos compartilhados ao longo desses anos de graduação, toda parceria e conselhos. Com certeza, toda troca que tivemos nesse último ano e todos os surtos que tivemos juntas, foi muito importante para mim, obrigada por isso, já vamos marcar o próximo jantar para conhecermos a Vitória!

Aos meus amigos de infância, do ensino médio e da vida: Ana Maria, Fernando, Gustavo, Igor, Esthefani e Daiane, obrigada por todos esses anos de amizade e por estarem torcendo por mim, mesmo de longe. Aos anjos que entrou na minha vida de 2017 para cá, em especial a Tassi, obrigada por ter me acolhido e por todo suporte que me deu no início disso tudo, nossa república sempre será marcada em mim, estendo os agradecimentos para os bioamigos, João Preto, Pedro, Maynne e Tifão, obrigada por todo apoio e por tudo. À Barraca do Cláudio e seus agregados, pelos inúmeros momentos felizes que passei com vocês, Diogo, Mateus, Felipe, Lorenzo, Dani, Rhay, Marcelli, Jonas, Victor e Álvaro, obrigada por tudo, vocês são incríveis. Aos meus sogros, Ediléia, Emizael e Jerônimo e as minhas cunhadinhas, Rachel e Rebeca, obrigada por tudo. Amo todos vocês!

Ao Instituto Federal do Espírito Santo, campus Montanha, pelo excelente ensino médio e técnico profissionalizante, que me qualificou para realizar o meu sonho de ingressar em uma graduação gratuita e de qualidade.

À Universidade Federal do Espírito Santo, pelas oportunidades, por todo apoio financeiro para divulgar a ciência por aí e pelo espaço cedido para realização de pesquisas científicas. Agradeço em nome de todos os professores que passaram pela minha trajetória acadêmica, em especial, a Tathiana, Anderson, Renato, Ana Paula e Mônica que são profissionais fantásticos e são uma fonte de inspiração.

À Rede Rio Doce Mar (RRDM) (Anexo 1)/Fundação RENOVA pela disponibilidade das amostras para a realização deste trabalho.

À minha coorientadora Msc. Lorena Ziviani Bevitório, pela paciência, por todos ensinamentos, pelo incentivo a fazer o meu melhor, por acreditar que ia dar certo e por todo auxílio na elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Carlos Eduardo Delfino Vieira e Lic. Niumaique Gonçalves da Silva por aceitarem compor a banca e pelas contribuições ao trabalho final.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Foz do rio Doce	1
1.2 Contaminação dos corpos hídricos por metais pesados	2
1.3 Biomonitorios e biomarcadores de contaminação ambiental	5
1.3.1 Brânquias.....	7
1.3.2 Testículos.....	8
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
3. OBJETIVOS	22
3.1 Geral	22
3.2 Específicos.....	22
4. RESULTADOS:	23
Histopatologia de brânquias e testículos de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce, Linhares/ES após o rompimento da barragem de Fundão	24
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS:	54

SUMÁRIO DE FIGURAS

Figura 1: Filamento branquial, corte transversal, H&E (barra = 16.7 μm) 1) lamela primária; 2) lamela secundária; 3) célula epitelial; 4) célula mucosa; 5) célula pilar; 6) lúmen capilar (lacuna); 7) eritrócitos na luz do capilar; 8) célula de cloreto; 9) célula basais. **Fonte:** Adaptado de YONKOS, 2000..... 8

Figura 2: Organização básica do testículo dos teleósteos. Secção transversal semifinal de testículo evidenciando túbulos seminíferos (delimitados em amarelo) compostos por cistos germinativos (CG) (delimitados em preto), corado com azul de toluidina. ((A) Representação esquemática de um túbulo seminífero composto por cistos germinativos em diferentes estágios da espermatogênese; (B) Esquemas com secções de testículo representando as diferentes fases da espermatogênese em peixes (C) Eg, espermatogônia; Ec, espermatócitos; Et, espermatíde; Ez, espermatozoides; I, interstício; L, lúmen; LB, lâmina basal, Le, células de Leydig; Se, células de Sertoli, VS, vasos sanguíneos,. Barras de escala em A = 100 μm ; C = 10 μm . **Fonte:** adaptado de NEZZI, 2015. 10

Figura 3: Mapa da foz do rio Doce, costa norte do Espírito Santo, Sudeste do Brasil. Branco: pontos da região central da foz do rio Doce; preto: pontos da região norte da foz do rio Doce e cinza: pontos da região sul da foz do rio Doce. Fonte: Msc. Álvaro Nepomuceno, 2020.28

Figura 4: Índices de lesão branquial e testicular dos peixes dos três setores amostrais da região marinha adjacente à foz do rio Doce. Valores das barras indicam a média e as linhas o desvio padrão. Letras diferentes entre colunas indicam significância de $p < 0,05$ 34

Figura 5: Índices de lesão dos peixes dos três setores amostrais da região marinha adjacente à foz do rio Doce. Valores das barras indicam a média e as linhas o desvio padrão. Letras diferentes entre colunas indicam significância de $p < 0,05$ 34

Figura 6: Fotomicrografia de brânquias de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce. A: aneurisma (seta grossa); B: elevação do epitélio (setas finas); C: hipertrofia (setas); D: atrofia das lamelas secundárias; E: hiperplasia com fusão das lamelas secundárias (asterisco); F: deslocamento da lamela primária (círculo). Coloração: Hematoxilina & Eosina. Barra: A, B e D = 50 μm ; C e E = 100 μm e F = 200 μm 36

Figura 7: Fotomicrografia de testículos dos peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce. A: hipertrofia (setas finas) e redução das células germinativas (atrofia) (asterisco); B: vacuolizações citoplasmáticas (seta grossa); C: atrofia (setas finas); D: alterações estruturais nos cistos (círculo); E: redução das células germinativas (atrofia) (seta grossa) e necrose dos cistos germinativos (seta fina) e F: vacuolizações citoplasmáticas (seta grossa) e hiperplasia do tecido intersticial (asterisco). Coloração: Hematoxilina & Eosina. Barra: A, B e C: 100 μm e D, E e F = 50 μm 38

SUMÁRIO DE TABELAS

Tabela 1: Lista de espécies de peixes coletados ao longo dos pontos de amostragem, identificados via plataforma FISHBASE. Fonte: Figueiredo & Menezes (1978; 1980 e 2000) e Menezes & Figueiredo (1980 e 1985).	30
Tabela 2: Alterações histopatológicas em brânquias de peixes. Baseado em Bernet <i>et al.</i> (1999).31	
Tabela 3: Alterações histopatológicas em testículos de peixes. Adaptação do índice de lesão descrito por Bernet et al. (1999).	32
Tabela 4: Índices dos padrões de reação de brânquias de peixes dos três setores amostrais da foz do rio Doce.	35
Tabela 5: Frequência (%) das alterações morfológicas nas brânquias de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce, Linhares/ES.	35
Tabela 6: Índices de reação de testículos de peixes machos das três regiões amostrais da foz do rio Doce.	37
Tabela 7: Frequência (%) das alterações morfológicas nos testículos de peixes machos da foz do rio Doce, Linhares/ES.....	37

LISTA DE ABREVIACÕES

ANA – Agência Nacional das guas

DNPM – Departamento Nacional de Produção Mineral

IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IPEMA – Instituto de Pesquisa da Mata Atlântica

RAL – Relatório Anual de Lavra

RESUMO

O desastre de rejeitos de mineração ocorrido na bacia do rio Doce, em novembro de 2015, devido ao rompimento da barragem de Fundão, na cidade de Mariana – MG, foi um dos maiores desastres de mineração do mundo. Estima-se que foram lançados no ambiente, aproximadamente, 50 milhões de m³ de rejeitos de mineração de ferro, sendo 16 milhões de m³ carreados pelo rio Doce em direção ao mar, chegando na foz do rio Doce. Essa contaminação ocasionou a incorporação de diversos metais nos corpos hídricos acima das concentrações permitidas, principalmente de ferro, cromo, manganês, mercúrio e cádmio. Em função do risco ambiental que os metais podem apresentar ao ambiente aquático e à biota associada, o uso de biomonitores e biomarcadores fornecem respostas importantes frente à contaminação. Este estudo propôs verificar alterações na morfologia branquial e testicular de peixes coletados na região marinha adjacente à foz do rio Doce, utilizando análises histopatológicas. Trinta e dois exemplares foram coletados nos meses de setembro/outubro de 2019, com o auxílio de redes de arrasto, em três regiões, com dois pontos de coleta cada localizados na foz do rio Doce. Após a coleta, os peixes foram identificados, anestesiados, eutanasiados e dissecados para coleta das brânquias e testículos. Os órgãos foram processados para microscopia de luz. Os índices de lesão das brânquias e do animal apresentaram diferenças significativas, entretanto os índices de lesão de testículos não foram significativos quando comparados os diferentes setores. Os animais avaliados na região localizada ao centro da foz apresentaram os maiores índices de lesão branquial em relação ao região norte e sul da foz. Além disso, notou-se que os animais mais lesionados (índice de lesão do animal), foram os animais coletados no centro da foz. As alterações histopatológicas observadas nas brânquias foram aneurisma, descamação do epitélio, deslocamento da lamela primária, fusão das lamelas secundárias, atrofia das lamelas secundárias, hipertrofia e hiperplasia das lamelas secundárias. Já nos testículos, observou-se alterações estruturais nos cistos, vacuolizações citoplasmáticas, atrofia, necrose, hipertrofia e hiperplasia. As lesões morfológicas observadas nas brânquias e nos testículos sugerem danos ambientais na região da foz do rio Doce, após o rompimento da barragem de Fundão, além do comprometimento destes órgãos. Assim, a histologia como biomarcador dos danos morfológicos em brânquia e testículo de peixes obtidos neste estudo subsídida a tomada de decisões para a escolha destes órgãos serem utilizados como biomarcador dos contaminantes aquáticos.

Palavras-Chave: metal, ecotoxicologia, mineração, biomonitoramento.

ABSTRACT

The mining waste disaster that occurred in the Doce River basin in November 2015, due to the rupture of the Fundão dam in the city of Mariana - MG, was one of the largest mining disasters in the world. It is estimated that approximately 50 million m³ of iron mining waste were released into the environment, 16 million m³ of which were carried by the Doce River towards the sea, reaching the mouth of the Doce River. This contamination caused the incorporation of several metals into water bodies above the permitted concentrations, mainly iron, chromium, manganese, mercury and cadmium. Due to the environmental risk that metals can present to the aquatic environment and the associated biota, the use of biomonitors and biomarkers provide important responses to contamination. This study proposed to verify changes in the branchial and testicular morphology of the fishes collected in the marine region adjacent to the mouth of the Doce River, using histopathological analysis. Thirty-two specimens were collected in September/October 2019, with the help of trawls, in three regions, with two collection points each located at the mouth of the Doce River. After collection, the fish were identified, anesthetized, euthanized and dissected for collection of gills and testicles. The organs were processed for light microscopy. The rates of lesion of the gills and animal showed significant differences, however the rates of testicular injury were not significant when comparing the different sectors. The animals evaluated in the region located in the center of the mouth of the mouth presented the highest rates of branchial lesion in relation to the north and south of the mouth. In addition, it was noted that the most injured animals (animal injury index) were the animals collected in the center of the mouth. The histopathological changes observed in the gills were aneurysm, desquamation of the epithelium, displacement of the primary lamella, fusion of the secondary gills, atrophy of the secondary gills, hypertrophy and hyperplasia of the secondary gills. In the testicles, structural changes were observed in the cysts, cytoplasmic vacuolizations, atrophy, necrosis, hypertrophy and hyperplasia. The morphological lesions observed in the gills and testicles suggest environmental damage in the mouth of the Doce River region, after the rupture of the Fundão dam, in addition to the involvement of these organs. Thus, the histology as a biomarker of morphological damage in gills and testis of fish obtained in this subsidian study is decision-making for the choice of these organs to be used as biomarker of aquatic contaminants.

Keywords: metal, ecotoxicology, mining, biomonitoring.

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 FOZ DO RIO DOCE

O rio Doce localiza-se na região Sudeste do Brasil entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo. Com cerca de 875 km de extensão, representa a bacia hidrográfica mais importante da região (ANA, 2001). A foz do rio Doce deságua no oceano Atlântico, localizada na Vila de Regência, Linhares-ES, apresenta características peculiares, como a formação de um delta destrutivo, um estuário projetado sobre a área marinha contígua sem a ocorrência de manguezais na sua porção interna, dada a grande vazão do rio que dificulta a penetração de água do mar (ALBINO, 1999; PINHEIROS, 2014).

A região se encontra numa zona de grande produtividade, o que leva a ser considerada de extrema importância ecológica (SCHMID *et al.*, 1995). Há uma diversificada fauna aquática, onde predominam espécies dulciaquícolas na porção interna da foz, além de alta produtividade biológica sobre a plataforma continental interna, proporcionada pelo aporte de nutrientes provenientes das águas do rio Doce, o que garante uma considerável abundância e diversidade de espécies (IPEMA, 2009).

Esta abundância suporta estoques pesqueiros de grande relevância econômica e social, sendo explorados tanto pela pesca artesanal e de pequena escala praticadas pelas comunidades locais, quanto por frotas industriais provenientes de outras regiões do Estado, do sul e sudeste do Brasil (IPEMA, 2009; LIMA, 2015). Entretanto, a foz do rio Doce apresenta características de impacto por efluentes industriais, pois são corpos de água que estão na área de abrangência das grandes indústrias localizadas na bacia (VIOLA; ALMEIDA; BARBOSA, 2016).

O rompimento da barragem de contenção de rejeitos de Fundão, localizada no distrito de Bento Rodrigues (Mariana – MG), em novembro de 2015, foi um dos maiores desastres de mineração do mundo (CORDEIRO *et al.*, 2019). Estima-se que foram lançados no ambiente, aproximadamente 50 milhões de m³ de rejeitos de mineração de ferro, sendo 16 milhões de m³ carreados pelo rio Doce em direção ao mar (DIAS *et al.*, 2018). Estes contaminaram 550 km do rio Doce nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo até o Oceano Atlântico (ANDRADE *et al.*, 2018; RENOVA, 2017). Essa contaminação deu-se predominantemente pela incorporação de metais pesados que são, de um modo geral, nocivos aos seres vivos e ecossistemas (CARVALHO *et al.*, 2017; DIAS *et al.*, 2018).

1.2 CONTAMINAÇÃO DOS CORPOS HÍDRICOS POR METAIS

A extração mineral é um setor importante no desenvolvimento do país, sendo fundamental para vários segmentos industriais (DUARTE, 2008; CARVALHO *et al.*, 2012). A mineração é uma das atividades mais primitivas exercidas pelo homem como fonte de sobrevivência e produção de bens sociais e industriais, além disso, a forma de extrair os bens minerais tem sido aprimorada nos últimos cinquenta anos. Entretanto, a atividade gera uma grande quantidade de resíduos, que devem ser geridos adequadamente para minimizar os impactos ambientais dessa atividade (CARVALHO *et al.*, 2017).

A utilização de barragens de rejeitos em atividades de mineração é uma das formas de controle de resíduos e apresentam bons resultados quando bem executadas (MACHADO, 2007). No entanto, é necessário a manutenção das barragens em processo de envelhecimento até o encerramento das atividades da mina. Visto que, quando mal dimensionadas ou executadas, essas estruturas de contenção podem se romper, tornando-se um agente de danos ambientais que, além de impactar a fauna e flora, podem levar à destruição da infraestrutura da sociedade próxima ao local e à perda de vidas humanas (DUARTE, 2008).

A cidade de Mariana, em Minas Gerais, faz parte do quadrilátero ferrífero, região de intensa atividade mineradora, onde, em novembro de 2015, ocorreu o rompimento da barragem de contenção de rejeitos de Fundão, citado anteriormente. Após o rompimento, aspectos referentes à qualidade da água do rio Doce foram alterados, como: turbidez, parâmetros físico-químicos e alterações nas concentrações de metais pesados (IBAMA, 2015, IBRAM, 2016).

No que tange a turbidez da água, refere-se a um parâmetro chave no monitoramento da qualidade de águas superficiais, devido à sua relação com a concentração de material em suspensão e sua influência na ecologia do ambiente aquático (GÖRANSSON *et al.*, 2013; VIOLA; ALMEIDA; BARBOSA, 2016). A turbidez pode atenuar a penetração da luz na coluna d'água e, assim, reduzir a sua transparência, de modo a prejudicar a fotossíntese das algas e plantas aquáticas submersas (MEDEIROS, 2015), além disso promove o aumento da sobrevivência de bactérias por fornecerem fonte de nutrição e reduzem a quantidade de luz do sol que penetra na água, impactando os animais que ali habitam (SIMÕES, 2003).

Em relação aos parâmetros físico-químicos, destaca-se o pH e a condutividade elétrica (IBAMA, 2015), esses são fortes indicadores da degradação dos corpos de água (VIOLA; ALMEIDA; BARBOSA, 2016). O aumento da participação antrópica na

degradação ambiental do ecossistema, proporcionam alterações no índices de pH e condutividade elétrica, pois são variáveis que denunciam a presença de compostos químicos no meio aquático, além de metais traços (SALES *et al.*, 2009).

Os organismos vivos podem bioacumular metais, incorporando-os na cadeia trófica e atingindo grande parte dos diferentes extratos que constituem os ecossistemas aquáticos (BURATINI; BRANDELLI, 2006). Dessa forma, é importante destacar que os metais pesados são caracterizados como elementos traços, que são aqueles que, em condições naturais, estão presentes, mas em concentrações muito baixas (DÍAS *et al.*, 2018). Embora muitos deles sejam necessários aos diversos organismos, a presença desses elementos em altas concentrações nos corpos hídricos tornam-se tóxicos, gerando impactos significativos na saúde humana e na biota aquática e danificando os sistemas biológicos, devido às suas características acumulativas (RIBEIRO *et al.*, 2012; DÍAS *et al.*, 2018).

Os metais comumente encontrados no ambiente aquático incluem alumínio (Al), cromo (Cr), cádmio (Cd), cobre (Cu), molibdênio (Mo), níquel (Ni), cobalto (Co), manganês (Mn), ferro (Fe), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), e zinco (Zn). Esses metais, em altas concentrações, podem alterar o desenvolvimento dos organismos (SILVA, 2005) e, principalmente, por serem metais que são influenciados no que tange à potencialidade tóxica, quando ocorrem alterações de pH, temperatura e oxigênio dissolvido.

Desse modo, Dias *et al.* (2018), ao avaliar a qualidade das águas do rio Doce através das concentrações de arsênio total (As) e dos metais alumínio dissolvido (Al), cádmio total (Cd), chumbo total (Pb), cobre dissolvido (Cu), cromo total (Cr), ferro dissolvido (Fe), manganês total (Mn), mercúrio total (Hg), níquel total (Ni) e zinco total (Zn), observaram que a concentração de alguns metais foi potencializada no período imediato após o rompimento da barragem, principalmente em relação a alguns elementos como ferro, manganês, mercúrio (Hg), níquel, zinco (Zn), alumínio (Al) e arsênio (As).

Os metais possuem a capacidade de se perpetuarem nos ambientes aquáticos, na forma adsorvida ou mesmo precipitados, ocasionando diversos impactos de forma aguda, que ocorrem numa curta escala temporal, até efeitos a longo prazo decorrentes da contaminação crônica, mesmo quando em baixas concentrações, incluindo-se a bioacumulação e a biomagnificação ao longo da cadeia trófica (BURD, 2002; CACCIA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2007; JOSEFSON *et al.*, 2008; POLETO, 2008)

De acordo com Fernandes *et al.* (2016), os metais como ferro, chumbo, cobre e cromo detectados na água após o rompimento da barragem de Fundão, foram maiores que os níveis aceitáveis pela legislação. Especialmente na foz do rio Doce, os metais

encontrados em concentrações acima das permitidas foram: ferro, cromo, manganês, mercúrio e cádmio (QUEIROZ *et al.*, 2018; GABRIEL *et al.*, 2020). Dessa forma, é importante destacar os impactos que os metais supracitados podem causar na ictiofauna exposta a esses contaminantes.

O ferro (Fe) é um dos metais mais conhecidos, está associado ao transporte de oxigênio através da hemoglobina, sendo considerado um dos elementos mais importantes para os peixes (MEDEIROS, 2010). O excesso de ferro nas águas do rio Doce é caracterizado por elevada coloração e turbidez baixa, afetando os organismos aquáticos no que tange aos mecanismos imunológicos, pode provocar distúrbios endócrinos e cardiovasculares (CARVALHO *et al.*, 2017), além de incapacitar o transporte de oxigênio.

A contaminação de ambientes aquáticos por manganês (Mn) é amplamente associada com ações antropogênicas. Esse metal pode ser encontrado em resíduos de mineração, em esgoto doméstico e resíduos produzidos por indústria de celulose (CEOLIN, 2010). Embora pequenas quantidades de manganês sejam necessárias e benéficas para o corpo, foi demonstrado que o excesso pode causar graves problemas (PONNAPAKKAM *et al.*, 2003), já que concentrações mais elevadas deste metal são neurotóxicas e podem aumentar a concentração plasmática de testosterona e aumento de estradiol (KIDA *et al.*, 2016). Segundo Maia (2017), analisando a qualidade do rio Doce após o desastre de Mariana, Minas Gerais, verificou alto teor de manganês dissolvido em dois trechos do rio.

O cromo (Cr) é raramente encontrado em águas naturais, porém, a contaminação do ambiente aquático pode acontecer devido às descargas de efluentes industriais. Quando isso ocorre, os efeitos sobre os peixes são brandos, pois estes suportam bem os compostos de crômio, porém, as demais formas de vida aquática apresentam grande sensibilidade ao metal, afetando, principalmente, a reprodução (MARTINS, 2004).

O mercúrio (Hg) é outro metal com característica acumulativa e pode atingir concentrações muito elevadas, causando graves efeitos deletérios ao meio ambiente. A toxicidade do mercúrio aumenta com a temperatura e diminui com a dureza da água e é menos acentuada em sistemas estáticos, como lagos e reservatórios, do que em rios com fluxo constante de água (BOENING, 2000). Contudo, os efeitos tóxicos do mercúrio variam de acordo com a espécie considerada, o tempo e o modo de exposição, além do desenvolvimento de resistência fisiológica por parte do animal contaminado. Estudos com o *Danio rerio* mostraram que o mercúrio pode provocar alterações histológicas e na atividades de enzimas antioxidantes em gônadas, além da diminuição de testosterona nos

testículos (ZHANG *et al.*, 2018). Outro estudo destaca o retardo na espermatogênese (WANG *et al.*, 2016).

O cádmio (Cd) é um metal muito utilizado em estudos de toxicologia, devido ao aumento significativo da sua concentração no ambiente, resultante da crescente acumulação de resíduos industriais e domésticos (WRIGHT & WELBOURN, 1994; GOERING *et al.*, 1995). Sabe-se que a presença do Cd em concentrações elevadas pode originar a desova prematura, um atraso no crescimento e o aumento da mortalidade em peixes (GARCIA-SANTOS, 2007). Além disso Rodrigues *et al.* (2019) observaram que o cádmio, provoca alterações morfológicas e hormonais, como a redução do nível esteroidal e alterações espermiáticas, que reduz o sucesso reprodutivo.

1.3 BIOMONITORES E BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

O uso de biomonitores e biomarcadores na avaliação da toxicidade de compostos químicos de origem antrópica em áreas impactadas vem crescendo nas últimas décadas (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005; CONDESSA, 2009; ABDALLAH *et al.*, 2019). O termo biomonitor pode ser reconhecido como sendo organismos abundantes, tolerantes à contaminação ambiental, com ampla distribuição, que possuem tempo de vida longo e são fáceis de identificar e amostrar (EÇA *et al.*, 2012). Dessa forma, organismos pertencentes ao topo da cadeia alimentar são comumente utilizados por possuírem intrínseca relação com toda a cadeia inferior, indicando respostas de efeitos crônicos, acumulativos e persistentes no nível de cadeia, além de efeitos diretos no nível do indivíduo (LINS *et al.*, 2010).

É expressivo o número de trabalhos que indicam os peixes como excelentes modelos para avaliar o estado de saúde dos ecossistemas aquáticos (GUNDERSEN *et al.*, 2000; PACHECO & SANTOS, 2002; THOPHON *et al.*, 2003; BARCAROLLI; MARTINEZ, 2004; CONDESSA, 2009; LINS *et al.*, 2010; STOLIAR *et al.*, 2012; DANE E SISMAN, 2015; PASCHOALINI *et al.*, 2019; PEREIRA, DOS SANTOS; SANCHES FILHO, 2019; MACÊDO *et al.*, 2020).

Os peixes ocupam níveis tróficos elevados na cadeia alimentar e são passíveis de acumular altos teores de substâncias por biomagnificação. Considerando-se que muitos animais, como répteis, aves e mamíferos, alimentam-se de peixes e que estes também são fonte de alimento importante para todos os povos, a contaminação desses animais pode colocar em risco uma série de outros organismos, além da saúde humana (MELETTI, 2003; OBAROH *et al.*, 2015).

A maioria dos metais absorvidos pelos tecidos dos peixes encontra-se na forma iônica e a entrada destes íons através das brânquias ocorrem, predominantemente, por difusão. Além disso, possuem outras vias de absorção de metais, que são a alimentação e a ingestão de água, sendo que esta última é mais preponderante nos peixes marinhos, que necessitam ingerir quantidades maiores de água do que os indivíduos de água doce (HEATH, 1987; MELETTI, 2003). Esses metais podem acumular nos diferentes órgãos, como brânquias, fígado, rim, intestino, gônadas e músculos (OLIVEIRA, 2013).

O presente trabalho utiliza comunidades de peixes como biomonitores para a avaliação da toxicidade na foz do rio Doce. Dessa forma, é importante destacar o conceito de comunidades. Segundo, Odum (2004), comunidades é um conjunto de populações que funcionam como uma unidade integradora, por meio de transformações metabólicas co-evolutivas numa dada área de habitat físico.

As vantagens do uso de comunidades de peixes como indicadoras biológicas já foram enumeradas por alguns autores (KARR, 1981; SIMON & LYONS, 1995; BARBOUR *et al.*, 1999; FLOTEMERSCH *et al.*, 2006; DUFECH, 2009). Sendo assim, as principais vantagens são: 1) Comunidades de peixes geralmente incluem espécies que representam variadas categorias tróficas, como onívoros, herbívoros, insetívoros, planctívoros, piscívoros, entre outros, e utilizam alimentos de origem terrestre e aquática; 2) Sua posição no topo da teia alimentar aquática, quando comparada com organismos de níveis tróficos mais baixos, oferece uma visão integrada do corpo hídrico; 3) As comunidades de peixes são persistentes e se recuperam rapidamente dos distúrbios naturais; 4) Substâncias contaminadoras geralmente produzem deformidades morfológicas facilmente identificáveis que podem ser utilizadas como indicadores; 5) Os peixes têm valor cultural, econômico e social, permitindo que o público em geral possa entender e sentir-se envolvido com as condições das comunidades de peixes, e denunciar acontecimentos negativos relacionados a elas. Além de serem consumidos por humanos, o que permite medir o risco ecológico e a saúde pública.

Os biomarcadores constituem uma abordagem eficiente nos estudos de avaliação de risco e impacto ambiental, pois são considerados ferramentas integradoras, complementares às análises químicas e ecotoxicológicas (VIEIRA *et al.*, 2019), além disso, detectam de forma precoce os efeitos reais que estão ocorrendo aos seres vivos em situações de exposição a ambientes contaminados (FREIRE *et al.*, 2008).

Em especial, os biomarcadores histopatológicos são utilizados para documentar e quantificar tanto a exposição quanto o efeitos dos poluentes para as funções vitais dos organismos expostos (PACHECO & SANTOS, 2002; VEIGA *et al.*, 2002; MELETTI *et*

al., 2003; RIBEIRO *et al.*, 2012) e são considerados mais sensíveis que os parâmetros relacionados apenas com o crescimento ou reprodução do indivíduo (BERNET *et al.*, 1999).

1.3.1 BRÂNQUIAS

A brânquia é um órgão responsável por funções vitais na vida dos peixes, como respiração, osmorregulação e excreção de compostos nitrogenados, por apresentarem sítios de trocas gasosas, regulação iônica-osmótica e equilíbrio ácido-básico (GARCIA-SANTOS *et al.*, 2007). As brânquias estão localizadas na cavidade opercular e são formadas por filamentos, ou lamelas primárias, dispostas em arcos duplos ao longo do osso. Os arcos duplos divergem em filamentos branquiais nos quais se inserem duas fileiras de lamelas secundárias (VIERGENS *et al.*, 2015). Cada filamento branquial possui duas artérias, um vaso aferente, que vai do arco branquial até a ponta do filamento, e um vaso eferente, o qual retorna o sangue para o arco.

As lamelas secundárias são ricamente vascularizadas, revestidas por um epitélio pavimentoso simples sustentado por células pilares, as quais formam lacunas por onde se inserem os capilares sanguíneos (BARRETO, 2007). São responsáveis pelas trocas gasosas (hematose), além de ser o primeiro local de excreção, exercendo um importante papel no balanço iônico (BALDISSEROTTO, 2002).

Revestindo o arco branquial, os rastros, os filamentos branquiais e as regiões interlamelares, encontram-se o epitélio branquial. Esse epitélio é estratificado e composto por diversos tipos celulares, incluindo as células pavimentosas, as células secretoras de muco e as células de cloreto além de botões gustativos e células de suporte não diferenciadas (FILHO *et al.*, 2014).

As células pavimentosas constituem a maior parte da superfície branquial, apresenta aparência semelhante a impressões digitais devido às suas cristas dispostas circularmente, que ampliam a superfície celular, aumentando a transferência gasosa (VIERGENS, 2015).

As células mucosas situam-se preferencialmente na porção basal dos filamentos e nas regiões interlamelares. O muco, produzido por estas células, apresenta funções de lubrificação, proteção do tecido contra microrganismos patogênicos e a resistência a doenças e substâncias tóxicas (BERNET *et al.*, 1999).

Por sua vez, as células de cloreto são grandes, encontram-se esparsas preferencialmente na região basal das lamelas, mas também podem ser encontradas na região apical, são ricas em mitocôndrias e atuam em processos de transporte ativo de íons

(FILHO *et al.*, 2014). Outros tipos celulares podem ser encontrados na base dos filamentos branquiais, como melanócitos, macrófagos e linfócitos.

A Figura 1 esboça as características histológicas das brânquias dos teleósteos.

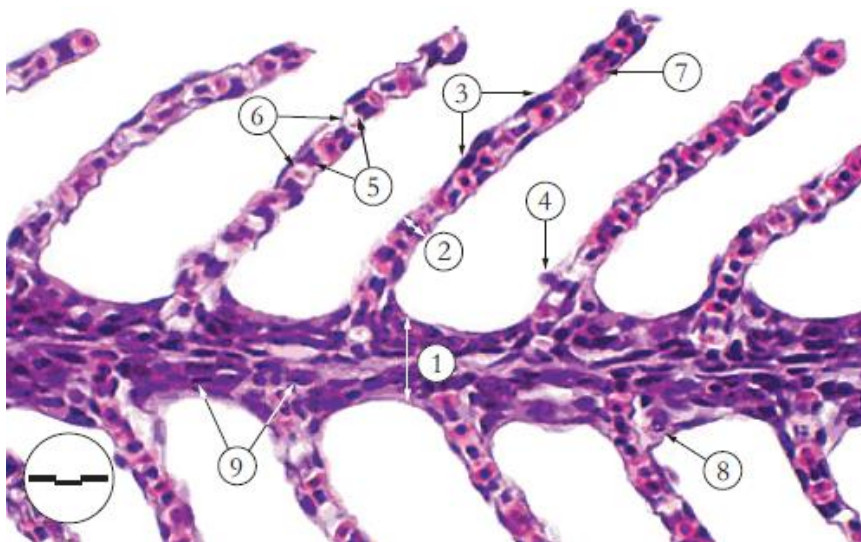


Figura 1: Filamento branquial, corte transversal, H&E (barra = 16.7 μm) 1) lamela primária; 2) lamela secundária; 3) célula epitelial; 4) célula mucosa; 5) célula pilar; 6) lúmen capilar (lacuna); 7) eritrócitos na luz do capilar; 8) célula de cloreto; 9) célula basais. **Fonte:** Adaptado de YONKOS, 2000.

O contato direto das brânquias com o ambiente aquático, principalmente para trocas gasosas (O_2/CO_2), permite que estas sejam um excelente indicador e utilizadas para estudos de contaminação ambiental (CERQUEIRA e FERNANDES, 2002; BARRETO, 2007).

Alterações morfológicas nas brânquias podem representar um biomarcador das exposições agudas à contaminação ambiental por metais, devido ao contato constante com os contaminantes presentes na água ou sedimento (WINKALER *et al.*, 2001; TKATCHEVA *et al.*, 2004).

Dessa forma, na presença de contaminação no ambiente aquático, as brânquias podem apresentar diversas alterações patológicas indicativas, segundo Mallat (1985) e Bernet *et al.* (1999) as mais comuns são: necrose, hiperplasia, hipertrofia das células epiteliais, ruptura do epitélio branquial, hipersecreção de muco, descolamento do epitélio, fusão lamelar, aneurisma lamelar, congestão vascular, proliferação de células secretoras de muco e de células de cloreto.

1.3.2 TESTÍCULOS

Os testículos dos teleósteos são órgãos pares, alongados, situados na região dorsal do abdômen, abaixo da bexiga natatória, encontram-se revestido externamente por uma

fina cápsula fibrosa de tecido conjuntivo que se estende para o interior, denominada, túnica albugínea. Ramificações da túnica albugínea estendem-se pelo corpo da gônada formando túbulos seminíferos ou lóbulos onde se alojam células sexuais em diferentes estágios de desenvolvimento (espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e espermatozóides) e as células de Sertoli (NEZZI, 2015).

Os túbulos seminíferos são compostos por epitélio seminífero e o lúmen tubular. O epitélio seminífero é formado pelas células de Sertoli e células germinativas, que se dividem em espermatogônias, espermatócitos I e II e espermatídes, enquanto que os espermatozoides estão localizados no lúmen tubular. Internamente, os túbulos seminíferos de peixes são organizados em cistos delimitados por células de Sertoli, importantes na regulação da barreira testículo-sangue, na nutrição das células germinativas e na fagocitose de corpos residuais. Entre os túbulos seminíferos encontra-se o tecido intersticial, constituído por tecido conjuntivo frouxo, além das células de Leydig (também denominadas células intersticiais, envolvidas na produção de hormônio) e de vasos sanguíneos. O conjunto de células somáticas (germinativas), células de Sertoli, Leydig e demais células que são encontradas na região intersticial compõe o testículo (Figura 2A) (SCHULZ *et al.*, 2010; RUPIK *et al.*, 2011; NEZZI, 2015).

A espermatogênese dos peixes, similarmente aos vertebrados, pode ser dividida em três etapas principais: a etapa proliferativa, caracterizada por rápidas divisões mitóticas sucessivas das espermatogônias; a etapa de divisões meióticas responsáveis pela formação dos espermatócitos e espermatídes; e a etapa de diferenciação das espermatídes em espermatozóides (Figura 2 C) (NÓBREGA *et al.*, 2009). As células germinativas estão organizadas de forma cística, na qual os cistos de espermatogônias são inicialmente formados por uma única espermatogônia que prolifera por divisão mitótica, sendo que as células filhas permanecem ligadas entre si por pontes citoplasmáticas responsáveis pela forma sincrônica do desenvolvimento destas células germinativas (Figura 2A e B) (ALMEIDA *et al.*, 2008; NÓBREGA *et al.*, 2009; SCHULZ *et al.*, 2010).

As espermatogônias são classificadas em espermatogônias do tipo A, as maiores células da linhagem germinativa, com um grande núcleo, de contorno irregular cercado por grande volume de citoplasma. Estas espermatogônias se dividem formando novas espermatogônias, sendo consideradas como células-tronco do testículo. As espermatogônias do tipo B são menores, com núcleos mais esféricos, sendo estas as espermatogônias que darão origem aos espermatócitos e por fim, aos 32 espermatozoides (Figura 2 C). (NÓBREGA *et al.*, 2009; SCHULZ *et al.*, 2010, RUPIK *et al.*, 2011).

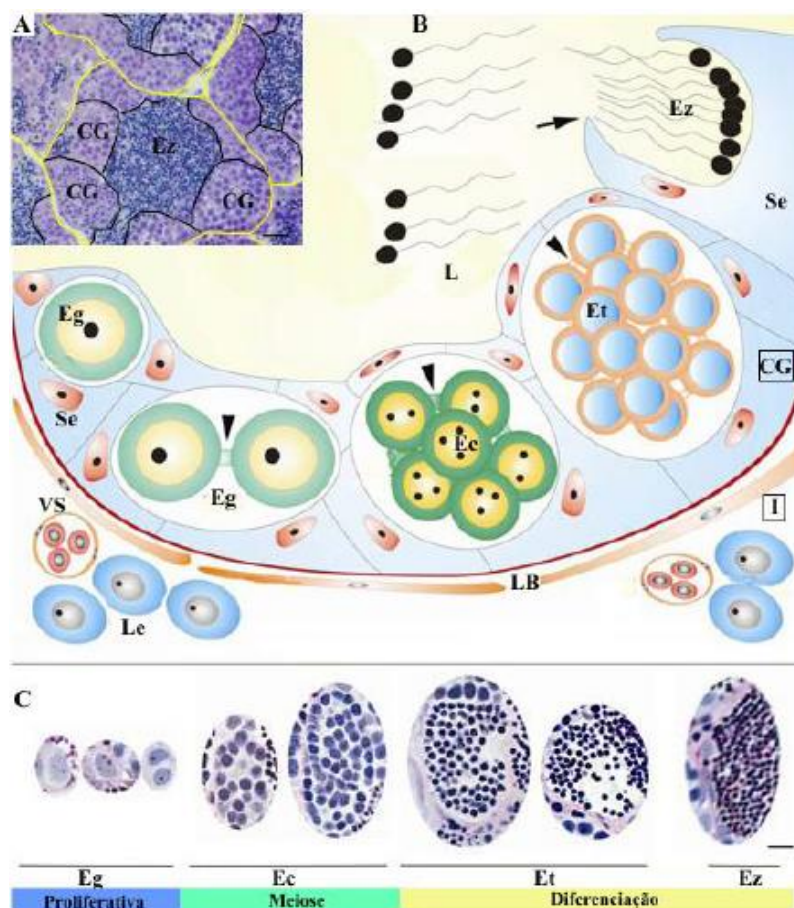


Figura 2: Organização básica do testículo dos teleósteos. Secção transversal semifinal de testículo evidenciando túbulos seminíferos (delimitados em amarelo) compostos por cistos germinativos (CG) (delimitados em preto), corado com azul de toluidina. ((A) Representação esquemática de um túbulo seminífero composto por cistos germinativos em diferentes estágios da espermatogênese; (B) Esquemas com secções de testículo representando as diferentes fases da espermatogênese em peixes (C) Eg, espermatogônia; Ec, espermatócitos; Et, espermatíde; Ez, espermatozoides; I, interstício; L, lúmen; LB, lâmina basal, Le, células de Leydig; Se, células de Sertoli, VS, vasos sanguíneos,. Barras de escala em A = 100 μ m; C = 10 μ m. **Fonte:** adaptado de NEZZI, 2015.

O testículo é um órgão utilizado como biomonitor de exposição crônica à contaminação ambiental por metais, pois quando os peixes estão expostos a uma ampla e variada gama de substâncias podem resultar em potenciais causadores de desregulação endócrina (NEZZI, 2015). Caso tenham seus mecanismos de ação alterados podem resultar em danos ainda mais graves ao sistema reprodutor, prejudicando todo desenvolvimento de gerações futuras, e, afetando, assim, diretamente o ecossistema envolvido (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Devido à fecundação externa de alguns peixes, os espermatozóides são células altamente atingidas pelos contaminantes aquáticos. Barillet *et al.* (2010) e Acosta *et al.*, (2016) mostraram alterações morfológicas nas células espermáticas, aumento da peroxidação lipídica e alterações na maturação espermática de *Danio rerio* expostos ao urânio e cádmio, tais alterações resultaram em problemas na fertilização.

Para alguns metais, o mecanismo de ação envolvido na toxicidade reprodutiva já foi descrito, como por exemplo, o cádmio, que gera alterações morfológicas e hormonais, como a redução do nível esteroidal e alterações espermáticas. Entretanto, sabe-se que a mistura composta de variados metais pode causar danos ainda mais graves ao sistema reprodutor (DRIESSNACK *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2019), e assemelha-se aos efeitos causados nos animais que encontram-se no meio ambiente em regiões contaminadas por estas substâncias (PASCHOALINI *et al.*, 2019). É recomendada a avaliação de alguns parâmetros para verificar a capacidade reprodutiva de peixes, principalmente estudos relacionados à histopatologia de gônadas (SEGNER, 2011).

Sendo assim, é importante que se avalie os impactos que os metais presentes na foz do Rio Doce podem causar na morfologia das brânquias e nos testículos, órgãos que indicam exposição aguda e crônica, respectivamente, aos contaminantes ambientais, e que são essenciais na fisiologia da respiração e reprodução dos peixes, para ganho de conhecimento técnico-científico para auxílio na tomada de decisões em possíveis avaliações por parte dos órgãos responsáveis.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, V. D.; LEITE, L. A. R.; DE AZEVEDO, R. K. *Neoechinorhynchus curemai* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) como indicador de impactos ambientais no rio do Peixe, estado de São Paulo, Brasil. **Diversitas Journal**, v. 4, n. 3, p. 764-773, 2019.

ACOSTA, I.B.; JUNIOR, A.S.V.; SILVA, E.F.; CARDOSO, T.F.; CALDAS, J.S.; JARDIM, R.D.; CORCINI, C.D. Effects of exposure to cadmium in sperm cells of zebrafish, *Danio rerio*. **Toxicology Reports**, v. 3, p. 696- 700, 2016.

ANA - Agência Nacional de Águas. Bacias Hidrográficas do Atlântico Sul – Trecho Leste: sinopse de informações do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Sergipe. Brasília: ANA, (Série: Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos – Documentos), 2001.

ALBINO, J. **Morfodinâmica e processo de sedimentação atual das praias de Bicanga à Povoação, ES**. Tese (Doutorado em Geologia Sedimentar), Universidade de São Paulo, 1999.

ALMEIDA, F. F.; KRISTOFFERSEN, C.; TARANGER, G. L.; & SCHULZ, R. Spermatogenesis in Atlantic cod (*Gadus morhua*): a novel model of cystic germ cell development. **Biology of reproduction**, v. 78, p. 27-34, 2008.

ANDRADE, G. F.; PANIZ J. R.; F.P.; MARTINS, A.C.; ROCHA, B.A.; LOBATO, A.K. DA S.; RODRIGUES, J.L.; CARDOSO-GUSTAVSON, P.; & MASUDA, H.P., BATISTA, B.L. Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: a promising residue use?. **Chemosphere**, v. 193, p. 892–902, 2018.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002.

BARBOUR, M. T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B. D.; & STRIBLING, J. B. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. **Environmental Protection Agency**, v.339, 1999.

BARCAROLLI, I.F.; & MARTINEZ, C.B.R. Effects of aluminium in acidic water on hematological and physiological parameters of the neotropical fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, p. 639-646, 2004.

BARILLET, S.; LARNO, V.; FLORIANI, M.; DEVAUX, A.; & ADAM-GUILLERMIN, C. Ultrastructural effects on gill, muscle, and gonadal tissues induced in

zebrafish (*Danio rerio*) by a waterborne uranium exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 100, n.3, p. 295-302, 2010.

BARRETO, T. de R. **Alterações morfofuncionais e metabólicas no teleósteo de água doce matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869) exposto ao organofosforado metil paration (Folisuper 600 BR®)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2006.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; & WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, n. 1, p. 25-34, 1999.

BOENING, D. W. Ecological effects, transport and fate of mercury: a general review. **Chemosphere**, v. 40, n. 12, p. 1335-1351, 2000.

BURATINI, S.V.; & BRANDELLI, A. Bioacumulação. In: BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P.A. **Ecotoxicologia Aquática – princípios e aplicações**. São Carlos: RIMA, p. 78-79, 2006.

BURD, B.J. Evaluation of mine tailings effects on a benthic marine infaunal community over 29 years. **Marine Environmental Research**. v.53, n. 5, p. 481-519, 2002.

CACCIA, V.G.; MILLERO, F.J.; & PALANQUES, A. The distribution of trace metals in Florida bay sediments. **Marine Pollution Bulletin**. v.46, n. 11, p. 1420–1433, 2003.

CARVALHO, C.G.; SILVA, J. M.; CURI, A.; FLORES, J.C.C. A dependência da arrecadação do município de Ouro Preto do setor mineral. **Revista Escola de Minas**, v. 65, n. 3, p. 385-392, 2012.

CARVALHO, S. S.; CRUZ, M. A. S.; DE AMORIM, J. R. A.; ARAGAO, R. D.; & DA MOTA, P. V. M. Presença de cádmio e ferro em amostras da água da sub-bacia hidrográfica do rio Siriri, Estado de Sergipe. **Simpósio Brasileiro De Recursos Hídricos**, Florianópolis. Anais. Porto Alegre: Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 2017.

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

CEOLIN, D. **Efeitos da exposição crônica do manganês sobre camundongos machos adultos**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.

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, n. 2, p. 83-91, 2002.

CONDESSA, S.S. **Toxicidade subcrônica em lambaris *Astyanax aff. bimaculatus* expostos ao zinco**. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

CORDEIRO, M.C.; GARCIA, G.D.; ROCHA, A.M.; TSCHOEKE, D.A.; CAMPEÃO, M.E.; APPOLINARIO, L.R.; SOARES, A.C.; LEOMIL, L.; FROES, A.; BAHIANSE, L.; REZENDE, C.E.; DE ALMEIDA, M.G.; RANGEL, T.P.; DE OLIVEIRA, B.C.V.; DE ALMEIDA, D.Q.R.; THOMPSON, M.C.; THOMPSON, C.C.; & THOMPSON, F.L., Insights on the freshwater microbiomes metabolic changes associated with the world's largest mining disaster. **Sci. Total Environ.** v.654, p.1209-1217, 2019.

DANE, H.; & SISMAN, T. Histopathological changes in gill and liver of capoeta capoeta living in the karasu river, erzurum. **Environmental toxicology**, v. 30, n. 8, p. 904–917, 2015.

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

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

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

DUFECH, A. P. S. **Uso de assembleias de peixes como indicadores de degradação ambiental nos ecossistemas aquáticos do Delta do Rio Jacuí**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

EÇA, G. F.; MENDONÇA FILHO, C. V.; HATJE, V.; & SANTOS, W. P. Corais como organismos biomonitoradores: aplicação, pré-tratamento e determinação de elementos majoritários e minoritários. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 581-592, 2012.

FERNANDES, G. W.; GOULART, F. F.; RANIERI, B. D.; COELHO, M. S.; DALES, K.; BOESCHE, N.; & SOARES-FILHO, B. Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza & Conservação**, v. 14, n. 2, p. 35-45, 2016.

FILHO, M.S.; ANDREWS, E.; MOREIRA, L.; BARRETTO V.; MORAES B.; PRESSINOTTI, L. Avaliação de biomarcadores histológicos em peixes coletados a montante e a jusante da mancha urbana. **Atas de saúde ambiental**. v. 2. n.1, 2014.

FREIRE, M. M.; SANTOS, V. G.; GINUINO, I. S. F.; & ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 2, 2008.

FLOTEMERSCH, J. E.; STRIBLING, J.B.; PAUL, M. J. Concepts and Approaches for the Bioassessment of Non-wadeable Streams and Rivers. **Environmental Protection Agency, Office of Research and Development**, p. 134, 2006.

GABRIEL, F. A.; SILVA, A. G.; QUEIROZ, H. M.; FERREIRA, T. O.; HAUSER-DAVIS, R. A.; & BERNARDINO, A. F. Ecological risks of metal and metalloid contamination in the Rio Doce estuary. **Integrated environmental assessment and management**, v. 16, n. 5, p. 655-660, 2020.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; & FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 376-381, 2007.

GOERING, P.L.; WAALKES, M.P.; & KLAASEN, C.D. **Toxicology of cadmium**. In: **Toxicology of Metals: Biochemical aspects**. Berlin: Springer, p.189-214, 1995.

GÖRANSSON G.; LARSON M.; & BENDZ D. Variation in the turbidity with precipitation and flow in a regulated river system – river Göta Älv, SW Swedem. **Hidrology and Earth System Sciences**, v. 17, p. 2529-2542, 2013.

GUNDERSEN, D. T.; MILLER, R.; MISCHLER, A.; ELPERS, K.; MIMS, S. D.; MILLAR, J. G.; & BLAZER, V. Biomarker response and health of polychlorinated biphenyl-and chlordanes-contaminated paddlefish from the Ohio River Basin, USA. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 19, n. 9, p. 2275-2285, 2000.

HEATH, Al.G. **Water pollution and fish physiology**. 2 ed. Virginia, Lewis Publishers, 1987.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS

RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, DIRETORIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL, COORDENAÇÃO GERAL DE EMERGÊNCIAS AMBIENTAIS. **Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais.** 2015.

IBRAM. Gestão e Manejo de Rejeitos da Mineração/Instituto Brasileiro de Mineração. Instituto Brasileiro de Mineração. Brasília: IBRAM. 1.ed. pp. 128, 2016.

IPEMA. Instituto de Pesquisa da Mata Atlântica. **Contribuição ao processo de criação da Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Foz do Rio Doce**, 2009.

JOSEFSON, A.B.; HANSEN, J.L.S.; ASMUND, G.; & JOHANSEN, P. Threshold response of benthic macrofauna integrity to metal contamination in West Greenland. **Marine Pollution Bulletin**. v.56, n.7, p. 1265-1274, 2008.

KARR, JAMES R. Assessment of biotic integrity using fish communities. **Fisheries**, v. 6, n. 6, p. 21-27, 1981.

KIDA, B.M.S.; ABDALLA, R.P.; MOREIRA, R.G. Effects of acidic water, aluminum, and manganese on testicular steroidogenesis in *Astyanax altiparanae*. **Fish Physiology Biochemistry**, v. 42, p. 1347- 1356, 2016.

LIMA, H. S. **Qualidade das águas superficiais da porção mineira da Bacia do rio Doce e sua relação com aspectos socioambientais**. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; DA SILVA QUEIROZ, V.; & CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.

MACÊDO, A. K. S.; DOS SANTOS, K. P. E.; BRIGHENTI, L. S.; WINDMÖLLER, C. C.; BARBOSA, F. A. R.; DE AZAMBUJA RIBEIRO, R. I. M.; & THOMÉ, R. G. Histological and molecular changes in gill and liver of fish (*Astyanax lacustris* Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 735, p. 139505, 2020.

MACHADO, W.G. DE F. **Monitoramento de barragens de contenção de rejeitos da mineração**. Tese (Doutorado em Engenharia), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MAIA, F.F. **Elementos traços em sedimentos e qualidade da água de rios afetados pelo rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana, MG**. Dissertação

de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 44 f, 2017.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, n. 4, p. 630-648, 1985.

MARTINS, R. J. E. **Acumulação e libertação de metais pesados por briófitas aquáticas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade do Porto, Portugal, 2004.

MEDEIROS, M.A. **Ferro**. Química Nova na Escola, vol. 32, n.3, p.208-209, 2010.

MEDEIROS, P. P. Comportamento da turbidez e material em suspensão, em um rio com vazão regularizada por sistema de barragens em cascata: Rio São Francisco (NE, Brasil). **Geochimica Brasiliensis**, v. 29, n. 1, p. 35-44, 2015.

MELETTI, P. C. **Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

NEZZI, L. **Efeito do herbicida glifosato sobre as células somáticas e germinativas de testículo de peixe *Danio rerio* (Hamilton, 1822)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

NÓBREGA, R. H.; BATLOUNI, S. R.; FRANÇA, L. R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 197-206, 2009.

OBAROH, I. O.; ABUBAKAR, U.; HARUNA, M. A.; ELINGE, M. C. Evaluation of some Heavy Metals Concentration in River Argungu. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v.10, p.581- 586, 2015.

ODUM, E. P. **Fundamentos de ecologia**. 6. ed. São Paulo, Fundação Calouste Gulbenkian, 2004.

OLIVEIRA, R., C.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A.; & ROCHE, H. É. L. È. NE. Bioacumulação e efeitos de pesticidas organoclorados, HAP e metais pesados na enguia (*Anguilla anguilla*) na Reserva Natural de Camargue, França. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 1, p. 53-69, 2005.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformação, efeitos genotóxicos e histopatológicos de contaminantes ambientais em enguia europeia (*Anguilla anguilla* L.). **Ecotoxicologia e segurança ambiental**, v. 53, n. 3, p. 331-347, 2002.

PASCHOALINI, A.L.; SAVASSI, L.A.; ARANTES, F.P. RIZZO, E.; &

BAZZOLI, N. Heavy metals accumulation and endocrine disruption in *Prochilodus argenteus* from a polluted neotropical river. **Ecotoxicology and Environmental safety**, v. 169, p. 539-550, 2019.

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

PINHEIRO, F.C.F. **Padrões de uso de habitat do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) na região da foz do rio Doce, costa norte do Espírito Santo, Sudeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.

POLETO, C; LAURENTI, A. Sedimentos urbanos e corpos d'água. **Ambiente e Sedimentos**. Porto Alegre: ABRH, p. 109-147, 2008.

PONNAPAKKAM, T.P.; KAREN, S. B.; KAREN, A. G.; MARCUS, B. I. Assessment of male reproductive system in the CD-1 mice following oral manganese exposure. **Reproductive toxicology**, v. 17, n. 5, p. 547-551, 2003.

QUEIROZ, H. M.; NÓBREGA, G. N.; FERREIRA, T. O.; ALMEIDA, L. S.; ROMERO, R. B.; SANTAELLA, S. T.; BERNARDINO, A. F.; OTERO, X. L. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of The Total Environment**, v. 37–638, p. 498-506. 2018.

RENOVA. 2017. Mapa da reparação. [Online] URL: http://www.fundacaorenova.org/?gclid=Cj0KCQiAjo_QBRC4ARIsAD2FsXNvWkKHmFsqhsVHoXsTgFtoEtkRhbRwLzl9tN275M6C36284DFac4aAqs6EALw_wcB

RIBEIRO, C. A. O.; REIS FILHO, H. S.; & GROTZNER, S. R. Técnicas e Métodos para Utilização Prática de Microscopia. São Paulo: GEN - Grupo Editorial Nacional, **Editora Santos**, v.1, p. 440, 2012.

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

RODRIGUES, G. Z. P.; MACHADO, A. B.; GEHLEN, G. Influência de metais no comportamento reprodutivo de peixes, revisão bibliográfica. **Geama**, v. 5, n. 1, p. 4-13, 2019.

RUPIK, W.; HUSZNO, J.; KLAG, J. Cellular organisation of the mature testes and stages of spermiogenesis in *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei) Structural and ultrastructural studies. **Micron**, v. 42, n. 8, p. 833-839, 2011.

SALES, J. W. D. F.; STUDART, T. M. D. C.; BECKER, H.; GOMES, R. B.; SOUZA FILHO, F. D. A.; & SOUSA, M. C. D. B. Indicadores de qualidade de água utilizando técnicas de análise multivariada. **Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos**, v. 18, p. 37-48, 2009.

SCHMID, C.; SCHÄFER, H.; ZENK, W.; & PODESTÁ, G. The Vitória Eddy and its relation to the Brazil Current. **Journal of physical oceanography**, v. 25, n. 11, p. 2532-2546, 1995.

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

SEGNER, H. **Reproductive and developmental toxicity in fishes. In: Reproductive and Developmental Toxicology.** Gupta, R.C. Elsevier, 2011, 1243 p. 2011.

SILVA, F.R.A. **Avaliação de processos de adsorção de metais pesados: um estudo experimental com propostas de utilização de subprodutos.** Dissertação (Mestrado em Sistemas de Gestão). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005.

SILVA, M.L.; VITTI, G.C.; TREVIZAM, A.R. Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.4, p.527-535, 2007.

SIMÕES, L.B. A importância das Matas Ripárias no Controle da Poluição Difusa. In: *Ecótonos nas Interfaces dos Ecossistemas Aquáticos*. Henry, R. (org.). **RIMA**, São Carlos, p. 47-60, 2003.

SIMON, T. P. & LYONS, J. Application of the index of biotic integrity to evaluate water resource integrity in freshwater ecosystems. **Biological assessment and criteria: tools for water resource planning and decision making**, v. 16, p. 245-262, 1995.

STOLIAR, O. B.; LUSHCHAK, V. I. **Environmental pollution and oxidative stress in fish. In: LUSHCHAK, V. Oxidative stress-environmental induction and dietary antioxidants**, 1 ed., Edited by Volodymyr I. p. 131-166, 2012.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; & JARITKHUAN, S. Alterações histopatológicas do robalo branco, *Lates calcarifer*, na exposição aguda e subcrônica ao cádmio. **Poluição Ambiental**, v. 121, n. 3, p. 307-320, 2003.

TKATCHEVA, V.; HYVÄRINEN, H.; KUKKONEN, J.; RYZHKOV, L. P.; & HOLOPAINEN, I. J. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, n. 3, p. 278-

289, 2004.

VEIGA, M. L. D.; RODRIGUES, E. D. L.; PACHECO, F. J.; & RANZANI-PAIVA, M. J. T. Histopathologic changes in the kidney tissue of *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 (Characiformes, Prochilodontidae) induced by sublethal concentration of trichlorfon exposure. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 2, p. 171-175, 2002.

VIEIRA, C. E. D.; COSTA, P. G.; CALDAS, S. S.; TESSER, M. E.; RISSO, W. E.; ESCARRONE, A. L. V.; & DOS REIS MARTINEZ, C. B. An integrated approach in subtropical agro-ecosystems: Active biomonitoring, environmental contaminants, bioaccumulation, and multiple biomarkers in fish. **Science of the Total Environment**, v. 666, p. 508-524, 2019.

VIOLA, Z. G. G.; ALMEIDA, KATIANE C. D. B.; BARBOSA, F. A. R.. Avaliação dos indicadores de qualidade de água para subsidiar propostas de conservação e manejo da bacia do rio Doce em Minas Gerais, **Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente Aracaju**, v.5, n.1, p. 51 – 64, 2016.

VIRGENS, A.C.; CASTRO R.L.; CRUZ Z.M.A. Alterações histológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (Tilapiado-Nilo) expostas o Acefato, Difenconazol e Sulfluramida. **Natureza on line**, v.13, n.1, p. 26 31, 2015.

WANG, P.; DU, Z.; GAO, S.; ZHANG, X.; GIESY, J.P. Impairment of reproduction of adult zebrafish (*Danio rerio*) by binary mixtures of environmentally relevant concentrations of triclocarban and inorganic mercury. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 134, p. 124 – 132, 2016.

WINKALER, E. U.; DAS GRAÇAS SILVA, A.; GALINDO, H. C.; & DOS REIS MARTINEZ, C. B. Histological and physiological biomarkers to monitor the health of streams of fish Londrina, Paraná State. **Acta Scientiarum**, v. 3, n. 2, p. 507 514, 2001.

WRIGHT, D.A.; WELBOURN, P.M. Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological, and toxicological effects on biota. **Environmental Reviews**, v.2, n.2, p.187-214, 1994.

YONKOS, L. T.; FISHER, D. J.; REIMSCHUESSEL, R.; & KANE, A. S. **Atlas of fathead minnow normal histology**. 2000. Disponível em: <<http://aquaticpath.umd.edu/fhm>>. Acesso em: 10 abril. 2020.

ZHANG, J.; YANG, Y.; LIU, W.; LIU, J. Potential endocrine-disrupting effects of metals via interference with glucocorticoid and mineralocorticoid receptors. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 12-18, 2018.

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

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL:

Avaliar os danos histopatológicos nas brânquias e testículos de peixes provenientes da região marinha adjacente à foz do Rio Doce, Linhares-ES após o rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, Mariana-MG.

3.2 ESPECÍFICOS:

- Avaliar, qualitativamente e quantitativamente, a histopatologia de brânquias e testículos de peixes coletados na região marinha adjacente à foz do rio Doce;
- Comparar os possíveis danos histopatológicos entre os diferentes setores amostrais localizados na região marinha adjacente à foz do rio Doce.

4. RESULTADOS:

Os resultados serão apresentados no manuscrito intitulado como **“Histopatologia de brânquias e testículos de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce, Linhares/ES após o rompimento da barragem de Fundão.”**

Histopatologia de brânquias e testículos de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce, Linhares/ES após o rompimento da barragem de Fundão

Júlia Sacramento Barbosa¹, Lorena Ziviani Bevitório²,
Juliana Castro Monteiro Pirovani¹

¹ Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo- CEUNES/UFES. Rod. Governador Mário Covas, Km 60, Litorâneo, São Mateus, ES, 29932-540.

² Fundação Espírito-santense de Tecnologia, Vitória FEST. Av. Fernando Ferrari, 845, Goiabeiras, Vitória-ES, 29075-090.

RESUMO

A extração mineral é um setor importante no desenvolvimento do país, sendo fundamental para vários segmentos industriais. Entretanto, a atividade gera uma grande quantidade de resíduos, que devem ser geridos adequadamente para minimizar os impactos ambientais dessa atividade. Em novembro de 2015, com o rompimento da barragem de Fundão, na cidade de Mariana – MG, foram lançados no ambiente aproximadamente 50 milhões de m³ de rejeitos de mineração de ferro, sendo 16 milhões de m³ carregados pelo rio Doce em direção ao mar, chegando na foz do rio Doce aproximadamente 17 dias após o rompimento. Diversos metais pesados foram incorporados nos corpos hídricos em concentrações acima das permitidas, principalmente de ferro, cromo, manganês, mercúrio e cádmio. Em função do risco ambiental que os metais podem apresentar ao ambiente aquático e à biota associada, o uso de biomonitores e biomarcadores fornecem respostas importantes frente à contaminação. Este estudo propôs verificar alterações na morfologia branquial e testicular de peixes da foz do rio Doce, utilizando análises histopatológicas. Seis pontos amostrais localizados próximos à foz do rio Doce, na região marinha do Espírito Santo, foram amostrados. Trinta e dois exemplares foram coletados nos meses de setembro/outubro de 2019, com o auxílio de redes de pesca e tarrafas. Após a coleta, os exemplares foram identificados, anestesiados, eutanasiados, as brânquias e os testículos coletados. Os órgãos foram processados para microscopia de luz. Os índices de lesão das brânquias e do animal apresentaram diferenças significativas, entretanto os índices de lesão de testículos não foram significativos quando comparados os diferentes setores. Os animais avaliados no região localizado ao centro da foz apresentaram os maiores índices de lesão branquial em relação ao região norte e sul da foz. Além disso, notou-se que os animais mais lesionados (índice de lesão do animal), foram os animais coletados no centro da foz. As alterações histopatológicas observadas nas brânquias foram aneurisma, descamação do epitélio, deslocamento da lamela primária, fusão das lamelas secundárias, atrofia, hipertrofia e hiperplasia. Já nos testículos, observou-se alterações estruturais nos cistos, vacuolizações citoplasmáticas, atrofia, necrose, hipertrofia e hiperplasia. As lesões morfológicas observadas nas brânquias e nos testículos sugerem alterações ambientais na região da foz do rio Doce, após o rompimento da barragem de Fundão, além do comprometimento destes órgãos. Assim, a histologia como biomarcador dos danos morfológicos em brânquia e testículo de peixes obtidos neste estudo subsídida a tomada de decisões para a escolha destes órgãos serem utilizados como biomonitor dos contaminantes aquáticos.

Palavras-Chave: metais pesados, ecotoxicologia, mineração, biomonitoramento.

INTRODUÇÃO

A extração mineral é um setor importante no desenvolvimento do país, sendo fundamental para vários segmentos industriais (DUARTE, 2008; CARVALHO *et al.*, 2012). Entretanto, a atividade gera uma grande quantidade de resíduos, que devem ser geridos adequadamente para minimizar os impactos ambientais dessa atividade (CARVALHO *et al.*, 2017).

A barragem de Fundão, pertencente ao complexo de mineração sob responsabilidade administrativa da empresa Samarco Mineração S/A, localizada no distrito de Bento Rodrigues, município de Mariana, em Minas Gerais, foi construída para depósito de contenção dos resíduos gerados durante o processo de extração de minério de ferro.

Segundo Pedrosa (2017), a barragem estava classificada como Classe C, com base na classificação realizada pelo Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM) através da Política Nacional de Segurança de Barragens, ou seja, em uma categoria de risco baixo, mas com um dano potencial associado alto. No entanto, em novembro de 2015, ocorreu o rompimento da barragem, ocasionando o lançamento no ambiente de aproximadamente 50 milhões de m³ de rejeitos de mineração de ferro, sendo 16 milhões de m³ carregados pelo rio Doce em direção ao mar (DIAS *et al.*, 2018). Estes contaminaram 550 km do rio Doce nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo (RENOVA, 2017; ANDRADE *et al.*, 2018), chegando na foz do rio Doce, aproximadamente 17 dias após o rompimento. A foz do rio Doce é uma zona de grande produtividade biológica proporcionada pelo aporte de nutrientes provenientes das águas do rio Doce, o que garante uma considerável abundância e diversidade de espécies (IPEMA, 2009) e espalhando pelo Oceano Atlântico.

Essa contaminação deu-se predominantemente pela incorporação de metais pesados que são, de um modo geral, nocivos aos seres vivos e ecossistemas (CARVALHO *et al.*, 2017; DIAS *et al.*, 2018). Segundo Queiroz *et al.* (2013) e Gabriel *et al.* (2020), os rejeitos provenientes do rompimento da barragem de Fundão encontrados na água da foz do rio Doce eram compostos principalmente por ferro, cromo, manganês, mercúrio e cádmio em concentrações acima das permitidas de acordo com a Resolução CONAMA 357/05 (CONAMA, 2005).

Em função do risco ambiental que a emissão dos metais pode apresentar ao ambiente aquático e à biota associada, o uso de bioindicadores e biomarcadores no estudo de avaliação da toxicidade de compostos químicos de origem antrópica em áreas

impactadas fornecem respostas precoce as situações de exposição a contaminação (OLIVEIRA *et al.*, 2005; CONDESSA, 2009; ABDALLAH *et al.*, 2019).

Nessa perspectiva, para avaliar o estado de saúde dos corpos hídricos, os peixes são excelentes biomonitores, uma vez que estão expostos continuamente a diferentes tipos de contaminantes (GUNDERSEN *et al.*, 2000; PACHECO & SANTOS, 2002; THOPHON *et al.*, 2003; BARCAROLLI & MARTINEZ, 2004; CONDESSA, 2009; LINS *et al.*, 2010; STOLIAR *et al.*, 2012; DANE E SISMAN, 2015; PASCHOALINI *et al.*, 2019; PEREIRA;DOS SANTOS & SANCHES FILHO, 2019; MACÊDO *et al.*, 2020). Além disso, o uso de comunidades de peixes como indicadoras biológicas, trazem vantagens, como: 1) Comunidades de peixes geralmente incluem espécies que representam variadas categorias tróficas; 2) Sua posição no topo da teia alimentar aquática, quando comparada com organismos de níveis tróficos mais baixos, oferece uma visão integrada do corpo hídrico; 3) As comunidades de peixes são persistentes e se recuperam rapidamente dos distúrbios naturais; 4) Substâncias contaminadoras geralmente produzem deformidades morfológicas facilmente identificáveis que podem ser utilizadas como indicadores; 5) Os peixes têm valor cultural, econômico e social, permitindo que o público em geral possa entender e sentir-se envolvido com as condições das comunidades de peixes, e denunciar acontecimentos negativos relacionados a elas. Além de serem consumidos por humanos, o que permite medir o risco ecológico e a saúde pública (KARR, 1981; SIMON & LYONS, 1995; BARBOUR *et al.*, 1999; FLOTEMERSCH *et al.*, 2006; DUFECH, 2009).

Os biomarcadores constituem uma abordagem eficiente nos estudos de avaliação de risco e impacto ambiental, pois detectam de forma precoce os efeitos reais que estão ocorrendo aos seres vivos em situações de exposição a ambientes contaminados (FREIRE *et al.*, 2008; VIEIRA *et al.*, 2019). Em especial, os biomarcadores histopatológicos são utilizados para documentar e quantificar tanto a exposição quanto o efeitos dos poluentes para as funções vitais dos organismos expostos (PACHECO & SANTOS, 2002; VEIGA *et al.*, 2002; MELETTI *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2012) e são considerados mais sensíveis que os parâmetros relacionados apenas com o crescimento ou reprodução do indivíduo (BERNET *et al.*, 1999).

A brânquia é um órgão responsável por funções vitais na vida de um peixe, como respiração, osmorregulação e excreção de compostos nitrogenados, por apresentarem sítios de trocas gasosas, regulação iônica-osmótica e equilíbrio ácido-básico (GARCIA-SANTOS *et al.*, 2007). Alterações morfológicas nas brânquias podem representar um biomonitor das exposições agudas à contaminação ambiental por metais, devido ao

contato constante com os contaminantes presentes na água ou sedimento (WINKALER *et al.*, 2001; TKATCHEVA *et al.*, 2004). Segundo Macêdo *et al.* (2020), em um estudo realizado na bacia do rio Doce, após o rompimento da barragem de Fundão, constatou lesões morfológicas em brânquias de *Astyanax lacustris* (Lutken, 1875), como desorganização, levantamento epitelial, desorganização das células de cloreto nas lamelas secundárias, atrofia das células interlamelares e atrofia das lamelas primária.

O testículo é um órgão utilizado como bioindicador de exposição crônica à contaminação ambiental por metais pesados (NEZZI, 2015). Quando os peixes estão expostos a uma ampla e variada gama de substâncias, podem sofrer desregulação endócrina. E caso os contaminantes tenham seus mecanismos de ação associados, podem resultar em danos ainda mais graves ao sistema reprodutor, prejudicando todo desenvolvimento de gerações futuras, afetando, assim, diretamente o ecossistema envolvido (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Sendo assim, é importante que se avalie o efeito dos metais presentes na foz do Rio Doce na morfologia das brânquias e dos testículos, órgãos indicadores de exposição aguda e crônica, respectivamente, aos contaminantes ambientais, e que são essenciais na fisiologia da respiração e reprodução dos peixes. Assim, o presente estudo avaliou os danos morfológicos nas brânquias e testículos de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce, Linhares-ES, após o rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, Mariana-MG.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de Estudo

Os exemplares analisados neste estudo são provenientes do ambiente marinho adjacente à foz do rio Doce (Latitude: 7828234,12; Longitude: 414079,86), norte do Espírito Santo, litoral sudeste do Brasil. A bacia hidrográfica do rio Doce corresponde a maior bacia fluvial que atravessa terras capixabas, com uma extensão total de 853 km e uma área de drenagem com cerca de 83.400 km², dos quais 86% pertencem ao Estado de Minas Gerais e o restante (14%) ao Estado do Espírito Santo, sendo, portanto, uma bacia de domínio federal (ANA, 2001).

Os pontos amostrados neste estudo, foram organizados em três regiões, de acordo com a distância entre o entorno da foz do rio Doce, com dois pontos de coleta em cada região (figura 3), todos situados na Vila de Regência, Linhares-ES, sendo: região central da foz do rio Doce [FDR1 (lat: 7826708,46; long: 417558,23) e FDR3 (lat: 7819938,12;

long: 422768,53)]; região norte da foz [FDR6 (lat: 7832036,66; long: 427720,85) e FDR9 (lat: 7842923,74; long: 428268,74)]; e região ao sul da foz [FDR8 (lat: 7805922,41; long: 407208,69) e FDR10 (lat: 7814269,72; long: 399458,35)].

A área de estudo é considerada um ambiente de extrema importância ecológica, possui uma alta produtividade biológica proporcionada pelo aporte de nutrientes provenientes das águas do rio Doce, o que garante uma considerável abundância e diversidade de espécies (IPEMA, 2009). A área é caracterizada como um clima tropical úmido com estação chuvosa no verão/primavera e seca no inverno/outono, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C e do mês mais frio inferior a 18°C.

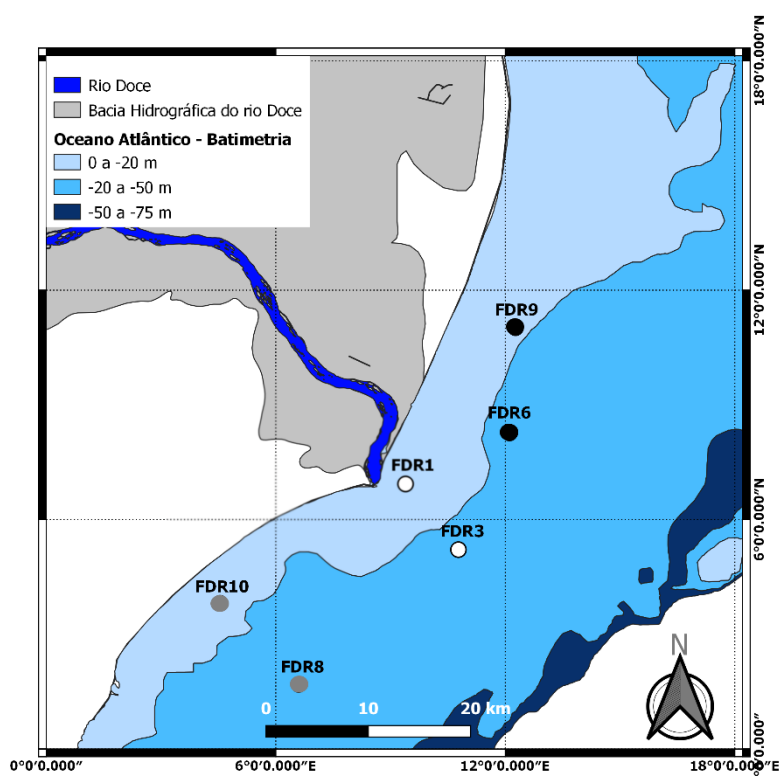


Figura 3: Mapa da foz do rio Doce, costa norte do Espírito Santo, Sudeste do Brasil. Branco: pontos da região central da foz do rio Doce; preto: pontos da região norte da foz do rio Doce e cinza: pontos da região sul da foz do rio Doce. Fonte: Msc. Álvaro Nepomuceno, 2020.

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E PROCESSAMENTO

Coleta de Amostras:

As amostras utilizadas neste estudo fazem parte do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática (PMBA), estabelecido pela cooperação firmada entre a FEST e a Renova. A coletada foi realizada na região marinha costeira adjacente a foz do Rio Doce e as amostras foram processadas pela equipe de campo do Anexo 1 (Ecotoxicologia)

da Rede Rio Doce Mar (RRDM), que monitora o conjunto de efeitos ambientais e ecotoxicológicos após o rompimento da barragem de Fundão. A coleta foi realizada sob licença SISBIO - nº 64261-2, visando a obtenção de exemplares. Após a coleta, as amostras ficaram disponíveis para a análise no Laboratório de Biologia Estrutural do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES). Sete a nove indivíduos machos foram analisados em cada região amostral, exceto a região norte, onde foram obtidos dezesseis indivíduos, com um total de 32 exemplares, como observado na tabela 1.

A coleta foi realizada nos meses de setembro e outubro de 2019 (estação seca). Os peixes foram coletados com redes de arrasto de fundo, ainda em campo, os exemplares foram identificados, anestesiados com benzocaína (1% em água) e, em seguida, dissecados, os órgãos (brânquias e testículos) foram armazenados de acordo com os protocolos de análises morfológicas.

Tabela 1: Lista de espécies de peixes coletados ao longo dos pontos de amostragem, identificados via plataforma FISHBASE. **Fonte:** Figueiredo & Menezes (1978; 1980 e 2000) e Menezes & Figueiredo (1980 e 1985).

Nome Popular	Nome Científico	Família	Região Central da Foz		Região Norte da Foz		Região Sul da Foz	
			FRD1	FRD3	FRD6	FRD9	FRD8	FRD10
Pescadinha	<i>Cynoscion sp.</i> (Gill, 1861)	<i>Scianidae</i>				2		
Maria Luiza	<i>Paralonchurus brasiliensis</i> (Steindachner, 1875)	<i>Scianidae</i>	1			4		1
Sardinha	<i>Sardina pilchardus</i> (Walbaum, 1792)	<i>Clupeidae</i>						
Peroá	<i>Balistes capriscus</i> (Gmelin, 1789)	<i>Balistidae</i>		1				2
Corvina	<i>Micropogonias furnieri</i> (Desmarest, 1823)	<i>Scianidae</i>		4	1		2	
Linguado	<i>Paralichthys sp.</i> (Girard, 1858)	<i>Paralichthyidae</i>				1	1	1
Roncador	<i>Conodon nobilis</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Haemulidae</i>				4		
Pampo	<i>Trachinotus sp.</i> (Lacépède, 1801)	<i>Carangidae</i>					3	
Palombeta	<i>Chloroscombrus chrysurus</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Carangidae</i>						1
Cabeça Dura	<i>Stellifer sp.</i> (Oken, 1817)	<i>Scianidae</i>	3					
Total			4	5	6	10	5	2

Microscopia de Luz:

As amostras de brânquias e testículos foram segmentados e os fragmentos imersos em solução Bouin por 8 h. Posteriormente, foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em paraplast (Leica). O material foi seccionado em micrótomo rotativo (cortes semi-seriados), na espessura de 5

micrômetros. As secções obtidas foram coradas com hematoxilina/eosina.

Análises Histopatológicas:

A classificação das alterações histopatológica observadas nas brânquias e testículos, foram estabelecidas a partir de um conjunto de lesões conforme mostram as tabelas 2 e 3 respectivamente, modificadas do protocolo descrito por Bernet *et al.* (1999), que foram classificadas em ordem de gravidade, considerando o fator de importância e grau de extensão da lesão.

Segundo Bernet *et al.* (1999), as alterações histopatológicas podem ocorrer em cinco padrões de reação: distúrbios circulatórios, alterações regressivas, alterações progressivas, inflamação e neoplasias. Além de agrupar as alterações, as mesmas foram classificadas em dois parâmetros: o fator de importância (w) e o grau de extensão da lesão (a). As alterações foram classificadas em três fatores de importância: **1:** Importância patológica mínima, a lesão é facilmente reversível ao final da exposição; **2:** Importância patológica moderada, a lesão é reversível na maioria dos casos se o estressor for neutralizado; **3:** Importância patológica acentuada, a lesão geralmente é irreversível, levando à perda parcial ou total do órgão. A cada alteração foi atribuído um valor que varia de 0 a 6, dependendo do grau de extensão da alteração: (0) inalterada; (1-2) ocorrência leve; (3-4) ocorrência moderada; (5-6) ocorrência grave.

Tabela 2: Alterações histopatológicas em brânquias de peixes. Baseado em Bernet *et al.* (1999).

Alterações histopatológicas branquiais	Grau de Importância
1. Distúrbios Circulatórios	
Hemorragias	1
Aneurismas	1
Edemas Intercelulares	1
2. Mudanças Regressivas	
Alterações citoplasmáticas	1
Inclusões citoplasmáticas	1
Descamação do epitélio	1
Deslocamento da lamela primária	1
Fusão das lamelas secundárias	1
Alterações nucleares	2
Atrofia	2
Necrose	3

3. Mudanças Progressivas	
Hipertrofia	1
Hiperplasia das células interlamelares	2
4. Inflamação	
Centro de melanomacrófagos	1
Infiltração de leucócitos	2
5. Tumor	
Benigno	2
Maligno	3

Tabela 3: Alterações histopatológicas em testículos de peixes. Adaptação do índice de lesão descrito por Bernet *et al.* (1999).

Alterações histopatológicas testiculares (túbulos seminíferos e interstício)	Grau de Importância
1. Distúrbios Circulatórios	
Hemorragias	1
Edemas Intercelulares	1
Congestão dos vasos sanguíneos	1
2. Mudanças Regressivas	
Alterações estruturais nos cistos	1
Vacuolizações citoplasmáticas	1
Depósitos intracelulares	1
Alterações nucleares	2
Atrofia	2
Necrose	3
3. Mudanças Progressivas	
Hipertrofia do tecido intersticial	1
Hiperplasia	2
4. Inflamação	
Exsudato	1
Infiltração de leucócitos	2
5. Tumor	
Benigno	2
Maligno	3

O grau do dano apresentado pelos órgãos foi representado pelo Índice do Órgão (I_{org}). Este índice foi calculado pela fórmula:

$$I_{org} = \sum p \sum alt (a \times w)$$

onde: rp: padrão de reação, alt: alteração, a: extensão da lesão, w: fator de importância.

Já a gravidade das alterações observadas foi representada pelo Índice de Reação (Irp), obtido pelo somatório do produto da multiplicação do tamanho da lesão pela relevância patológica:

$$\mathbf{Irp} = \Sigma \mathbf{alt} (\mathbf{a} \times \mathbf{w})$$

onde: rp: padrão de reação, alt: alteração, a: extensão da lesão, w: fator de importância.

A partir das respostas dos índices foi possível comparar os danos histopatológicos entre os diferentes setores e entre os órgãos avaliados, assim como o índice de lesão do animal (soma dos índices de lesão dos órgãos avaliados). Os índices caracterizam a lesão de forma quantitativa, assim associado a descrição qualitativa das lesões, tornam a análise mais conclusiva.

Análises Estatísticas

Os índices dos órgãos e dos animais foram comparados entre os setores. A normalidade dos dados foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. Para dados paramétricos foi realizada a análise de variância ANOVA seguidos de teste de Tukey e para dados não paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann-Whitney, utilizando os softwares BioEstat 5.3 e Past. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os índices de lesão da brânquia apresentaram diferença significativa quando comparados entre os diferentes setores ($p < 0,05$). Entretanto, os índices de lesão dos testículos não foram significativos entre os diferentes setores ($p > 0,05$) (Figura 4). Em relação aos índices de lesão do animal, houve diferenças significativas quando comparados entre os diferentes setores ($p < 0,05$). Além disso, os animais avaliados na região central da foz, apresentaram os maiores índices de lesão branquial ($p < 0,05$) em relação a região ao norte e sul da foz, respectivamente. Além disso, notou-se que os animais mais lesionados (índice de lesão do animal), foram os animais coletados na região central da foz (Figura 5).

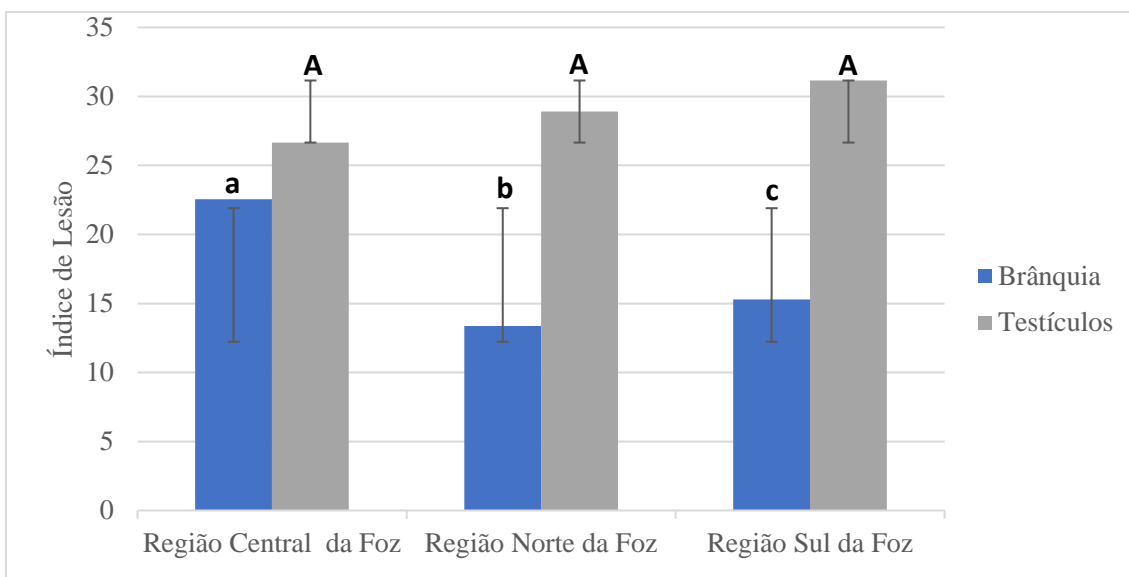


Figura 4: Índices de lesão branquial e testicular dos peixes dos três setores amostrais da região marinha adjacente à foz do rio Doce. Valores das barras indicam a média e as linhas o desvio padrão. Letras diferentes entre colunas indicam significância de $p < 0,05$.

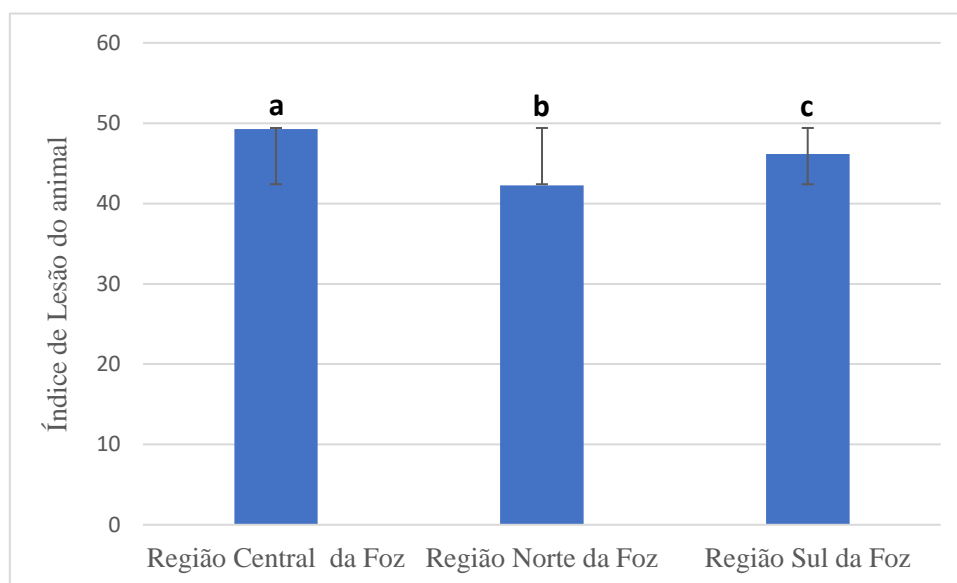


Figura 5: Índices de lesão dos peixes dos três setores amostrais da região marinha adjacente à foz do rio Doce. Valores das barras indicam a média e as linhas o desvio padrão. Letras diferentes entre colunas indicam significância de $p < 0,05$.

Os índices dos padrões de reação de mudanças regressivas, mudanças progressivas e tumor nas brânquias não foram significativos ($p > 0,05$). Já o índice de distúrbios circulatórios apresentou aumento significativo na região central da foz, em relação a região norte ($p < 0,05$). Não foi observada inflamação nas brânquias, assim, o índice desse padrão de reação foi zero (Tabela 4).

Tabela 4: Índices dos padrões de reação de brânquias de peixes dos três setores amostrais da foz do rio Doce.

Parâmetros	Região Central da Foz	Região Norte da Foz	Região Sul da Foz
Distúrbios Circulatórios	2,33 ± 1,93^a	0,43 ± 1,03^b	1,14 ± 1,67^{ab}
Mudanças Regressivas	9,55 ± 3,71	7,38 ± 3,86	5,42 ± 3,40
Mudanças Progressivas	10,22 ± 4,20	8,87 ± 3,79	7,71 ± 3,63
Inflamação	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tumor	0 ± 0	0 ± 0	0,57 ± 1,51

Valores são média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os tipos de danos histopatológicos branquiais e testiculares observados neste estudo foram semelhantes entre as regiões avaliadas, no entanto, a frequência das lesões variou entre as regiões. As lesões mais frequentes observadas nas brânquias, órgão indicador de contaminação aguda, estão representadas na Tabela 5 e Figura 5. No centro da foz, foram observadas hiperplasia e fusão das lamelas secundárias (100%), hipertrofia e deslocamento da lamela primária (66,6%), e atrofia das lamelas secundárias (44,4%). Já ao norte da foz, as lesões mais frequentes foram hiperplasia e fusão das lamelas secundárias (100%), deslocamento da lamela primária (62,5%), elevação do epitélio e hipertrofia (56,2%). Ao sul da foz, foram observadas hiperplasia e fusão das lamelas secundárias (100%), deslocamento da lamela primária e hipertrofia (57,1%), aneurisma e edema intercelular (28,5%).

Tabela 5: Frequência (%) das alterações morfológicas nas brânquias de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce, Linhares/ES.

Lesões branquiais (%)	Região Central da Foz	Região Norte da Foz	Região Sul da Foz
Aneurisma	44,4	6,2	28,5
Edema Inter celular	22,2	18,7	28,5
Elevação do Epitélio	22,2	56,2	14,28
Deslocamento da lamela primária	66,6	62,5	57,1
Fusão das lamelas secundárias	100,0	100,0	100,0
Atrofia	44,4	18,7	0
Necrose	22,2	6,25	14,2
Hipertrofia	66,6	56,2	57,1
Hiperplasia interlamelar	100,0	100,0	100,0

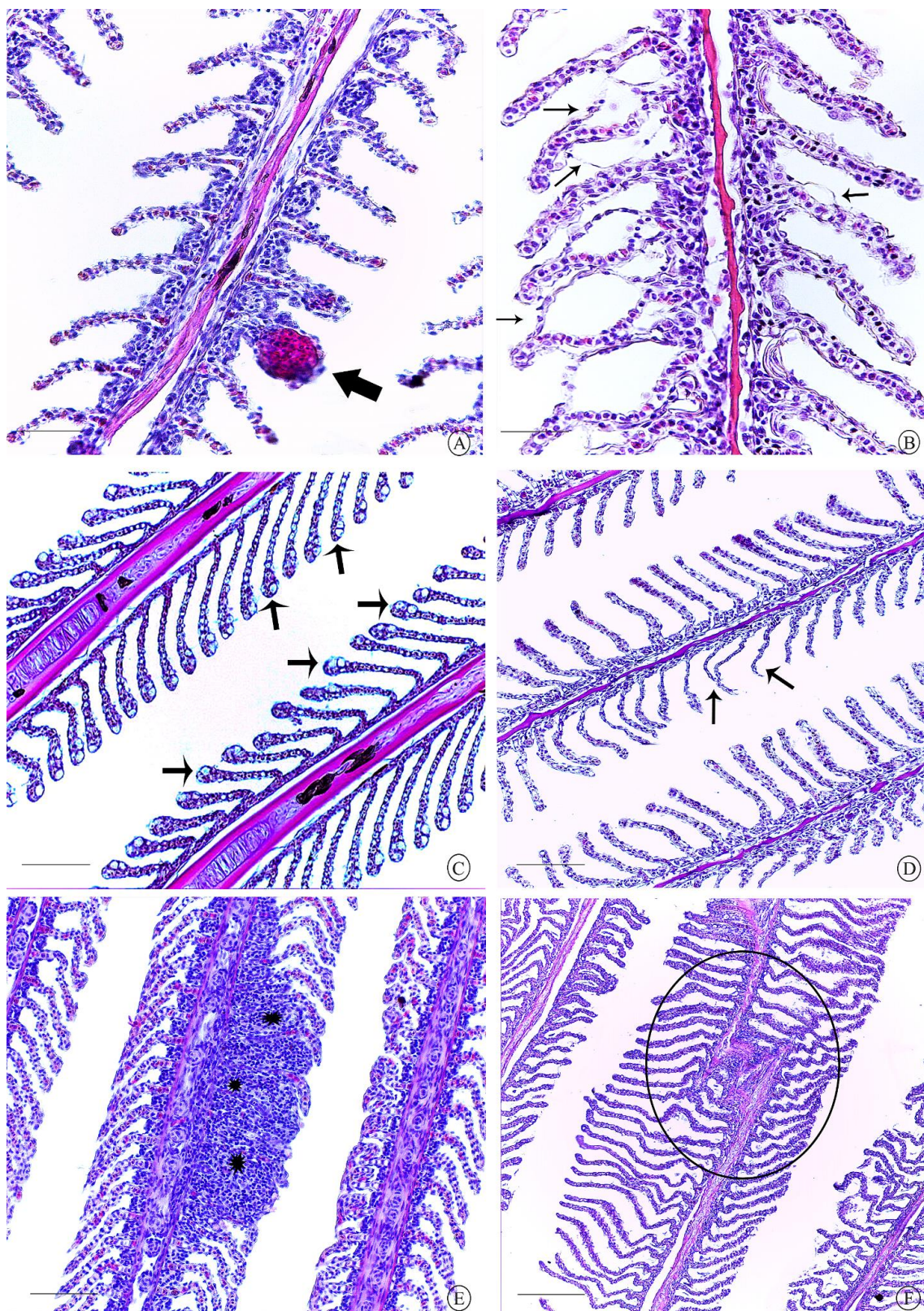


Figura 6: Fotomicrografia de brânquias de peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce. A: aneurisma (seta grossa); B: elevação do epitélio (setas finas); C: hipertrofia (setas); D: atrofia das lamelas secundárias; E: hiperplasia com fusão das lamelas secundárias (asterisco); F: deslocamento da lamela primária (círculo). Coloração: Hematoxilina & Eosina. Barra: A, B e D = 50 μm ; C e E= 100 μm e F= 200 μm .

Nos testículos, assim como nas brânquias, os padrões de reação mudanças regressivas, mudanças progressivas e inflamação não foram significativos entre os setores

($p > 0,05$). Já o padrão de reação distúrbios circulatórios variou entre os setores 1 e 3 ($p < 0,05$), ao centro e sul da foz, respectivamente, com maior dano na região sul da foz. Não foi observado tumor, e, assim, o respectivo índice de reação foi zero (Tabela 6).

Tabela 6: Índices de reação de testículos de peixes machos das três regiões amostrais da foz do rio Doce.

Parâmetros	Região Central da Foz	Região Norte da Foz	Região Sul da Foz
Distúrbios Circulatórios	0,44 ± 0,88^b	0,93 ± 1,12^{ab}	2,14 ± 1,86^a
Mudanças Regressivas	14,88 ± 6,39	19,25 ± 5,18	20,71 ± 4,57
Mudanças Progressivas	9,55 ± 3,46	7,81 ± 4,00	9,00 ± 2,76
Inflamação	1,77 ± 2,72	1,25 ± 2,81	0,00 ± 0,00
Tumor	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Valores são média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

As lesões mais frequentes observadas nos testículos (Tabela 7 e Figura 6), órgão que pode indicar contaminação crônica, no centro da foz, foram as alterações estruturais nos cistos e hipertrofia (100%), necrose (88,8%), hiperplasia (77,7%), atrofia das células germinativas e vacuolizações citoplasmáticas (66,6%) e infiltração de leucócitos (33,3%). No norte da foz, foram encontradas alterações estruturais nos cistos e hipertrofia (100%), atrofia e necrose dos cistos (93,7%), vacuolizações citoplasmáticas (81,2%), hiperplasia (50%) e congestão dos vasos sanguíneos (31,2%). Já no sul da foz, foram observadas alterações estruturais nos cistos, atrofia e hipertrofia (100%), necrose (85,7%), congestão dos vasos sanguíneos, vacuolizações citoplasmáticas e hiperplasia (71,4%).

Tabela 7: Frequência (%) das alterações morfológicas nos testículos de peixes machos da foz do rio Doce, Linhares/ES.

Lesões testiculares (%)	Região Central da Foz	Região Norte da Foz	Região Sul da Foz
Edema Intercelular	11,1	12,5	0
Congestão dos vasos sanguíneos	11,1	31,2	71,4
Alterações estruturais nos cistos	100,0	100,0	100,0
Vacuolizações citoplasmáticas	66,6	81,2	71,4
Atrofia	66,6	93,7	100
Necrose	88,8	93,7	85,7
Hipertrofia	100,0	100,0	100,0
Hiperplasia	77,7	50	71,4
Exsudato	11,1	6,2	0
Infiltração de Leucócito	33,3	25	0

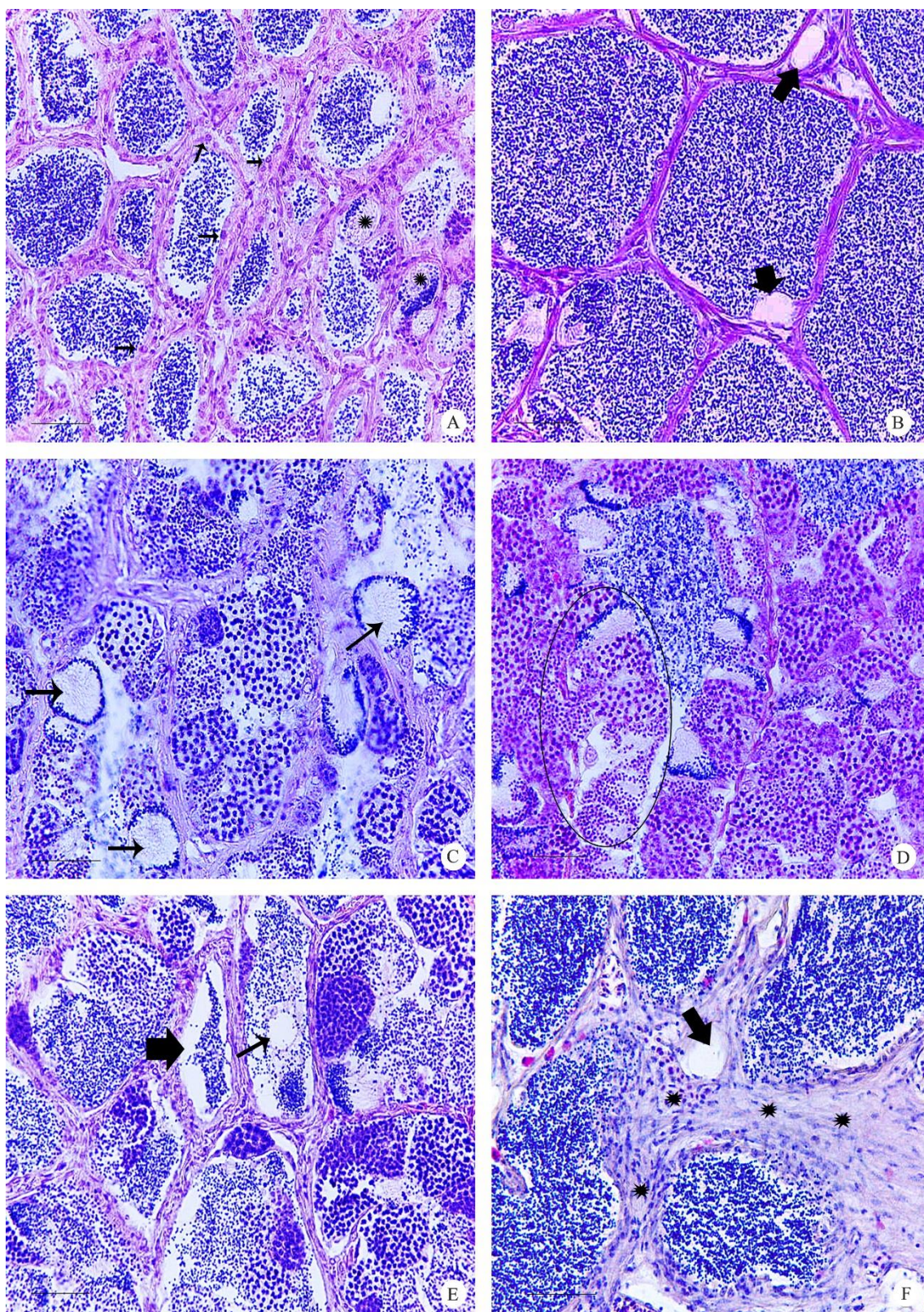


Figura 7: Fotomicrografia de testículos dos peixes da região marinha adjacente à foz do rio Doce. A: hipertrofia (setas finas) e redução das células germinativas (atrofia) (asterisco); B: vacuolizações citoplasmáticas (seta grossa); C: atrofia (setas finas); D: alterações estruturais nos cistos (círculo); E: redução das células germinativas (atrofia) (seta grossa) e necrose dos cistos germinativos (seta fina) e F: vacuolizações citoplasmáticas (seta grossa) e hiperplasia do tecido intersticial (asterisco). Coloração: Hematoxilina & Eosina. Barra: A, B e C: 100 μ m e D, E e F = 50 μ m.

DISCUSSÃO

No ambiente aquático, os poluentes podem ser absorvidos pelos teleósteos, principalmente, por meio da alimentação e das brânquias e acumular nos órgãos como brânquias, fígado, rim, intestino, gônadas e músculos (OLIVEIRA, 2013), em especial, os teleósteos marinhos, ingerem água, já que são hiposmóticos em relação ao meio em que vivem, pois precisam compensar dois problemas osmorregulatórios gerais, a entrada de sais por difusão e a perda de água por osmose (BALDISSEROTTO, 2013), isso desencadeia uma outra via de absorção de metais nestes organismos. Assim, este estudo avaliou os danos na morfologia branquial e testicular de peixes provenientes da região marinha situado ao entorno da foz do rio Doce, quatro anos após o rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, Mariana – MG.

As lesões mais frequentes observadas nas brânquias foram fusão das lamelas secundárias, hiperplasia, deslocamento da lamela primária, hipertrofia, atrofia, elevação do epitélio, aneurisma e edema intercelular. Macêdo *et al.* (2020), ao avaliar brânquias de *Astyanax lacustris* coletados na bacia do rio Doce, após o rompimento da barragem de Fundão, constatou lesões morfológicas similares as observadas neste estudo.

Dentre as lesões observadas nas brânquias, a fusão das lamelas secundárias e a hiperplasia interlamelar foram as mais frequentes nos setores avaliados (região norte, região central da foz e região sul), consideradas, fisiologicamente, lesões com danos graves às brânquias (TORRES *et al.*, 2016), sendo a fusão das lamelas secundárias de gravidade leve, e gravidade moderada para hiperplasia interlamelar, segundo Bernet *et al.* (1999). Essas lesões estão relacionadas com diversos contaminantes, dentre eles a exposição ao cobre (MAHARAJAN *et al.*, 2016), ferro (SANTOS *et al.*, 2016) e mercúrio (RABITTO *et al.*, 2011), metais presentes na foz do rio Doce (SÁ *et al.*, 2021).

A fusão das lamelas, por sua vez, é decorrente da hiperplasia das células epiteliais das lamelas e filamentos branquiais, devido ao aumento da adesão entre as células epiteliais e o sistema de sustentação das células pilares, associado ao colapso da integridade da estrutura da lamela secundária (SKIDMORE & TOVELL, 1972; MELETTI *et al.*, 2003, MORAIS, 2009). A hiperplasia interlamelar e fusão das lamelas secundárias prejudicam a passagem da água entre as lamelas, o que dificulta a função respiratória e osmorregulatória do órgão (CANTANHÊDE *et al.*, 2014). Essas alterações histopatológicas podem ser consideradas adaptativas, pois aumentam a distância entre o ambiente externo e o sangue, servindo como uma barreira para a entrada de

contaminantes, além de atuarem como um mecanismo de proteção, entretanto, leva à diminuição da superfície respiratória (CAMPOS, 2007). O aumento da distância da barreira água-sangue juntamente com a elevação do epitélio e o aumento da secreção de muco podem diminuir drasticamente o consumo de oxigênio, ocasionando um quadro de hipóxia (KOCA *et al.*, 2005).

As lesões observadas neste estudo foram semelhantes às aquelas encontradas por Campagna *et al.* (2008) ao avaliarem a toxicidade do sedimento do rio Monjolinho, São Carlos, SP, sobre a morfologia de brânquias de *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan, 1822). Os autores encontraram hiperplasia das células epiteliais, fusão das lamelas secundárias, congestão nas lamelas secundárias e descolamento do epitélio das lamelas secundárias nas brânquias dos peixes. Garcia-Santos *et al.* (2007), também observaram fusão das lamelas como resultado de hiperplasia e hipertrofia epitelial e aneurismas, após a exposição da espécie *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), durante quatro dias, ao cádmio. Domingos *et al.* (2009) observaram lesões similares nas brânquias de peixes de ambientes estuarinos contaminados com metais pesados.

A formação de edema, lesão frequente na região sul da foz, leva à elevação do epitélio, que segundo Thophon *et al.* (2003), é o primeiro sinal de patologia em peixes, e é considerada uma das lesões mais frequentes observadas no epitélio branquial de peixes exposto a metais pesados (MALLATT, 1985). A elevação do epitélio (ou destacamento), lesão frequente nas brânquias no região norte da foz, pode ser desencadeada por estresse químico, levando à disfunção respiratória por afetar as trocas gasosas, devido à redução da superfície do epitélio respiratório e, também, alterar processos osmorregulatórios (CAMPOS, 2007; ZENI *et al.*, 2017). Segundo Garcia-Santos *et al.* (2007), o edema pode induzir alterações na estrutura normal das células pilares, com consequente perda da função de suporte, o que levou ao surgimento de aneurisma lamelar nos peixes expostos ao cádmio.

O aneurisma, lesão com grande incidência nas lamelas secundárias, resulta do acúmulo de eritrócitos e morte das células pilares, que prejudica a integridade vascular com a liberação de grande quantidade de sangue, empurrando o epitélio lamelar para fora (HINTON & LAURÉN, 1990), o que pode causar a ruptura do epitélio e, conseqüentemente, hemorragia. Essa lesão pode estar associada a traumas físicos e químicos, em resposta aguda, a agentes estressores ambientais (LIEBEL *et al.*, 2013; FREIRE *et al.*, 2015). Resultados similares foram descritos por Stentiford *et al.* (2003), em espécimes capturados em áreas contaminadas e por Winkaler *et al.* (2001), que

também observaram aneurisma lamelar em brânquias de *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) provenientes de córregos poluídos por esgoto.

Neste estudo foi observada alta frequência de atrofia e hipertrofia. A hipertrofia foi frequente nos três setores, a atrofia, por outro lado, foi mais frequente na região central da foz. Meletti (2003) observou alta frequência de hipertrofia em brânquias de *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan, 1822) e *Serrapinnus notomelas* (Eigenmann, 1915) expostos à amostras de sedimento e efluente de indústria de papel e celulose, na bacia do rio Mogi-Guaçu, Estado de São Paulo. Macêdo *et al.* (2020), também observaram hipertrofia e proliferação de células de cloreto nas lamelas secundárias como uma resposta adaptativa à exposição a metais, que está intimamente relacionada com um ajuste compensatório para a perda de íons pelo epitélio e sua dificuldade de absorção (BARBIERI *et al.*, 2016).

Outra alteração epitelial importante foi o deslocamento epitelial da lamela secundária, considerada uma das primeiras alterações observadas nas brânquias dos peixes nos casos de exposição aguda a agentes tóxicos, como metais, mercúrio, níquel, cádmio, zinco e cobre (ROSSI, 2008), alguns desses metais também foram encontrados na foz do rio Doce, como o mercúrio e cádmio, achados de Queiroz *et al.* (2018) e Gabriel *et al.* (2020). Tal alteração supracitada também foi observado por Nogueira *et al.* (2011) em *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) coletados no reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes, em Minas Gerais, na presença de poluentes em ambientes naturais.

As avaliações morfológicas fornecem um indicador sensível para avaliar os efeitos da exposição de metais no desenvolvimento gonadal (CRUMP & TRUDEAU, 2009), principalmente para demonstrar os estágios iniciais das condições patológicas. Não foram observadas diferenças significativas nos índices de lesão dos testículos de peixes coletados nos três regiões localizados ao entorno da foz do rio Doce, entretanto o índice de Bernet (1999) possibilitou uma avaliação objetiva da integridade do órgão, expressando a condição patológica, que é uma ferramenta importante para relacionar o grau de poluição com a gravidade das alterações induzidas. Além disso, este é o primeiro estudo que avalia a histopatologia dos testículos em comunidades de peixes, após o rompimento da barragem de Fundão. Por isso, é de extrema importância que estudos complementares utilizando outros biomarcadores reprodutivos sejam realizados para avaliar a real situação que esses animais se encontram na presença de metais na água e no sedimento.

Vergilio *et al.* (2015) ao avaliar espécies de peixes expostas ao cádmio, através

da água ou dieta, observaram danos na morfologia testicular, como: ruptura da arquitetura normal testicular, degeneração lobular, proliferação de tecido intersticial, infiltração de células sanguíneas, redução de células germinativas e desaparecimento de espermatozoides dos cistos. Gárriz *et al.* (2019), em um estudo analisando concentrações acima das permitidas de cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr) e zinco (Zn) na água do lago Chascomús comparadas com as Diretrizes Nacional da Argentina para a proteção da biota aquática, observaram que os peixes apresentaram danos estruturais das gônadas, como presença de células picnóticas, fibrose e diminuição dos túbulos seminíferos. No presente estudo foram frequentes alterações estruturais nos cistos, hipertrofia, por meio da proliferação de tecido intersticial, atrofia testicular e redução de células germinativas. Nesse sentido, Queiroz *et al.* (2018), Gabriel *et al.* (2020) e Sá *et al.*, (2021), ao avaliarem amostras do rio Doce observaram concentrações acima das permitidas de acordo com a Resolução CONAMA 357/05 (CONAMA, 2005) de Cd, Cu, Cr e Zn após o rompimento da barragem. Assim, os achados deste estudo sugerem que as alterações morfológicas observadas nos testículos de peixes coletados na foz do rio Doce podem ser explicadas pelas altas concentrações de metais encontradas nessa região.

Segundo França & Chiarini-Garcia (2005), as células de Sertoli são mais afetadas por agentes tóxicos do que as células germinativas mais diferenciadas, isso decorre do fato destas substâncias passarem necessariamente pelas células de Sertoli, antes de atingirem as células espermatogênicas. Como as células de Sertoli exercem o papel fundamental na regulação da espermatogênese, qualquer dano nelas podem resultar em alterações ou degenerações das células germinativas e infertilidade. Os principais sinais de dano nas células de Sertoli são as vacuolizações citoplasmáticas observadas na porção basal do citoplasma destas células e a retenção de espermátides maduras. Alterações nas células de Sertoli podem desencadear consequências como anormalidades na forma do núcleo das espermátides, formação de células gigantes, progressiva perda de espermatócitos e espermatogônias e descamação de células germinativas do epitélio seminífero, levando à atrofia testicular.

Nesse estudo, lesões como vacuolizações, hipertrofia das células germinativas e atrofia foram encontradas com frequência, corroborando com dados descrito por Santos (2009), em um estudo experimental com exposição aguda de *Astyanax aff. bimaculatus* (Linnaeus, 1758) ao zinco. A hiperplasia também foi descrita por Vergílio *et al.* (2014), que estabeleceram uma correlação direta entre o acúmulo de mercúrio e a gravidade das lesões no sistema reprodutor masculino de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758). Após 96

horas de tratamento com a administração da concentração de 20 μ M de Hg inorgânico, lesões como desorganização completa dos túbulos seminíferos e hiperplasia do tecido fibroso nas paredes dos túbulos seminíferos foram observadas. Essas alterações também foram observadas em *Poecilia reticulata* (Peters, 1859) (WESTER & CANTON, 1992) após três meses de exposição ao Hg orgânico e em *Oryzias latipes* (Temminck & Schlegel, 1846) expostos por 8 dias ao Hg (LIAO *et al.* 2006). Nesse sentido, Ferreira *et al.* (2020), observou alta concentração de mercúrio no tecido muscular de comunidades de peixes de doze pontos amostrais ao longo da bacia do rio Doce, após o rompimento da barragem de Fundão.

A necrose, lesão frequente nos testículos, é caracterizada pelo processo de morte celular ou tecidual, causada por lesões nucleares e citoplasmáticas irreversíveis, seguidas pela perda dos limites celulares e pela reabsorção por células fagocíticas (THOMSON, 1978). Além disso, grandes e numerosas áreas necróticas podem levar à falência do órgão, causando comprometimento para a saúde do indivíduo e, conseqüentemente, afetar níveis mais elevados de organização biológica, como populações e comunidades, já que pode comprometer toda a linhagem germinativa (RABITTO *et al.*, 2005). Assim, é classificada como lesão de grau de importância III, considerada como lesão severa e irreversível (BERNET *et al.*, 1999). Segundo Kumari & Dutt (1991), em experimento em que foram avaliados os testículos de peixes, após 20 dias de exposição ao cádmio, houve necrose generalizada e degeneração extensa em todos os túbulos seminíferos.

Neste estudo, as brânquias e os testículos de comunidades de peixes apresentaram maior frequência das alterações histopatológicas nos pontos localizados em frente à foz do rio Doce (FDR1, FDR3), na região central da foz, bem como os maiores índices de lesão dos animais, mostrando que as condições ambientais nesses pontos estão mais comprometidas, visto que as lesões descritas anteriormente refletem as condições ambientais específicas e representam tanto a intensidade quanto o tempo de exposição dos organismos às alterações do ambiente (MACEDO-VEIGA *et al.*, 2013). Além disso, as brânquias apresentaram os maiores índices de lesão quando comparado aos testículos, esse evento pode ser explicado pelo fato do epitélio respiratório estar em contato direto com o meio externo e possuir uma grande área de superfície, altamente susceptível às alterações ambientais (CANTANHÊDE *et al.*, 2014).

Os maiores índices de lesão na região central da foz do rio Doce, classificada como moderadamente tóxico, segundo o monitoramento realizado pela Rede RioDoceMar (BIANCHINI *et al.*, 2016; BIANCHINI *et al.*, 2019) podem ser explicados pela elevada

concentração de metais totais observadas nessa região: arsênio total (As), cádmio (Cd), chumbo total (Pb), cromo total (Cr), manganês total (Mn), cobre dissolvido (Cu) e ferro dissolvido (Fe) (BERNARDINO *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2021; SÁ *et al.*, 2021). A maior concentração desses metais no centro da foz (região central da foz), pode ser explicada pela sua localização espacial, região que se encontra em frente a desembocadura do rio Doce, o que promove grande vazão, conseqüentemente acúmulo de grande quantidade de sedimentos, além da pouca movimentação nesse local, devido a baixa influência das marés, ocasionando a deposição dos sedimentos (QUEIROZ *et al.*, 2018). Tais condições são favorecidas durante a estação seca, período de coleta desde estudo, quando há uma hidrodinâmica baixa e a maior deposição de sedimentos aumentam as concentrações de metais residuais (GABRIEL *et al.*, 2020).

Diante do exposto, a histopatologia pode ser considerada uma ferramenta eficiente e sensível para o monitoramento da saúde dos peixes e da poluição em corpos d'água naturais (WESTER *et al.*, 2002; STENTIFORD *et al.*, 2003) pois, está atrelada ao fato de refletir a saúde dos peixes de forma precoce, permitindo que os efeitos de toxicidade possam ser extrapolados para a comunidade e para o ecossistema (AU, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, V. D.; LEITE, L. A. R.; DE AZEVEDO, R. K. *Neoechinorhynchus curemai* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) como indicador de impactos ambientais no rio do Peixe, estado de São Paulo, Brasil. **Diversitas Journal**, v. 4, n. 3, p. 764-773, 2019.

ANA - Agência Nacional de Águas. *Bacias Hidrográficas do Atlântico Sul – Trecho Leste: sinopse de informações do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Sergipe*. Brasília: ANA, (Série: Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos – Documentos), 2001.

AU, D.W.T. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring a review. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p.817-834, 2004.

ANDRADE, G.F.; PANIZ, F.P.; MARTINS, A.C.; ROCHA, B.A.; LOBATO, A.K. DA S.; RODRIGUES, J.L.; CARDOSO-GUSTAVSON, P.; MASUDA, H.P.; & BATISTA, B.L. Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: a promising residue use?. **Chemosphere**, v. 193, p. 892–902, 2018.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à aquicultura**. 3ª Ed. Santa Maria, Editora UFSM. 349 p, 2013.

BARBIERI, E.; CAMPOS-GARCIA, J.; MARTINEZ, D.S.T.; DA SILVA, J.R.M.C.; ALVES, O.L.; REZENDE, K.F.O. Histopathological effects on gills of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) exposed to Pb and carbon nanotubes. **Microscopy and Microanalysis**, v. 22, n. 6, p. 1162, 2016.

BARBOUR, M. T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B. D.; & STRIBLING, J. B. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. **Environmental Protection Agency**, v.339, 1999.

BARCAROLLI, I.F. & MARTINEZ, C.B.R. Effects of aluminium in acidic water on hematological and physiological parameters of the neotropical fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, p. 639-646, 2004.

BERNARDINO, A. F.; PAIS, F. S.; OLIVEIRA, L. S.; GABRIEL, F. A.; FERREIRA, T. O.; QUEIROZ, H. M.; & MAZZUCO, A. C. A. Chronic trace metals effects of mine tailings on estuarine assemblages revealed by environmental DNA. **PeerJ**, v. 7, p.8042, 2019.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, n. 1, p. 25-34, 1999.

BIANCHINI, A.; BASTOS, A. C.; TEIXEIRA, E. C.; CASTRO, E. V. D.; SANTOS, J. A. D. D. **Monitoramento ecotoxicológico dos impactos causados pela lama oriunda do rompimento da barragem de Mariana (MG) em regiões dulcícolas, estuarinas e marinhas**. Relatório Técnico-Científico, Vitória, 2019.

BIANCHINI, A.; SILVA, C. C.; LAUER, M. M.; JORGE, M. B.; COSTA, P; G. **Avaliação do impacto da lama/pluma Samarco sobre os ambientes costeiros e marinhos (ES e BA) com ênfase nas Unidades de Conservação**. Relatório Técnico-Científico, Brasília, 2016.

CAMPAGNA, A. F.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B. K.; ELER, M. N.; VERANI, N. F.; & ESPÍNDOLA, E. L. G. Analyses of the sediment toxicity of Monjolinho River, São Carlos, São Paulo State, Brazil, using survey, growth and gill morphology of two fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 1, p. 193-201, 2008.

CAMPOS, D. Y. F. **Análises das respostas citogenéticas e histopatológicas de peixe *Trematomus newnesi* exposto à água do mar diante da Estação Antártica Brasileira “Comandante Ferraz”, Ilha Rei George, Antártica**.112f. Dissertação

(Mestre em Ciências). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CANTANHÊDE, S. M.; MEDEIROS, A. M.; FERREIRA, F. S.; FERREIRA, J. R. C.; 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. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 593-601, 2014.

CARVALHO, C.G.; SILVA, J. M.; CURI, A.; FLORES, J.C.C. A dependência da arrecadação do município de Ouro Preto do setor mineral. **Revista Escola de Minas**, v. 65, n. 3, p. 385-392, 2012.

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

CARVALHO, S. S.; CRUZ, M. A. S.; DE AMORIM, J. R. A.; ARAGAO, R. D.; & DA MOTA, P. V. M. Presença de cádmio e ferro em amostras da água da sub-bacia hidrográfica do rio Siriri, Estado de Sergipe. **Simpósio Brasileiro De Recursos Hídricos**, Florianópolis. Anais. Porto Alegre: Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 2017.

CONAMA. 2005. **Conselho Nacional de Meio Ambiente**. Resolução N0357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União de 18/03/05.

CONDESSA, S. S. **Toxicidade subcrônica em lambaris *Astyanax aff. bimaculatus* expostos ao zinco**. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

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

DANE, H.; SISMAN, T. Histopathological changes in gill and liver of capoeta capoeta living in the karasu river, erzurum. **Environmental toxicology**, v. 30, n. 8, p. 904–917, 2015.

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

DOMINGOS, F.X.V; ASSIS, H.C.S.; SILVA, M.D.; DAMIAN, R.C.; ALMEIDA, A.I.M.; CESTARI, M.M.; RANDI, M.A.F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C.A. Anthropic Impact Evaluation of Two Brazilian Estuaries Trough Biomarkers in Fish. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 4, n. 1-3, p. 21-30, 2009.

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

DUFECH, A. P. S. **Uso de assembleias de peixes como indicadores de degradação ambiental nos ecossistemas aquáticos do Delta do Rio Jacuí.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

FERREIRA, F. F.; DE FREITAS, M. B. D.; SZINWELSKI, N.; VICENTE, N., MEDEIROS, L. C. C.; SCHAEFER, C. E. G. R. & SPERBER, C. F. Impacts of the Samarco tailing dam collapse on metals and arsenic concentration in freshwater fish muscle from Doce River, southeastern Brazil. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 16, n. 5, p. 622-630, 2020.

FIGUEIREDO, J.L. & MENEZES, N.A.. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II. Teleostei (1).** Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, p.110, 1978.

FIGUEIREDO, J.L. & MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2).** São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, p.90, 1980.

FIGUEIREDO, J.L. & MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. VI. Teleostei (5).** Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, p.116p, 2000.

FLOTEMERSCH, J. E.; STRIBLING, J.B.; PAUL, M. J. Concepts and Approaches for the Bioassessment of Non-wadeable Streams and Rivers. **Environmental Protection Agency, Office of Research and Development**, p. 134, 2006.

FRANÇA, L. R.; & CHIARINI-GARCIA, H. Célula de Sertoli. In: CARVALHO, H. F.; COLARES-BUZATO, C. B. **Células: Uma abordagem multidisciplinar.** Manole: São Paulo, 450p, 2005.

FREIRE, C. A. A multibiomarker evaluation of urban, industrial, and agricultural exposure of small characins in a large freshwater basin in southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 17, p. 13263-13277, 2015.

FREIRE, M. M.; SANTOS, V. G.; GINUINO, I. S. F.; & ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 2, 2008.

GABRIEL, F. A.; SILVA, A. G.; QUEIROZ, H. M.; FERREIRA, T. O.; HAUSER-DAVIS, R. A.; & BERNARDINO, A. F. Ecological risks of metal and

metalloid contamination in the Rio Doce estuary. **Integrated environmental assessment and management**, v. 16, n. 5, p. 655-660, 2020.

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

GÁRRIZ, Á.; PAMELA, S.; CARRIQUIRIBORDE, P.; & MIRANDA, L. A. Effects of heavy metals identified in Chascomús shallow lake on the endocrine-reproductive axis of pejerrey fish (*Odontesthes bonariensis*). **General and comparative endocrinology**, v. 273, p. 152-162, 2019.

GUNDERSEN, D. T.; MILLER, R.; MISCHLER, A.; ELPERS, K.; MIMS, S. D.; MILLAR, J. G.; & BLAZER, V. Biomarker response and health of polychlorinated biphenyl-and chlordane-contaminated paddlefish from the Ohio River Basin, USA. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 19, n. 9, p. 2275-2285, 2000.

HINTON, D.E. Integrative histopathological effects of environmental stressor on fishes. In: **American Fisheries Society Symposium**. p. 51-66, 1990.

IPEMA. Instituto de Pesquisa da Mata Atlântica. **Contribuição ao processo de criação da Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Foz do Rio Doce**, 2009.

KARR, J. R. Assessment of biotic integrity using fish communities. **Fisheries**, v. 6, n. 6, p. 21-27, 1981.

KOCA, Y. B.; KOCA, S.; YILDIZ, Ş.; GÜRCÜ, B.; OSANÇ, E.; TUNÇBAŞ, O.; & AKSOY, G. Investigation of histopathological and cytogenetic effects on *Lepomis gibbosus* (Pisces: Perciformes) in the Çine stream (Aydın/Turkey) with determination of water pollution. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 20, n. 6, p. 560-571, 2005.

KUMARI, M. & DUTT, N.H.G. Cadmium induced histomorphological changes in the testis and pituitary gonadotrophic hormone secreting cells of the cyprinid *Puntius sarana*. **Italian Journal of Zoology**, v.58, p.71–76, 1991.

LIAO, C. Y.; FU, J. J.; SHI, J. B.; ZHOU, Q.F., YUAN, C. G. & JIANG, G. B. (2006) Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity alterations in medaka (*Oryzias latipes*) following sublethal exposure to methylmercury chloride. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.22, p.225–233, 2006.

LIEBEL, S.; TOMOTAKE, M, E. M.; RIBEIRO, C.A.O. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 8, n. 2, p. 09-15, 2013.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; DA SILVA QUEIROZ, V.; & CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.

MACEDA-VEIGA, A.; MONROY, M.; NAVARRO, E.; VISCOR, G.; & DE SOSTOA, A. Metal concentrations and pathological responses of wild native fish exposed to sewage discharge in a Mediterranean river. **Science of the Total Environment**, v. 449, p. 9-19, 2013.

MACÊDO, A. K. S.; DOS SANTOS, K. P. E.; BRIGHENTI, L. S.; WINDMÖLLER, C. C.; BARBOSA, F. A. R.; DE AZAMBUJA RIBEIRO, R. I. M.; & THOMÉ, R. G. Histological and molecular changes in gill and liver of fish (*Astyanax lacustris* Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 735, p. 139505, 2020.

MAHARAJAN, A.; KITTO, M. R.; PARURUCKUMANI, P. S.; & GANAPIRIYA, V. Histopathology biomarker responses in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) exposed to copper. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 77, p. 21-30, 2016.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, n. 4, p. 630-648, 1985.

MELETTI, P. C. **Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

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. (Ed.). **Limnologia Fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçú**. São Paulo: SÃO CARLOS, p.149-180, 2003.

MENEZES, N.A. & FIGUEIREDO, J.L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. IV. Teleostei (3)**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, p.96, 1980.

MENEZES, N.A. & FIGUEIREDO, J.L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. V. Teleostei (4)**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 105, 1985.

MORAIS, A.C. T. **Concentração de metais pesados em peixes teleósteos do rio Piracicaba**. Dissertação (Mestre em Biologia Animal), Universidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 2009.

NEZZI, L. **Efeito do herbicida glifosato sobre as células somáticas e germinativas de testículo de peixe *Danio rerio* (Hamilton, 1822)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

NOGUEIRA, D. J.; DE CASTRO, S. C.; VIEIRA, R. C. A.; DE SÁ, O. R.; & DE AZEVEDO SANTOS, V. M. Utilização das brânquias de *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803)(Siluriformes; Pimelodidae) como biomarcador de poluição no reservatório da UHE Marechal Mascarenhas de Moraes, Minas Gerais, Brasil. **Biotemas**, v. 24, n. 3, p. 51-58, 2011.

OLIVEIRA R., C.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A. E.; ROCHE, H. É. L. È. N.E. Bioacumulação e efeitos de pesticidas organoclorados, HAP e metais pesados na enguia (*Anguilla anguilla*) na Reserva Natural de Camargue, França. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 1, p. 53-69, 2005.

OLIVEIRA, H. H. P. D. **Comparação dos efeitos da mistura de poluentes orgânicos (BAP, DDT e TBT) no metabolismo hepático e na toxicidade em teleósteos de água doce**. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformação, efeitos genotóxicos e histopatológicos de contaminantes ambientais em enguia europeia (*Anguilla anguilla* L.). **Ecotoxicologia e segurança ambiental**, v. 53, n. 3, p. 331-347, 2002.

PASCHOALINI, A.L.; SAVASSI, L.A.; ARANTES, F.P.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Heavy metals accumulation and endocrine disruption in *Prochilodus argenteus* from a polluted neotropical river. **Ecotoxicology and Environmental safety**, v. 169, p. 539-550, 2019.

PEDROSA, L. **Reavaliação do sistema de classificação de barragens realizado pelo DNPM**. 2017.

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

QUEIROZ, H. M.; NÓBREGA, G. N.; FERREIRA, T. O.; ALMEIDA, L. S.;

ROMERO, R. B.; SANTAELLA, S. T.; BERNARDINO, A. F.; OTERO, X. L. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of The Total Environment**, v. 37–638, p. 498-506. 2018.

QUEIROZ, H. M.; YING, S. C.; ABERNATHY, M.; BARCELLOS, D.; GABRIEL, F. A.; OTERO, X. L.; & FERREIRA, T. O. Manganese: The overlooked contaminant in the world largest mine tailings dam collapse. **Environment International**, v. 146, p. 106284, 2021.

RABITTO, I. S.; COSTA, J. A.; DE ASSIS, H. S.; PELLETIER, E.; AKAISHI, F. M.; ANJOS, A.; & RIBEIRO, C. O. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 60, n. 2, p. 147-156, 2005.

RABITTO, I. S., BASTOS, W. R.; ALMEIDA, R.; ANJOS, A.; DE HOLANDA, Í. B. B.; GALVÃO, R. C. F.; & DE OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Mercury and DDT exposure risk to fish-eating human populations in Amazon. **Environmental International**, v.37, p.56–65, 2011.

RENOVA. 2017. Mapa da reparação. [Online] URL: http://www.fundacaorenova.org/?gclid=Cj0KCQiAjo_QBRC4ARIsAD2FsXNvWkKHmFsqhsVHoXsTgFtoEtkRhbRwLzl9tN275M6C36284DFac4aAqs6EALw_wcB.

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

RODRIGUES, G. Z. P.; MACHADO, A. B.; GEHLEN, G. Influência de metais no comportamento reprodutivo de peixes, revisão bibliográfica. **Geama**, v. 5, n. 1, p. 4-13, 2019.

ROSSI, S. **Uso de biomarcadores para a detecção de efeitos subletais dos pesticidas Roundup e Hexaton em *Astyanax* sp (Pices, Teleostei).** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 64f . 2008.

SANTOS, D. C. M. **Toxidez aguda do zinco em lambaris *Astyanax aff. bimaculatus* (Linnaeus, 1758).** Dissertação (Mestre em Biologia Animal), Universidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 2009.

SANTOS, D. R.; YAMAMOTO, F. Y.; NETO, F. F.; RANDI, M. A. F.; GARCIA, J. E.; COSTA, D. D. M.; & DE OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. The applied indicators of water quality may underestimate the risk of chemical exposure to human population in reservoirs utilized for human supply—Southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9625-9639, 2016.

SÁ, F., LONGHINI, C.M.; COSTA, E.S.; DA SILVA, C.A.; CAGNIN, R.C.; DE OLIVEIRA GOMES, L.E. & NETO, R.R. Time-sequence development of metal (loid) s following the 2015 dam failure in the Doce river estuary, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 769, p. 144532, 2021.

SIMON, T. P.; LYONS, J. Application of the index of biotic integrity to evaluate water resource integrity in freshwater ecosystems. **Biological assessment and criteria: tools for water resource planning and decision making**, v. 16, p. 245-262, 1995.

SKIDMORE, J. F.; TOVELL, P. W. A. Toxic effects of zinc sulphate on the gills of rainbow trout. **Water Research**, v. 6, n. 3, p. 217-IN4, 1972.

STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P.; JONES, G.; GREEN, M.; & FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**, v. 55, n. 2, p. 137-159, 2003.

STOLIAR, O. B.; LUSHCHAK, V. I. **Environmental pollution and oxidative stress in fish. In: LUSHCHAK, V. Oxidative stress-environmental induction and dietary antioxidants**, 1 ed., Edited by Volodymyr I. p. 131-166, 2012.

THOMSON, R. G. General veterinary pathology. **Philadelphia: Saunders**, p.444, 1978.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; & JARITKHUAN, S. Alterações histopatológicas do robalo branco, *Lates calcarifer*, na exposição aguda e subcrônica ao cádmio. **Poluição Ambiental**, v. 121, n. 3, p. 307-320, 2003.

TKATCHEVA, V.; HYVÄRINEN, H.; KUKKONEN, J.; RYZHKOV, L. P.; & HOLOPAINEN, I. J. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, n. 3, p. 278-289, 2004.

TORRES, M. C.; DOMINGOS, F. X. V.; RABITTO, I. S.; RANDI, M. A. F.; & DE OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. The lack of information hides the impact of human activities in estuarine fish from Southern of Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2016.

VEIGA, M. L. D.; RODRIGUES, E. D. L.; PACHECO, F. J.; & RANZANI-PAIVA, M. J. T. Histopathologic changes in the kidney tissue of *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 (Characiformes, Prochilodontidae) induced by sublethal concentration of trichlorfon exposure. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 2, p. 171-175, 2002.

VERGILIO, C. S.; MOREIRA, R. V.; CARVALHO, C. E. V.; & MELO, E. J. Evolution of cadmium effects in the testis and sperm of the tropical fish *Gymnotus carapo*. **Tissue and Cell**, v. 47, n. 2, p. 132-139, 2015.

VERGÍLIO, C. S.; MOREIRA, R. V.; CARVALHO, C. E. V.; MELO, E. T. Effects of in vitro exposure to mercury on male gonads and sperm structure of the tropical fish *tuvira Gymnotus carapo* (L.). **J. Fish Dis.** 37, 543–551, 2014.

VIEIRA, C. E. D.; COSTA, P. G.; CALDAS, S. S.; TESSER, M. E.; RISSO, W. E.; ESCARRONE, A. L. V.; & DOS REIS MARTINEZ, C. B. An integrated approach in subtropical agro-ecosystems: Active biomonitoring, environmental contaminants, bioaccumulation, and multiple biomarkers in fish. **Science of the Total Environment**, v. 666, p. 508-524, 2019.

WESTER P.W. & CANTON J.H. Histopathological effects in *Poecilia reticulata* (guppy) exposed to methyl Mercury chloride. **Toxicology Pathology**, v.20, p;81–92, 1992.

WINKALER, E. U.; DAS GRAÇAS SILVA, A.; GALINDO, H. C. & DOS REIS MARTINEZ, C. B. Histological and physiological biomarkers to monitor the health of streams of fish Londrina, Paraná State. **Acta Scientiarum**, v. 3, n. 2, p. 507 514, 2001.

ZENI, T.; VICENTE, A. L.; CASTILHO-WESTPHAL, G. G.; HORODESKY, A.; MONTANHINI NETO, R.; & OSTRENSKY, A. Effects of iodized salt on the histopathology of the gills and liver in *Rhamdia quelen* and *Metynnis maculatus*. **Aquaculture research**, v. 48, n. 5, p. 2198-2208, 2017.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Diante do exposto, pode-se concluir que alterações morfológicas nas brânquias e nos testículos podem representar biomarcadores para avaliar exposições agudas e crônicas aos contaminantes presentes na água ou sedimento. Além disso, este é o primeiro estudo que avalia a histopatologia dos testículos em comunidades de peixes, após o rompimento da barragem de Fundão. Por isso, é de extrema importância que estudos complementares de biomonitoramento com outros biomarcadores reprodutivos sejam realizados para avaliar a real situação que esses animais se encontram na presença de metais na água, no solo e no sedimento.

As alterações histopatológicas mais frequentes nas brânquias foram: aneurisma, elevação do epitélio, hipertrofia, atrofia das lamelas secundárias, hiperplasia com fusão das lamelas secundárias e deslocamento da lamela primária. Já nos testículos foram: hipertrofia, vacuolizações citoplasmáticas, atrofia, alterações estruturais nos cistos, redução das células germinativas (atrofia) e necrose dos cistos germinativos e hiperplasia do tecido intersticial.

A foz do rio Doce apresenta características de impacto por efluentes industriais, devido a sua localização abranger grandes indústrias, isso ocasiona o sinergismo de diferentes substâncias encontradas no local, e, portanto, a resposta apresentada pelas lesões no animal não pode ser diretamente relacionada a nenhum metal específico. Entretanto, encontramos alterações histopatológicas que interferem diretamente na saúde dos peixes, comprometendo a função destes órgãos bem como a reprodução dos indivíduos.

Diante do exposto, os achados deste estudo poderão contribuir como subsídio para a tomada de decisões por parte dos órgãos competentes. Além disso, ressalta a importância e a necessidade de monitoramento nos locais atingidos pela lama proveniente do rompimento da barragem de Fundão, Mariana – MG, para aplicação de estratégias para recuperar esse ecossistema ou reduzir os riscos, visando maior controle sobre os metais que ameaçam a saúde e o meio ambiente.