

LESÕES HISTOPATOLÓGICAS COMO BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO AQUÁTICA EM *Oreochromis niloticus* (OSTEICHTHYES, CICHLIDAE) DE UMA ÁREA PROTEGIDA NO MARANHÃO

Suelen Rosana Sampaio de OLIVEIRA^{1*}, Débora Batista PINHEIRO-SOUSA², Zafira da Silva de ALMEIDA³, Jonatas da Silva CASTRO⁴ & Raimunda Nonata Fortes CARVALHO-NETA³

¹ Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

² Programa Darcy Ribeiro, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

³ Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

⁴ Programa Pós-Graduação de Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

*email: suelen_sampaio@hotmail.com

Recebido em 12/12/2015

Resumo - Vários estudos mostram que as alterações histopatológicas são excelentes ferramentas para avaliar e monitorar a saúde dos peixes e o nível de impacto nos ecossistemas aquáticos. Neste trabalho objetivou-se comparar lesões branquiais e hepáticas em tilápia (*Oreochromis niloticus*) de lagoas de cultivo e de rios de uma área protegida localizada em São Luís, Maranhão. Exemplos foram amostrados em uma lagoa de policultivo e no Rio Ambude com auxílio de tarrafas. A biometria dos peixes foi registrada em laboratório com o ictiômetro. Brânquias e fígados de cada espécime foram fixadas em formol a 10% e mantidas em álcool a 70% até a execução da histologia. Cortes de aproximadamente 5µm de espessura foram realizados e as lâminas obtidas coradas em hematoxilina e eosina, em que atribuiu-se uma escala de acordo com a severidade da lesão, segunda a análise por microscopia de luz. Os tipos de lesões histopatológicas identificados foram agrupados através da análise de Bray-Curtis, por similaridade das observações dos peixes obtidos dos dois sistemas aquáticos avaliados. As lesões histopatológicas indicaram que os peixes do rio e da lagoa de cultivo encontraram-se sob diferentes níveis de estresse ambiental. O órgão que apresentou lesões mais severas (irreversíveis) e de maior similaridade foi o fígado, indicando estresse crônico nos peixes da lagoa de cultivo. Portanto, a espécie analisada apresentou respostas biológicas que podem ser agrupadas de acordo com sua severidade e que podem ser usadas como biomarcadores importantes para o monitoramento dos ambientes aquáticos de áreas consideradas protegidas.

Palavras-Chave: Alterações teciduais, Histopatologia, Tilápia

HISTOPATHOLOGICAL LESIONS AS BIOMARKERS OF AQUATIC CONTAMINATION IN OREOCHROMIS NILOTICUS (PISCES, OSTEICHTHYES, CICHLIDAE) OF A PROTECTED AREA IN MARANHÃO

Abstract – Majority papers shows that histopathological changes are excellent for to evaluate and monitor fish health and the level of impact in aquatic ecosystems. In this study we aimed to compare the gill and liver changes in *Oreochromis niloticus* originating from cultivation ponds and rivers in the Protected Area located in São Luís, Maranhão. Fish were sampled in a polyculture pond and Ambude river with gill nets. Biometrics fish was recorded in the laboratory with ictiometer. Gill and liver samples of each specimen were fixed in 10% formalin and kept in 70% alcohol until the execution of histology. Sections of approximately 5µm were stained with hematoxylin and eosin, assigning a scale according to the severity of injury, according to the analysis by light microscopy. The identified types of histopathological lesions were grouped by Bray-Curtis analysis by similarity of fish observations obtained from the two evaluated aquatic systems. The histopathological lesions indicate that fish in the river and pond cultivation are under

different levels of environmental stress. The organ which showed more severe injury (irreversible) and greater similarity was the liver, indicating chronic stress in fish pond cultivation. Therefore, the specie analyzed showed biological responses can be used as important biomarkers for monitoring aquatic environments in the Protected Areas.

Keywords: Tissue changes, Histopathology, Nile tilapia

Trabalho financiado por Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão - FAPEMA.

INTRODUÇÃO

O monitoramento ambiental é um processo importante para a administração dos recursos naturais e para o diagnóstico de impactos causados por tensores de origem antrópica. Essa prerrogativa pode oferecer conhecimento e informações básicas para avaliar a presença de contaminantes químicos e seus impactos quanto às respostas fisiológicas dos organismos aquáticos, bem como compreender os sistemas aquáticos e auxiliando às políticas de manejo ambiental (BRITO et al, 2012).

Técnicas biológicas eficazes são utilizadas para avaliação das condições do ambiente, como por exemplo, os biomarcadores em peixes. Essas análises podem mostrar alterações biológicas provocadas por exposição do organismo aos compostos tóxicos presentes na água ou substrato, ou os efeitos destas exposições, desde níveis bioquímicos e teciduais até comportamentais (AMARAL, SOTO, CUNHA, MARIGÓMEZ & RODRIGUES, 2006). O uso de biomarcadores apresenta muitas vantagens para a avaliação da qualidade de um ambiente aquático e da sua ictiofauna. Entre tais, rapidez, baixo custo e facilidade na interpretação dos resultados (PINHEIRO-SOUSA, ALMEIDA & CARVALHO-NETA, 2013a). Alterações histopatológicas em brânquias e fígados de peixes são comumente utilizadas em metodologias de monitoramento ambiental porque são órgãos sensíveis às variações ambientais, respondendo de forma rápida e eficaz aos poluentes (JOHNSON et al., 1993).

Nesse contexto, a análises de similaridade das lesões são de extrema relevância para verificar quais são as alterações que têm algum tipo de relação entre si de acordo com o grau de severidade e com as características ambientais (COSTA et al. 2009). Para o Estado do Maranhão, poucos estudos utilizam esta nova abordagem através de índices ponderados e, na grande parte das investigações, limitam-se a utilização desta técnica para uso em espécies marinhas, fazendo-se necessária continuidade desse tipo de análise em organismos aquáticos (CARVALHO-NETA, TORRES & ABREU-SILVA, 2012, PINHEIRO-SOUSA, ALMEIDA & CARVALHO-NETA, 2013b).

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758, é um peixe dulcícola oriunda do continente Africano e que foi introduzida no Brasil ainda na década de 70 pelo Departamento Nacional de Obras contra à Seca (DNOCS). Considerada de bom desempenho zootécnico e por apresentar rusticidade, tal espécie pode ser cultivada em diferentes sistemas de criação (Meurer, Hayashi & Boscolo, 2003). É sugerida como um bom modelo biológico para avaliação de estresse causado por impactos ambientais de natureza antrópica (PEREIRA, SANTOS, CARVALHO

NETA, CRUZ, & CARVALHO-NETA, 2014). No Estado do Maranhão, a tilápia possui relevância econômica para as Áreas de Proteção Ambiental devido à sua utilização em empreendimentos de piscicultura, especialmente na região do Maracanã, próximo ao complexo industrial da capital maranhense. Em período chuvoso, muitas lagoas de piscicultura da região transbordam e as tilápias escapam para os rios que atravessam a região industrial da cidade de São Luís. Sob esse foco, não existem relatos que analisem comparativamente a saúde dessa espécie pescada nos rios e cultivada nas lagoas da APA do Maracanã, somente com outras espécies (CARVALHO-NETA, SOUSA, ALMEIDA, SANTOS & TCHAICKA, 2014; CASTRO, SILVA, FREITAS & CARVALHO-NETA, 2014).

O presente estudo comparou lesões branquiais e hepáticas através de um índice ecológico em *Oreochromis niloticus* oriundos de lagoas de cultivo e de rios de uma área protegida localizada em São Luís, Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

A captura dos peixes foi autorizada a partir de uma licença emitida pela Secretaria de Recursos Naturais e Meio Ambiente - SEMA (001/2012). O protocolo dessa pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (04/2012 CRMV-MA), cumprindo as orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA; <http://www.cobea.org.br>). Os peixes foram amostrados a partir de duas coletas em 2012 (setembro e outubro = período de estiagem) e duas coletas em 2013 (janeiro e fevereiro = período chuvoso), em dois locais distintos da APA do Maracanã. O primeiro local correspondeu ao criatório de peixes da Lagoa Serena (2° 36' 57" S, 44° 17' 58" W), considerado como uma área de referência; e o segundo local, referiu-se ao rio Ambude (2° 37' 57" S, 44° 17' 43" W), um ecossistema aquático da APA que têm sofrido impactos antrópicos de parques industriais próximos (Figura 1). Para cada região foram analisados os parâmetros abióticos da água, tais como: pH, concentração de oxigênio dissolvido, temperatura, amônia tóxica, turbidez e nitrito.

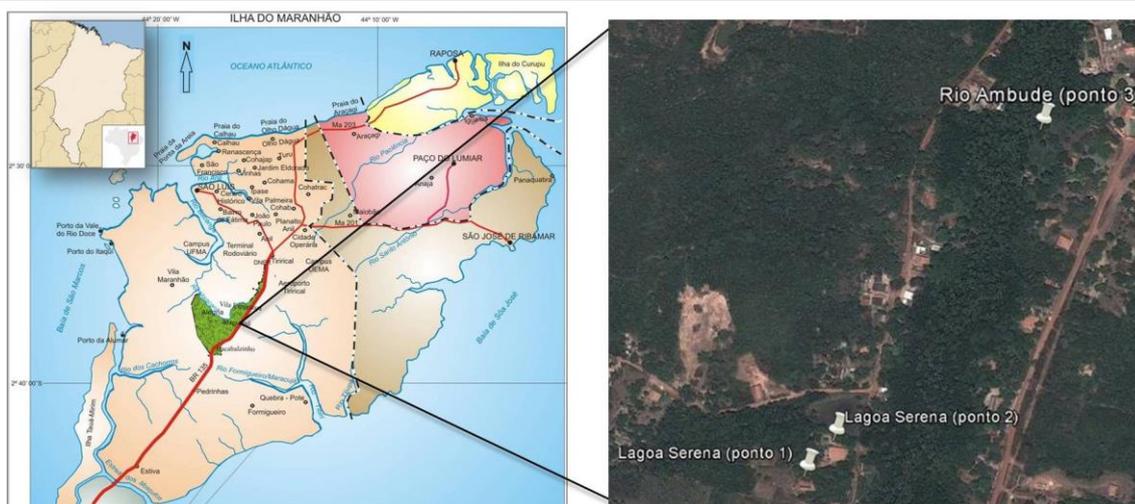


Figura 1. Mapa da Ilha de São Luís - MA e localização dos pontos de coleta na APA do Maracanã.

Os exemplares de *O. niloticus* foram capturados com tarrafas, colocados em caixas isotérmicas e transportados para o Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática da Universidade Estadual do Maranhão. Foram aferidos os seguintes dados biométricos: comprimento total (CT) e comprimento zoológico (CP) em cm, peso total (PT), peso das gônadas (PG) e o peso do fígado (PF) em g. Esses dados biométricos foram utilizados para o cálculo do índice gonadossomático (IGS) = $\frac{Wg.100}{Wt}$ e do índice hepatossomático (IHS) = $\frac{Wf.100}{Wt}$, conforme Vazoller (1996).

As brânquias do arco direito e a porção mediana do fígado de cada exemplar foram fixados em formol a 10% e mantidos em álcool 70% até o processamento histológico. Estes órgãos foram desidratados em uma série crescente de alcoóis, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os cortes transversais de 5 μ m de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). As alterações histológicas branquiais e hepáticas foram observadas e quantificadas em microscópio óptico.

As alterações histopatológicas observadas foram ordenadas, seguindo-se uma escala de severidade das lesões, conforme Bernet, Schmidt, Meier, Burkhardt-Holm & Wahli (1999). Nesta escala as lesões são classificadas em leves (facilmente reversíveis), moderadas (reversíveis com dificuldade) e severas (irreversíveis).

A análise de Bray-Curtis foi efetuada para verificar similaridades entre as lesões histopatológicas branquiais e hepáticas dos peixes dos dois locais analisados. Esses procedimentos foram executados como auxílio do software PRIMER versão 6.0 (CLARKE & WARWICK, 2001, CLARKE, SOMERFIELD & CHAPMAN, 2006).

RESULTADOS

O resultado para os dados abióticos aferidos na APA do Maracanã estão indicados na tabela 1. A temperatura da superfície da água e o pH no ambiente lântico (lagoa de cultivo) e lótico (rio) apresentaram-se constante nos dois pontos de coleta. No entanto, a turbidez, e o oxigênio dissolvido apresentaram amplas variações para as duas estações de coleta.

Tabela 1. Dados abióticos dos locais amostrados na APA do Maracanã, São Luís-MA, no período de setembro/2012 a fev/2013.

Parâmetros abióticos	Lagoa de Cultivo	Rio Ambude	Valores recomendados
OD (ppm)	11	9	> 5 mg/L O ₂ ^a
pH	7.5	7.3	6 – 9 ^a
Temp. (°C)	30	30	27 – 32°C ^b
Amônia (ppm)	0.5	0.25	3,7mg/L N (pH ≤ 7,5) ^a
Turbidez (cm)	23.5	17	Até 100 UNT ^a

^aResolução n. 357 de 17/03/2005 e Resolução n° 430 de 13/05/2011 do CONAMA.

^bKubitza & Kubitza (2000).

Os resultados da análise estatística dos dados biométricos de machos e fêmeas de *Oreochromis niloticus* da APA do Maracanã podem ser observados nas tabelas 2 e 3. Os valores representam a média e desvio padrão da população nos diferentes ambientes e épocas do ano (estiagem e chuvosa).

Tabela 2. Dados biométricos para machos e fêmeas de *Oreochromis niloticus* coletados no período de setembro/2012 a fevereiro/2013 na lagoa serena da APA do Maracanã, São Luís-MA.

	Média±desvio-padrão			
	Época de Estiagem		Época Chuvosa	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
CT(cm)	17.76±7	20.48±4.1	21.65±3.5	20.05±1.05
CP (cm)	13.68±5.4	14.22±2.3	17.1±2.9	15.8±0.9
PT (g)	148±136.5	118±38.9	196.9±93	146.7±27.4
IGS	0.77±0.17	1.13±1.5	0.52±0.08	2.5±0.008
IHS	0.82 ±0.64	0.49±0.5	0.72±0.56	1.06±0.15

Tabela 3. Dados biométricos para machos e fêmeas de *Oreochromis niloticus* coletados no período de setembro/2012 a fevereiro/2013 rio Ambude da APA do Maracanã, São Luís-MA.

	Média±desvio-padrão			
	Época de Estiagem		Época Chuvosa	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas

CT (cm)	27.36±7	25.48±4.2	28.65±3.3	22.22±1.35
CP (cm)	23.68±5.4	21.22±2.5	27.2±2.4	25.4±0.8
PT (g)	158±156.5	128±28.9	199.9±13	166.7±17.4
IGS	0.97±0.17	2.13±1.5	0.92±0.18	2.7±0.18
IHS	1.82 ±0.64	1.49±0.5	1.72±0.53	2.46±1.5

Foram encontrados vários tipos de lesões braquiais e hepáticas para espécimes de *O. niloticus* da região. Nas tilápias coletadas na lagoa de cultivo foram observadas as seguintes alterações branquiais: fusão das lamelas (39%), descolamento do epitélio (31%), vasodilatação do seio sanguíneo (9%), aneurisma (8%), proliferação das células mucosas (7%), desorganização das lamelas secundárias (4%) e hiperplasia (2%); as lesões hepáticas foram: hemossiderina (66%), parasitos (14%), necrose (10%), centro de melanomacrófagos (5%), esteatose (3%) e infiltração leucocitária (2%). Diferentemente destes dados, no Rio Ambude destacaram-se apenas as lesões branquiais do tipo: desorganização das lamelas secundárias (21%), fusão das lamelas (19%), descolamento do epitélio (19%), vasodilatação do seio sanguíneo (19%), aneurisma (13%) e proliferação das células mucosas (9%). O órgão que apresentou lesões mais severas (irreversíveis) foi o fígado, sendo que estas lesões ocorreram, principalmente, nos peixes da lagoa.

A análise de similaridade (Bray-Curtis) realizada para as lesões branquiais dos peixes mostrou agrupamentos diferenciados para os dois locais da APA do Maracanã (Figura 2). Na lagoa de cultivo, as lesões com 100% de similaridade foram vasodilatação do seio sanguíneo (VSS) e proliferação de células mucosas (CM). Já no Rio Ambude formaram-se dois grupos de lesões com 100% de similaridade, sendo o primeiro formado por vasodilatação do seio sanguíneo (VSS) e aneurisma (A) e o segundo formado por desorganização lamelar (DL) e hiperplasia (H).

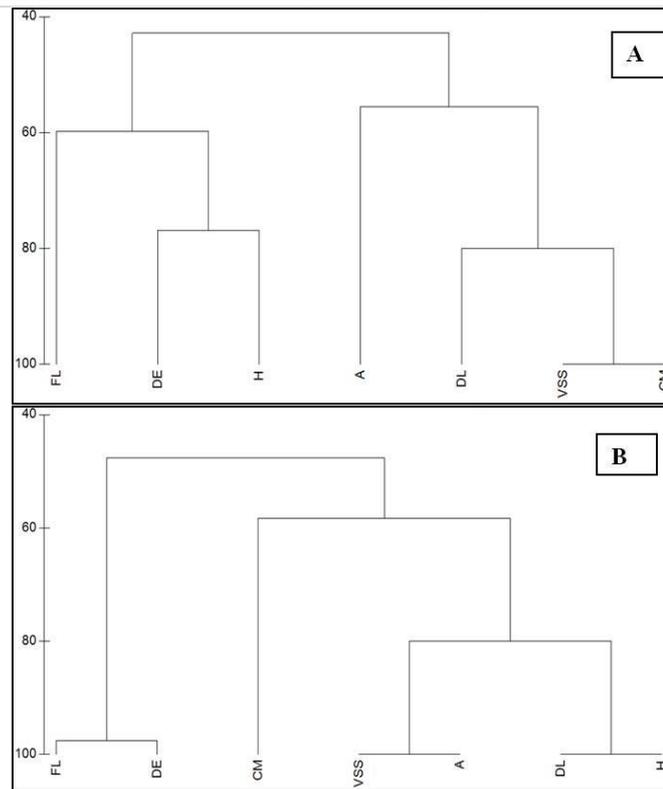


Figura 2. Cluster de similaridade (Bray-Curtis) para lesões branquiais em *O. niloticus* da Lagoa (A) e Rio Ambude (B), APA do Maracanã, São Luís-MA. FL = Fusão Lamelar; DE = Deslocamento Epitelial; H= Hiperplasia; A= Aneurisma; DL= Desorganização Lamelar; VSS= Vasodilatação do Seio Sanguíneo; CM= Células Mucosas.

Os agrupamentos das lesões hepáticas também foram diferenciados para as duas áreas amostradas (Figura 3). Nos peixes da lagoa observaram-se os seguintes agrupamentos de lesões: infiltração leucocitária (IL) e parasitos (P) com 100% de similaridade; congestão de vasos (CV) e necrose (N) com 78% de similaridade. Nos peixes do Rio Ambude observou-se congestão dos vasos (CV) e centros melanomacrófagos (CM) com 85% de similaridade; infiltração leucocitária (IL) e parasitos (P) com 90% de similaridade.

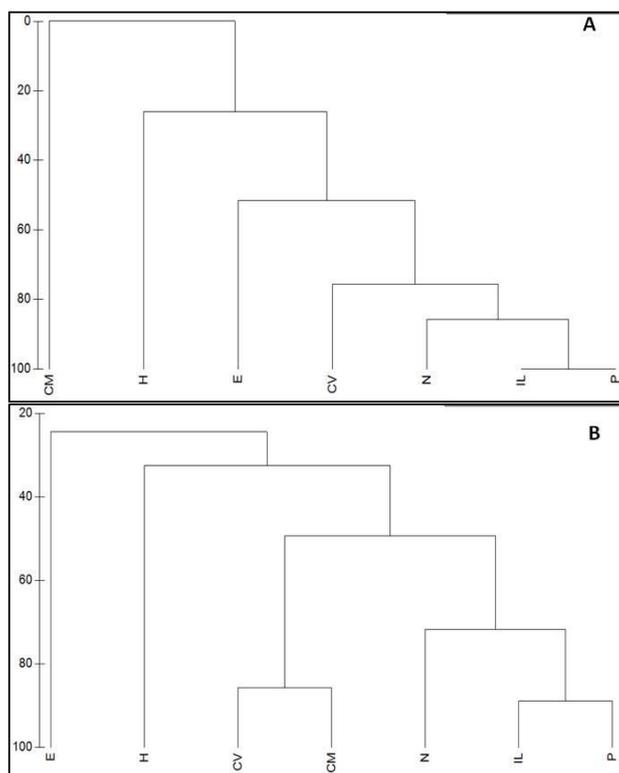


Figura 3. Cluster de similaridade (Bray-Curtis) para lesões hepáticas em *O. niloticus* da Lagoa (A) e Rio Ambude (B), APA do Maracanã, São Luís-MA. H= Hemossiderina; E= Esteatose; CV= Congestão dos Vasos; CM= Centros Melanomacrófagos; IL= Infiltração Leucocitária; P= Parasitos; N= Necrose.

DISCUSSÃO

As lesões histopatológicas em *O. niloticus* identificadas neste trabalho indicam que os peixes do rio e da lagoa de cultivo analisados na Unidade de Conservação de Uso Sustentável do Maracanã (São Luís-MA) encontram-se sob diferentes níveis de estresse. Além disso, o órgão que apresentou lesões mais severas (irreversíveis) foi o fígado, indicando estresse crônico nos peixes do rio.

Nesse contexto, a análise de Bray-Curtis mostrou que algumas lesões estão agrupadas, formando padrões histopatológicos distintos que estão em conformidade com as características das variáveis abióticas e da biometria dos peixes amostrados em duas regiões distintas da Unidade de Conservação (CARVALHO-NETA, SOUSA, ALMEIDA, SANTOS & TCHAICKA, 2014). As alterações branquiais do tipo vasodilatação do seio sanguíneo e proliferação de células mucosas formaram um grupo muito similar para a lagoa de cultivo. Já no Rio Ambude as lesões com alta similaridade foram: vasodilatação do seio sanguíneo, aneurisma, desorganização lamelar e hiperplasia. Esses dados indicam que na lagoa de cultivo as lesões são mais leves do que o rio

Ambude. Alterações como hiperplasia e descolamento do epitélio, podem ser causadas por diversos estressores, como amônia, fenóis, parasitas, microrganismos infecciosos e efluentes de esgotos (NOGUEIRA, CASTRO & SÁ, 2008). Garcia-Santos, Monteiro, Carrola & Fontainhas-Fernandes (2007) observaram que exemplares de *Oreochromis niloticus* expostos ao cádmio durante quatro dias, apresentavam diversas alterações, como o destacamento epitelial, a proliferação do epitélio filamentar e a fusão de lamelas. A fusão das lamelas, por exemplo, é uma reação biológica visando a proteção do epitélio lamelar contra a exposição direta de contaminantes (Nogueira, Castro & Sá, 2008). Nero et al. (2006), em estudo com *Perca flavescens* e *Carassius auratus* expostas a águas contaminadas por metais pesados e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), descreveram lesões equivalentes às citadas neste trabalho: necrose, fusão lamelar e proliferação celular entre as lamelas secundárias.

As lesões encontradas nas brânquias dos peixes do Rio Ambude apresentaram-se como leves e moderadas, podendo ser reversíveis, caso o elemento estressante seja neutralizado (BERNET, SCHMIDT, MEIER, BURKHARDT-HOLM & WAHLI, 1999). Já na lagoa de cultivo, as alterações mais severas podem ser interpretadas como respostas ao estresse ambiental ou exposição a contaminantes, apresentando-se como uma forma de defesa contra compostos tóxicos e agentes infecciosos, podendo afetar diretamente os mecanismos de respiração e osmorregulação do animal (WINKALER, SILVA, GALINDO & MARTINEZ, 2001, PINHEIRO-SOUSA, ALMEIDA & CARVALHO-NETA, 2013A).

A alteração hepática predominante neste estudo (hemossiderina) é causada pelo extravasamento de ferro no organismo ou pelo resultado do metabolismo dos eritrócitos, e o seu desenvolvimento acontece após a hemorragia de um órgão (NUNES, BEHLAU, NUNES & PAULINO, 2013). Os Centros de Melanomacrófagos são defesas naturais do peixe e acumulam pigmentos no interior de suas células, tal como a hemossiderina (BOMBONATO, ROCHEL, VICENTINI & VICENTINI, 2007). As alterações hepáticas observadas neste trabalho coincidem com os estudos de campo realizados por Silva et al. (2009) em peixes do gênero *Astyanax*; nestes organismos foram encontradas necrose, infiltração leucocitária e centros de melanomacrófagos. As lesões encontradas no tecido hepático normalmente são em decorrência da poluição da água por compostos orgânicos e representam contaminação crônica (SANTOS, CRUZ, PEREIRA, ALVES & MORAES, 2012). Assim, pode-se inferir que os peixes da lagoa de cultivo apresentam alterações hepáticas crônicas, devido, provavelmente, aos efluentes domésticos que chegam a este ambiente e/ou lixiviação de compostos químicos provenientes da agricultura realizada nas proximidades (CARVALHO-NETA 2010; CARVALHO-NETA et al., 2015).

Os dados abióticos analisados na água dos dois locais da APA do Maracanã indicam valores considerados dentro dos padrões normais para a área de estudo (água doce da classe 2 destinada à piscicultura), segundo a Resolução n° 357 de 17 de março de 2005 e Resolução n° 430 de 13 de maio 2011 do CONAMA. Os valores dos parâmetros abióticos mostraram-se maiores da Lagoa Serena, devido ao tipo de sistema de cultivo peixes, sendo um ambiente fechado, de pouca mobilidade da água e com concentração maior de compostos nitrogenados oriundos de rações e fertilizantes, diferentemente da dinâmica do Rio Ambude (CASTRO, SILVA, FREITAS & CARVALHO-NETA, 2014). De acordo com Kubitza & Kubitza (2000), tilápias são peixes tropicais que apresentam melhor desempenho em cultivos sob 27°C a 32°C; em temperaturas abaixo de 22°C, ocorre mortalidade destes peixes. Além deste parâmetro, o pH da água deve variar entre 6 a 8,5, sendo que valores acima de 10,5 e abaixo de 4,5 ocasionam um aumento na mortalidade das tilápias (KUBITZA & KUBITZA, 2000), bem como em alterações nos dados biométricos destes peixes.

Em relação aos dados biométricos, houve uma variação nos valores de comprimento total e peso total em ambos os pontos de coleta, no qual os espécimes machos apresentaram-se com maiores medidas, fato explicado devido aos processos reprodutivos da espécie e fatores genéticos (LUNDSTEDT, LUNDSTEDT & DIAS, 1997). Experimentos morfométricos realizados com tilápias de várias linhagens apontam para o maior desenvolvimento de exemplares machos, podendo atingir até o dobro da medida das fêmeas, considerando a mesma idade (MAINARDES-PINTO, VIRANI, PAIVA & TABATA, 1986, LUNDSTEDT, LUNDSTEDT & DIAS, 1997, RUTTEN, KOMEN & BOVENHUIS, 2005). Além disso, estudos mostram que o crescimento das tilápias varia consideravelmente, de acordo com a dieta e também com o tipo de sistema de cultivo empregado (MOREIRA, VARGAS, RIBEIRO, & ZIMMERMANN, 2001).

Em sumário, exemplares de tilápia, quando provenientes da lagoa de cultivo, apresentam saúde comprometida. Enquanto, aqueles oriundos do Rio Ambude mostram sinais de estresse crônico. Observações declaram que a localidade de obtenção dos peixes está sujeita à impactos potenciais de ordem industrial e urbano, possivelmente devido ao crescimento de moradias ao longo da extensão dos rios (CARVALHO-NETA, 2010; CARVALHO-NETA, TORRES & ABREU-SILVA, 2012), além de postular níveis mais elevados de metais pesados encontrados nos corpos hídricos do local de coleta (CARVALHO-NETA et al., 2015). Esse diagnóstico aponta para uma necessidade de manejo adequado para o cultivo de tilápia (*O. niloticus*), bem como medidas de conservação para ambos os ambientes aquáticos localizados na Área de Proteção Ambiental do Maracanã.

CONCLUSÕES

A comparação das lesões branquiais e hepáticas através de um índice ecológico (Bray-Curtis) em *Oreochromis niloticus* é capaz de diferenciar as lesões graves das lesões leves nos peixes de lagoas de cultivo e de rios na área de proteção investigada. Enquanto, as lesões branquiais e hepáticas observadas para exemplares oriundos de lagoa de cultivo e do Rio da Ambude do Maracanã indicaram níveis diferenciados de estresse. O maior grau de estresse da lesão é verificado para as amostras de órgãos coletados de tilápia na lagoa de policultivo do que para aquelas obtidas de peixes capturados no Rio Ambude, o que determina um manejo inadequado dessa espécie para esta última região.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, A.; SOTO, M.; CUNHA, R.; MARIGÓMEZ, I. & RODRIGUES, A. (2006). Bioavailability and cellular effects of metals on *Lumbricus terrestris* in habiting volcanic soils. *Environmental Pollution*, 142(1): 103-108.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P. & WAHLI, T. (1999). Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1): 25-34.
- BOMBONATO, M. T. S.; ROCHEL, S. S.; VICENTINI C. A. & VICENTINI, I. B. F. (2007). Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 29(1): 81-85.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (2005). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/>> Acesso em: 07 abr. 2013.
- BRITO, I. A.; FREIRE, C. A.; YAMAMOTO, F. Y.; ASSIS, H. C. S.; SOUZA-BASTOS, L. R.; CESTARI, M. M.; GHISI, N. C.; PRODOCIMO, V.; FILIPAK-NETO, F. & RIBEIRO C. A. O. (2012). Monitoring water quality in reservoirs for human supply through multi-biomarker

evaluation in tropical fish. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(2): 615-625.

CARVALHO-NETA, R. N. F. (2010). *Área de Proteção Ambiental do Maracanã: subsídios ao manejo e à Educação Ambiental*. São Luís: Café & Lápis/FAPEMA.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; MACÊDO SOBRINHO, I. C.; HORTON, E. Y.; ALMEIDA, Z. S.; TCHAICKA, L. & SOUSA, A. L. (2015). Genotoxic and hematological parameters in *Colossoma macropomum* (Pisces, Serrasalminidae) as biomarkers for environmental impact assessment in a protected area in northeastern Brazil. *Environmental science and pollution research international*, 22(20): 15994-6003.

CarVALHO-NETA, R. N. F.; SOUSA, D. B. P.; ALMEIDA, Z. S.; SANTOS, D. M. S. & TCHAICKA, L. (2014). A histopathological and comparison between catfish (Pisces, Ariidae) from harbor and a protected area, Brazil. *Aquatic Biosystems*, 10 (12): 1-15.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; TORRES, A. R. & ABREU-SILVA, A.L. (2012) Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos' Bay, Northeastern Brazil). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166(5): 1314–1327

CASTRO, J. S.; SILVA, J. S.; FREITAS, L. C. & CARVALHO-NETA, R.N.F. (2014). Biomarcadores histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma Unidade de Conservação de São Luís (MA). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66(6): 1687-1694.

CLARK, K. R. & WARWICK, R. M. (2001). *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth: PRIMER-E.

CLARK, K. R.; SOMERFIELD, P. J. & CHAPMAN, M. G. (2006). On resemblance measures for ecological studies, including taxonomic dissimilarity and a zero-adjusted Bray-Curtis coefficient for denuded assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 330: 55-80.

COSTA, P. M.; DINIZ, M. S.; CAEIRO, S.; LOBO, J.; MARTINS, M.; FERREIR, A. M.; VALE, C.; DELVALLS, T. A. & COSTA, M. H. (2009). Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: A weighted indices approach. *Aquatic Toxicology*, 92(3): 202–212.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J. & FONTAINHAS-FERNANDES, J. (2007). Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis Niloticus* causadas

pelo cádmio. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(2): 376-381.

JOHNSON, L. L.; STEHR, C. M.; OLSON, O. P.; MYERS, M. S.; PIERCE, S. M.; WIGREN, C. A.; MCCAIN, B. B. & VARANASI, U. (1993). Chemical contaminants and hepatic lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) from the northeast coast of the United States. *Environmental Science & Technology*, 27(13): 2759-2771.

KUBITZA, F. & KUBITZA, L. M. M. (2000). Tilápias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. *Panorama da Aquicultura*, 10(59): 44-53.

LUNDSTEDT, L. M.; LUNDSTEDT, J. H. & DIAS, A. N. (1997). Alterações morfométricas induzidas pela reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Revista Unimar, Maringá*, 19(2): 461-472.

MAINARDES-PINTO, C. S. R.; VIRANI, J. R.; PAIVA, P. & TABATA, Y. A. (1986). Estudo comparativo do crescimento de *Oreochromis* (*Osteichthyes*, *Cichlidae*) em cultivos monossexo: crescimento em comprimento e peso, rendimento em biomassa. *Boletim do Instituto de Pesca*, 13(2): 85-93.

MEURER, F., HAYASHI, C. & BOSCOLO, W. R. (2003). Influência do processamento da ração no desempenho e sobrevivência da tilápia-do-nilo durante a reversão sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(2): 262-267.

MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L., RIBEIRO, R.P. & ZIMMERMANN, S. (2001). *Fundamentos da Moderna Aquicultura*. Canoas: Ed ULBRA.

NERO, V.; FARWELL, A.; LISTER, A. VAN DER KRAAK, G.; LEE, L. E; VAN MEER, T., MACKINNON, M.D. & DIXON, D. G. (2006). Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63(3): 365–377.

NOGUEIRA, D. J.; CASTRO, S. C. & SÁ, O. R. (2008). Avaliação da qualidade da água no reservatório UHE Furnas - MG, utilizando as brânquias de *Pimelodus maculatus* (LACÈPÈDE, 1803) como biomarcador de poluição ambiental. *CIÊNCIA ET PRAXIS*, 1(1): 15-20.

NUNES, R. B.; BEHLAU, M.; NUNES, M. B. & PAULINO, J. G. (2013). Clinical diagnosis and

histological analysis of vocal nodules and polyps. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 79(4): 434-440.

PEREIRA, D. P.; SANTOS, D. M. S.; CARVALHO-NETA, A. V.; CRUZ, C. F. & CARVALHO-NETA, R. N. F. (2014). Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) como biomarcadores de poluição aquática na Laguna da Jansen, São Luís, MA (Brasil). *Journal of Biosciences*, 30(4): 1213-1221.

PINHEIRO-SOUSA, D. B.; ALMEIDA, Z. S. & CARVALHO-NETA, R. N. F. (2013a). Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(2): 369-376.

PINHEIRO-SOUSA, D. B.; ALMEIDA, Z. S. & CARVALHO-NETA, R. N. F. (2013b). Integrated analysis of two biomarkers in *Sciades herzbergii* (Ariidae, Siluriformes) to assess the environmental impact at São Marcos' Bay, Maranhão, Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 41(2): 305–312.

RUTTEN, M. J. M.; KOMEN, H. & BOVENHUIS, H. (2005). Longitudinal genetic analysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) body weight using a random regression model. *Aquaculture*, 246: 101-113.

SANTOS, D. M. S.; CRUZ, C. F.; PEREIRA, D. P.; ALVES, L. M. C. & MORAES, F. R. (2012). Microbiological water quality and gill histopathology of fish from fish farming in Itapecuru-Mirim County, Maranhão State. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 34(2): 199-205.

SILVA, C. A.; OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A.; KATSUMITI, A.; ARAÚJO, M. L.; ZANDONÁ, E. M.; COSTA-SILVA, G. P.; MASCHIO, J.; ROCHE, H. & ASSIS, H. C. S. (2009). Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2): 400-409.

VAZZOLER, A. E. M. (1996). *Biologia e reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem.

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