

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS**

**ASPECTOS FISIOECOLÓGICOS DE *Astyanax fasciatus* E *Pimelodus maculatus*
(TELEÓSTEOS) DO RESERVATÓRIO DA UHE DE FURNAS, MG:
AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DAS BRÂNQUIAS E VARIÁVEIS
HEMATOLÓGICAS.**

HELEN SADAUSKAS HENRIQUE

**SÃO CARLOS – SP
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS**

**ASPECTOS FISIOECOLÓGICOS DE *Astyanax fasciatus* E *Pimelodus maculatus*
(TELEÓSTEOS) DO RESERVATÓRIO DA UHE DE FURNAS, MG:
AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DAS BRÂNQUIAS E VARIÁVEIS
HEMATOLÓGICAS**

HELEN SADAUSKAS HENRIQUE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde- Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais, tendo como orientadora a Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes.

**SÃO CARLOS – SP
2008**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S124af

Sadauskas-Henrique, Helen.

Aspectos fisioecológicos de *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus* (teleósteos) do reservatório da UHE de Furnas, MG : avaliação morfofuncional das brânquias e variáveis hematológicas / Helen Sadauskas Henrique. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

134 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

1. Bioindicadores. 2. Poluição. 3. Teleósteos. 4. Usina Hidrelétrica de Furnas, Reservatório da (MG). I. Título.

CDD: 574.52632 (20^a)

Helen Sadauskas Henrique

**ASPECTOS FISIOECOLÓGICOS DE *Astyanax fasciatus* E *Pimelodus maculatus*
(TELÉOSTEOS) DO RESERVATÓRIO DE UHE DE FURNAS, MG: AVALIAÇÃO
MORFOFUNCIONAL DAS BRÂNQUIAS E VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 04 de julho de 2008

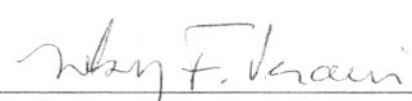
BANCA EXAMINADORA

Presidente



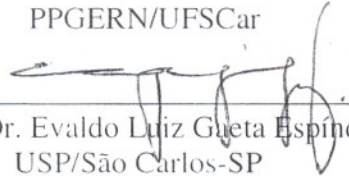
Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes
(Orientadora)

1º Examinador




Profa. Dra. Nelsy Fenerich Verani
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Prof. Dr. Evaldo Luiz Gueta Espíndola
USP/São Carlos-SP


Profa. Dra. Dalva Maria da Silva Matos
Coordenadora
PPGERN/UFSCar

Orientadora

Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois com suas bênçãos e presença em minha vida tenho mais fé e forças pra enfrentar todos os desafios.

Agradeço a minha família, minha base, no qual tenho todos os exemplos possíveis de força, luta, esperança, perseverança, amor, amizade, confiança. Pessoas que sempre terei ao meu lado independente das tempestades e dificuldades, se até hoje consegui conquistar meus objetivos e vontades foi, sem dúvida nenhuma, devido ao apoio e confiança deles.

À Profa. Dra. Marisa Narciso Fernandes, pelos ensinamentos, oportunidades, confiança e orientação.

Ao Programa de Pós – Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

Aos membros da banca examinadora Dra. Nelsy Fenerich Verani, Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espindola, Prof. Dr. Tadeu Francisco Rantin, Dr. Sandro Estevan Moron.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo apoio financeiro.

À Furnas Centrais Elétricas S. A. pelo imprescindível apoio financeiro e a possibilidade de realização deste trabalho.

À Estação de Hidrologia e Piscicultura de Furnas, Mg pelas análises físico-químicas da água e fornecimento de toda a infra-estrutura necessária para que as coletas fossem realizadas. Gostaria de agradecer em especial, ao diretor da Estação de Hidrologia e Piscicultura de Furnas Dirceu Marzulo, aos funcionários Maria das Neves Lima Ferreira, Marco Antônio Evangelista, Joaquim Rodrigues da Silva e Paulo Sérgio Formágio pelo apoio, conhecimento, amizade e ajuda inestimável durante a realização das coletas.

À Profa. Dra. Maria José Ranzani Paiva do Instituto de Pesca de São Paulo pela ajuda na identificação dos leucócitos das espécies estudadas.

Ao “Piau” pela ajuda inestimável e imprescindível durante as coletas.

À Ms. Marina Camargo pela ajuda nos cálculos dos índices histopatológicos.

Ao Prof. Dr. Alberto Carvalho Peret pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Departamento de Engenharia de Materiais (UFSCar) pela utilização do micrótomo durante certo período.

Aos amigos queridos do mestrado do PPG-ERN, Roberta, Jorge, Vinicius, Inessa, e em especial para o querido Hélio, pelos momentos de descontração e aprendizagem que passamos juntos durante as disciplinas.

À Marise, uma pessoa especial e iluminada, pelo apoio, ensinamentos, confiança e especialmente amizade desde minha iniciação científica.

Ao meu querido amigo Wallace que sempre me deu forças e me estimulou nos momentos de desespero. Muito obrigada por tudo, pela amizade, confiança e estímulo.

À Tayrine e Marcelo, não só pela ajuda imprescindível nas análises histológicas das brânquias, mas também pela amizade que ao longo desses anos se fortaleceu. Meus sinceros agradecimentos a vocês.

Ao pessoal do LZBC (Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa) da UFSCar: Wallace, Tayrine, Marcelo, Cleverson, Pamela, Fabiano, Cleoni, Thiago, Diana, Mariana, Juliana, Tiaguinho, Sr. Ângelo e “Dona” Vera por tudo que passamos juntos.

As meninas queridas, Di, Dani e Helô, muito obrigada pela convivência maravilhosa, pelas risadas, e descontração nos meus momentos de desespero. A amizade não depende do tempo, mas é fortalecida pelas atitudes.

Um agradecimento especial as pessoas mais queridas: Ale e Marcelo, Keli, Keli, Cintia, Ju, Rafa, Carol, Thazinha e Mel. Muito obrigada pelo interesse desprendido por vocês em minha vida acadêmica, muito obrigada por torcerem por mim e estarem sempre presente. Muito obrigada pela nossa amizade eterna!

Não poderia deixar de agradecer as meninas: Juliana, Gal, Chris, Patty, Mari e Lia pelos vários bons momentos que passamos juntas e pela amizade e compreensão.

Aos meninos: Demo, Rafa, Monjo, Feijó, Barba, Vitão e Tayson pela amizade e momentos de descontração.

Agradeço também a todas as pessoas que passaram por minha vida e deixaram saudades...

Meus sinceros agradecimentos a vocês.

*Em relação aquela que nos fornece todos os recursos, toda
beleza, toda paz....não existe perfeição maior.*

*Amar a natureza e tentar encontrar meios para que sua
destruição seja pelo menos mais que um “senso comum” já é uma
pequena prova de que você se importa!*

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. ESPÉCIES UTILIZADAS	2
2.1. <i>Astyanax fasciatus</i>	2
2.2. <i>Pimelodus maculatus</i>	3
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO I – CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DA UHE DE FURNAS (MG) NOS PERÍODOS SECO (JUNHO) E CHUVOSO (DEZEMBRO)	
1. RESUMO	6
2. INTRODUÇÃO	7
3. OBJETIVOS.	8
4. MATERIAL E MÉTODOS	8
4.1. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	8
4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA	9
4.2.1. FU10 – TURVO	10
4.2.2. FU20 – GUAPÉ	10
4.2.3. FU30 – BARRANCO ALTO	10
4.2.4. FU40 – FAMA	10
4.2.5. FU50 – PORTO FERNANDES	10
4.3. COLETA E ANÁLISE DA ÁGUA E SEDIMENTO	11
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	13
5. RESULTADOS	13

6. DISCUSSÃO	23
7. CONCLUSÕES	26
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

CAPÍTULO II – MORFOLOGIA BRANQUIAL

1. RESUMO	29
2. INTRODUÇÃO	30
3. OBJETIVOS.	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
5. RESULTADOS	35
6. DISCUSSÃO	68
7. CONCLUSÕES	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

CAPÍTULO III – INDICADORES HEMATOLÓGICOS

1. RESUMO	82
2. INTRODUÇÃO	83
3. MATERIAL E MÉTODOS	85
4. RESULTADOS	86
5. DISCUSSÃO	107
6. CONCLUSÕES	110
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

CAPÍTULO IV – RELAÇÃO PESO – COMPRIMENTO

1. RESUMO	115
2. INTRODUÇÃO	116
3. OBJETIVOS.	116
4. MATERIAL E MÉTODOS	117

5. RESULTADOS	119
6. DISCUSSÃO	129
7. CONCLUSÕES	131
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132
CONCLUSÕES FINAIS	134

Lista de Figuras

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. Lambari-de-rabo-vermelho, <i>Astyanax fasciatus</i> .	03
Figura 2. Mandi amarelo, <i>Pimelodus maculatus</i> .	03

CAPÍTULO I – CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DA UHE DE FURNAS

Figura 1. Mapa da região da UHE de Furnas – MG demonstrando os locais de coleta.	9
Figura 2. Locais de coleta de água, sedimento e peixes. A. Turvo (FU10); B. Guapé (FU20); C. Barranco Alto (FU30); D. Fama (FU40) e E. Porto Fernandes (FU50).	11
Figura 3. A. Multiparâmetro (YSI 600 XL) utilizado para a análise das variáveis físicas e químicas da água. B. Coletor de sedimento (draga de Eckman).	13
Figura 4. Dados físicos e químicos da água da UHE de Furnas – MG coletada em cinco diferentes locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes).	15
Figura 5. Dados físicos e químicos do sedimento da UHE de Furnas – MG coletados em cinco locais de coleta: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes).	16
Figura 6. Análise dos componentes principais baseada na matriz de correlação das variáveis físicas e químicas das amostras de água da UHE de Furnas – MG, durante Junho (A) e Dezembro (B) /2006. ● Locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) e ■ variáveis ambientais (T: temperatura; pH; C: condutividade; A: alcalinidade; DT: dureza total; DC: dureza cálcio; DM: dureza magnésio; NA: nitrogênio amoniacal; Nitrito; CL: cloreto).	19
Figura 7. Análise dos componentes principais baseada na matriz de correlação da análise dos organoclorados das amostras de água da UHE de Furnas – MG, durante Junho (A) e Dezembro (B). ● Locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) e ■ Organoclorados.	20
Figura 8. Análise dos componentes principais baseada na matriz de correlação da análise dos elementos traço das amostras de sedimento da UHE de Furnas – MG, durante Junho (A) e Dezembro (B). ● Locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) e ■ Elementos traço no sedimento.	21
Figura 9. Dendrogramas formados a partir da matriz de correlação de spearman de todas as variáveis ambientais analisadas (físicas e químicas; organoclorados e elementos traço) dos cinco locais de	22

coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) da UHE de Furnas nos meses de Junho (A) e Dezembro (B).

CAPÍTULO II – MORFOLOGIA BRANQUIAL

- Figura 1:** Comprimento dos filamentos dos quatro arcos branquiais das hemibrânquias anterior e posterior de *A. fasciatus* com 65g coletado na UHE de Furnas, MG. 36
- Figura 2:** Comprimento dos filamentos dos quatro arcos branquiais das hemibrânquias anterior e posterior de *P. maculatus* com 560g coletado na UHE de Furnas, MG. 37
- Figura 3. A.** Fotomicrografia do primeiro arco de *A. fasciatus* mostrando a distribuição dos filamentos (F) pelo arco branquial (Ab). **B.** Fotomicrografia do segundo arco de *A. fasciatus* mostrando em detalhes a disposição das lamelas (L) nos filamentos branquiais (F). **C.** Fotomicrografia dos filamentos (F) de *P. maculatus*. **D.** Fotomicrografia do terceiro arco de *P. maculatus* mostrando detalhes da distribuição das lamelas (L) no filamento (F). Barra = 1mm. 38
- Figura 4.** Histopatologias branquiais de *A. fasciatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Estrutura normal da brânquia; **B.** Hipertrofia do epitélio da lamela; **C.** Hiperplasia do epitélio e fusão lamelar; **D.** Congestão das lamelas (★); **E.** Aneurisma lamelar (★) e **F.** Aneurisma (★) e rompimento (seta). **L.** Lamela; **F.** Filamento. **C.** Cartilagem. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 µm. 40
- Figura 5.** Histopatologias branquiais de *A. fasciatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Descolamento epitelial; **B.** Proliferação das células de cloreto; **C.** Proliferação de células mucosas e **D.** Edema (★). **L.** Lamela; **F.** Filamento. **C.** Cartilagem. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 µm. 41
- Figura 6.** (A) Valores médios de alteração (VMA) e (B) índice de alteração histopatológica (IAH) das brânquias de *Astyanax fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos de meses de Junho e Dezembro de 2006. 43
- Figura 7.** Histopatologias branquiais de *P. maculatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Estrutura normal da brânquia; **B.** Hipertrofia do epitélio lamelar; **C.** Hiperplasia do epitélio e fusão lamelar; **D.** Congestão das lamelas (★); **E.** Aneurisma lamelar (★) e **F.** Aneurisma (★) e rompimento (seta). **L.** Lamela; **F.** Filamento. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 µm. 45
- Figura 8.** Histopatologias branquiais de *P. maculatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. 46

FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas em Junho e Dezembro/2006.	
A. Descolamento epitelial; B. Proliferação das células de cloreto; C. Proliferação de células mucosas e D. Edema (★). L. Lamela; F. Filamento. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 µm.	
Figura 9. (A) Valores médios de alteração (VMA) e (B) índice de alteração histopatológica (IAH) das brânquias de <i>Pimelodus maculatus</i> coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos de meses de Junho e Dezembro de 2006.	48
Figura 10. Imunohistoquímica para identificação de células cloreto nos filamentos e lamelas de <i>Astyanax fasciatus</i> coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. A. As setas indicam células cloreto fortemente coradas no filamento (CCFE); células cloreto coradas fracamente no filamento (CCFC); células cloreto fracamente coradas na lamela (CCLC) e células cloreto fortemente coradas na lamela (CCLE). B e C. Detalhe do núcleo e citoplasma das células de cloreto (setas). F. Filamento; L. Lamela. Cortes em 8µm. Barra = 20 µm.	51
Figura 11. Células cloreto/mm ³ fortemente ou fracamente imunocoradas de <i>A. fasciatus</i> coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro de 2006. A. Células cloreto no filamento fracamente corada (CCFC); célula cloreto no filamento fortemente coradas (CCFE) e B. célula cloreto na lamela fracamente corada (CCLC) e célula cloreto na lamela fortemente corada (CCLE). a; b; c; d; e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50 respectivamente. ★: indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 (p < 0,05).	52
Figura 12. Imunohistoquímica contra Na ⁺ /K ⁺ /ATPase para identificação de células cloreto nos filamentos e lamelas de <i>Pimelodus maculatus</i> coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. A. As setas indicam células cloreto fortemente coradas no filamento (CCFE); células cloreto coradas fracamente no filamento (CCFC); células cloreto fracamente coradas na lamela (CCLC) e células cloreto fortemente coradas na lamela (CCLE). B e C. Detalhe do núcleo e citoplasma das células de cloreto escuras (cabeça de seta) e claras (cabeça de seta redonda). F. Filamento; L. Lamela. Cortes em 8µm. Barra = 20 µm.	54
Figura 13. Células cloreto/mm ³ fortemente ou fracamente imunocoradas de <i>P. maculatus</i> coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro de 2006. A. Células cloreto no filamento fracamente imunocoradas (CCFC); célula cloreto no filamento fortemente imunocoradas (CCFE) e B. célula cloreto na lamela fracamente imunocoradas (CCLC) e célula cloreto na lamela fortemente imunocoradas (CCLE). a; b; c; d; e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50 respectivamente. ★: indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 (p < 0,05).	55
Figura 14. Células mucosas (CM) de <i>Astyanax fasciatus</i> coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco	58

Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 2,5 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos (AB pH 2,5 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (**C**); Filamento (**F**); Arteria aferente (**Af**) e Artéria eferente (Ef) . Bouin. Azul de alcian pH 2,5; azul de alcian pH 2,5 + PAS. Barra = 20 micras.

Figura 15. Células mucosas (CM) de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 1,0 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (**C**); Filamento (**F**). Bouin. Azul de alcian pH 1,0; azul de alcian pH 1,0 + PAS. Barra = 20 micras.

Figura 16. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). **A.** Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5). **B.** Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e **C.** Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos.

Figura 17. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). **A.** Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0). **B.** Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e **C.** Mucosubstâncias sulfatadas e hexoses e ácidos siálicos.

Figura 18. Células mucosas (CM) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 2,5 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e não sulfatadas (AB pH 2,5); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (**C**); Filamento (**F**); Arteria aferente (**Af**). Bouin. Azul de alcian pH 2,5; azul de alcian pH 2,5 + PAS. Barra = 20 micras.

Figura 19. Células mucosas (CM) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 1,0 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 +

..... 59

..... 60

..... 61

..... 64

..... 65

PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); C. CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (C); Filamento (F); Arteria aferente (Af). Bouin. Azul de alcian pH 1,0; azul de alcian pH 1,0 + PAS. Barra = 20 micras.

Figura 20. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). A. Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5). B. Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e C. Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos. 66

Figura 21. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). A. Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0). B. Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e C. Mucosubstâncias sulfatadas e hexoses e ácidos siálicos. 67

CAPÍTULO III – INDICADORES HEMATOLÓGICOS

Figura 1. Médias \pm erro padrão de **A.** hematócrito (Hct), **B.** número total de eritrócitos (RBC) e **C.** concentração de hemoglobina ([HB]) de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. 88
a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

Figura 2. Médias \pm erro padrão de **A.** volume corpuscular médio (VCM), **B.** hemoglobina corpuscular média (HCM) e **C.** concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. 89
a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre as coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.

Figura 3. Médias \pm erro padrão de **A.** hematócrito (Hct), **B.** número total de eritrócitos (RBC) e **C.** concentração de hemoglobina ([HB]) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. 93
a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

Figura 4. Médias \pm erro padrão de **A.** volume corpuscular médio (VCM), **B.** hemoglobina corpuscular média (HCM) e **C.** concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. 94
a, b, c, d, e: indicam

- diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.
- Figura 5.** Células sanguíneas de *A. fasciatus* coletados na UHE de Furnas- MG. **A-** Linfócito, **B-** Eosinófilo, **C-** Monócito, **D-** Neutrófilo, 96
E- Célula Granulocítica Especial e **F-** Aglomerado de trombócitos (◄).
- Figura 6.** Células sanguíneas de *Pimelodus maculatus* coletados na UHE de Furnas- MG. **A-** Linfócito, **B-** Eosinófilos, **C-** Monócito, **D-** 97
 Neutrófilo, **E-** Célula Granulocítica Especial e **F-** Trombócitos (◄).
- Figura 7.** Médias ± erro padrão de **A.** linfócitos, **B.** neutrófilos, **C.** monócitos, **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos e **G.** num. total de trombócitos de *A. fasciatus* coletados em cinco locais na UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre Junho e Dezembro/2006. 99
- Figura 8.** Médias ± erro padrão de **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos e **G.** num. total de trombócitos de *A. fasciatus* coletados em cinco locais na UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) em Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre Junho e Dezembro/2006. 100
- Figura 9.** Médias ± erro padrão de **G.** num. total de trombócitos de *A. fasciatus* coletados em cinco locais na UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) em Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre Junho e Dezembro/2006. 101
- Figura 10.** Médias ± erro padrão de **A.** linfócitos, **B.** neutrófilos, **C.** monócitos, **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos e **G.** num. total de trombócitos de *P. maculatus* coletados em cinco locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006. 104
- Figura 11.** Médias ± erro padrão de **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos de *P. maculatus* coletados em cinco locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006. 105
- Figura 12.** Médias ± erro padrão de **G.** num. total de trombócitos de *P. maculatus* coletados em cinco locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006. 106

CAPÍTULO IV – RELAÇÃO PESO – COMPRIMENTO

- Figura 1.** Curva e equação da relação peso – comprimento de ambos os sexos agrupados, para *A. fasciatus* coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro/2006. 119
- Figura 2.** (A) Variação dos valores médios do fator de condição (K) e (B) do fator de condição relativo (Kn) para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* coletados nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho (◆) e Dezembro (■)/2006. (—) valor centralizador. 121
- Figura 3.** Variação dos valores de Kn (A) e K (B) para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* coletas nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. 122
- Figura 4.** Curva e equação da relação peso – comprimento de ambos os sexos agrupados, para *A. fasciatus* coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro/2006. 124
- Figura 5.** (A) Variação dos valores médios do fator de condição (K) e (B) do fator de condição relativo (Kn) para fêmeas e machos de *Pimelodus maculatus* coletados nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho (◆) e Dezembro (■)/2006. (—) valor centralizador. 126
- Figura 6.** Variação dos valores de Kn (A) e K (B) para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* coletas nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. 127

Lista de Tabelas

CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DA UHE DE FURNAS (MG) NOS PERÍODOS SECO (JUNHO) E CHUVOSO (DEZEMBRO)

Tabela 1. Concentração de pesticidas (organoclorados) e de elementos-traço na água do reservatório da UHE de Furnas – MG em Junho e Dezembro de 2006.* representa valores acima do recomendado pela resolução CONAMA 357/2005 para águas classe 2.	17
Tabela II. Concentração de elementos-traço água do reservatório da UHE de Furnas – MG em Junho e Dezembro de 2006.* representa valores acima do recomendado pela resolução CONAMA 357/2005 para águas classe 2.	18
Tabela III. Valores das concentrações de elementos-traço no sedimento do reservatório da UHE de Furnas – MG em Junho e Dezembro de 2006. * representa valores acima do recomendado pela resolução CONAMA 344/2004 para sedimento nível um.	18

CAPÍTULO II – MORFOLOGIA BRANQUIAL

Tabela I. Tabela dos tipos de histopatologias.	33
Tabela II. Massa corpórea(g), comprimento (cm), volume dos arcos branquiais, número e comprimento médio e total dos filamentos branquiais de <i>Astyanax fasciatus</i> e <i>Pimelodus maculatus</i> coletados na UHE de Furnas, Mg.	35
Tabela III. Frequência de alterações encontradas nas brânquias de <i>A. fasciatus</i> coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Junho de 2006.	42
Tabela IV. Frequência de alterações encontradas nas brânquias de <i>A. fasciatus</i> coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Dezembro de 2006.	42
Tabela V. Frequência de alterações encontradas nas brânquias de <i>P. maculatus</i> coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Junho de 2006.	47
Tabela VI. Frequência de alterações encontradas nas brânquias de <i>P. maculatus</i> coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Dezembro de 2006.	47
Tabela VII. Valores médios (média ± erro) de CC (mm ³) no filamento (CCFC) claras e (CCFE) escuras e lamelas (CCLC) claras e (CCLE) escuras das brânquias de <i>A. fasciatus</i> coletados em Junho (A) e Dezembro (B) de 2006 (n = 5 em cada local de coleta). a: indica diferença em relação a FU10; b: indica diferença em relação a FU20; c: indica diferença em relação a FU30; d: indica diferença em relação a	49

FU40; e: indica diferença em relação a FU50;★: indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 ($p < 0,05$).

Tabela VIII. Valores médios (média \pm erro) de CC/mm³ no filamento (CCFC) fracamente imunocoradas e (CCFE) fortemente imunocoradas e lamelas (CCLC) fracamente imunocoradas e (CCLE) fortemente imunocoradas das brânquias de *P. maculatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) de 2006 (n = 5 em cada local de coleta). a: indica 53
diferença em relação a FU10; b: indica diferença em relação a FU20; c: indica diferença em relação a FU30; d: indica diferença em relação a FU40; e: indica diferença em relação a FU50;★: indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 ($p < 0,05$).

Tabela IX. Células mucosas por mm³ das brânquias de *Astyanax fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos da UHE de Furnas (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes). **A.** Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5); mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 57
2,5 + PAS) e mucosubstâncias contendo hexoses e ácidos siálicos. **B.** Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS) e mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS).

Tabela X. Células mucosas por mm³ das brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos da UHE de Furnas (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes). **A.** Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5); mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 63
2,5 + PAS) e mucosubstâncias contendo hexoses e ácidos siálicos. **B.** Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS) e mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS).

CAPÍTULO III – INDICADORES HEMATOLÓGICOS

Tabela I. Valores médios (média \pm erro) do hematócrito (Hct), número total de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina ([HB]) e dos índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *A. fasciatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B)/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006. 87

Tabela II. Correlações parciais encontradas entre as variáveis ambientais e biológicas de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006. Hct: hematócrito. VCM: Volume corpuscular médio. 90

Tabela III. Valores médios (média \pm erro) do hematócrito (Hct), número total de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina ([HB]) e dos índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina 92

corpúscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpúscular média (CHCM) de *P. maculatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) /2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.

Tabela IV. Valores médios (média ± erro) da porcentagem de linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, células granulocítica especial e o número total de leucócitos e trombócitos em <i>Astyanax fasciatus</i> coletados em Junho (A) e Dezembro (B) /2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.	98
Tabela V. Correlações parciais encontradas entre as variáveis ambientais e biológicas de <i>A. fasciatus</i> coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B)/2006.	101
Tabela VI. Valores médios (média ± erro) da porcentagem de linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, células granulocítica especial e o número total de leucócitos e trombócitos em <i>Pimelodus maculatus</i> coletados em Junho (A) e Dezembro (B) /2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.	103
Tabela VII. Correlações parciais encontradas entre as variáveis ambientais e biológicas de <i>P. maculatus</i> coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006.	106

CAPÍTULO IV – RELAÇÃO PESO – COMPRIMENTO

Tabela I. Teste “t” de student para a comparação dos valores de Kn (fator de condição relativo) estimados para fêmeas e machos de <i>Astyanax fasciatus</i> com o valor centralizador (Kn = 1,0) em relação aos locais de coleta: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Barranco Alto) durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006.	123
Tabela II. Teste “t” de student para a comparação dos valores de Kn (fator de condição relativo) estimados para fêmeas e machos de <i>Pimelodus maculatus</i> com o valor centralizador (Kn = 1,0) em relação aos locais de coleta: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Barranco Alto) durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006.	128

RESUMO GERAL

SADAUSKAS-HENRIQUE, H. (2008) *Aspectos Fisiocológicos de Astyanax fasciatus e Pimelodus maculatus (Teleósteos) do Reservatório da UHE de Furnas, MG: avaliação morfofuncional das brânquias e variáveis hematológicas.*

O presente estudo teve como objetivo avaliar a estrutura morfofuncional das brânquias e as variáveis hematológicas de exemplares de duas espécies de peixes, *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus*, coletados na UHE de Furnas, MG e a possível interferência da qualidade da água nos parâmetros estudados. Peixes, amostras de água e de sedimento foram coletados em cinco pontos de amostragem na UHE de Furnas (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. Foram realizadas análises físicas e químicas da água, determinar a concentração de organoclorados e a presença de elementos-traço. Amostras de brânquias e de sangue foram retiradas para verificar possíveis interações entre organoclorados na água e elementos-traço no sedimento e a presença de histopatologias e diferenciação de células cloreto e mucosa e diferenças nas variáveis hematológicas (série vermelha e série branca) dos peixes coletados nos diferentes locais. Hipertrofia e proliferação de células pavimentosas, fusão lamelar, descolamento do epitélio lamelar, edema e proliferação de células cloreto foram as histopatologias mais encontradas nas brânquias das duas espécies. O IAH (Índice de Alterações Histopatológicas) apontou lesões que comprometem o funcionamento normal do órgão em indivíduos de *A. fasciatus* coletados em Junho. A presença de elementos-traço, como o cobre, parece promover alteração na série vermelha de *A. fasciatus* e *P. maculatus* coletados durante os dois meses. Organoclorados como o endosulfan e metolacloro e elementos – traço como cobre e cromo parecem causar uma estimulação do sistema imunológico das duas espécies, especialmente nos locais FU10, FU20 e FU30. Alterações no K e Kn dos animais aparentemente foram influenciados pela presença de cromo no sedimento, especialmente no local FU30 durante os dois meses. O conjunto de todas as alterações observadas indica que a qualidade da água nos diferentes locais durante os dois meses de coleta podem promover alterações nos organismos a fim de manter a homeostasia interna.

Palavras – chave: Teleósteos; Reservatório da UHE de Furnas; variáveis hematológicas, histopatologia branquial; organoclorados; elementos – traço.

ABSTRACT

SADAUSKAS-HENRIQUE, H. (2008) Ecophysiological aspects of Astyanax fasciatus and Pimelodus maculatus from Furnas dam (MG): morpho-functional evaluation of the gills and hematological variables.

The aim of this study was to evaluate the morphofunctional structure of the gills and the hematological variables of *Astyanax fasciatus* and *Pimelodus maculatus* living on Furnas Dam Reservoir (Minas Gerais State, Brazil) and analyses the influence of water quality on these parameters. The fishes were collected in five sites (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama and FU50: Porto Fernandes) during June and December/2006. Physico-chemical variables and organochlorides content of the water and heavy metals on the sediment were performed. Gills and blood samples were taken for check inquire of the composition of the water on the presence of histopathologys and differentiation of chloride and mucous cells and differences on the hematological variables of the fishes collected on the different sites. Hyperplasia and hypertrophy of the respiratory epithelium, lamellar fusion, epithelial lifting, oedema and chloride cells proliferation were the most common histopathological damages observed on the gills for both species. The histopathological alteration index of the gills indicates some degree of lesions that engage the normal function of the organ in *A. fasciatus* collected in June. Heavy metals, as copper seems to promote alterations on the red blood cells for both fishes during the sampling. While, some pollutants as endosulfan, metolachloride, copper and chromium seems to causes a stimulation of the immune system of the fishes; this effect was most common on the fishes collected in the sites: FU10, FU20 and FU30. The condition factor (K and Kn) of the fishes has been affected by the presence of chromium on the sediment, especially in the site FU30 during the two months. Over all, these results indicates that the water quality in June and December (2006) of Furnas Dam reservoir could promote physiological and morphological alterations on the gills fishes to maintain the homeostase.

Key words: Teleostes, Furnas Dam, hematological variables, gills histopathology, organochlorides, heavy metals.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da expansão demográfica e industrial implica na necessidade crescente do uso dos recursos naturais, uma vez que o processo de urbanização decorrente acarreta sérios riscos ao meio ambiente.

Entre os recursos naturais, a água é aquele que pode ser alterado com o aumento da população e da industrialização. Assim, rios e reservatórios são atingidos pela contaminação crescente, resultante principalmente das atividades antrópicas (Mason, 1996).

A poluição aquática pode ser definida como a adição de qualquer substância que altere a composição física e química da água (Heath, 1995). A poluição pode ser gerada por efluentes domésticos e industriais, além de carga difusa de origem urbana e agrícola e está comumente relacionada com descargas de efluentes que são, em sua maioria, misturas de compostos tóxicos de vários tipos, partículas em suspensão e matéria orgânica particulada ou em decomposição.

A qualidade da água também é resultante das condições naturais da bacia hidrográfica, além das atividades humanas nela desenvolvidas (Condini, 1998). Como condições naturais entende-se cobertura vegetal e estrutura do solo; com a retirada das matas nativas o solo fica exposto a ação de ventos e chuvas, além de ficarem mais permeáveis, facilitando o escoamento superficial das águas, considera-se, ainda, o lixiviamento do solo pelos produtos aplicados, que pode alterar as características da água subterrânea, além das possíveis alterações na estrutura da biota terrestre.

O reservatório da UHE de Furnas possui em seu entorno uso e ocupação diferenciados da paisagem, dentre elas, pode-se citar a agricultura, pastagens e centros urbanos.

Estudos vêm sendo realizados na tentativa de avaliar a influência de atividades de origem humana na qualidade da água, e para tanto, organismos aquáticos são muito utilizados para alcançar estes objetivos (Luebke et al., 1997; Tkatcheva et al., 2004; Facey et al, 2005). Dentre tantos, os peixes vêm sendo muito utilizados quando se trata da avaliação da qualidade da água. Segundo o conhecimento popular, rios “saudáveis” são rios que possuem peixes. Dentro do contexto científico, sabe-se que este fato é dependente de vários fatores, como o tempo de contaminação do ambiente (crônica ou aguda) e a concentração das substâncias presentes, além da sensibilidade das espécies estudadas a certos tipos de contaminantes.

A fisioecologia avalia os tipos de respostas fisiológicas, no qual, em seu contexto, estão envolvidas respostas bioquímicas e morfológicas que os organismos possuem em função da adaptação a condições adversas encontradas no meio aquático. Biomarcadores podem ser definidos como respostas biológicas que podem estar relacionadas à exposição ou ao efeito tóxico de um contaminante ambiental (Peakall, 1994). O uso de parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos como bioindicadores tem apresentado bons resultados na avaliação do efeito dos poluentes sobre os peixes (Winkaler et al., 2001) e, juntamente com análises físicas e químicas da água e do sedimento, podem ser úteis em programas de monitoramento ambiental (Sanches – Hernandez et al., 1998).

Estes biomarcadores podem ser considerados respostas primárias e secundárias ao estresse sofrido pelos organismos. O contato dos peixes com substâncias tóxicas leva a uma seqüência de respostas fisiológicas e morfológicas que afetam o funcionamento adequado do organismo e interfere na homeostasia interna de cada indivíduo, podendo ocasionar prejuízos nos processos naturais como a alimentação, recrutamento e comportamento, consideradas respostas terciárias a esse estresse.

Portanto, como apresentado acima, uma análise das respostas (fisiológicas e morfológicas) dos peixes em relação à qualidade da água e sedimento é de grande importância quando uma avaliação da qualidade do meio ambiente é requerida.

2. ESPÉCIES UTILIZADAS

2.1. *Astyanax fasciatus*

Astyanax fasciatus, lambarizão ou guaçu é também conhecido como lambari-de-rabo-vermelho (Figura 1). Esta espécie ocorre desde o Sul do México até o rio da Prata, na Argentina. Quando adulto, alcança o comprimento de 8 a 10 centímetros, podendo chegar a 15 centímetros. Pertencem à subfamília Tetragonopterinae, que são estritamente de água doce e a família Characidae são os que apresentam o maior número de espécies, sendo o gênero *Astyanax* o mais comum no estado de São Paulo (Nomura, 1975). Muitos caracídeos são diurnos, com boa acuidade visual e alimentam-se oportunisticamente (Bennemann et al., 2000; Lowe-Mc Connell, 1999). Os peixes do gênero *Astyanax* forrageiam em todos os níveis tróficos e exibem uma habilidade em mudar de presa como resposta às mudanças ambientais (Lobón-Cerviá e Bennemann, 2000). São considerados onívoros e podem se alimentar tanto de larvas como de insetos terrestres e aquáticos, além de frutos. No presente estudo, a espécie foi escolhida por possuir hábito pelágico, e ser encontrado em todos os locais de coleta.



Figura 1. Lambari-de-rabo-vermelho, *Astyanax fasciatus*.

2.2. *Pimelodus maculatus*

Pimelodus maculatus conhecido como mandi-amarelo (Figura 2), é um Siluriforme amplamente distribuído nas bacias dos rios sul-americanos (Fowler, 1951), tem porte médio, medindo de 40-50 cm; e com uma massa corpórea de 1,5-2,0 kg (Ihering e Wright, 1935), sendo importante para a alimentação da população ribeirinha e de interesse para pesca esportiva e profissional (Sato, 1988). A espécie alimenta-se principalmente no fundo dos rios, tem dieta variada constituída de larvas de insetos, algas, moluscos, peixes e fragmentos de vegetais (Bennemann et al., 2000). No presente estudo a espécie foi escolhida por possuir hábitos bentônicos, e ser encontrada em todos os locais de coleta.



Figura 2. Mandi amarelo, *Pimelodus maculatus*.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bennemann, S.T., Shibatta, O.A., Garavello, J.C. *Peixes do rio Tibagi: uma abordagem ecológica*. Ed. UEL, 62 pp., 2000.
- Condini, P. *Manuais ambientais: A qualidade das águas*. 2 ed. Secretaria do Meio Ambiente, 31 pp., 1998.
- Facey, D. E.; Blazer, V.S.; Gasper, M.M.; Turcotte, C.L. Using Fish Biomarkers to Monitor Improvement in Environmental Quality. *J. Aquat. Anim. Health*, 17: 263-266, 2005.
- Fowler, H. W. Os peixes de água doce do Brasil. *Archos Zool.*, 6: 405-625, 1951.
- Heath, A.G. *Water Pollution and Fish Physiology* 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 384 pp., 1995.
- Ihering, R. V. & Wright, S. Fisheries investigations in Northeast Brazil. *Transact. Amer. Fish Soc.*, 35: 267-271, 1935.
- Lobón-Cerviá, J.; Bennemann, S. Temporal trophic shifts and feeding diversity in two sympatric, neotropical, omnivorous fishes: *Astyanax bimaculatus* and *Pimelodus maculatus* in rio Tibagi (PR). *Arch. Hydrobiol.*, 149(2): 285-306, 2000.
- Lowe-Mc Connell, R.H. *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. Editora da Universidade de São Paulo, 584 pp., 1999.
- Luebke, R.W.; Hodson, P.V.; Faisal, M.; Ross, P.; Grasman, K.A.; Zelikoff, J. Aquatic Pollution-Induced Immunotoxicity in Wildlife Species. *Fundam. Applied Toxicol.*, 37: 1-15, 1997.
- Mason, C.F. *Biology of freshwater pollution*, 3 ed., Benjamin Cummings Publisher, 356 pp., 1996.
- Nomura, H. Fecundidade, maturação sexual e índice gônado-somático de lambaris do gênero *Astyanax* Baird e Girard, 1854 (Osteichthyes, Characidae), relacionados com fatores ambientais. *Rev. Brasil. Biol.*, 35(4): 775-798, 1975.

- Peakall, D. B. Biomarkers: the way forward in environmental assessment. *Toxicol. and Ecotoxicol. News*, [s.n.], 50-60, 1994.
- Sanchez-Hernandes, J. C.; Fossi, M. C.; Feonzio, C.; Focardi, S. Use of biochemical biomarkers as a screening tool to focus the chemical monitoring of organic pollutants in the Biobio river basin (Chile). *Chemospher*, 37: 669-710, 1998.
- Sato, Y.; Godinho, H.P. Adesividade de ovos e tipo de desova dos peixes de Três Marias, MG. In: *Encontro Anual De Aquicultura De Minas Gerais*. Associação Mineira de Aquicultura, 5: 102-103, 1988.
- Tkatcheva, V.; Hyvarinen, H.; Kukkonen, J.; Ryzhkov, L. P.; Holopainen, J. Toxic Effects of Mining Effluents on Fish Gills in a Sbartic lake System in NW Russia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 57: 278-289, 2004.
- Winkaler, E. U.; Silva, A. G.; Galindo, H. C.; Martinez, C. B. R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina (PR). *Acta Scientiarum.*, [s.n.], 507-514, 2001.

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DA UHE DE FURNAS (MG) NOS PERÍODOS SECO (JUNHO) E CHUVOSO (DEZEMBRO)

ÍNDICE

1. RESUMO.....	6
2. INTRODUÇÃO.....	7
3. OBJETIVOS.....	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4.1. USINA HIDROELÉTRICA DE FURNAS – MG.....	8
4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA.....	9
4.2.1. FU10 – TURVO.....	10
4.2.2. FU20 – GUAPÉ.....	10
4.2.3. FU30 – BARRANCO ALTO.....	10
4.2.4. FU40 – FAMA.....	10
4.2.5. FU50 – PORTO FERNANDES.....	10
4.3. ANÁLISE DA ÁGUA E SEDIMENTO.....	11
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	13
5. RESULTADOS.....	13
6. DISCUSSÃO.....	23
7. CONCLUSÕES.....	26
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

1. RESUMO

Pela análise da água da UHE de Furnas nos cinco locais escolhidos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro de 2006, verificou-se a presença de organoclorados e elementos-traço. Os elementos encontrados acima das concentrações recomendadas pela resolução CONAMA 357/2005, para águas classe 2, foram Aldrin, Dieldrin, Endosulfan, Metolacloro, epóxido e Heptacloro nos locais FU20 (Junho e Dezembro), FU30 e FU50 (Junho) e somente Heptacloro em FU30 (Dezembro) e Aldrin e Dieldrin e Metolacloro em FU50 em Junho. Cobre e cromo foram encontrados em concentrações acima do estabelecido pela resolução CONAMA 344/2004 (sedimento nível 1) no sedimento dos locais FU10 e FU30 em Junho e Dezembro. Análises de PCA e de CAH foram aplicadas para a avaliação da semelhança dos locais de coleta em função de suas composições físicas, químicas e de xenobióticos. Os locais de coleta FU20, FU30, FU40 e FU50 foram os mais contaminados por organoclorados e elementos-traço e o local FU10 somente por cobre. A presença destas substâncias na água e sedimento pode estar relacionada com o tipo de ocupação do entorno dos locais de coleta, como por exemplo, a presença de plantações de café e milho e áreas de pastagens.

Palavras-chave: UHE de Furnas; organoclorados; elementos-traço; variáveis físicas e químicas.

2. INTRODUÇÃO

A construção de reservatórios tem sido uns dos fatores de grande contribuição para a modificação dos ecossistemas naturais. Um dos principais objetivos da construção de reservatórios se destina as hidrelétricas que, hoje, gera cerca de 95% da energia no Brasil (Eletrobrás, 1991), mas além da hidroeletricidade os mesmos possuem outras inúmeras finalidades como: reserva de água para irrigação, reserva de água potável, produção de biomassa (cultivo de peixes e pesca intensiva), transporte (hidrovias), recreação e turismo.

Os efeitos negativos da construção de reservatórios são relativamente bem documentados para muitas bacias hidrográficas. Estes impactos estão relacionados ao tamanho, volume, tempo de retenção, localização geográfica e localização no continuum do rio. Os principais impactos detectados são: interferência na migração dos peixes; mudanças hidrológicas a jusante da represa; alterações na fauna do rio; interferência no transporte de sedimentos; perda de biodiversidade (terrestre e aquática); substituição da vegetação nativa pela agricultura e presença de substâncias tóxicas no ambiente aquático resultantes do tipo do uso e ocupação do entorno da bacia hidrográfica (Straskraba e Tundisi, 1993).

Os poluentes que entram no sistema aquático são provenientes da atmosfera e das atividades desenvolvidas na bacia. As emissões de contaminantes provenientes da bacia de drenagem são provocadas por fontes industriais ou urbanas ou por fontes mais difusas, como água de enxurradas, drenagem do solo, água subterrânea e tributários. Os efluentes industriais são os maiores responsáveis pela introdução de substâncias tóxicas no ambiente, uma vez que são uma mistura complexa de compostos químicos das mais variadas fórmulas (Laws, 1992).

Os poluentes ou elementos tóxicos podem estar na forma de metais, não metais, metalóides e os compostos orgânicos (Rand et. al., 1995). Os poluentes orgânicos são exemplificados pelos pesticidas, herbicidas, resinas, solventes e resíduos resultantes do processamento de outros compostos orgânicos e uma série infindável de outros compostos. Eles dependem de sua estabilidade molecular e dos processos de absorção e volatilização para entrar no ambiente e causar efeitos aos organismos. Entre os fatores ambientais que podem influenciar estão a oxidação, a redução, a hidrólise e a fotólise (Adams, 1995).

Uma vez biodisponíveis na água e sedimento os poluentes podem entrar em contato com os organismos. Essa biodisponibilidade é dependente da natureza do poluente e das características físico-químicas da água. O sedimento, compostos por partículas de detritos (inorgânicas e orgânicas), também apresentam a presença de poluentes, sendo que possuem

concentrações de contaminantes, como metais ou orgânicos, maiores do que a água, essas concentrações podem ser da ordem de 10^5 a 10^9 vezes maior (Reynoldson e Day, 1993). A biodisponibilidade de contaminantes no sedimento é dependente de fatores como temperatura, pH, fase de associação (sólida, líquida ou gasosa), adsorção física e oclusão pela fase sólida ou regime deposicional, conforme o movimento da água. A disponibilização de compostos tóxicos para os organismos também depende da rota de exposição (oral, cutânea, etc), do hábito alimentar e do tipo de organismo (Burton, 1992).

Levando em consideração que a qualidade da água e do sedimento é de extrema importância para o bom funcionamento de um ecossistema aquático, uma vez que os processos que ocorrem nestes compartimentos influenciam toda a biota, o estudo da qualidade da água é de extrema importância no biomonitoramento ambiental.

3. OBJETIVOS

Avaliar as características físicas e químicas da água e sedimento, incluindo a determinação de elementos-traço, bem como a quantificação de organoclorados na água do reservatório da usina hidroelétrica de Furnas (MG), em Junho e Dezembro de 2006.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de água e sedimento foram coletas em cinco pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) no reservatório da Usina Hidroelétrica de Furnas, MG nos meses de Junho e Dezembro de 2006 para posteriores análises físicas e químicas, organoclorados e elementos – traço.

4.1. Caracterização da área de estudo

O reservatório da Usina Hidroelétrica de Furnas é considerado o maior lago artificial e um dos mais antigos da região sudeste. A construção teve início em Julho de 1958 e sua primeira unidade entrou em operação em Setembro de 1963. A barragem localiza-se no curso médio do rio Grande, num trecho denominado “Corredeira das Furnas”, entre os municípios São José da Barra e São João Batista da Glória (figura 1). O reservatório da represa localiza-se no trecho superior do rio Grande (250 km de extensão) possuindo tributários principalmente a sua margem esquerda, com destaque para o rio Sapucaí (170 km de extensão), que forma um de seus eixos. O reservatório possui uma área inundada de 1.440 km² e banha 34 municípios da região; tem um volume útil de 17,21 bilhões de m³ e uma

Guapé (FU20) e Porto Fernandes (FU50) e dois pontos no eixo do rio Sapucaí: Barranco Alto (FU30) e Fama (FU40).

4.2.1. FU10 – TURVO (S20° 40' 835" W46° 13' 232")

Esta local se caracteriza por apresentar margens inclinadas e pedregosas, com solos pouco profundos. A profundidade deste ponto varia de acordo com o nível do reservatório, em consequência da operação da usina, ficando entre 6 e 15 metros. Esta estação situa-se após a confluência dos rios Grande e Sapucaí. Neste local também ocorrem áreas reservadas à pastagem extensiva e plantações de café (figura 2 A).

4.2.2. FU20 – GUAPÉ (S20° 44' 331" W 45° 55' 800")

Localiza-se no rio Grande, no município de Guapé (MG). No local ainda se encontram matas preservadas próximas às margens do reservatório. O cerrado predomina na região, mas também existem extensas pastagens e lavouras de café (figura 2 B).

4.2.3. FU30 – Barranco Alto (S21° 10' 510" W45° 57' 061")

Localiza-se no rio Sapucaí. Culturas de batata, café e milho predominam na região, além de áreas de pastagens. Próximo ao local de coleta existe um povoado de aproximadamente 200 pessoas vivendo da pesca artesanal e de trabalhos na lavoura (figura 2 C).

4.2.4. FU40 – FAMA (S21° 24' 074" W45° 49' 621")

A cobertura vegetal é típica de cerrado, porém no local se encontram ilhas de mata ainda preservada e grandes extensões de lavouras de café e áreas de pastagens. Situa-se próximo à cidade de Fama (MG), em um braço da região fluvial do reservatório formado pelo rio Sapucaí. Possui cerca de 1.500 m de largura e profundidades de até 20 metros (figura 2 D).

4.2.5. FU50 – PORTO FERNANDES (S20° 48' 826" W45° 40' 567")

Situa-se no rio Grande, junto ao antigo porto da balsa Guapé-Cristais. Possui aproximadamente 600 m de largura, distante 20 km da localidade de Cristais (MG). Apresenta locais espalhados de um lado e declives acentuados do outro, com profundidades de até 13

metros. A vegetação no local é típica do cerrado, com ilhas de mata no entorno. Grandes plantações de café, além de pastagens, também são encontradas (figura 2 E).

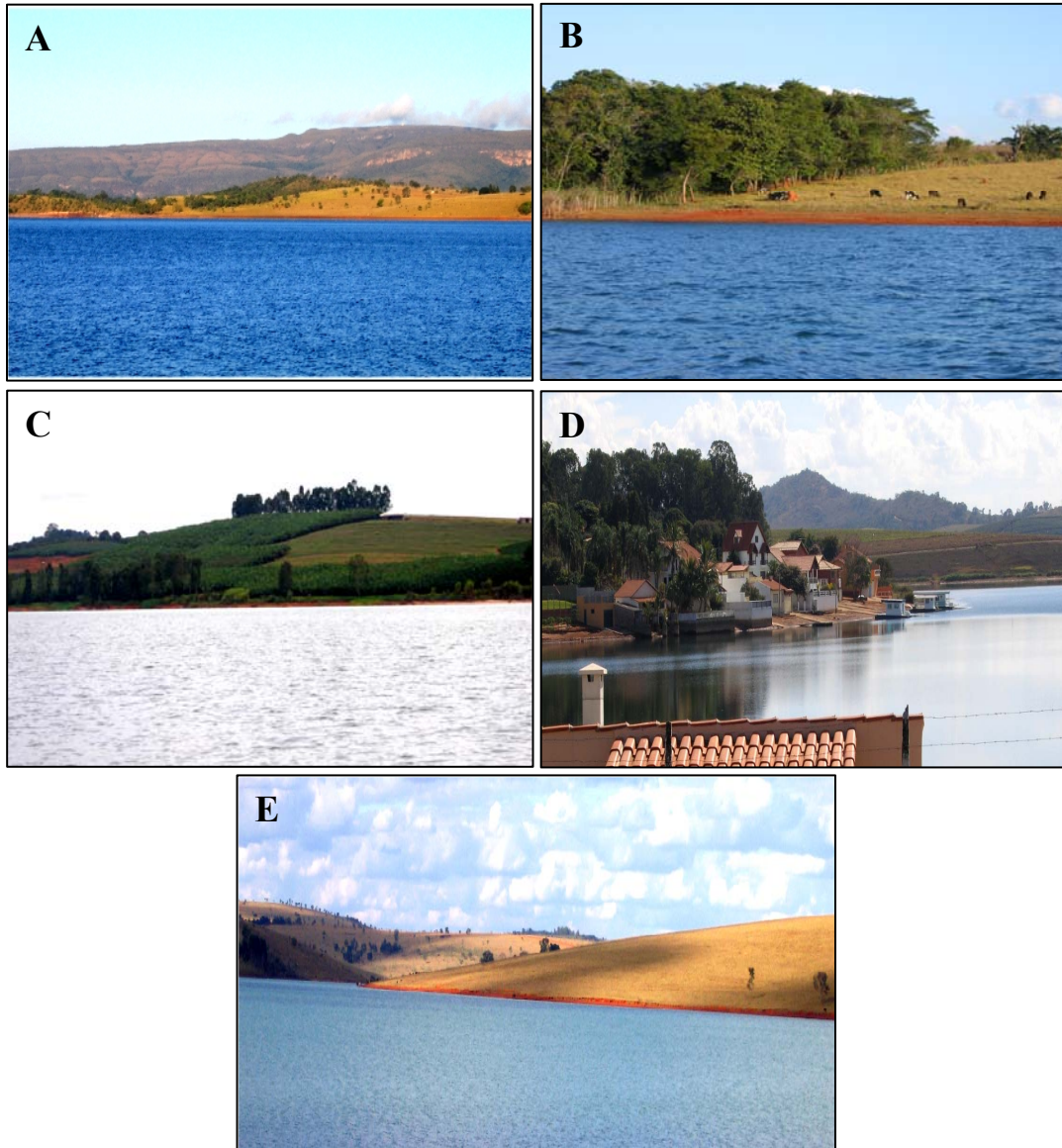


Figura 2. Locais de coleta de água, sedimento e peixes. A. Turvo (FU10); B. Guapé (FU20); C. Barranco Alto (FU30); D. Fama (FU40) e E. Porto Fernandes (FU50).

4.3. Coleta e análise da água e sedimento

Nestes pontos foram realizadas medidas limnológicas *in situ*, sendo também coletadas amostras de sedimento e água para a determinação de elementos-traço (água e sedimento) e organoclorados (água).

Para caracterizar limnologicamente o sistema foi efetuado medidas, em perfil da coluna d'água, de variáveis ambientais como temperatura, oxigênio dissolvido e

condutividade utilizando-se um analisador de água multiparâmetro (YSI 600 XL). Amostras de água também foram coletadas, armazenadas em frascos âmbar devidamente etiquetados e acondicionados em caixas de isopor resfriadas com gelo, as quais foram utilizadas para posterior determinação das demais variáveis de acordo com métodos padronizados para tais análises: SMWW “Standart Methods for the Examination of Waste Water” editado pela American Public Health Association (APHA), da American Water Works Association (AWWA) e da Water Pollution Control Federation (WPCF). A alcalinidade foi determinada por titulação potenciométrica segundo o método de Golterman et al. (1978), a dureza por calorimetria (APHA, 1992), o nitrogênio amoniacal segundo método proposto por Mackereth et al. (1978), o nitrogênio nitrito por calorimetria segundo método de Mackereth et al. (1978), o nitrogênio nitrato por calorimetria – redução de cádmio segundo método de Mackereth et al. (1978), o cloreto por titulometria e o fosfato total pelo método do cloreto estanso.

Os elementos-traço foram determinados seguindo padrões SW846-3050/3051 (USEPA, 1986). O cobre, cromo, cádmio, ferro e zinco foram determinados através da espectrometria de absorção atômica (AAS) e o alumínio pelo método do Eriochrome Cyanine R (ECR).

A concentração dos pesticidas na água foi determinada seguindo as metodologias indicadas pela USEPA específica para cada tipo de agrotóxico. Foram realizadas análises para os seguintes pesticidas: 2,4 dicloro fenoxiacético (2,4 D) seguindo o método da USEPA 8321; aloclor, atrazina, glifosato, hexaclorobenzeno, lindano (gama-BHC), metolacloro, metoxicloro, molinato, pendimentalina, permetrina, propanil, simazina e trifluralina segundo método da USEPA 8270; aldrin, dieldrin, clordano (isômeros), endosulfan, endrin, heptacloro e heptacloro epóxido seguindo o método da USEPA 8081; benzatona e pentaclorofenol segundo método da USEPA 8151 e DDT (isômeros) seguindo método da USEPA 8260.

A coleta do sedimento para análise de metais foi efetuada utilizando-se a Draga de Eckman. O sedimento foi coletado em cada ponto e transferido para potes plásticos devidamente etiquetados e acondicionados em caixas de isopor resfriadas com gelo, até sua posterior análise. Em laboratório o sedimento foi caracterizado física e quimicamente seguindo os padrões SW846-3050/3051 (USEPA 1986, Test Method for Evaluating Solid Waste Report, no. SW846, Washington, DC) ou similar. No sedimento foi medido o conteúdo de matéria orgânica, matéria inorgânica, fósforo total e nitrogênio orgânico total, além da concentração dos elementos-traço: cobre, cromo, cádmio, ferro, zinco (espectrometria de absorção atômica - AAS) e alumínio (método do Eriochrome Cyanine R (ECR)).

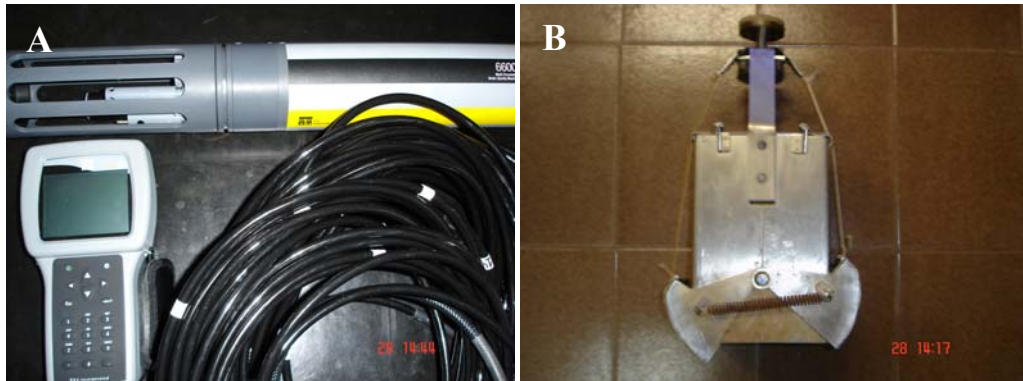


Figura 3. A. Multiparâmetro (YSI 600 XL) utilizado para a análise das variáveis físicas e químicas da água. B. Coletor de sedimento (draga de Eckman).

4.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando os dados obtidos em todos os pontos nos dois meses (Junho e Dezembro). Na análise dos componentes principais (PCA) obteve-se uma visão geral das relações entre as variáveis ambientais (físicas e químicas, elementos-traço e organoclorados) e os locais de coleta. A análise de cluster aglomerativa hierárquica (CAH) feita a partir da matriz de correlação de *spearman* (utilizada para dados não paramétricos) foi utilizada para verificar a proximidade dos locais de coleta em função de suas características ambientais. O programa utilizado foi o XLStat Pro 7.5 para análise de PCA e de CAH.

5. RESULTADOS

5.1. Variáveis climatológicas e hidrológicas

Os dados de precipitação no reservatório da UHE de Furnas, demonstraram a distinção entre um mês de menores índices de pluviosidade, Junho de 2006 (0mm a 17,5mm), caracterizando um período seco, e maiores índices, Dezembro de 2006 (0mm a 46mm), caracterizando um período mais chuvoso.

5.2. Caracterização limnológica do reservatório da UHE de Furnas

Os resultados dos parâmetros físicos e químicos da água da UHE de Furnas são apresentados na Figura 4. Não houve diferenças entre os valores das variáveis, oxigênio dissolvido, condutividade e pH na coluna d'água, já entre os dois meses de coleta, a temperatura foi mais elevada no mês de Dezembro, caracterizando as duas estações do ano,

sendo que não houve oscilações bruscas entre os locais de coleta nos meses de Junho e Dezembro. Os dados de pH apresentaram pouca variação entre os locais de coleta e entre os dois meses, sendo que os pontos FU20 e FU40 no mês de Junho, e FU30 e FU50 nos dois meses foram caracterizados por apresentarem maiores valores de pH. A condutividade apresentou valores mais altos no mês de Dezembro, sendo mais elevados nos locais FU30 e FU50, já no mês de Junho não houve grandes diferenças entre os mesmos. Os pontos FU10, FU30 e FU40 no mês de Junho, caracterizaram-se por apresentarem valores mais altos de nitrito e nitrogênio amoniacal. A dureza magnésio foi mais elevada no mês de Dezembro em todos os locais com exceção do local FU10. A dureza cálcio, dureza total e alcalinidade foram mais elevadas em todos os locais de coleta no mês de Dezembro com exceção do local FU10, no qual essas variáveis foram mais elevadas em Junho. Cloreto foi mais elevado em FU10 em Junho, em FU20 em Dezembro e mais baixo em FU30 e FU40 em Junho e Dezembro. As variáveis físicas e químicas apresentam-se abaixo dos limites máximos recomendados pela resolução CONAMA 257/2005 para águas do tipo 2.

Os resultados da análise física e química do sedimento são demonstrados na figura 5. A porcentagem de matéria orgânica foi mais alta nos locais FU30 e FU40 durante o mês de Dezembro, já o teor de matéria inorgânica foi igual entre os locais de coleta e entre os dois meses, com exceção dos locais FU30 e FU40 durante o mês de Dezembro que apresentaram menores porcentagens em relação aos outros locais.

A análise de pesticidas na água demonstrou a presença de quatro tipos de organoclorados acima do estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005 (Tabela I). Dentre os organoclorados analisados na água, somente o aldrin, dieldrin, endosulfan, heptacloro e epoxido e metolacloro estavam presentes em concentrações iguais ou acima da recomendada pela resolução CONAMA 357/2005 para águas do tipo 2 nos seguintes locais FU20 (Junho e Dezembro) e FU30 e FU50 (Junho) sendo que apenas o endosulfan em FU40 (junho) e aldrin e dieldrin e metolacloro em FU50 (Dezembro) estavam acima do recomendado. As concentrações dos elementos-traço, alumínio, cádmio, cobre, zinco e cromo na água não estavam presentes em altas concentrações nem apresentaram alterações em suas concentrações entre os meses de coleta e entre as coletas de Junho e Dezembro (Tabela II).

A Tabela III mostra a concentração dos elementos-traço no sedimento. Dos metais analisados apenas a concentração do cobre em FU10 e do cromo em FU30 foram mais elevadas que o recomendado pela resolução 344/2004 para sedimento nível 1.

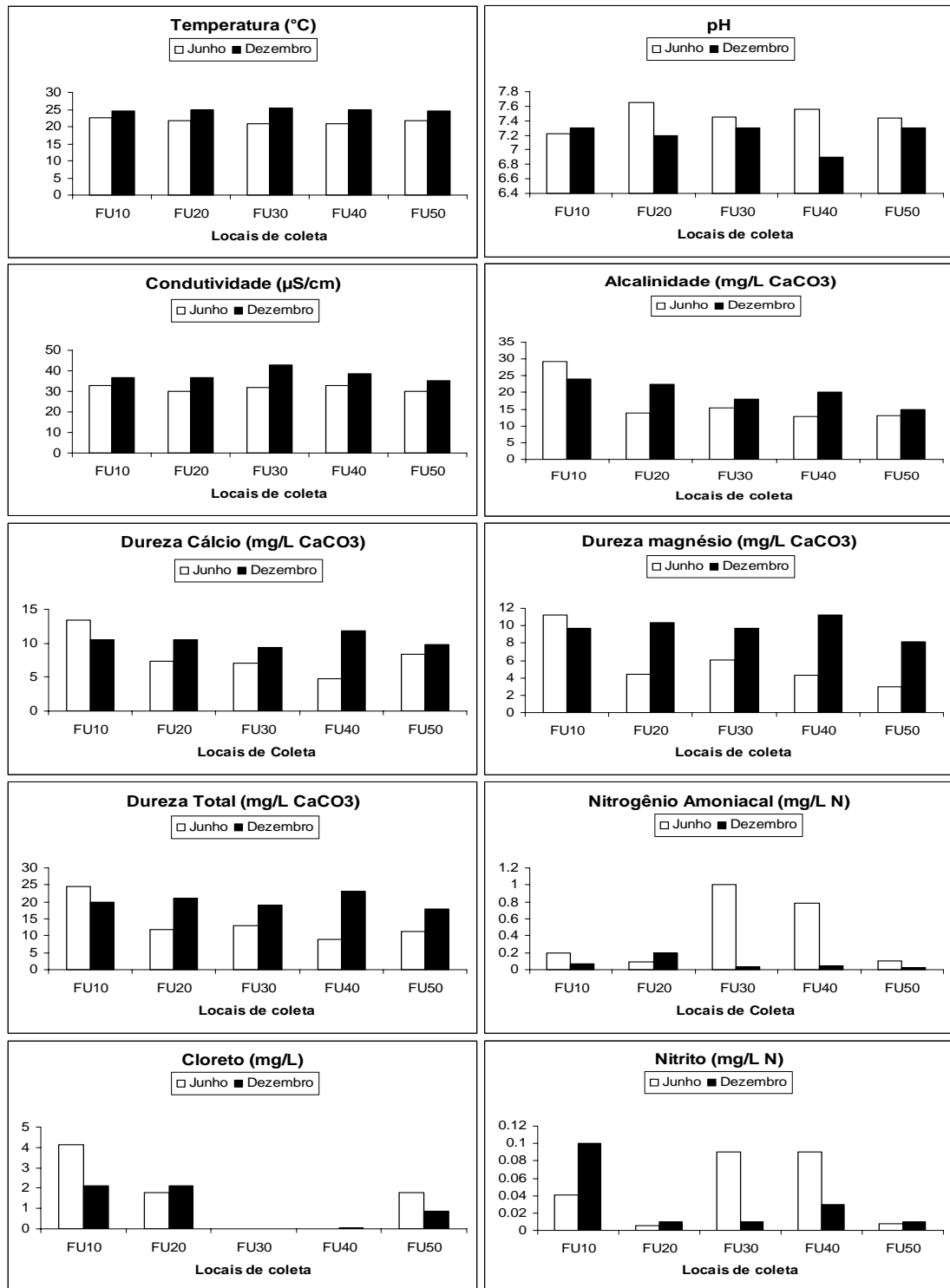


Figura 4. Dados físicos e químicos da água da UHE de Furnas – MG coletada em cinco diferentes locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes).

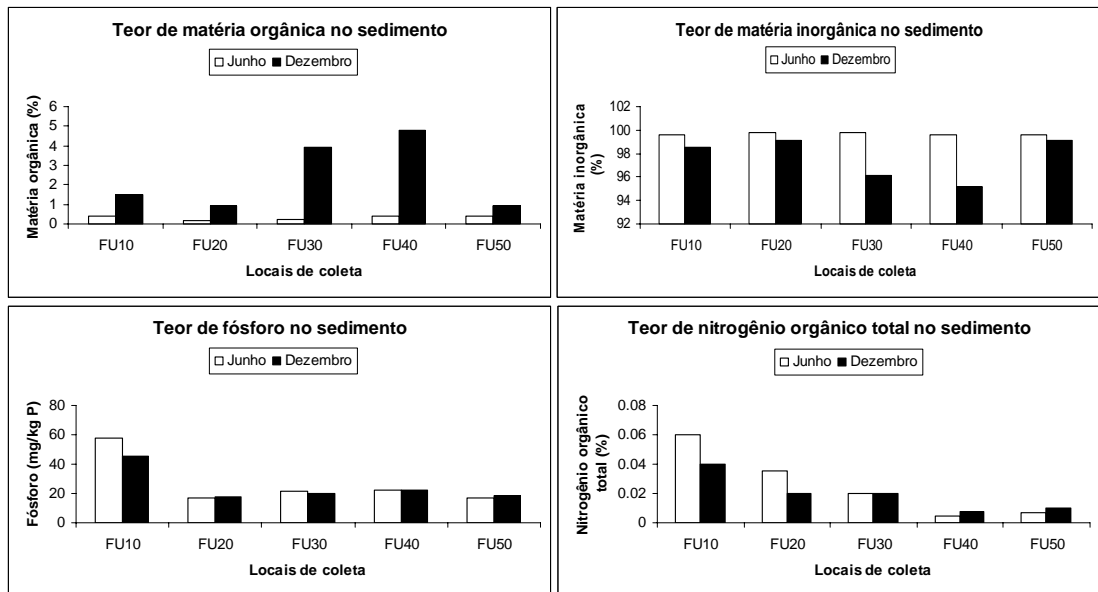


Figura 5. Dados físicos e químicos do sedimento da UHE de Furnas – MG coletados em cinco locais de coleta: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes).

Tabela II. Concentração de elementos-traço na água do reservatório da UHE de Furnas – MG em Junho e Dezembro de 2006.* representa valores acima do recomendado pela resolução CONAMA 357/2005 para águas classe 2.

PONTOS DE COLETA	CONAMA 357/2005 (Classe II)	FU10 Turvo		FU20 Guapé		FU30 Barranco Alto		FU40 Fama		FU50 Porto Fernandes	
		Junho	Dezembro	Junho	Dezembro	Junho	Dezembro	Junho	Dezembro	Junho	Dezembro
Variáveis											
Alumínio	0,1	0,002	0,005	0,006	0,0048	0,005	0,002	0,003	0,0028	0,002	0,001
Cádmio	0,001	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Cobre	0,009	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Zinco	0,18	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	<0,01	<0,01
Cromo	0,05	0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	0,02	0,02	<0,02	<0,02
Ferro	0,3	0,03	0,03	0,28*	0,3*	<0,01	<0,01	0,64*	0,71*	0,25*	0,2*

Tabela III. Valores das concentrações de elementos-traço no sedimento do reservatório da UHE de Furnas – MG em Junho e Dezembro de 2006. * representa valores acima do recomendado pela resolução CONAMA 344/2004 para sedimento nível 1.

PONTOS DE COLETA	CONAMA 344/2004 Sedimento tipo 1	FU10 Turvo		FU20 Guapé		FU30 Barranco Alto		FU40 Fama		FU50 Porto Fernandes	
		Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
Metais pesados											
Alumínio	Nc	31	30	60	68	22	30	10	30	18	30
Cádmio	0,6	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Cobre	35,7	37*	35,9*	25	10,8	7	5,3	17	8,9	14	16,4
Zinco	123	9	10,1	8	6,0	10	7,8	9	7,5	10	8,91
Cromo	37,3	25	26,8	25	14,7	75*	51,6*	19	10	23	23,8
Ferro	Nc	50	20	82	70	50	20	30	30	41	30

Para as variáveis físicas e químicas, o PCA mostrou que em Junho houve uma forte associação entre o nitrito e os locais FU30 e FU40 e das variáveis condutividade, nitrogênio amoniacal, alcalinidade, dureza total, dureza cálcio, dureza magnésio, cloreto e temperatura com o local FU10, explicadas pelo primeiro eixo do gráfico (64,4%) (figura 6A), já em Dezembro o primeiro eixo (41,14%) apresentou uma forte associação das variáveis temperatura e condutividade e o local FU30 e dos locais FU10 e FU20 com as variáveis nitrogênio amoniacal, alcalinidade, dureza total, dureza cálcio, dureza magnésio, cloreto, nitrito e temperatura, não havendo nenhuma associação significativa representada pelo segundo eixo (Figura 6B).

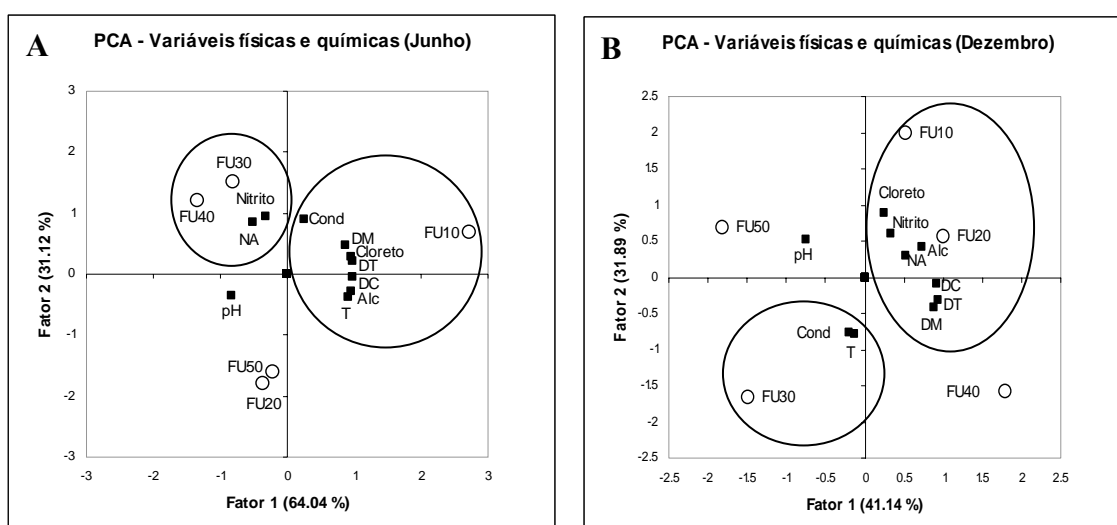


Figura 6. Análise dos componentes principais baseada na matriz de correlação das variáveis físicas e químicas das amostras de água da UHE de Furnas – MG, durante Junho (A) e Dezembro (B) /2006. ● Locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) e ■ variáveis ambientais (T: temperatura; pH; C: condutividade; A: alcalinidade; DT: dureza total; DC: dureza cálcio; DM: dureza magnésio; NA: nitrogênio amoniacal; Nitrito; CL: cloreto).

A análise de PCA para organoclorados no mês de Junho (Figura 7A) mostrou que o primeiro eixo explica a distribuição dos pontos em função da concentração dos organoclorados (59,36%) e o segundo eixo (30,92%) explica o tipo de organoclorado que são encontrados nos locais de coleta. O grupo formado entre os locais FU10 e FU40 em Junho é devido estes possuírem as mesmas características em relação aos organoclorados, que é explicado pelo primeiro eixo. Em Dezembro a análise de PCA (Figura 7B) mostrou que o primeiro eixo também explica a distribuição dos pontos em função da concentração dos organoclorados (82,12%) e o segundo eixo (11,11%) explica o tipo de organoclorado que são encontrados nos locais de coleta. Os

locais FU10 e FU40 formam um grupamento pelo fato deles não possuírem grandes concentrações dos organoclorados que é explicado pelo primeiro eixo.

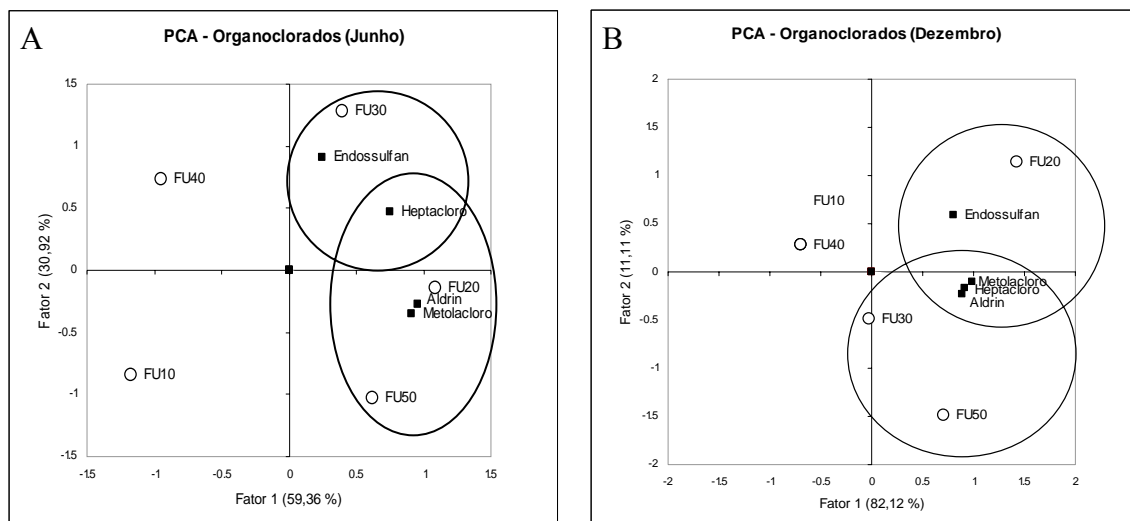


Figura 7. Análise dos componentes principais baseada na matriz de correlação da análise dos organoclorados das amostras de água da UHE de Furnas – MG, durante Junho (A) e Dezembro (B). ● Locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) e ■ Organoclorados.

A análise de PCA para os elementos traço no sedimento no mês de Junho (Figura 8A) mostrou que o primeiro eixo (71,32%) explica a forte associação entre os locais FU10 e FU20 com o elemento cobre e o segundo eixo (16,64%) explica a associação entre o local FU30 e o elemento Cromo. A análise de PCA em Dezembro (Figura 8B) mostra que o primeiro eixo (59,85%) explica a forte associação entre os locais FU10 e FU50 com os elementos cobre e zinco, e o segundo eixo (35,52%) explica a associação entre o local FU30 e o elemento Cromo.

A análise de CAH mostrou uma similaridade entre os locais em função de sua composição física e química, de organoclorados e elementos traço. Em Junho, foi encontrada uma alta similaridade entre os locais FU20 e FU50, e entre os FU10 e FU40, deixando o local FU30 em um braço separado do dendrograma, mostrando assim, que este local de coleta se diferencia dos outros quando todas as características ambientais são avaliadas conjuntamente (Figura 9A). No mês de Dezembro este padrão encontrado em Junho é modificado, sendo que os locais FU20 e FU50 continuam apresentando alta similaridade, mas agrupando os locais FU30 e FU40, deixando o local FU10 em um braço separado do dendrograma (Figura 9B).

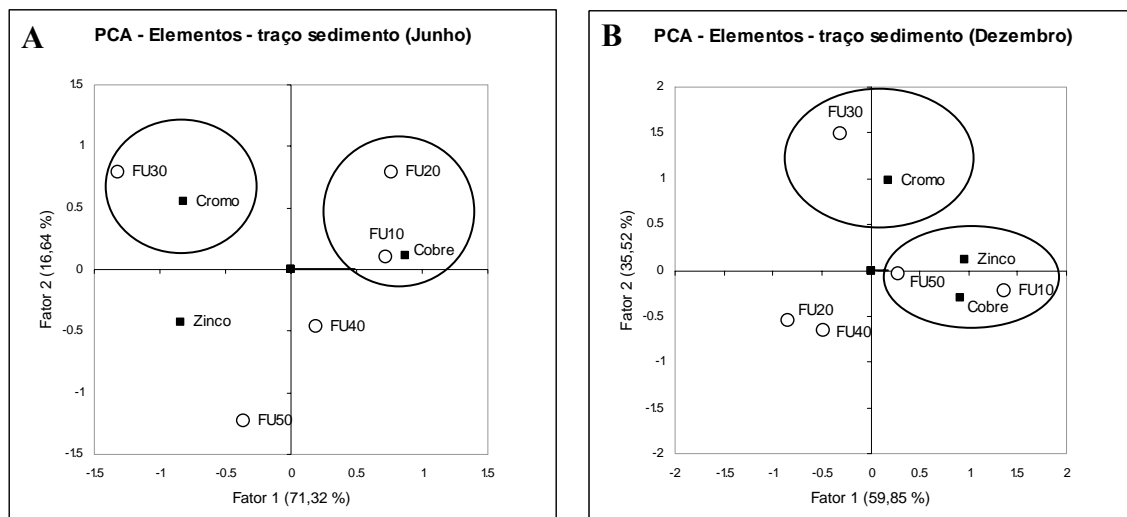


Figura 8. Análise dos componentes principais baseada na matriz de correlação da análise dos elementos traço das amostras de sedimento da UHE de Furnas – MG, durante Junho (A) e Dezembro (B). ● Locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) e ■ Elementos traço no sedimento.

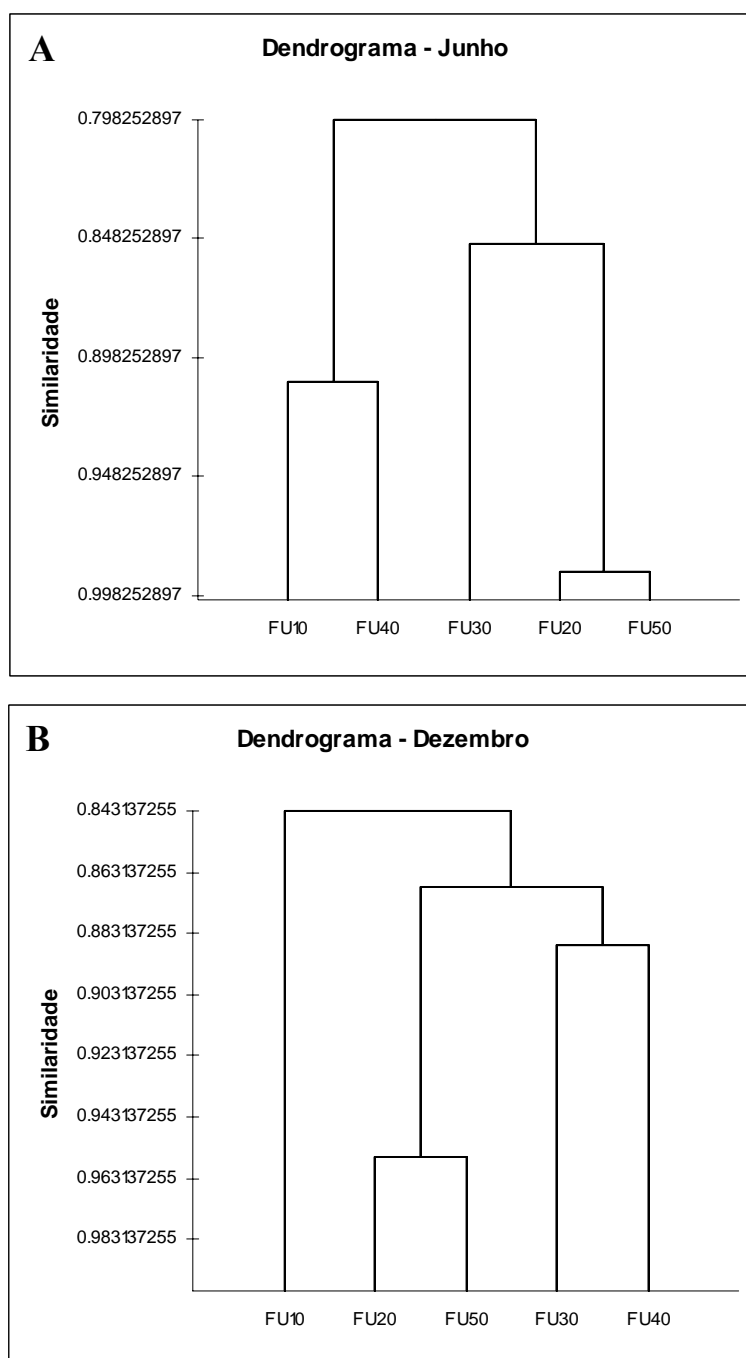


Figura 9. Dendrogramas formados a partir da matriz de correlação de spearman de todas as variáveis ambientais analisadas (físicas e químicas; organoclorados e elementos traço) dos cinco locais de coleta (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) da UHE de Furnas nos meses de Junho (A) e Dezembro (B).

6. DISCUSSÃO

Represas se estabilizam em relação a sua dinâmica após alguns anos de sua construção, mas mudanças ainda ocorrem em função dos impactos causados pelo tipo de ocupação da bacia hidrográfica (Straskraba et al., 1993). Atividades antrópicas como agricultura, pecuária, despejo direto de efluentes domésticos e industriais e o desmatamento podem influenciar a dinâmica natural das represas. Toda e qualquer tipo de substância aplicada ou atividade desenvolvida no entorno da bacia hidrográfica reflete na qualidade da água da própria bacia.

A UHE de Furnas pode ser considerada um sistema complexo de lagos, onde cada braço do reservatório pode apresentar características particulares e comportamento distintos. De uma maneira geral este ambiente apresenta características oligotróficas havendo, entretanto, regiões com níveis de degradação mais avançados e já com características mesotróficas e eutróficas. O constante aporte de esgotos não tratados no reservatório de Furnas é o maior contribuinte para o aumento nas concentrações de nutrientes (Relatório UHE de Furnas, 2004).

Segundo Relatório UHE Furnas (1996 a 2003) os locais FU30 e FU40 apresentam maior ocupação urbana e maiores concentrações de nitrito e amônia, o que foi observado na análise da água da represa no ano de 2006, especialmente no mês de Junho, onde a precipitação foi menor (0 a 17,55 mm). Este aporte de nutrientes nestes locais de coleta é atribuído ao despejo de efluentes domésticos nos rios (Grande e Sapucaí) pelas maiores cidades da bacia do reservatório como Alfenas e Varginha. Como detalhado por Águila (2001), a região do local FU40 apresenta uma forte poluição pontual por esgoto doméstico, entretanto o braço do Rio Sapucaí apresenta importantes fontes de poluição difusa, provenientes da agropecuária.

Durante períodos chuvosos existe uma rápida modificação das características físico-químicas da água, pois a chuva carrega uma maior quantidade de partículas alóctones ao sistema, o que foi observado na análise da água da UHE de Furnas, onde todas as variáveis físico-químicas analisadas encontraram-se mais elevadas durante o mês de Dezembro (precipitação = 0 mm a 46 mm) com exceção do nitrito e da amônia.

Alguns organoclorados e elementos traço foram encontrados acima do estabelecidos por resoluções do CONAMA na água e sedimento. A maior concentração de organoclorados e elementos-traço em alguns locais de coleta durante o mês de Junho

pode ter sido devido ao menor índice pluviométrico, e conseqüentemente, uma maior concentração destes elementos.

Altas concentrações de cobre foram encontradas no sedimento do local FU10. O cobre é muito utilizado como algicida nas represas e como fungicida em monoculturas e o entorno deste local possui grandes áreas de culturas de café e pastagens.

A presença de lavouras de café e grandes áreas de pastagens nos locais FU20 e FU50 e lavouras de batata, café e milho no local FU30 pode explicar a presença dos organoclorados encontrados na água durante os dois meses (Junho e Dezembro). Áreas de pastagens também são encontradas no entorno do local FU30, que também apresentou concentrações acima do permitido de cromo no sedimento. Os organoclorados, representados principalmente pelos inseticidas e acaricidas, são altamente persistentes e tóxicos ao meio ambiente sendo utilizados em culturas para o controle de pragas agrícolas, sendo especialmente tóxicos ao meio ambiente (Del Grande et al., 2003; Peláez-Rodrigues, 2001).

O cromo é raramente encontrado nas águas naturais, contudo pode ocorrer como contaminante das águas sujeitas a poluição de despejos de curtumes, indústrias, circulação de águas de refrigeração, onde é usado para o controle de corrosão (Batalha et al., 1993; Canto, 1997). Povoados e cidades são encontrados próximo ao local FU30, onde foram encontradas altas concentrações de cromo no sedimento.

O sedimento lacustre pode ser de dois tipos: orgânico e mineral. Em Junho, verificou-se um maior teor de matéria orgânica comparado com o mês de Dezembro que apresentou teores parecidos de matéria orgânica e inorgânica. O sedimento pode ser considerado como o resultado da integração de todos os processos que ocorrem em um ecossistema aquático (Esteves, 1981).

Em relação ao sedimento de todos os locais de coleta, o local FU10 merece destaque, uma vez que apresentou maiores concentrações de fósforo e nitrogênio orgânico. Este local de coleta se encontra na confluência dos dois rios (Grande e Sapucaí) e recebe toda carga de sedimento rios acima, o que pode explicar elevados teores de fósforo e nitrogênio orgânico. A presença de uma maior quantidade de matéria orgânica pode ser prejudicial uma vez que quanto maior a quantidade de partículas orgânicas, maior a capacidade do sedimento em adsorver em suas partículas compostos como os elementos-traço, como foi encontrado no ponto em questão (cobre).

A análise da PCA permitiu a visualização de como os locais de coleta encontram-se agrupados em função de sua composição tanto física e química, quanto de organoclorados na água e elementos-traço no sedimento.

A CAH complementou a análise da PCA, porém nesta análise agruparam-se os locais de coleta em função de todos os elementos analisados (físicos e químicos, organoclorados e elementos-traço) e os resultados obtidos mostraram que certos locais são similares em relação a sua composição e outros não. Esta similaridade encontrada para os locais de coleta em Junho apresentou-se diferente para o mês de Dezembro, salientando então que as mudanças ocorridas em relação às características observadas, mesmo que estas mudanças não sejam muito perceptíveis quando as classes (variáveis físicas e químicas, organoclorados e elementos-traço) dos elementos são analisadas individualmente, modificam a composição e as características dos locais de coleta.

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos evidenciaram locais de coleta com maiores concentrações de organoclorados e a presença de altas concentrações de alguns elementos – traço na água e sedimento que podem ser devido à presença da agricultura, pecuária, indústrias e a presença de pequenos centros urbanos na região, acarretando diferentes tipos de impactos nos recursos hídricos e conseqüentemente na biota aquática, como a ictiofauna.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, W. J. Aquatic toxicology resting methods. In: Hoffman D. J.; Rattner, B. A.; Burton Jr, G. A. & Cairns Jr, J. eds. *Handbook of Ecotoxicology*, p. 25-46, 1995.
- APHA. Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th ed. American Health Association, 1992.
- Batalha, B.L.; Parlatore, A.C.; Controle da qualidade da água para consumo humano. Cetesb (SP), 1993.
- Burton, G. A. Jr (ed). *Sediment toxicity assessment*, 1.ed. Lewis Publishers, 457 pp., 1992.
- Canto, E.L., *Minerais, Minérios e metais: de onde vem para onde vão?*, Ed. Moderna, 1997.
- Del Grande, M.; Rezende, M.O.O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da bacia do rio Piracicaba (SP), *Quim. nova*, 26: 678, 2003.
- Eletrobrás. Plano 2015, estudos básicos: versão preliminar. Vols. 1-2, 1991.
- Esteves, F.A. Estudo preliminar sobre metais em sedimento de represas do Estado de São Paulo. In: *Seminário Regional de Ecologia*, 2: 323-245, 1981.
- Goeltermann, H. L.; Clymo, R. S. e Ohnstad, M. A. M. Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwaters. Oxford, Blackwell Scientific Publications, IBP Handbook, 8: 213, 1978.
- Laws, E.A., *Aquatic pollution: an introductory text*. 2.ed. Wiley interscience, 672 pp., 1993.
- Mackereth, F. J. H.; Heron, J. e Talling, J. F. Water Analysis: Some Revised Methods for Limnologists. Ambleside, Freshwater Biolog. Associat. Scientific Public. 36: 120, 1978.

- Plâncton Consultoria Ambiental Ltda. Relatório UHE de Furnas Centrais Elétricas S. A. 1996-2003, 110 pp., 2004.
- Peláez-Rodríguez, M. *Avaliação da qualidade da água da bacia do alto Jacaré-Guaçu/SP (Ribeirão do Feijão e Rio Monjolinho) através de variações físicas, químicas e biológicas*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2001.
- Rand, G. M.; Wells, P. G.; McCarty, L. S. In: Rand, G. M. (ed.), Effects, environmental fate, and risk assessment. *Aquat. Toxicol.*, [s.n.], 3-70, 1995.
- Reynoldson, T. B.; Day, K. E. Freshwater sediments. In: Calow, P. ed. *Handbook of Ecotoxicol.* 1(6): 83-100, 1993.
- Straskraba M, Tundisi JG, Duncan A. *Comparative reservoir limnology and water quality management*. Kluwer Academic Publishers, 291 pp., 1993.
- Usepa (United States Environmental Protection Agency). Guidelines for the Health Risk Assesment of Chemical Mixtures (PDF) EPA 1630/ R – 98/002, Sep. 1986.
- Usepa (United States Environmental Protection Agency) Assessment and Control of Bioconcentratable Contaminants in Surface Waters. Office of Health and Environmental Assessment, US Environmental Protection Agency, 1991.

CAPÍTULO II

MORFOLOGIA BRANQUIAL

ÍNDICE

1. RESUMO.....	29
2. INTRODUÇÃO.....	30
3. OBJETIVOS.....	31
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
5. RESULTADOS.....	35
6. DISCUSSÃO.....	68
7. CONCLUSÕES.....	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

1. RESUMO

Os estudos histopatológicos têm grande importância nos programas de pesquisa que avaliam os efeitos dos contaminantes nos peixes no meio ambiente e vem sendo conduzidos para estabelecer relações entre a exposição a contaminantes e as várias respostas biológicas. *A. fasciatus* e *P. maculatus* foram coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro de 2006. Hipertrofia e proliferação (hiperplasia) das células pavimentosas, fusão lamelar, descolamento do epitélio lamelar, edema e proliferação de células cloreto foram às alterações histopatológicas mais comuns nas duas espécies. A proliferação de células mucosas foi rara e observada apenas em *A. fasciatus*, juntamente com a presença de aneurismas e rompimento nas regiões medianas das lamelas ou na região apical foi comum em lambari. Em mandi, aneurismas foram mais raros, com exceção dos animais coletados em FU10. Os valores médios dos índices (IAH – índice de alteração histopatológica e VMA – valor médio de alteração) obtidos nas brânquias de *A. fasciatus* e *P. maculatus* mostraram que, em junho/2006, as brânquias dos lambaris coletados em FU10 (Turvo) e FU40 (Fama) estavam nos limites superior da escala do índice e as dos lambaris coletados em FU20 (Guapé), FU30 (Barranco Alto) e FU50 (Porto Fernandes) foram classificadas como contendo lesões leves a moderadas que comprometem o funcionamento normal do órgão. Em dezembro/2006, os índices calculados foram menores do que 10, o que indica função normal do órgão para as duas espécies.

Palavra – chave: brânquias; histopatologias; células cloreto; células mucosas.

2. INTRODUÇÃO

A sobrevivência dos peixes depende amplamente de suas adaptações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas ao meio ambiente aquático, uma vez que este é muito diversificado em relação a sua composição (Fernandes et al., 2007).

As brânquias são o primeiro órgão dos peixes de contato direto com o meio externo, possuindo um fino epitélio que separa a água do sangue circulante, onde várias funções são desempenhadas como as trocas gasosas, osmorregulação e excreção de produtos nitrogenados. Esse órgão é formado por quatro arcos branquiais de cada lado da faringe que suportam duas colunas de filamentos (holobrânquias) que variam em número e comprimento dependendo da fase de desenvolvimento e da espécie de peixe. Ele é formado pelo epitélio respiratório (lamelas) e não respiratório (filamentos). As lamelas, local onde ocorrem as trocas gasosas, são regularmente espaçadas na parte superior e inferior de cada filamento. Elas são constituídas por duas camadas de células epiteliais ancoradas na membrana basal que envolve os espaços vasculares formado pelas flanges das células pilares. O sangue flui nesses espaços em direção oposta (contracorrente) a água, o que fornece alta eficiência das trocas gasosas (Fernandes e Mazon, 2003).

O epitélio das lamelas é constituído basicamente pelas células pavimentosas, mas células de cloreto são encontradas na base das lamelas ou, dependendo da qualidade da água, em toda sua extensão. Estas células são ricas em mitocôndrias e em teleósteos de água doce são responsáveis pela absorção dos íons de cálcio, cloreto e sódio. A alta densidade de unidades de enzimas $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ (Dang et al., 2000) e $\text{Ca}^+ - \text{ATPase}$ (Flik et al., 1995) nas membranas dos sistemas tubulares das células de cloreto caracterizam estas células como transportadoras de íons (Fernandes & Mazon, 2003).

Peixes de água doce perdem constantemente pelo seu epitélio corporal, especialmente pelas brânquias, íons para o meio (Perry, 1997).

Outro tipo de célula encontrado no epitélio branquial são as células mucosas. Elas são encontradas principalmente nas bordas dos filamentos e também nas regiões interlamelares (Laurent, 1989). Estas células possuem o núcleo localizado na região basal da célula próximo às mitocôndrias. As vesículas contendo mucosubstâncias (glicoproteínas sulfatadas ou glicoproteínas ácidas e neutras) são encontradas nas vesículas de muco. As mucosubstâncias estão envolvidas com o sistema de defesa dos peixes possuindo ação contra injúrias teciduais, exposição a substâncias tóxicas e patógenos presentes no meio externo (Lumsden et al., 1994; Diaz et al., 2001; Roberts & Powell, 2003; Diaz et al., 2005).

Segundo Laurent e Perry (1991) as alterações morfológicas nas brânquias podem representar estratégias adaptativas para a conservação de algumas funções biológicas quando o animal enfrenta mudanças ambientais. Uma vez que as brânquias desempenham funções tanto respiratórias como osmorregulatórias, qualquer comprometimento em sua estrutura acarretará dificuldades para o animal responder as alterações na qualidade do ambiente aquático (Meyers e Hendricks, 1985).

Dentro deste contexto, trabalhos de campo que enfocam a utilização de peixes como bioindicadores de contaminação aquática, são importantes para a conservação dos recursos naturais (Wilhelm Filho et al., 2001; Winkaler et al., 2001; Martinez e Collus, 2002; Martinez e Souza, 2002).

3. OBJETIVOS

Levando em consideração que o epitélio branquial dos peixes é extremamente sensível a mudanças na qualidade da água, espécimes de *Astyanax fasciatus* (pelágico) e *Pimelodus maculatus* (bentônico) foram coletados em cinco pontos na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006 para avaliar a influência da qualidade da água na estrutura do epitélio branquial.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A. fasciatus (n = 131) com massa corpórea (M_C) = $37,77 \pm 2,61$ g e comprimento total (C_T) = $14,33 \pm 0,28$ cm e *P. maculatus* (n = 82) com M_C = $184,27 \pm 32,98$ g e C_T = $25,1 \pm 1,39$ cm foram coletados no reservatório da UHE de Furnas, MG, nos meses de Junho (inverno) e Dezembro (verão) de 2006 concomitantemente com coletas de água e sedimento como já descritos no capítulo I. A coleta foi efetuada através de redes de espera com malhas de 3 e 7 centímetros para *A. fasciatus* e *P. maculatus* respectivamente, onde as redes eram estendidas ao entardecer e retiradas pela manhã do dia posterior nos seguintes pontos: na confluência dos rios Grande e Sapucaí: Turvo (FU10, S20° 40' 835" W46° 13' 232"), no eixo do rio Grande: Guapé (FU20, S20° 44' 331" W 45° 55' 800") e Porto Fernandes (FU50, S20° 48' 826" W45° 40' 567") e no eixo do rio Sapucaí: Barranco alto (FU30, S21° 10' 510" W45° 57' 061") e Fama (FU40) S21° 24' 074" W45° 49' 621").

Após a coleta, os animais foram anestesiados irreversivelmente e suas brânquias removidas, lavadas em solução fisiológica e fixadas de acordo com o tipo de análise histológica a ser efetuada.

Morfometria branquial

Após os arcos branquiais serem separados individualmente, foi medido o volume de cada arco através do princípio de Scherle (1970). As brânquias foram colocadas em um recipiente com glutaraldeído 0,5% em tampão fosfato 0,1M, pH 7.3, previamente pesado e cada brânquia foi mergulhada três vezes sem tocar as paredes e o fundo do béquer e feita uma média dos três valores. O volume total dos arcos braquiais (arcos, filamento e lamelas) de cada animal foi determinado através da soma dos volumes dos quatro arcos branquiais.

Foram efetuadas as medidas de comprimento e a contagem dos filamentos branquiais utilizando um microscópio estereoscópio (Zeiss, Stemi SV6). Todo primeiro, último e cada décimo filamento foram medidos.

Histologia branquial

Histopatologia

Para a observação de possíveis histopatologias branquiais foram utilizados cinco indivíduos de cada espécie, dos quais retirou-se amostras das brânquias posteriormente lavadas em solução salina 0,9% e fixadas em glutaraldeído 2,5% e posteriormente em glutaraldeído 0,5%. As brânquias foram desidratadas em bateria crescente de álcoois e incluídas em metacrilato (Historesina Leica). Cortes não seriados de 2 µm de espessura foram realizados para a confecção das lâminas, os quais foram corados com Azul de Toluidina e posteriormente analisados em microscópio de Luz. A ocorrência de alterações histopatológicas nos órgãos foi avaliada semi-quantitativamente de duas formas: a) Cálculo do Valor Médio de Alteração (VMA), com base na incidência de lesões, de acordo com Schwaiger et al. (1997). Para tanto, atribui-se um valor numérico para cada animal conforme a escala: grau 1 (ausência de alterações histopatológicas), grau 2 (ocorrência de lesões pontualmente localizadas) e grau 3 (lesões amplamente distribuídas pelo órgão); b) Cálculo do Índice de Alterações Histopatológicas (IAH), com base na severidade de cada lesão (Poleksic e Mitrovic-Tutundzic, 1994). Para tanto, as alterações foram classificadas em estágios progressivos quanto ao comprometimento das funções teciduais (Tabela 1): alterações de estágio I, que não comprometem o funcionamento do tecido; de estágio II, mais severas e que prejudicam o funcionamento normal do órgão; e de estágio III, muito severas e irreversíveis. Um valor de IAH foi calculado para cada animal através da fórmula: $IAH = 10^0 \Sigma I + 10^1 \Sigma II + 10^2 \Sigma III$, sendo *I*, *II* e *III* corresponde ao número de alterações de estágio *I*, *II* e

III, respectivamente. Os valores de IAH entre 0 e 10 indicam um funcionamento normal do órgão; valores entre 11 e 20 indicam danos de leves a moderados no órgão; valores entre 21 e 50 indicam danos de moderados a severos e valores maiores que 100 indicam danos irreparáveis no tecido.

Tabela I. Tabela dos tipos de histopatologias.

		ESTÁGIOS		
		I	II	III
B R Â N Q U I A S	Hipertrofia do epitélio lamelar			
	Hiperplasia do epitélio lamelar			
	Congestão vascular			
	Dilatação capilar			
	Descolamento epitelial		Aneurisma Lamelar	Necrose focal
	Constricção capilar		Ruptura epitelial (hemorragia)	Necrose total
	Proliferação de células cloreto			
	Proliferação de células mucosas			
	Fusão das lamelas			
	Edema			

Células de cloreto (CC)

Para a determinação do número de CC nas brânquias foi utilizada a técnica de imunohistoquímica específica para a enzima $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$. Amostras de brânquias foram cuidadosamente removidas, lavadas em solução fisiológica e fixadas em Bouin durante 24 horas. Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries graduais alcoólicas, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cortes histológicos longitudinais de $8\mu\text{m}$ de espessura foram montados em lâminas e a parafina removida utilizando banhos consecutivos de xilol. Após hidratação até água, as lâminas foram lavadas duas vezes por 10 minutos em solução 0,1% TBS-T (TBS 0,1% e 1 ml de triton. $\text{pH}=7,3-7,4$). Para o bloqueio de ligações não-específicas, as lâminas foram incubadas durante 20 minutos em 20% de “normal goat serum” (NGS) diluído em TBS-T (200 μL NGS em 1000 μl de TBS-T) diluído (100 ml de TBS em 900 ml de água destilada). Em seguida, as lâminas foram incubadas com o primeiro anti-corpo (alfa 5) - Na ATPase diluído em 0,1% TBS-T (1 parte de Na ATPase: 300 partes de buffer) “overnight” em câmara de incubação úmida. Logo após, as lâminas foram lavadas duas vezes durante 10 minutos em TBS-T diluído e escurridas para a incubação do segundo anticorpo Goat Anti-mouse (GAM) - alíquotas de 1:150 diluídas com 1500 μl de tampão TBS-T - durante 1 hora em câmara úmida. O processo de lavagem das lâminas foi repetido para a incubação com

Peroxidase Anti-peroxidase (PAP)/mouse (alíquotas de 2,5µl diluir em 2000µl de tampão TBS-T), onde foram incubadas durante 1 hora em câmara úmida. As lâminas foram lavadas duas vezes por 10 minutos em solução 0,1% de TB para a coloração com 3-3'-diaminobenzidina (DAB-Ni e H₂O₂). Foram pesados 0,050g de DAB e diluído em TB (0,1%), onde foi adicionado 0,5g de Ammonium Nickel Sulphate e agitado até que o DAB e o Ammonium Nickel Sulphate fossem dissolvidos, a solução foi filtrada e no momento as lâminas foram imersas na solução de DAB + Ammonium Nickel Sulphate e adicionado 30µl H₂O₂. As lâminas ficaram sob imersão durante 6 minutos para as duas espécies. Para interromper a reação, as lâminas foram lavadas em água destilada duas vezes por 10 minutos em cuba de vidro sobre agitador magnético. Logo após seguiu-se o processo de desidratação das lâminas até xilol e as mesmas foram montadas para observação em microscópio de luz. Após a montagem, as lâminas foram analisadas utilizando um microscópio de luz Olympus BX com uma câmara de vídeo acoplada a um computador que contém um software (C.A.S.T System, Olympus, Denmark).

Células mucosas (CM)

Para determinar o número de células mucosas nas brânquias, as mesmas foram fixadas imediatamente após a coleta em glutaraldeído 2,5% e posteriormente em glutaraldeído 0,5%, desidratadas em bateria crescente de álcoois e incluídas em metacrilato (Historesina Leica), posteriormente foram efetuados cortes (5-6 µm) das brânquias. Os cortes transversais foram corados durante 30 minutos em azul de Alcian (pH 1,0 e pH 2,5), 15 a 20 minutos no ácido periódico e de 10 a 15 minutos no reativo de Schiff. Logo depois de coradas, as lâminas foram observadas em microscópio de luz Olympus BX com uma câmara de vídeo acoplada a um computador que contém um software (C.A.S.T System, Olympus, Denmark).

Análise estatística

Os dados estão apresentados como a média ± erro padrão da média ($P < 0,05$). Correlação parcial foi utilizada para identificar possíveis interações entre as variáveis biológicas (CC e CM) e ambientais (variáveis físicas e químicas, organoclorados e elementos-traço). ANOVA foi aplicada para cada variável biológica, seguido de testes *post-hoc* Tukey-Kramer, Dunnett ou Barlett conforme o caso ou ANOVA não paramétrica Kruskal-Wallis para comparações entre os locais de coleta. O teste *Mann-Whitney* foi aplicado nos casos de comparações entre as coletas de Junho e Dezembro. O nível de significância aceito foi de 5%

($P < 0,05$) em todos os testes e todas as análises foram efetuadas utilizando os programas XIStat 7.5 (correlação parcial) e BioEstat Versão 3.0 (ANOVA).

5. RESULTADOS

Morfometria branquial

A distribuição dos filamentos ao longo dos arcos branquiais de *Astyanax fasciatus* e de *Pimelodus maculatus* estão representados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

A Tabela II mostra os valores do volume dos arcos, a massa corporal assim como o número total de filamentos, o comprimento médio e o comprimento total dos filamentos de um indivíduo de *A. fasciatus* e *P. maculatus*. Quanto maior a massa do animal, maior o volume dos arcos branquiais e maior o número e o comprimento dos filamentos.

Tabela II. Massa corpórea(g), comprimento (cm), volume dos arcos branquiais, número e comprimento médio e total dos filamentos branquiais de um exemplar de *Astyanax fasciatus* e um de *Pimelodus maculatus* coletados na UHE de Furnas, MG.

Animais	Massa (g)	Comprimento (cm)	Volume total dos arcos Branquiais (cm ³)	Número total de filamentos	Comprimento Médio dos Filamentos (mm)	Comprimento Total dos Filamentos (mm)
<i>P. maculatus</i>	560	36,6	1,02	1816	6,3945	11.604,24
<i>A. fasciatus</i>	65	14,6	0,0275	798	2,19375	1.747,62

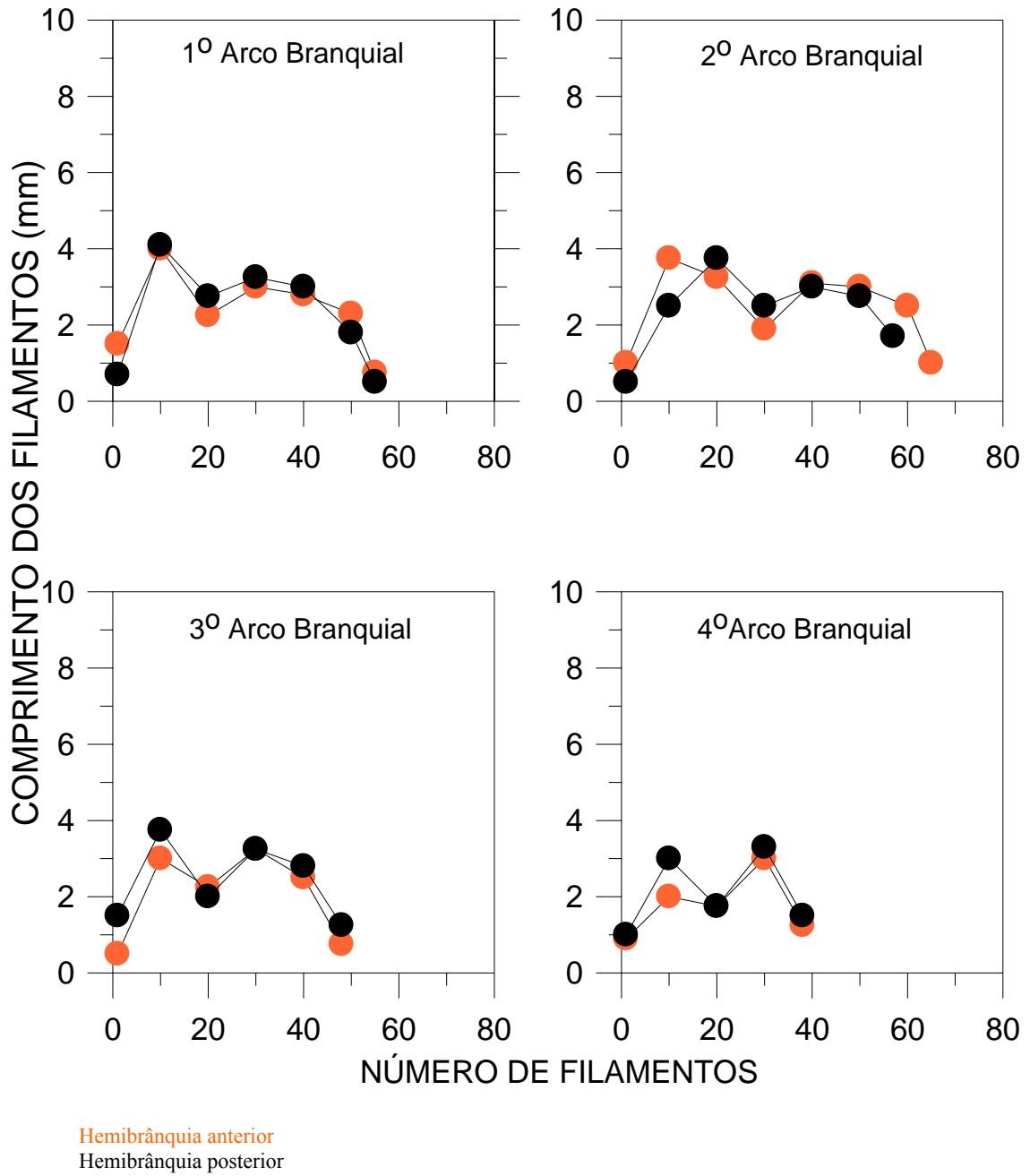


Figura 1: Comprimento dos filamentos dos quatro arcos branquiais das hemibrânquias anterior e posterior de *A. fasciatus* com 65g coletado na UHE de Furnas, MG.

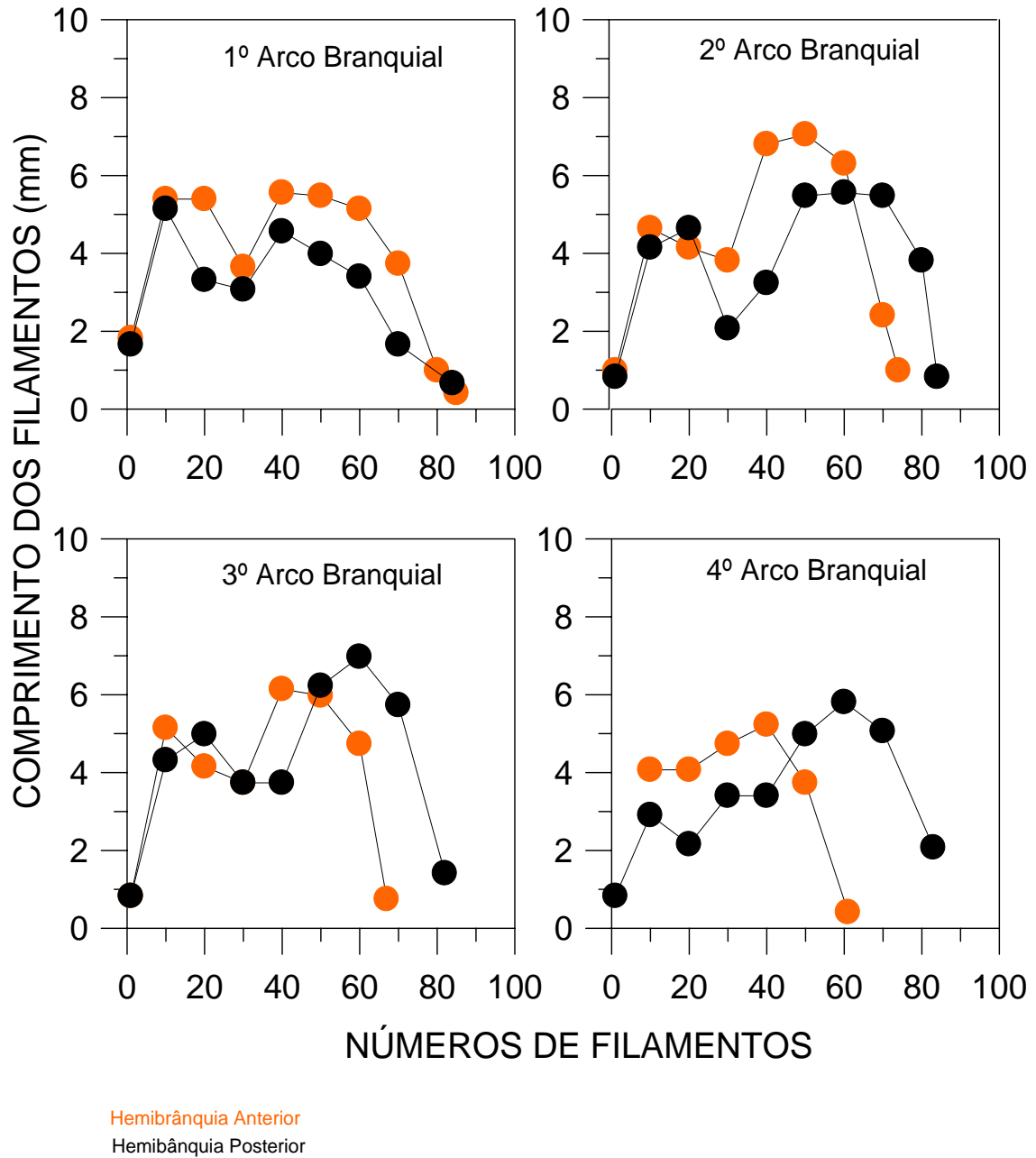


Figura 2: Comprimento dos filamentos dos quatro arcos branquiais das hemibrânquias anterior e posterior de *P. maculatus* com 560g coletado na UHE de Furnas, MG.

A Figura 3 mostra as características dos filamentos e lamelas das espécies *A. fasciatus* e *P. maculatus*.

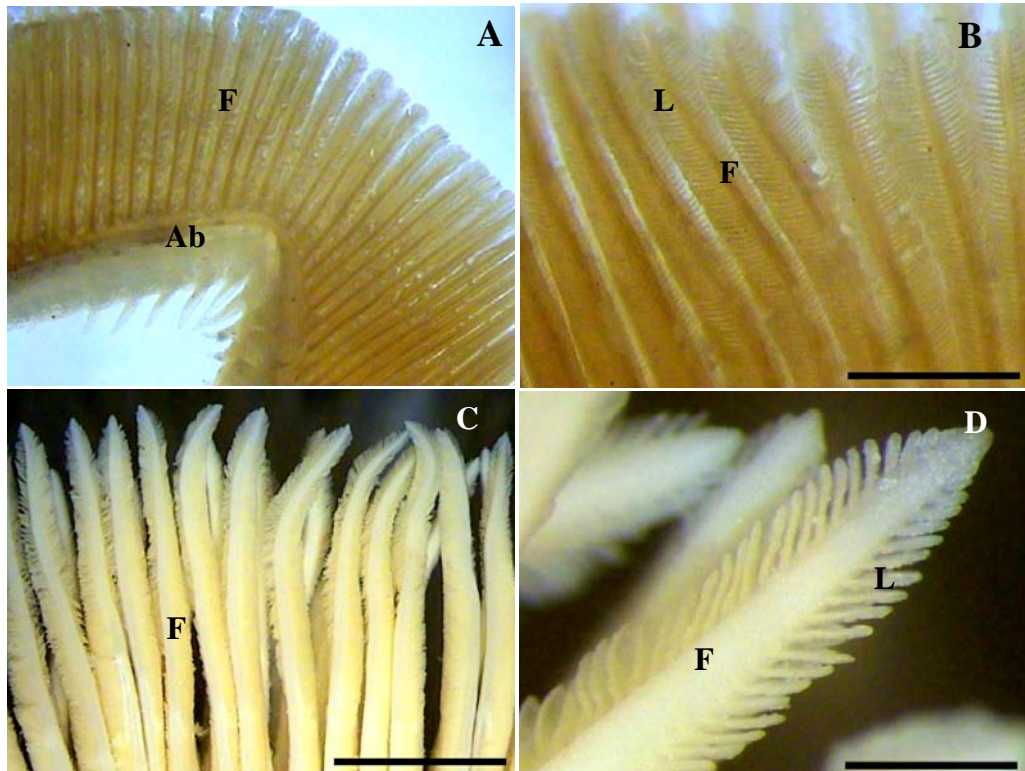


Figura 3. **A.** Fotomicrografia do primeiro arco de *A. fasciatus* mostrando a distribuição dos filamentos (F) pelo arco branquial (Ab). **B.** Fotomicrografia do segundo arco de *A. fasciatus* mostrando em detalhes a disposição das lamelas (L) nos filamentos branquiais (F). **C.** Fotomicrografia dos filamentos (F) de *P. maculatus*. **D.** Fotomicrografia do terceiro arco de *P. maculatus* mostrando detalhes da distribuição das lamelas (L) no filamento (F). Barra = 1mm.

Histopatologia

Astyanax fasciatus

A estrutura normal e as histopatologias das brânquias encontradas de *A. fasciatus* estão apresentadas nas Figuras 4 e 5. As alterações histopatológicas branquiais encontradas nos animais coletados nos diferentes locais (FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50) e suas respectivas freqüências nos meses de Junho e Dezembro estão apresentadas nas Tabelas III e IV respectivamente. As alterações mais freqüentes foram as de estágio de severidade I. No mês de Junho as mais freqüentes foram hipertrofia do epitélio lamelar; descolamento epitelial e proliferação de células de cloreto e durante o mês de Dezembro foram, hipertrofia do epitélio lamelar; hiperplasia do epitélio lamelar; proliferação de células de cloreto. Entre as alterações mais graves encontradas nas brânquias, consideradas de estágio II, estão aneurisma lamelar e ruptura epitelial (hemorragia) para o mês de Junho e para o mês de Dezembro foi ruptura do epitélio. Não foram encontradas alterações do estágio III nos animais coletados no diferentes locais de coleta durante os meses de Junho e Dezembro.

A análise histológica das brânquias de *A. fasciatus* mostrou que as alterações encontradas estão pontualmente localizadas neste órgão, já que o Valor Médio de Alteração (Figura 6: A) ficou em torno de 2 para os dois meses e não apresentou variações significativas entre os locais de coleta analisados nem entre os meses de Junho e Dezembro.

O índice de alteração histopatológica (IAH) das brânquias (Figura 6: B) não apresentaram variações significativas entre os locais de coleta e entre as coletas dos meses de Junho e Dezembro.

As brânquias dos lambaris coletados em FU10 (Turvo) e FU40 (Fama), embora consideradas funcionalmente normais, estavam nos limites superior da escala do índice e as dos lambaris coletados em FU20 (Guapé), FU30 (Barranco Alto) e FU50 (Porto Fernandes) foram classificadas como contendo lesões leves a moderadas, as quais comprometem o funcionamento normal do órgão. Em dezembro/2006, embora lesões tenham sido encontradas nas brânquias de todos os exemplares, estas foram classificadas como pertencentes ao primeiro estágio. Os índices calculados foram menores do que 10, o que indica que apesar das histopatologias observadas as brânquias apresentavam função normal, em Dezembro.

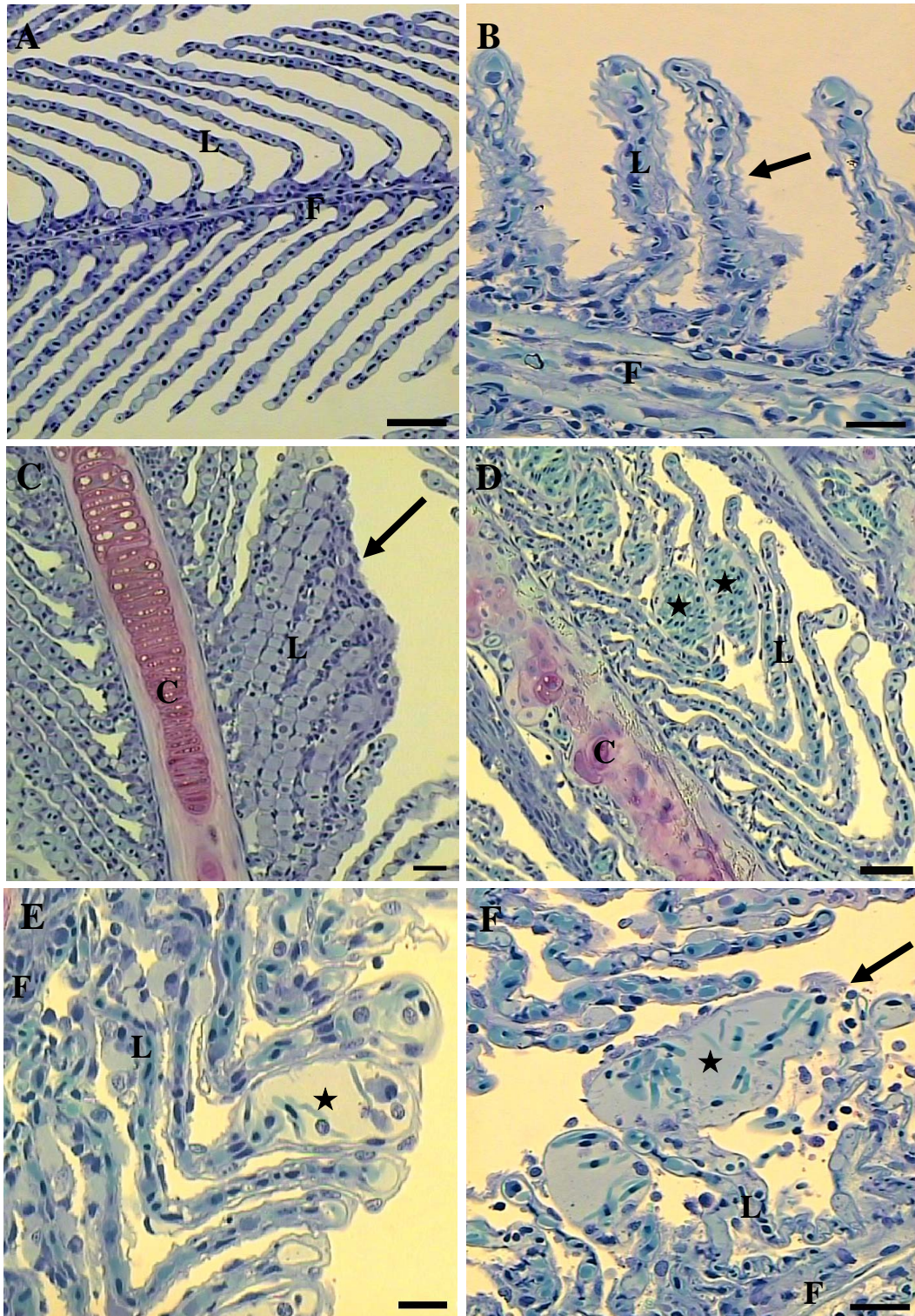


Figura 4. Histopatologias branquiais de *A. fasciatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Estrutura normal da brânquia; **B.** Hipertrofia do epitélio da lamela; **C.** Hiperplasia do epitélio e fusão lamelar; **D.** Congestão das lamelas (★); **E.** Aneurisma lamelar (★) e **F.** Aneurisma lamelar (★) e rompimento (seta). **L.** Lamela; **F.** Filamento. **C.** Cartilagem. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 µm.

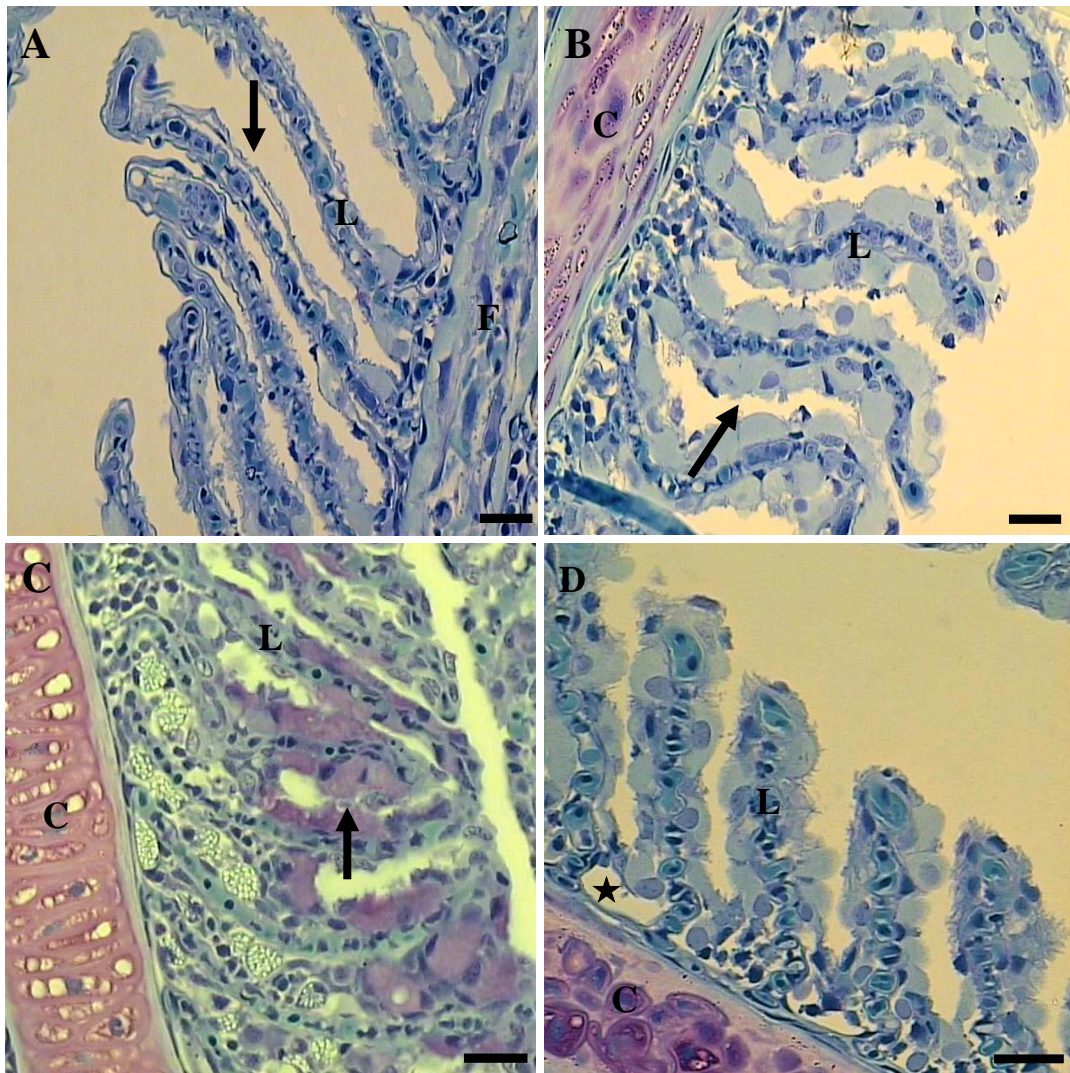


Figura 5. Histopatologias branquiais de *A. fasciatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Descolamento epitelial; **B.** Proliferação das células de cloreto; **C.** Proliferação de células mucosas e **D.** Edema (★). L. Lamela; F. Filamento. C. Cartilagem. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 μ m.

Tabela III. Frequência de alterações histopatológicas encontradas nas brânquias de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Junho de 2006.

Alteração	Estágio	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	+++	+++	+++	+++	+++
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	0+	0	0	0	0
Congestão vascular	I	0+	0+	0+	0+	0+
Dilatação capilar	I	0	0	0	0+	0+
Descolamento epitelial	I	++	+	++	++	+
Constricção capilar	I	0	0	0	0	0+
Proliferação de células cloreto	I	+	++	+	++	0+
Proliferação de células mucosas	I	0	0	0	0+	0
Fusão das lamelas	I	0+	0	0	0	0
Edema	I	+	0+	0+	0+	0
Aneurisma Lamelar	II	0+	0+	0+	0	+
Ruptura epitelial (hemorragia)	II	0+	++	++	+	+

0 = ausente; 0+ = raramente freqüente; + = freqüente; ++ = muito freqüente; +++ = extremamente freqüente

Tabela IV. Frequência de alterações histopatológicas encontradas nas brânquias de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Dezembro de 2006.

Alteração	Estágio	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	+++	+++	+++	+++	+++
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	+	+++	++	0	+
Congestão vascular	I	+	0+	0+	+	0
Dilatação capilar	I	0+	0+	0	0	0+
Descolamento epitelial	I	0+	0+	0+	+	0
Constricção capilar	I	0+	0	0+	0+	0+
Proliferação de células cloreto	I	0+	0+	+++	0+	+
Proliferação de células mucosas	I	0+	0	0	0+	0+
Fusão das lamelas	I	0	0+	0+	0	0+
Edema	I	0+	0+	0	0	0
Aneurisma Lamelar	II	0+	0+	0	0+	0+
Ruptura epitelial (hemorragia)	II	+	0	0+	0+	0

0 = ausente; 0+ = raramente freqüente; + = freqüente; ++ = muito freqüente; +++ = extremamente freqüente

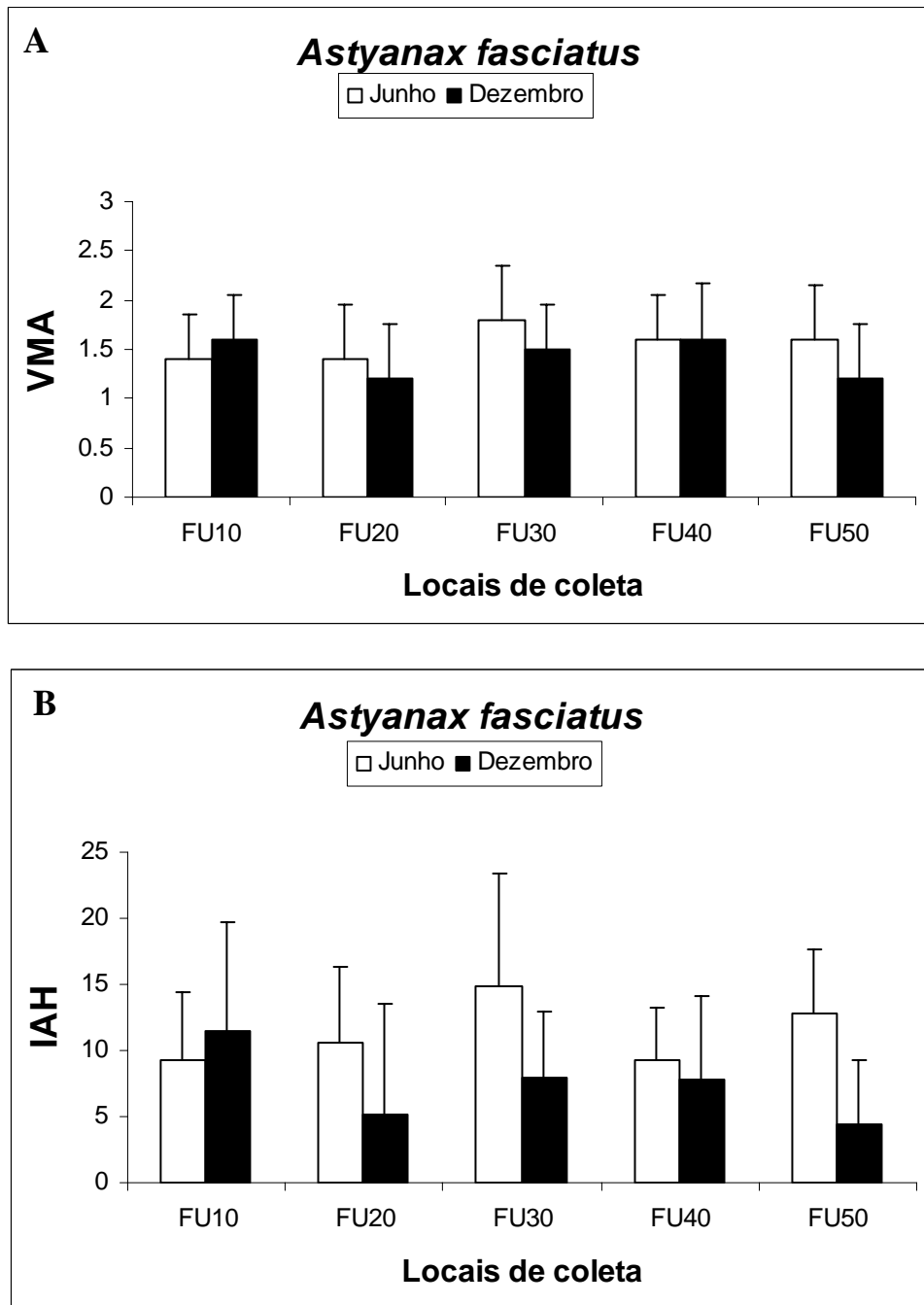


Figura 6. (A) Valores médios de alteração (VMA) e (B) índice de alteração histopatológica (IAH) das brânquias de *Astyanax fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro de 2006.

Pimelodus maculatus

A estrutura normal e as histopatologias das brânquias encontradas de *P. maculatus* são mostradas nas Figuras 7 e 8. As alterações histopatológicas branquiais encontradas nos animais coletados nos diferentes locais (FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50) e suas respectivas frequências nos meses de Junho e Dezembro estão apresentadas na Tabela V e VI, respectivamente. As alterações mais freqüentes foram as de estágio de severidade I. Para o mês de Junho as mais freqüentes foram hipertrofia do epitélio lamelar; hiperplasia do epitélio lamelar; congestão vascular; descolamento epitelial; constrição capilar; proliferação de células de cloreto e fusão das lamelas e para o mês de Dezembro as mais freqüentes foram hipertrofia do epitélio lamelar; hiperplasia do epitélio lamelar; descolamento epitelial; constrição capilar e proliferação de células de cloreto. Aneurisma lamelar foi a alteração mais grave encontrada nas brânquias dos animais estudados, consideradas de estágio II, ocorrendo especialmente no mês de Dezembro.

A análise histológica das brânquias de *P. maculatus* mostrou que as alterações encontradas estão pontualmente localizadas neste órgão, já que o VMA (Figura 9: A) ficou em torno de 2 para os dois meses e não apresentou variações significativas entre os locais de coleta analisados nem entre os meses de Junho e Dezembro.

O índice de alteração histopatológica (IAH) das brânquias (Figura 9: B) não apresentou variação significativa entre os locais de coleta e entre as coletas dos meses de Junho e Dezembro.

Em *P. maculatus* (mandi) o IAH indicou lesões leves a moderadas em FU20 (Guapé), FU30 (B. Alto) e FU50 (P. Fernandes) em junho, e em Dezembro, as brânquias dos exemplares coletados, apesar das lesões encontradas, indicavam funcionamento normal.

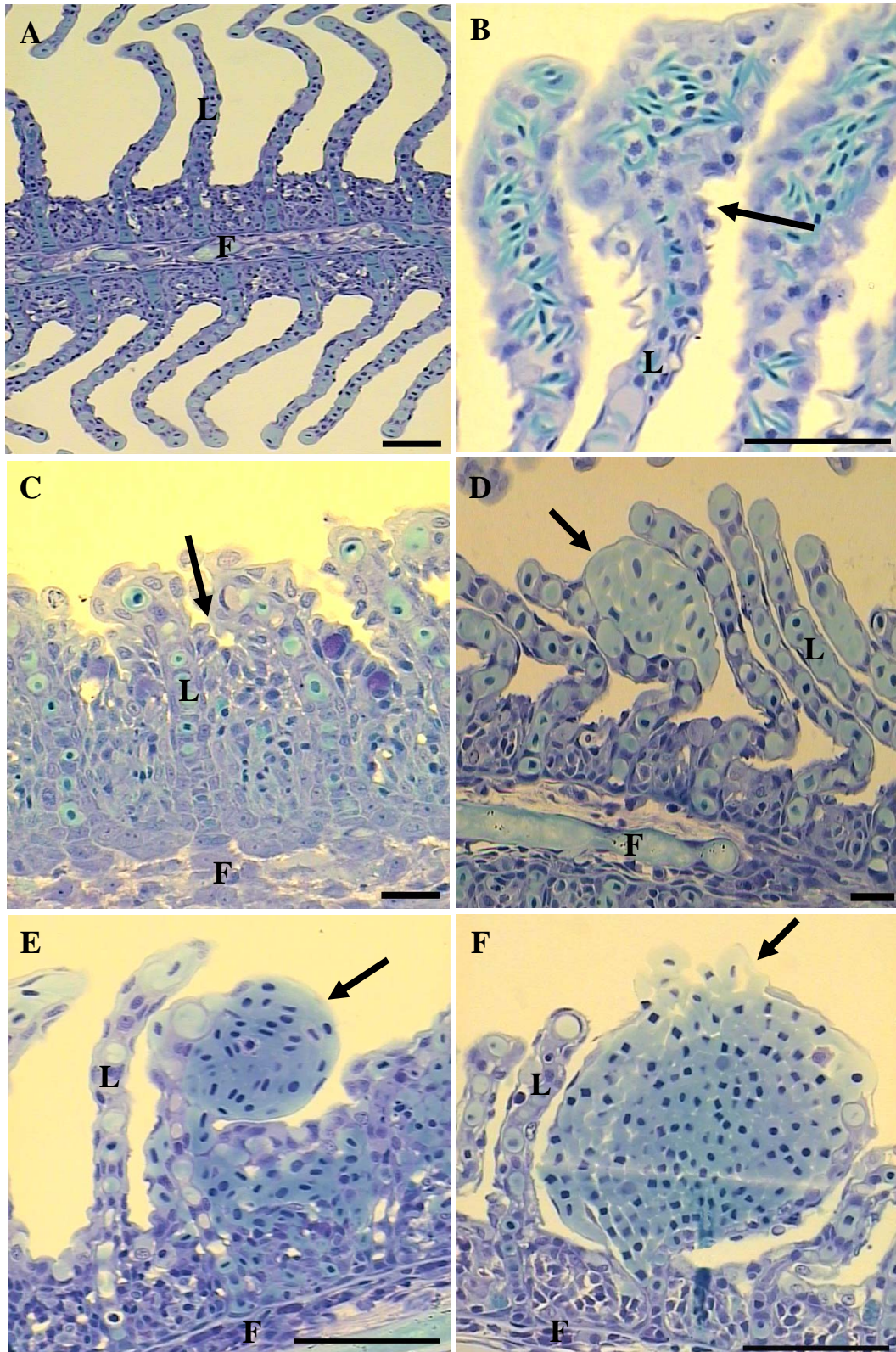


Figura 7. Histopatologias branquiais de *P. maculatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Estrutura normal da brânquia; **B.** Hipertrofia do epitélio lamelar; **C.** Hiperplasia do epitélio e fusão lamelar; **D.** Congestão das lamelas (★); **E.** Aneurisma lamelar (★) e **F.** Aneurisma lamelar (★) e rompimento (seta). L. Lamela; F. Filamento. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 μ m.

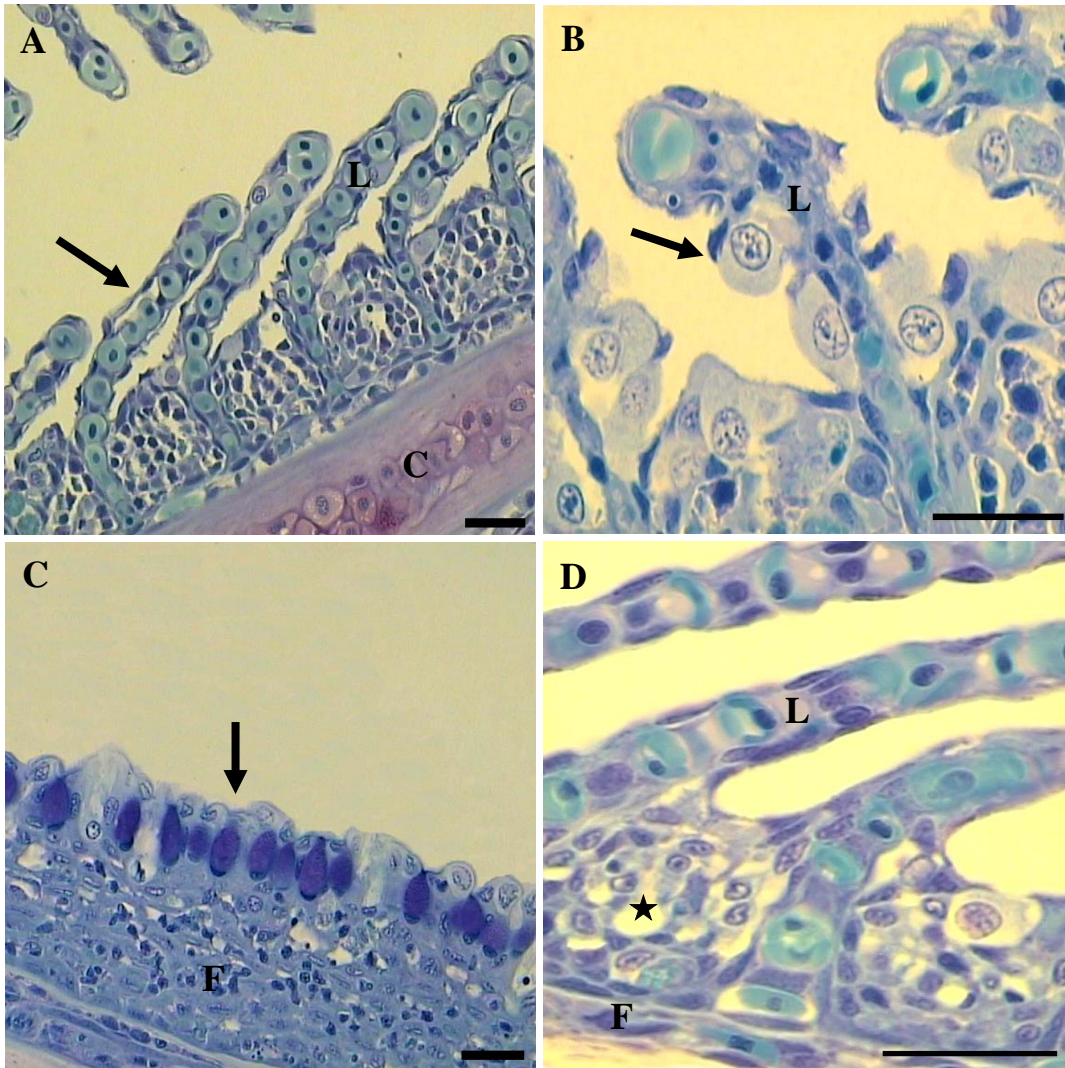


Figura 8. Histopatologias branquiais de *P. maculatus* coletados em FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006. **A.** Descolamento epitelial; **B.** Proliferação das células de cloreto; **C.** Proliferação de células mucosas e **D.** Edema (★). **L.** Lamela; **F.** Filamento. Glutaraldeído, Azul de Toluidina. Escala = 20 μ m.

Tabela V. Frequência de alterações encontradas nas brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Junho de 2006.

Alteração	Estágio	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	+++	+++	+++	+++	+++
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	+	+++	+	0	+
Congestão vascular	I	0	+	0+	0+	0+
Dilatação capilar	I	+	0	0	0	+
Descolamento epitelial	I	0	+	+++	0+	0
Constrição capilar	I	+++	+	0+	0+	0+
Proliferação de células cloreto	I	++	+	++	0+	+++
Proliferação de células mucosas	I	0	0+	0+	0+	0+
Fusão das lamelas	I	+	+++	0+	0	0+
Edema	I	0	0+	0+	0+	0
Aneurisma Lamelar	II	+	0+	0+	0	0+
Ruptura epitelial (hemorragia)	II	0	0+	0+	0	0+

0 = ausente; 0+ = raramente freqüente; + = freqüente; ++ = muito freqüente; +++ = extremamente freqüente

Tabela VI. Frequência de alterações encontradas nas brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) durante o mês de Dezembro de 2006.

Alteração	Estágio	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	+++	+++	+++	+++	+++
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	+	+++	++	0	++
Congestão vascular	I	0	+	0+	+	0+
Dilatação capilar	I	+	0	0	0	0+
Descolamento epitelial	I	0	+	+++	0+	0
Constrição capilar	I	+++	+	+	0	++
Proliferação de células cloreto	I	++	+	++	0+	+++
Proliferação de células mucosas	I	0	0+	0	0+	+
Fusão das lamelas	I	+	++	0+	0	0+
Edema	I	0	0+	0+	0+	0
Aneurisma Lamelar	II	+	+	+	0	+
Ruptura epitelial (hemorragia)	II	0	0+	0+	0	0+

0 = ausente; 0+ = raramente freqüente; + = freqüente; ++ = muito freqüente; +++ = extremamente freqüente

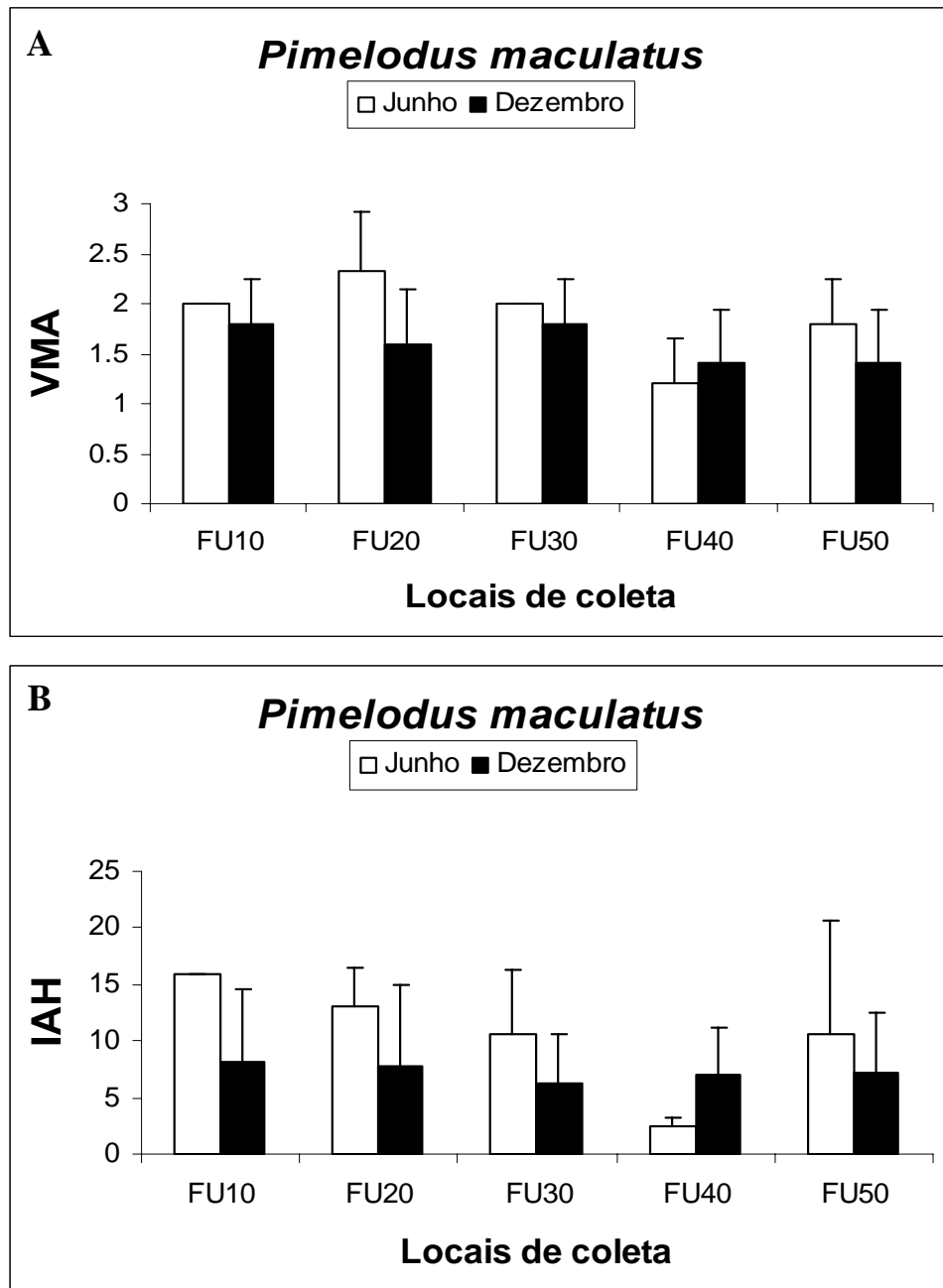


Figura 9. (A) Valores médios de alteração (VMA) e (B) índice de alteração histopatológica (IAH) das brânquias de *Pimelodus maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro de 2006.

Células de cloreto

Astyanax fasciatus

Duas populações de CC, fracamente imunocoradas no filamento (CCFC) e lamela (CCLC) e fortemente imunocoradas no filamento (CCFE) e lamela (CCLE) foram identificadas no epitélio das brânquias de *A. fasciatus* (Figura 6). A densidade das células imunorreativas a Na⁺/K⁺-ATPase no filamento e lamelas das brânquias de *A. fasciatus* são mostradas na Tabela VII e Figura 10.

Tabela VII. Valores médios (média ± erro) de CC (mm³) no filamento (CCFC) claras e (CCFE) escuras e lamelas (CCLC) claras e (CCLE) escuras das brânquias de *A. fasciatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) de 2006 (n = 5 em cada local de coleta). a: indica diferença em relação a FU10; b: indica diferença em relação a FU20; c: indica diferença em relação a FU30; d: indica diferença em relação a FU40; e: indica diferença em relação a FU50; ★: indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 (p < 0,05).

Locais de coleta (A)	Tipos celulares			
	CCFC	CCFE	CCLC	CCLE
FU10	1800,53±245,73 (d)	10020,26±1797,04	1231,44±208,48 (b,c,d,e)	3563,99±689,52
FU20	1236,66±184,69	12301,97±685,11	636,66±79,40 (a)	3950,81±565,80
FU30	1961,86±332,19 (d,e)	10691,02±1414,28	773,14±189,70 (a,d)	3919,79±856,42
FU40	846,64±124,51 (a,c)	12409,1±811,72	358,714±81,03 (a,c)	3589,82±736,44
FU50	978,54±174,30 (c)	8881,56±1401,66	643,37±59,90 (a)	2892,82±531,62

Locais de coleta (B)	Tipos celulares			
	CCFC	CCFE	CCLC	CCLE
FU10	816,84±120,91 ★	15331,82±2345,28 (c,e)	208,52±37,07 ★	2579,27±471,32
FU20	624,10±130,46	10295,04±2509,38	286,68±39,02 (a)	2335,68±443,80
FU30	513,74±42,42 ★	3618,45±555,08	204,41±29,89 ★	871,64±198,21 ★
FU40	619,12±91,66	11550,92±1942,18 (c)	230,15±50,59	2066,59±408,42
FU50	610,62±93,56	8232,75±945,04 (a)	173,18±37,36 ★	2334,66±769,89

O número de CC tanto claras quanto escuras foram maiores no filamento em comparação com as lamelas nos peixes coletados em todos os locais de coleta. No mês de Junho, o número de CCFC em FU30 foi maior em relação à FU40 e a FU50 e menor em FU40 em relação à FU10 e a FU30. O número de CCLC foi maior em FU10 em relação à todos os locais de coleta e o local FU30 foi maior em relação a FU40. As CCFE e CCLE não apresentaram diferença significativa entre os locais de coleta. No mês de Dezembro o número de CCFE foi maior em FU10 em relação a FU30 e a FU50 e maior em FU40 em relação a FU30. O número de CCLC foi maior em FU20 em relação a FU10. CCFC e CCLE não apresentaram diferença significativa entre os locais de coleta. Já entre os meses de Junho e

Dezembro, houve uma diminuição significativa das CCFC em FU10 e em FU30, uma diminuição significativa das CCLC em FU10, FU30 e FU50 e, também, uma diminuição significativa das CCLE em FU30 (Figura 11: A e B).

A análise de correlação parcial mostrou uma interação negativa entre as células cloreto escuras na lamela e a condutividade da água ($CCLE = 10177,54 - 214,21$ *Condutividade; $R^2 = 91,8\%$; $p < 0,01$) no mês de Dezembro.

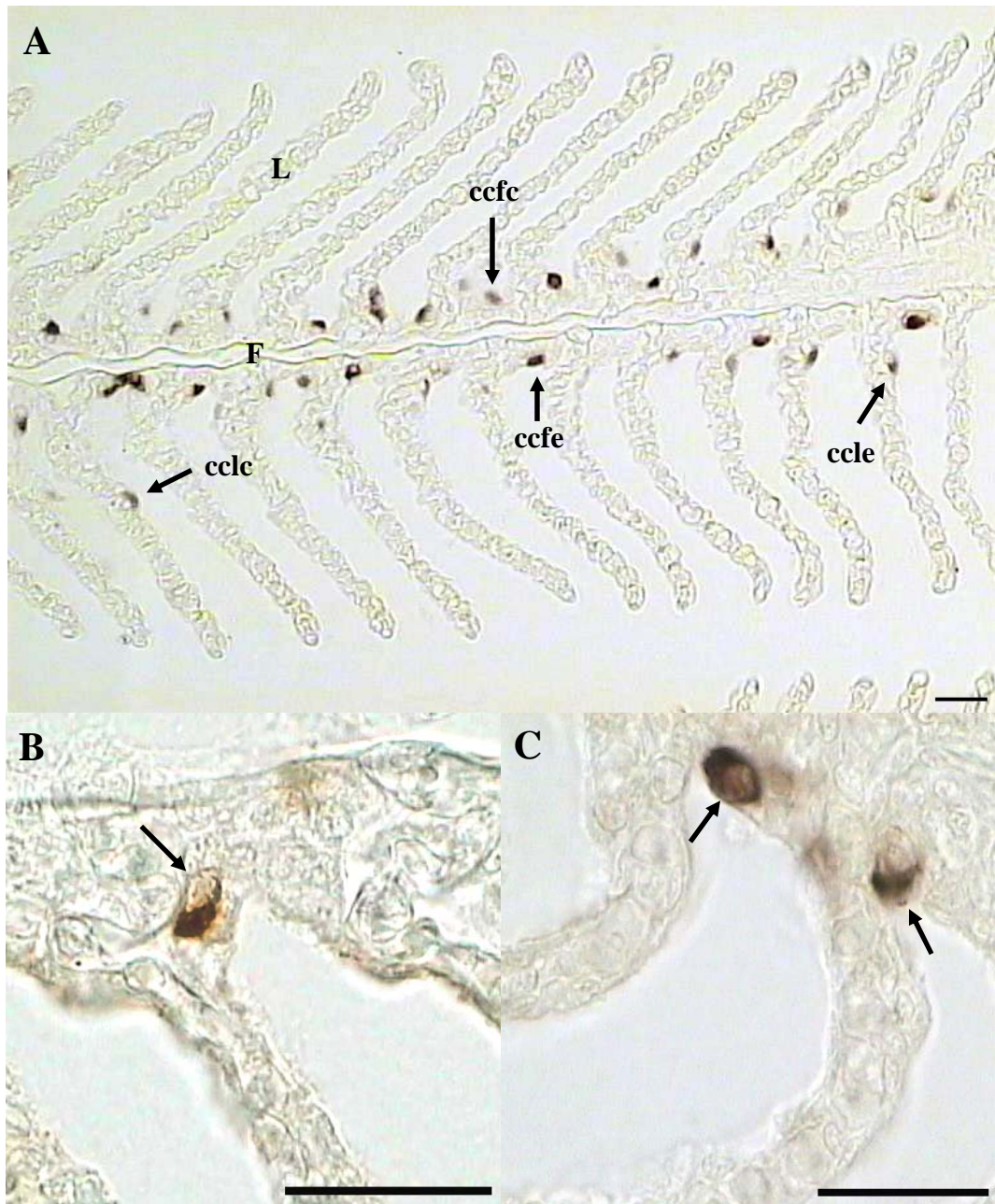


Figura 10. Imunohistoquímica para identificação de células cloreto nos filamentos e lamelas de *Astyanax fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. **A.** As setas indicam células cloreto fortemente coradas no filamento (CCFE); células cloreto coradas fracamente no filamento (CCFC); células cloreto fracamente coradas na lamela (CCLC) e células cloreto fortemente coradas na lamela (CCLE). **B e C.** Detalhe do núcleo e citoplasma das células de cloreto (setas). **F.** Filamento; **L.** Lamela. Cortes em 8 μ m. Barra = 20 μ m.

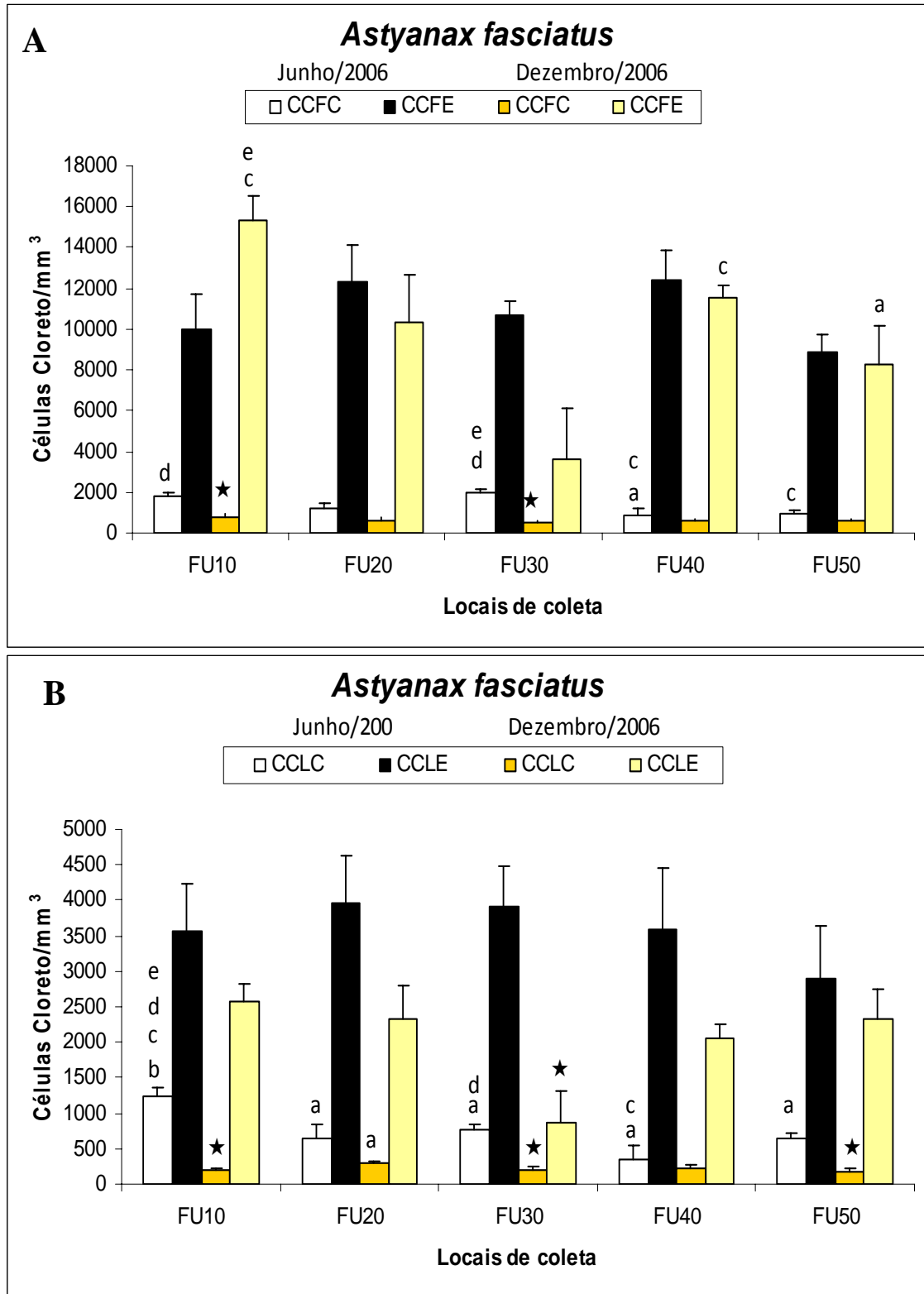


Figura 11. Células cloreto/mm³ fortemente ou fracamente imunocoradas de *A. fasciatus* coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro de 2006. **A.** Células cloreto no filamento fracamente corada (CCFC); célula cloreto no filamento fortemente coradas (CCFE) e **B.** célula cloreto na lamela fracamente corada (CCLC) e célula cloreto na lamela fortemente corada (CCLE). **a; b; c; d; e:** indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50 respectivamente. **★:** indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 ($p < 0,05$).

Pimelodus maculatus

Duas populações de CC, fracamente imunocoradas no filamento (CCFC) e lamela (CCLC) e fortemente imunocoradas no filamento (CCFE) e lamela (CCLE) também foram identificadas no epitélio das brânquias (Figura 12) de *P. maculatus*. A densidade das células imunorreativas a Na⁺/K⁺-ATPase no filamento e lamelas das brânquias de *P. maculatus* são mostradas na Tabela VIII e Figura 12.

Tabela VIII. Valores médios (média ± erro) de CC/mm³ no filamento (CCFC) fracamente imunocoradas e (CCFE) fortemente imunocoradas e lamelas (CCLC) fracamente imunocoradas e (CCLE) fortemente imunocoradas das brânquias de *P. maculatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) de 2006 (n = 5 em cada local de coleta). a: indica diferença em relação a FU10; b: indica diferença em relação a FU20; c: indica diferença em relação a FU30; d: indica diferença em relação a FU40; e: indica diferença em relação a FU50; ★: indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 (p < 0,05).

Locais de Coleta (A)	Tipos celulares			
	CCFC	CCFE	CCLC	CCLE
FU10	317,11±0,001	4641,34±0,001	57,66±0,001 (c,d,e)	418,01±0,001
FU20	545,03±78,78	6618,91±428,45	129,80±38,54	536,48±191,07
FU30	491,94±68,51	6446,22±832,92	173,09±21,35 (a)	1264,88±334,56
FU40	405,56±48,58	6027,77±857,22	199,82±22,61 (a)	1335,83±225,30
FU50	543,94±41,53	5673,07±247,63	189,18±32,27 (a)	1238,49±351,14

Locais de Coleta (B)	Tipos celulares			
	CCFC	CCFE	CCLC	CCLE
FU10	465,49±108,06	7505,38±1579,05	116,12±7,08	1657,76±394,48 ★
FU20	479,93±69,36	7342,17±722,40	109,64±42,97	813,72±374,68
FU30	357,58±42,04	5665,43±508,47	156,69±21,29	1160,45±245,91
FU40	371,71±37,42	5108,43±882,25	113,44±12,55	622,30±111,00
FU50	410,01±49,90	4795,22±416,50	102,45±25,00	655,31±119,77

O número de células cloreto no filamento foi maior que o número de células cloreto na lamela em Junho e Dezembro. Durante o mês de Junho, não houve diferença significativa entre os locais de coleta e os tipos celulares CCFC, CCFE, CCLE. Diferença significativa foi observada somente em FU30, FU40 e FU50 que foram elevados em comparação com FU10. No mês de Dezembro também não foi observado diferença significativa entre os locais de coleta. A comparação entre os meses de Junho e Dezembro revelou um aumento significativo de células cloreto fortemente corado na lamela no local FU10 (Figura 14: A e B).

A análise de correlação parcial mostrou uma correlação positiva entre o número de células cloreto claras no filamento e a concentração de cloreto na água ($CCFC = 363,86 + 52,02 * \text{Cloreto}$; $R^2 = 98,3\%$; $p < 0,01$) no mês de Dezembro.

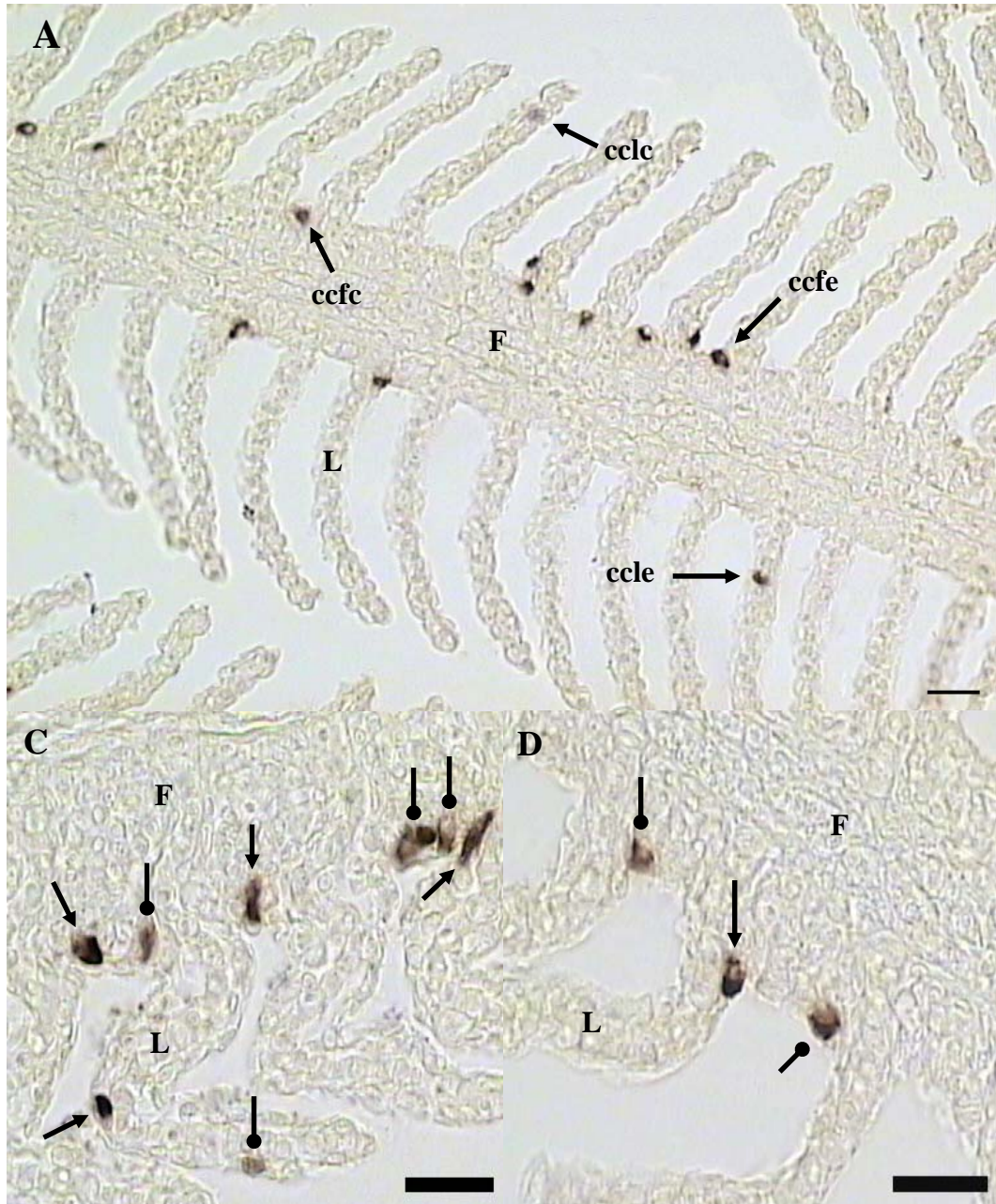


Figura 12. Imunohistoquímica contra $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ para identificação de células cloreto nos filamentos e lamelas de *Pimelodus maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. **A.** As setas indicam células cloreto fortemente coradas no filamento (CCFE); células cloreto coradas fracamente no filamento (CCFC); células cloreto fracamente coradas na lamela (CCLC) e células cloreto fortemente coradas na lamela (CCLE). **B e C.** Detalhe do núcleo e citoplasma das células de cloreto escuras (cabeça de seta) e claras (cabeça de seta redonda). **F.** Filamento; **L.** Lamela. Cortes em $8\mu\text{m}$. Barra = $20\mu\text{m}$.

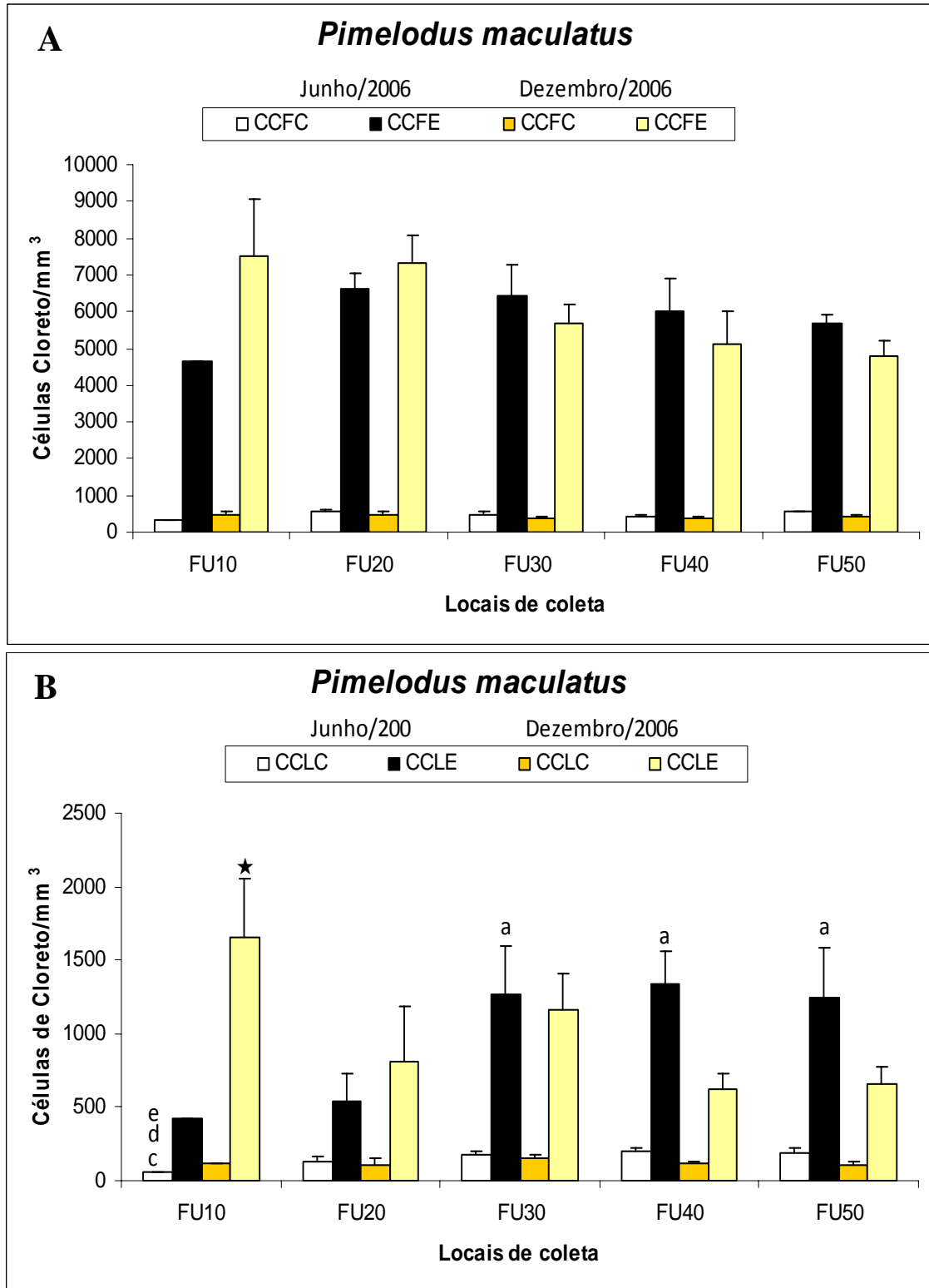


Figura 13. Células cloreto/mm³ fortemente ou fracamente imunocoradas de *P. maculatus* coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro de 2006. **A.** Células cloreto no filamento fracamente imunocoradas (CCFC); célula cloreto no filamento fortemente imunocoradas (CCFE) e **B.** célula cloreto na lamela fracamente imunocoradas (CCLC) e célula cloreto na lamela fortemente imunocoradas (CCLE). **a; b; c; d; e:** indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50 respectivamente. **★:** indica diferença entre a coleta de junho e a coleta dezembro de 2006 ($p < 0,05$).

Células mucosas (CM)

Astyanax fasciatus

Glicoproteínas constituídas por açúcares com diferentes propriedades foram identificados histoquimicamente nas CM das brânquias de *A. fasciatus* coletados nos diferentes locais da UHE de Furnas. A Tabela VIII e Figura 14 e 15 mostram, respectivamente, as mucosubstâncias encontradas nas CM destas espécies.

Durante o mês de Junho, o número de CM contendo mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS) foi mais alto em FU20 em relação aos locais FU10 e FU50. Em Dezembro o número destas células foi mais elevado em FU30 em relação à FU40, e as CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0) foi mais elevado em FU40 em relação à FU30. Comparando os meses de Junho e Dezembro, houve um aumento significativo das CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0) em FU40 e FU50 no mês de Dezembro. As CM contendo mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS) apresentaram um aumento significativo em FU10 e FU50 e uma diminuição significativa em FU20 no mês de Dezembro (Figura 15). As CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5) apresentaram um aumento significativo em FU10, e as CM com mucosubstâncias sulfatadas, ácidas e hexoses e ácidos siálicos (AB pH 2,5 + PAS) apresentaram uma diminuição significativa em FU20 e FU40 em Dezembro (Figuras 16 e 17).

Tabela IX. Células mucosas por mm³ das brânquias de *Astyanax fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos da UHE de Furnas (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes). **A.** Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5); mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 2,5 + PAS) e mucosubstâncias contendo hexoses e ácidos siálicos. **B.** Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS) e mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS).

(A) Células mucosas/mm³		Locais de coleta				
Tipos de mucosubstâncias	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50	
Junho						
AB pH 2,5	36345.87 ± 7464.28	70346.84 ± 6910.44	44650.70 ± 11077.23	57156.81 ± 6854.96	65070.83 ± 11737.08	
AB pH 2,5 + PAS	49633.61 ± 5323.74	63702.98 ± 3913.04	41328.77 ± 2236.54	46409.37 ± 3868.26	47777.23 ± 9250.19	
PAS	36345.87 ± 7464.28	70346.84 ± 6910.44	44650.70 ± 11077.23	57156.81 ± 6854.96	65070.83 ± 11737.08	
Dezembro						
AB pH 2,5	65657.05 ± 3558.49*	72887.15 ± 2410.14	62432.82 ± 3500.33	77088.42 ± 9798.93	72594.04 ± 4452.23	
AB pH 2,5 + PAS	45823.15 ± 2743.55	38397.65 ± 1212.47*	44162.18 ± 3964.54	35955.05 ± 3561.84*	32340.00 ± 2769.52	
PAS	65657.05 ± 3558.49	72887.15 ± 2410.14	62432.82 ± 3500.33	77088.42 ± 9798.93	72594.04 ± 4452.23	

(B) Células mucosas/mm³		Locais de coleta				
Tipos de mucosubstâncias	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50	
Junho						
AB pH 1,0	20810.94 ± 3598.50	15730.33 ± 3375.38	12994.62 ± 2315.19	9184.17 ± 944.75	7914.02 ± 1230.06	
AB pH 1,0 + PAS	31362.97 ± 2841.82 ^b	60771.86 ± 6430.3 ^{ac}	45920.85 ± 6893.15	38593.06 ± 3027.24	24425.98 ± 1582.98 ^b	
PAS	63214.46 ± 3072.63	66243.28 ± 4699.95	62139.71 ± 5414.42	57254.51 ± 9051.99	42012.70 ± 3691.47	
Dezembro						
AB pH 1,0	17879.82 ± 2076.06	16414.26 ± 854.56	19443.0874 ± 2329.57 ^d	12408.40 ± 249.09 ^{c*}	16609.67 ± 3331.26*	
AB pH 1,0 + PAS	54030.28 ± 1404.01*	46213.97 ± 3504.42*	61455.78 ± 4348.64 ^e	35661.94 ± 1113.99	43771.37 ± 7366.12c*	
PAS	69662.92 ± 3521.41	58426.96 ± 3497.61	66829.50 ± 5080.13	59599.41 ± 5435.53	57840.74 ± 2299.67	

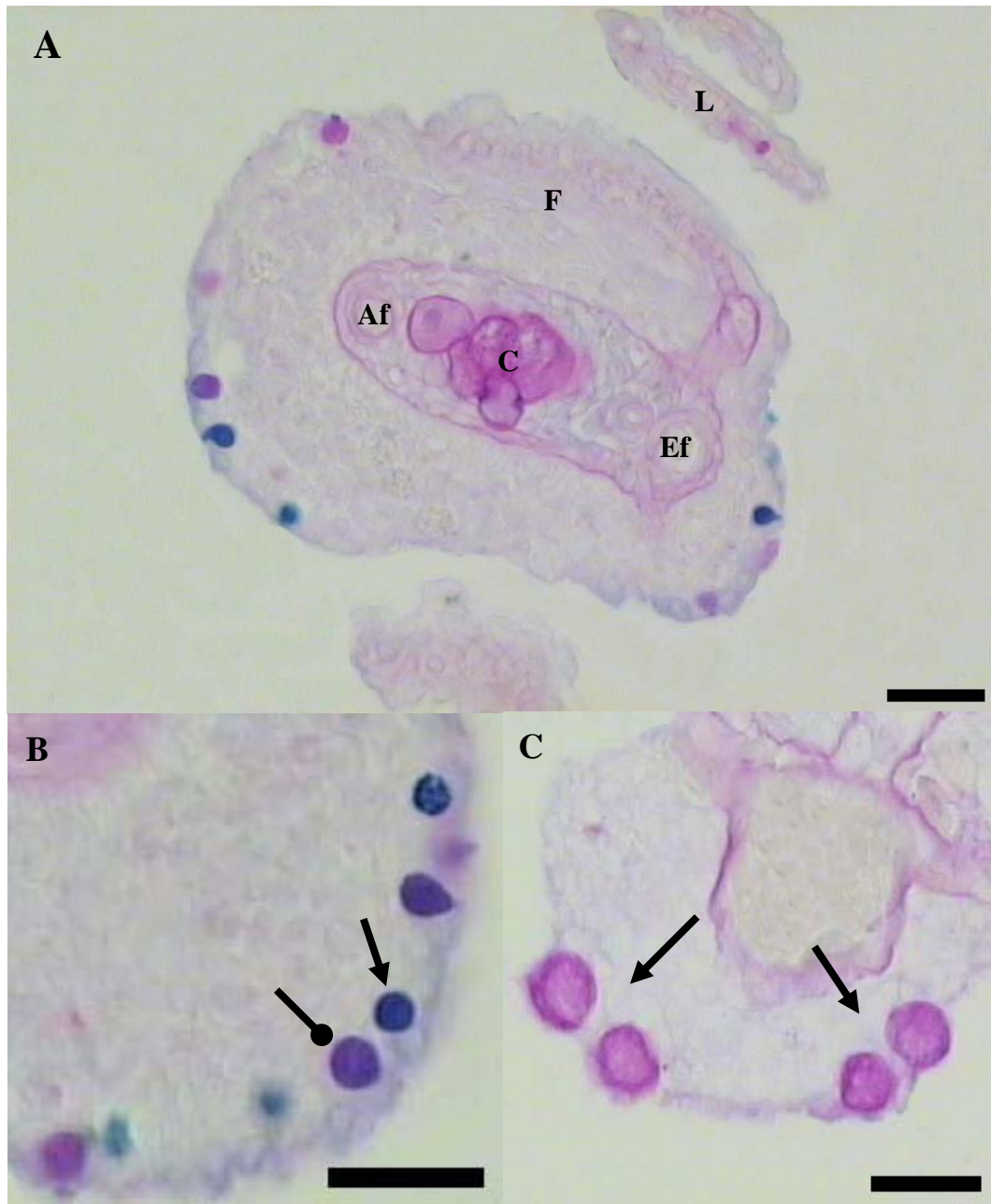


Figura 14. Células mucosas (CM) de *Astyanax fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 2,5 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos (AB pH 2,5 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (C); Filamento (F); Arteria aferente (Af) e Artéria eferente (Ef). Bouin. Azul de alcian pH 2,5; azul de alcian pH 2,5 + PAS. Barra = 20 micras.

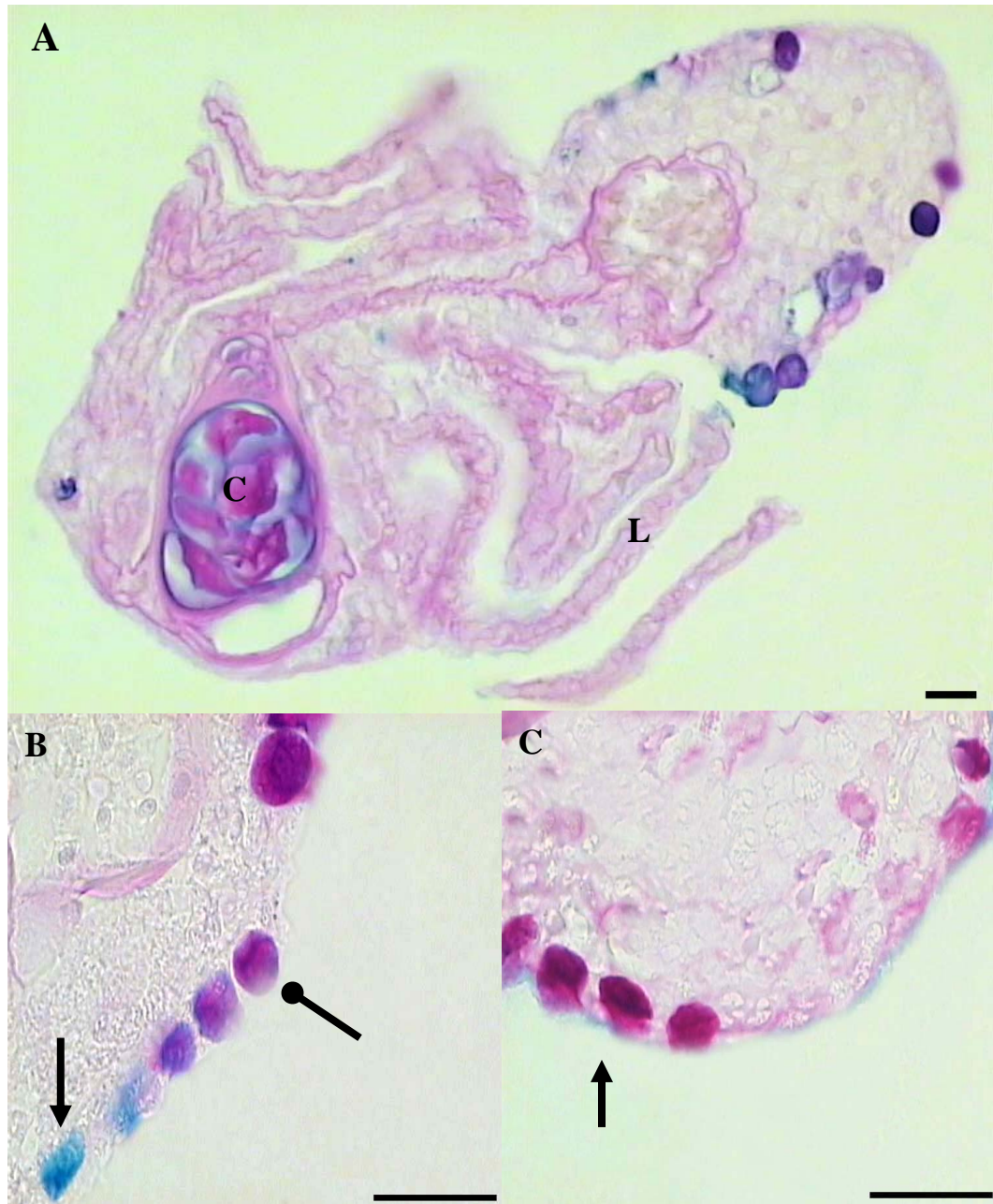


Figura 15. Células mucosas (CM) de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 1,0 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (C); Filamento (F). Bouin. Azul de alcian pH 1,0; azul de alcian pH 1,0 + PAS. Barra = 20 micras.

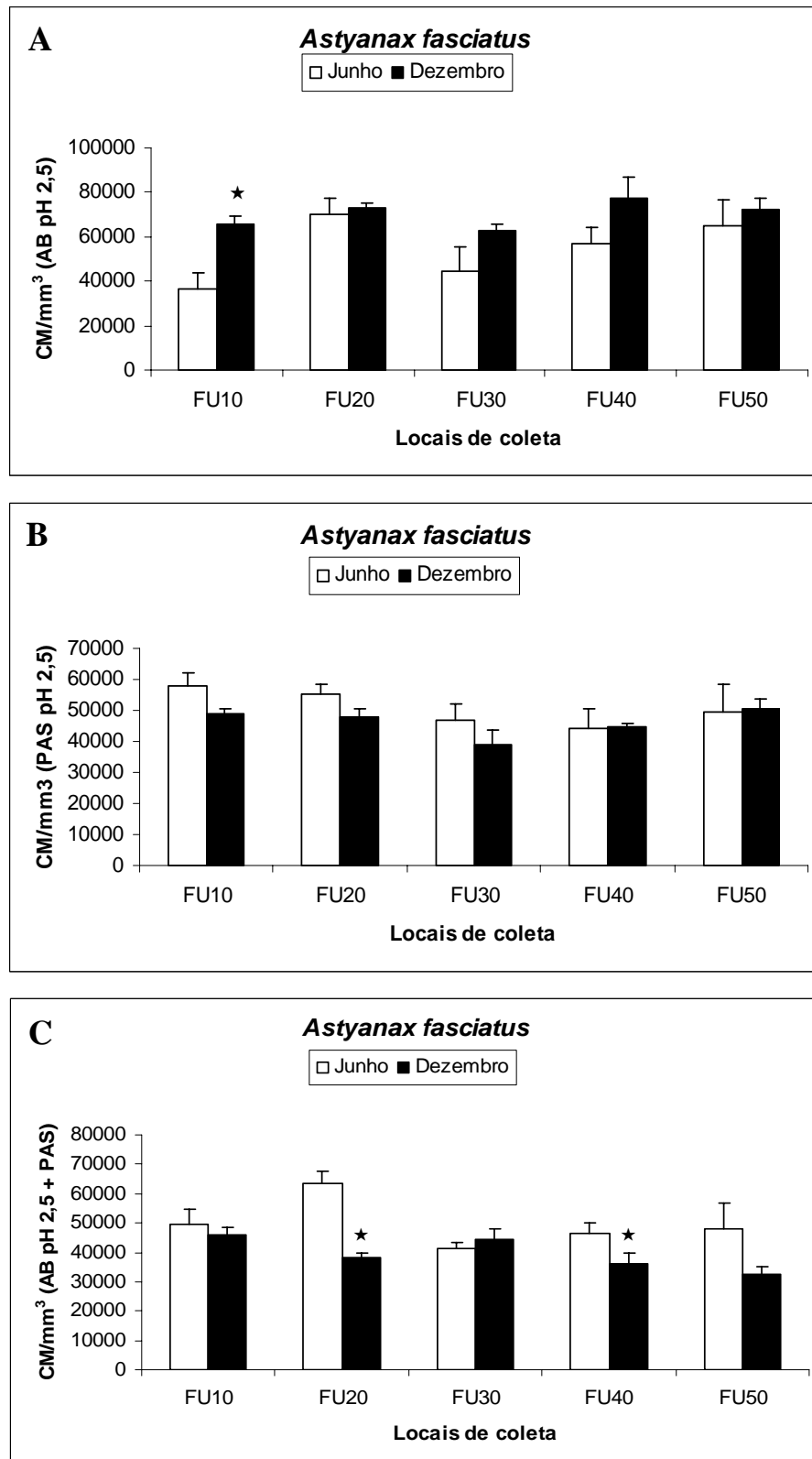


Figura 16. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). A. Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5). B. Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e C. Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos.

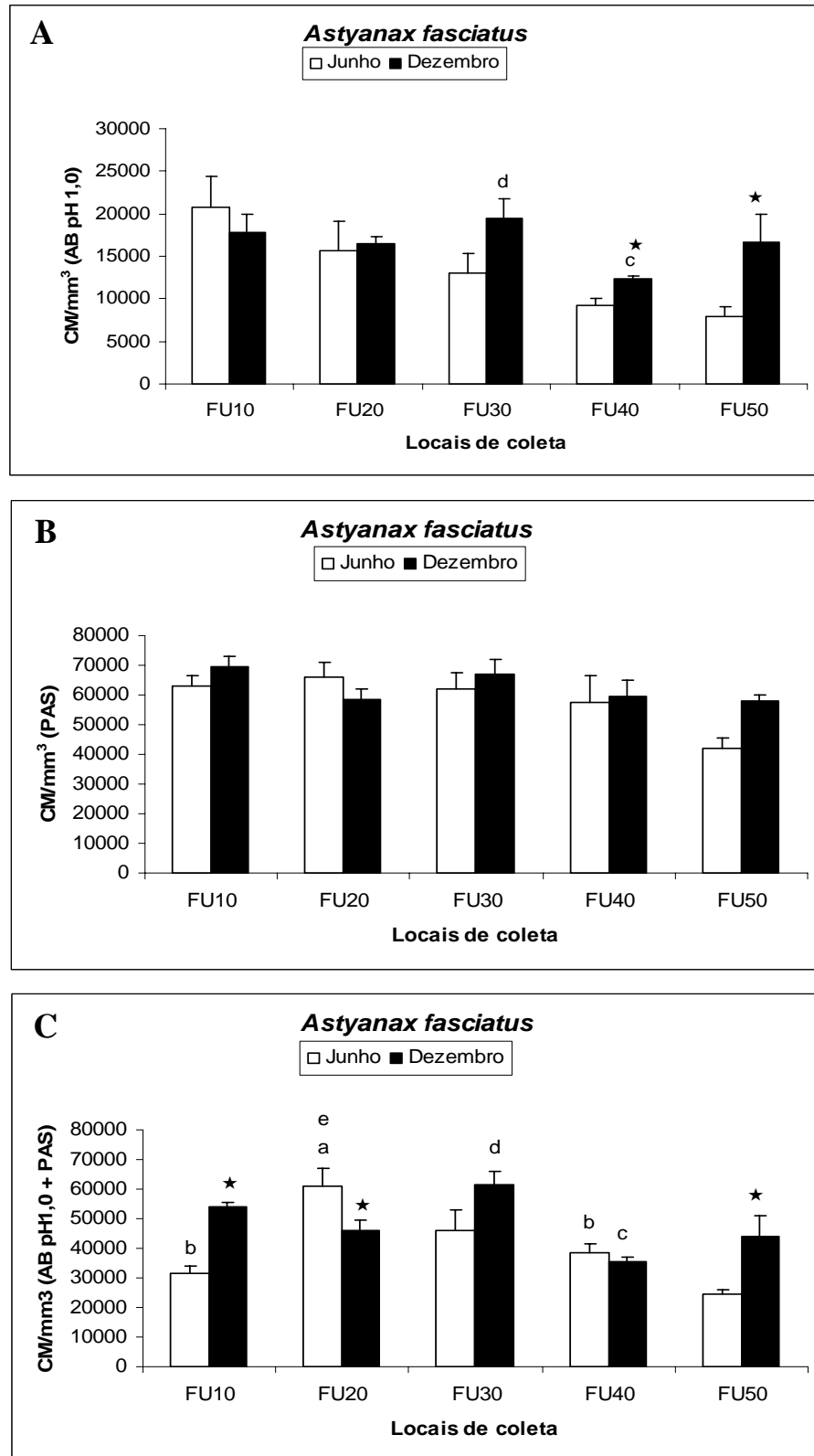


Figura 17. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). A. Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0). B. Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e C. Mucosubstâncias sulfatadas e hexoses e ácidos siálicos.

Pimelodus maculatus

Glicoproteínas constituídas por açúcares com diferentes propriedades foram identificados histoquimicamente nas CM das brânquias de *P. maculatus* coletados nos diferentes locais da UHE de Furnas. A Tabela X e Figuras 18 e 19 mostram, respectivamente, as mucosubstâncias encontradas nas CM desta espécie.

No mês de Junho, o número de CM com mucosubstâncias sulfatadas foi mais alto em FU10 e FU50 em relação a FU40, as CM com mucosubstâncias contendo hexoses e ácidos siálicos em FU40 foi mais alto em relação a FU10, as CM contendo mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos foi mais alto em FU40 em relação a FU20, já durante o mês de Dezembro, as CM contendo mucosubstâncias sulfatadas foi mais alto em FU50 em relação a FU10 (Figura 20). As CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas apresentou um aumento significativo em FU20 e FU50 em relação a FU10 e as CM contendo mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos foi mais alta em FU50 em relação a FU10 (Figura 21). A comparação entre os dois meses apresentou um aumento das CM com mucosubstâncias sulfatadas em FU30 e FU50, uma diminuição significativa em FU40 e um aumento em FU50 das CM contendo mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos, um aumento em FU20 e uma diminuição em FU40 das CM contendo mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos, uma diminuição em FU10 e um aumento significativo em FU20 das CM com mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, uma diminuição em FU10 das CM contendo mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos e uma diminuição em FU10 e um aumento em FU50 das CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos.

A análise de correlação parcial apontou uma interação negativa entre o número de células mucosas contendo mucosubstâncias sulfatadas e não sulfatadas e mucosubstâncias contendo hexoses e ácidos siálicos e a dureza cálcio da água ($PAS = 181862,58 - 4719,89 * DC$; $R^2 = 78\%$; $p < 0,02$ e $AB \text{ pH } 2,5 = 143454,12 - 4113,53 * DC$; $R^2 = 92\%$; $p < 0,002$) no mês de Junho e no mês de Dezembro apontou uma correlação positiva entre o número de células mucosas contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS) e mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos ($AB \text{ pH } 1,0 + PAS$) e a concentração de metolacoloro na água ($PAS = 97698,51 + 6131,45 * \text{Metolacoloro}$; $R^2 = 89\%$; $p < 0,01$ e $AB \text{ pH } 1,0 + PAS = 55886,38 + 2257,41 * \text{Metolacoloro}$; $R^2 = 93\%$; $p < 0,007$).

Tabela X. Células mucosas por mm^3 das brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos da UHE de Furnas (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes). **A.** Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5); mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 2,5 + PAS) e mucosubstâncias contendo hexoses e ácidos siálicos. **B.** Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); mucosubstâncias sulfatadas, hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS) e mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS).

(A) Células mucosas/mm^3		Locais de coleta				
Tipos de mucosubstâncias	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50	
Junho						
AB pH 2,5	83781.14 ± 1512.3	110796.28 ± 8246.29	111382.51 ± 6632	133756.71 ± 13322.71	105031.75 ± 8409.07	
AB pH 2,5 + PAS	83292.62 ± 7627.01	70249.14 ± 6433.64	80898.87 ± 5233.32	80410.35 ± 5155.21	58817.78 ± 4419.95	
PAS	69247.67 ± 13562.29	54127.99 ± 6732.71	51489.98 ± 7827.91	63996.09 ± 7564.96	62237.42 ± 8358.68	
Dezembro						
AB pH 2,5	64093.79 ± 4851.86 ^{bc*}	134636.05 ± 5136.66 ^{a*}	137567.17 ± 17201.58	122032.24 ± 11418.62	134831.46 ± 17774.33 ^a	
AB pH 2,5 + PAS	46995.60 ± 7987.55 [*]	71030.77 ± 4615.41	66047.87 ± 14548.87	70835.36 ± 10352.7	84807.03 ± 10338.39 [*]	
PAS	25696.14 ± 3201.94e [*]	53639.47 ± 11014.36	58036.15 ± 9284.96	46995.60 ± 4927.51	74938.93 ± 8305.69 ^a	

(B) Células mucosas/mm^3		Locais de coleta				
Tipos de mucosubstâncias	FU10	FU20	FU30	FU40	FU50	
Junho						
AB pH 1,0	7572.05 ± 2907.27 ^d	3126.52 ± 119.66	3028.82 ± 565.50	1856.37 ± 498.19 ^a	5373.71 ± 740.87	
AB pH 1,0 + PAS	72178.79 ± 2823.11	47972.64 ± 1268.27 ^e	63409.86 ± 5421.02	94675.13 ± 5525.67	58622.37 ± 3147.06 ^b	
PAS	115290.66 ± 3993.73 ^d	131314.11 ± 5989.89	141475.32 ± 7312.47	180459.20 ± 6857.74 ^a	142061.55 ± 4287.85	
Dezembro						
AB pH 1,0	7620.90 ± 1412.48	4494.38 ± 1770.84	12017.58 ± 1703.52 [*]	17391.30 ± 3931.29 [*]	8011.72 ± 3511.23	
AB pH 1,0 + PAS	55886.66 ± 7559.59	100146.55 ± 6669.68 [*]	78065.46 ± 17154.21	59697.11 ± 10471.2 [*]	80898.87 ± 13361.35	
PAS	85002.44 ± 19251.64 ^e	196384.95 ± 45212.49	142843.18 ± 24858.21	121250.61 ± 20926.33 [*]	201758.67 ± 13663.71 ^{a*}	

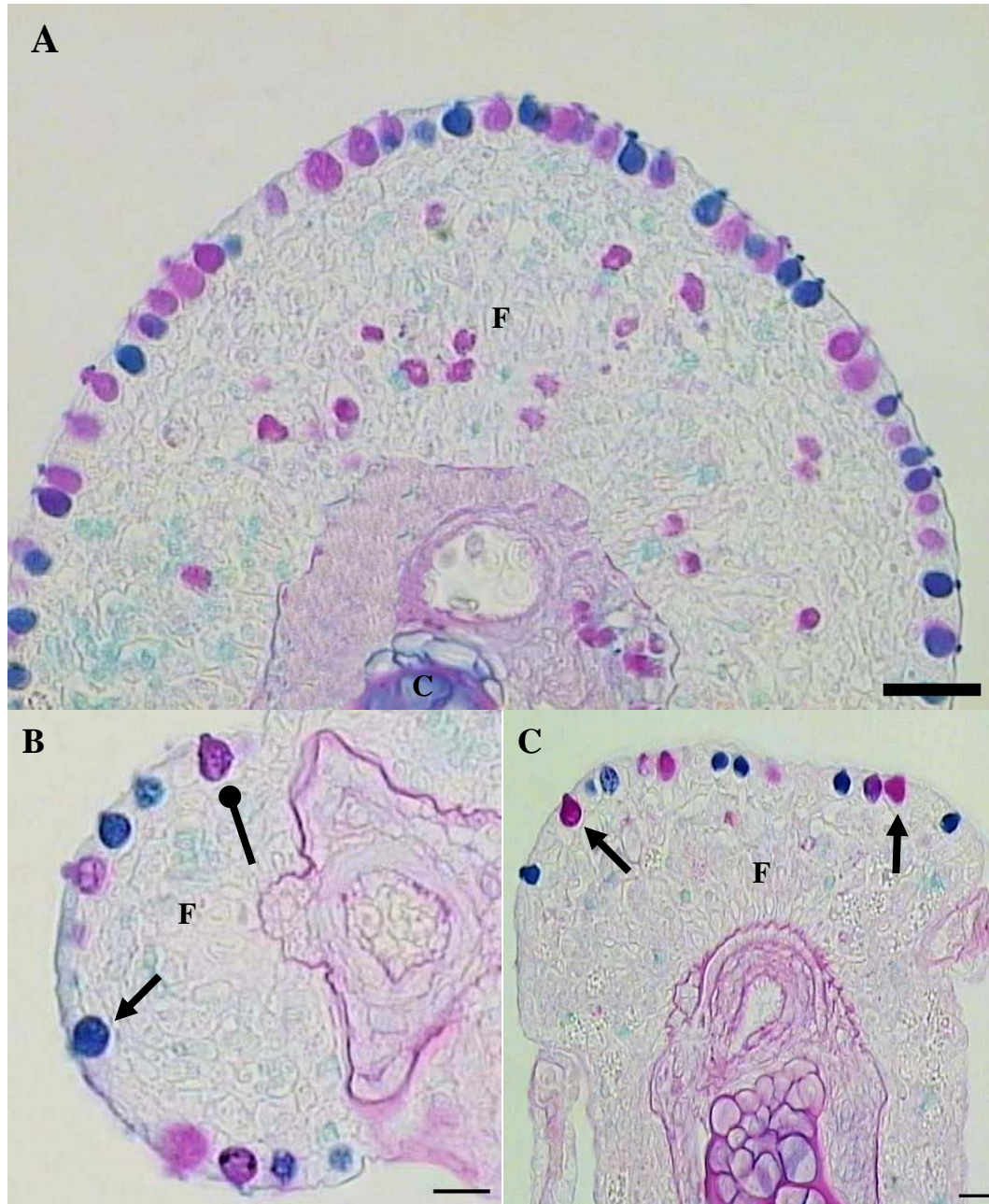


Figura 18. Células mucosas (CM) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 2,5 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas e não sulfatadas (AB pH 2,5); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (**C**); Filamento (**F**); Arteria aferente (**Af**). Bouin. Azul de alcian pH 2,5; azul de alcian pH 2,5 + PAS. Barra = 20 micras.

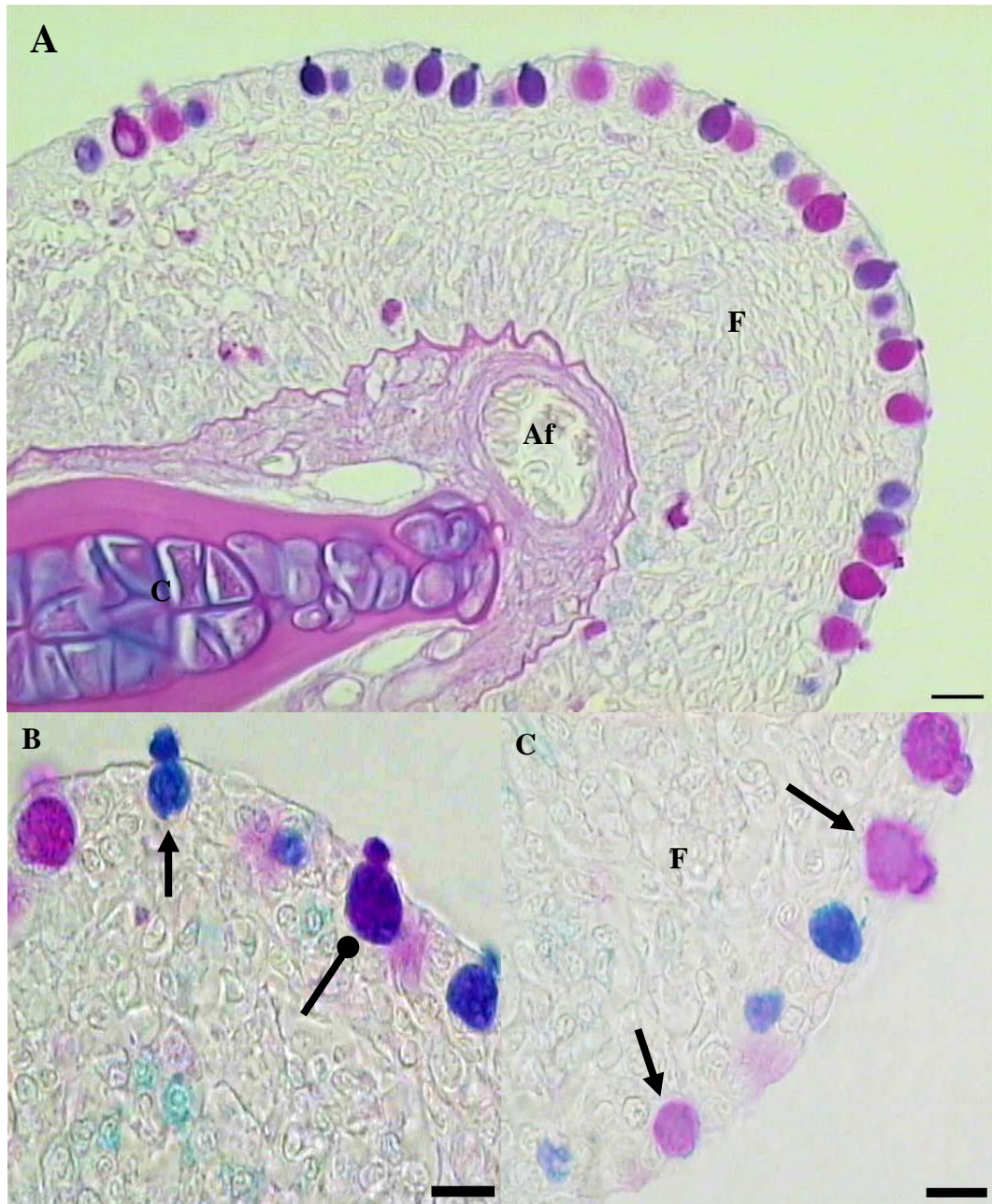


Figura 19. Células mucosas (CM) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas, MG. CM coradas com Azul de Alcian no pH 1,0 + Ácido Periódico de Schiff (PAS). **A.** Corte transversal do arco branquial mostrando a localização das células mucosas. **B.** Cabeça de seta redonda: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas hexoses e ácidos siálicos (AB pH 1,0 + PAS). Cabeça de seta: CM contendo mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0); **C.** CM contendo hexoses e ácidos siálicos (PAS). Cartilagem (**C**); Filamento (**F**); Arteria aferente (**Af**). Bouin. Azul de alcian pH 1,0; azul de alcian pH 1,0 + PAS. Barra = 20 micras.

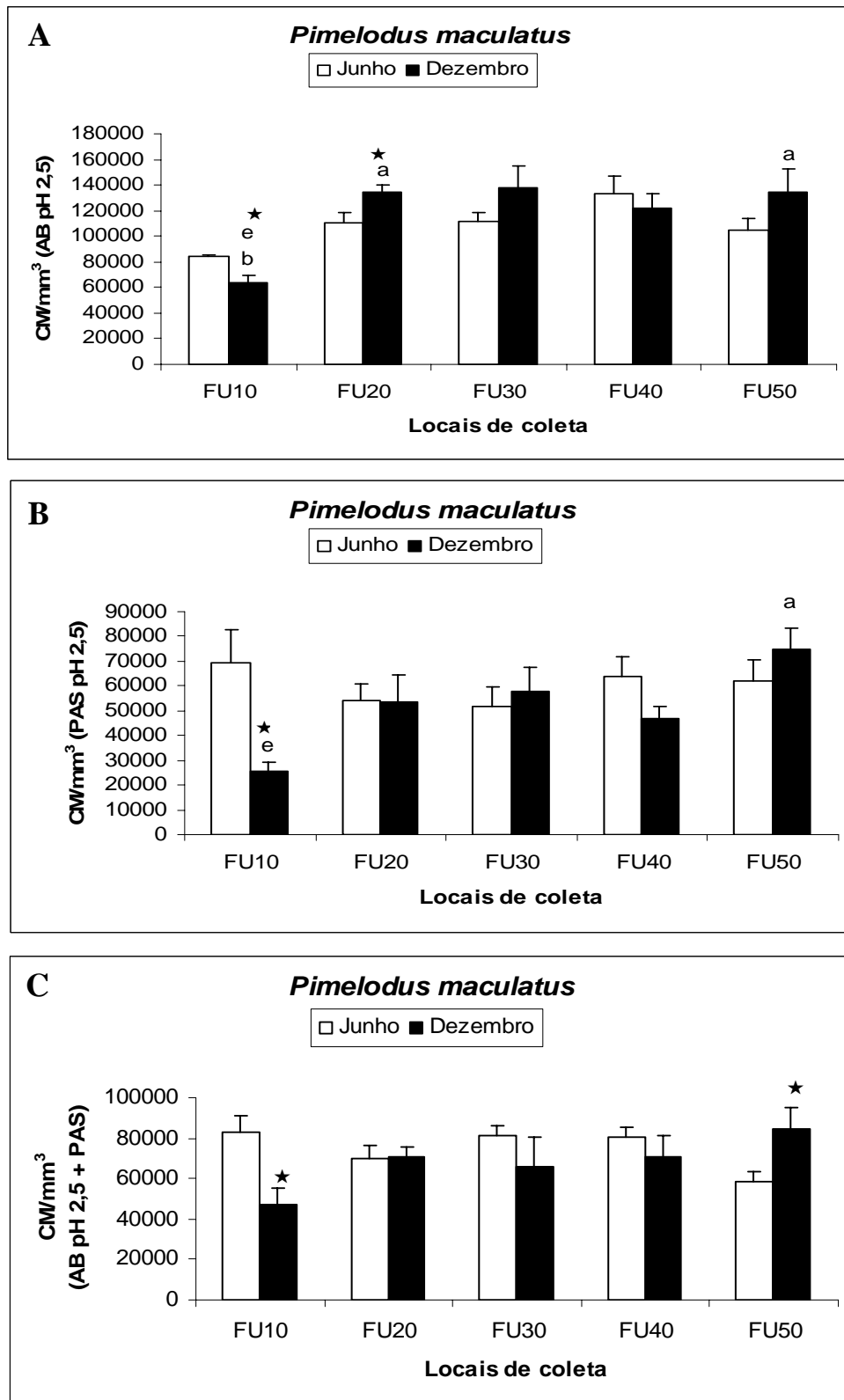


Figura 20. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). A. Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas (AB pH 2,5). B. Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e C. Mucosubstâncias sulfatadas e ácidas, hexoses e ácidos siálicos.

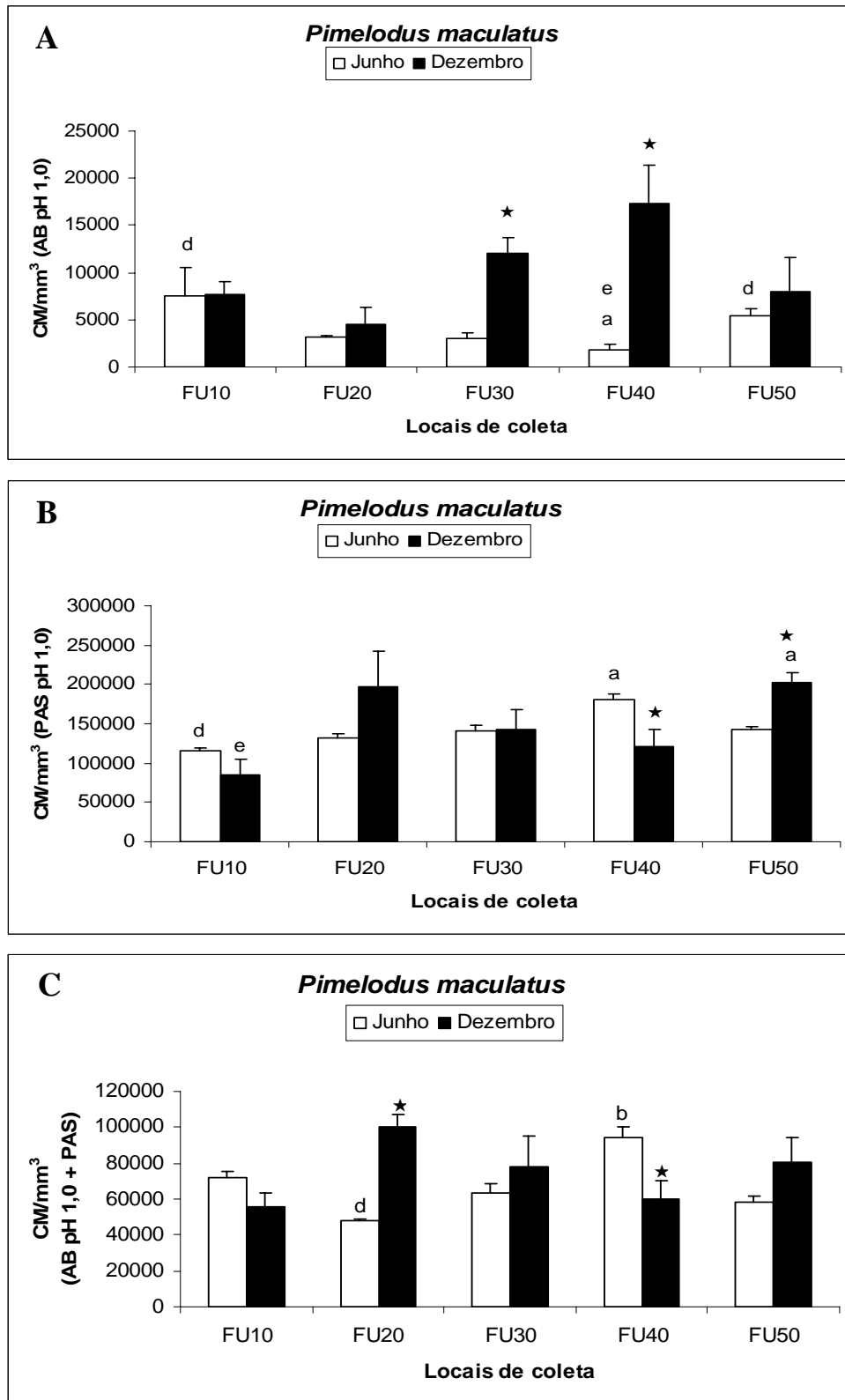


Figura 21. Gráficos das células mucosas (CM) das brânquias de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes). A. Mucosubstâncias sulfatadas (AB pH 1,0). B. Mucosubstâncias com hexoses e ácidos siálicos (PAS) e C. Mucosubstâncias sulfatadas e hexoses e ácidos siálicos.

6. DISCUSSÃO

Morfologia branquial

O número, o comprimento e o volume dos arcos branquiais variam nas diferentes espécies em função da forma da cabeça, espaço e forma da cavidade opercular e atividade do animal. Em geral, peixes ativos e de natação rápida têm maior superfície branquial, que está associada a um maior número de lamelas/mm de filamento, enquanto que peixes bentônicos e de hábitos lentos possuem poucas lamelas/mm de filamento e maior espaço interlamelar (Gray, 1954; Hughes, 1972).

O consumo total de oxigênio acompanha o aumento da massa corporal, portanto animais com maior massa corporal apresentam maior número de filamentos e lamelas que favorecem as funções desempenhas pelas brânquias como trocas gasosas, excreção de produtos nitrogenados e a osmorregulação. Esse fato foi observado na análise das brânquias de *A. fasciatus*, que apresentou uma média da massa corpórea (M_C) de $37,77 \pm 2,61$ g e do comprimento total (C_T) de $14,33 \pm 0,28$ cm, e de *P. maculatus* que apresentou uma média da massa corpórea de $M_C = 184,27 \pm 32,98$ g e do comprimento total de $C_T = 25,1 \pm 1,39$ cm.

Geralmente os três primeiros arcos branquiais possuem maior número de filamentos e filamentos mais alongados, uma vez que esses arcos estão em maior contato com meio ambiente externo, desempenhando com maior intensidade as funções branquiais.

A estrutura branquial encontrada para as duas espécies é igual à de teleósteos de água doce de respiração aquática obrigatória.

Histopatologia

Devido as brânquias participarem de funções de grande importância para o peixe, tais como respiração, osmorregulação e excreção, e possuírem grande contato com o meio externo, elas são particularmente sensíveis às mudanças na qualidade da água, podendo, portanto, ser consideradas um dos principais órgãos-alvo de peixes de ambientes contaminados (Poleksic e Mitrovic – Tutundzic, 1994; Mazon et al., 2002; Fernandes e Mazon, 2003).

A histopatologia branquial é o resultado de mudanças bioquímicas e fisiológicas nas células e tecidos branquiais causadas por um ou mais fatores ambientais, incluindo patógenos e poluentes que talvez possam modificar a função do órgão (Couch e Fournie, 1993). As análises histopatológicas são consideradas como importantes

biomarcadores que fornecem um método rápido para a detecção dos efeitos dos poluentes através da análise microscópica (Fernandes e Mazon, 2003).

As alterações histopatológicas refletem adaptações fisiológicas ao estresse. Alguns poluentes causam efeitos diretos no tecido branquial, mas a maioria das lesões basicamente aparece como sendo resultado de respostas de defesa ou mecanismos compensatórios, no qual podem ser locais ou mediadas pelo eixo hipotálamo – hipófise – células interrenais (HPI) e sistema nervoso autônomo (Brown, 1993; Wendelaar Bonga, 1997).

Alterações como hiperplasia e hipertrofia do epitélio respiratório, descolamento epitelial, fusão parcial de algumas lamelas além da proliferação de células cloreto e mucosa são exemplos de respostas de defesa, já que, em geral, aumentam a distância entre o meio externo e o sangue, servindo como barreira para a entrada de contaminantes na corrente sanguínea (Mallat, 1985; Hinton e Laurén, 1990; Poleksic e Mitrovic – Tutundzic, 1994; Fernandes e Mazon, 2003).

A. fasciatus e *P. maculatus* apresentaram hipertrofia do epitélio lamelar, no qual em alguns locais de coleta, gerou a fusão lamelar, especialmente para *P. maculatus*. Segundo Rafbanshi & Gupta (1988) a fusão lamelar pode conduzir a uma notável redução da superfície respiratória, pelo desaparecimento das lamelas, que conseqüentemente pode dificultar à troca de gases e outras funções das brânquias. Ortiz et al. (2003) também encontraram uma hiperplasia de células do epitélio lamelar e fusão das lamelas de três diferentes espécies de peixes expostos ao organoclorado lindane, atribuindo essa resposta como sendo secundária ao poluente, uma vez que distância entre a água e o sangue é aumentada, dificultando a entrada do poluente na corrente sanguínea. A proliferação de células mucosas e conseqüentemente, maior secreção de muco, também é uma resposta para auxiliar o peixe a impedir a entrada de poluentes no organismo.

O descolamento epitelial observado também é uma resposta frente à tentativa de aumentar a distância no qual o poluente tem que percorrer para entrar em contato com a corrente sanguínea (Machado & Fanta, 2003), resposta que também foi observada para as duas espécies em quase todos os locais de coleta no presente estudo.

Edema geralmente precede o descolamento epitelial (Mallat, 1985). Thophon et al. (2003) referem-se a presença de edema acompanhado pelo descolamento do epitélio lamelar como sendo primeiro sinal de patologia nos peixes. Nas espécies estudadas foi encontrada a presença de edema e descolamento epitelial em quase todos os locais de coleta

Dilatação capilar pode conduzir a ruptura do epitélio branquial levando a perda da capacidade de transporte, com o aparecimento de aneurismas lamelares. *A. fasciatus* e *P. maculatus* coletadas nos diferentes locais apresentaram estes tipos de histopatologias. Resultados similares foram observados por Thophon et al. (2003) em peixes expostos ao cádmio.

A ruptura epitelial e a necrose são lesões que refletem o efeito direto de poluentes (Temminck et al., 1983) e que ocorrem em condições de maior toxicidade (Abel et al., 1976). As duas espécies estudadas apresentaram somente a ruptura do tecido epitelial, que pode gerar uma disfunção no balanço hidroeletrolítico devido a um maior contato com a água. A proliferação de células cloreto pode vir como uma resposta na tentativa do peixe em recuperar a homeostasia causada pela presença de poluentes.

Os tipos das lesões histopatológicas observadas indicam que os peixes respondem de forma direta e indireta aos efeitos tóxicos dos contaminantes presentes na água e sedimento.

Células cloreto

O contato direto dos poluentes com o epitélio branquial pode ocasionar respostas diretas e indiretas. Respostas diretas ou efeitos locais estão relacionados com os efeitos dos compostos nas células epiteliais, no qual causam mudanças bioquímicas, fisiológicas e morfológicas, incluindo danos na estrutura celular e morte. A ação direta dos poluentes causa uma ruptura na integridade da célula e conseqüentemente das funções branquiais, interrompendo a homeostasia dos peixes. Efeitos indiretos estão relacionados a respostas ao estresse, no qual são mediadas por hormônios como o cortisol e catecolaminas que envolvem mudanças metabólicas, fisiológicas e morfológicas (Fernandes e Mazon, 2003).

As células de cloreto são sítios de absorção de íons (Avella et al.1987; Perry et al. 1992) nos peixes de água doce. Modificações na qualidade da água podem ocasionar a proliferação destas células, sendo considerada como uma resposta compensatória na tentativa de recuperar o balanço osmótico e hidroeletrolítico (Tuurala e Sovio, 1982; Mazon, 1997; Arellano et al., 1999; van der Heuvel et al., 2000).

Estas células possuem uma alta densidade de unidades de enzimas como Na^+/K^+ -ATPase e Ca^+ -ATPase na membrana basolateral da célula-cloreto e muitas mitocôndrias o que caracteriza estas células como transportadoras de íons. Em peixes de água doce, estas células desempenham a função de absorção de íons como o cálcio (Ca^+ -ATPase e

trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$), sódio (H^+ -ATPase e trocador Na^+/H^+) e cloreto (trocador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$), uma vez que, peixes de água doce perdem constantemente íons para o meio (Perry, 1997).

Poluentes podem afetar a integridade das membranas celulares, aumentando sua permeabilidade aos íons presentes na água. Metais pesados podem inibir a atividade de enzimas como Na^+/K^+ -ATPase e Ca^+ -ATPase causando uma depressão de íons como Na^+ e Cl^- no plasma alterando a osmolalidade, pois metais, como o cobre, podem competir com íons como o magnésio, importante no funcionamento da Na^+/K^+ - ATPase (Fernandes e Mazon, 2003).

A regulação iônica e osmótica se dá através de controle hormonal. Situações de estresse liberam uma cascata de respostas fisiológicas que geram a liberação de hormônios como cortisol e a prolactina. O cortisol tem função mineralocorticóide para manter a homeostase hidromineral, ele induz a diferenciação de células de cloreto nas brânquias e aumenta a atividade específica da Na^+/K^+ -ATPase (McCormick, 1995; Evans, 2002; Evans et al., 2005), já a prolactina reduz a permeabilidade da membrana a água e íons.

A marcação das células cloreto por imunohistoquímica específica para a enzima Na^+/K^+ -ATPase permitiu identificar células de cloreto na lamela ou no filamento das brânquias que possivelmente apresentavam maior ou menor atividade dessa enzima. Células cloreto mais fortemente imunocoradas possuem maior densidade de unidades de Na^+/K^+ -ATPase e provavelmente possuem uma maior atividade da enzima, podendo ser consideradas células mais ativas. Células de cloreto fracamente imunocoradas possuem uma menor atividade da enzima e são consideradas células jovens ou em apoptose. Em geral, o número de células cloreto fortemente imunocoradas é mais alto do que as mais fracamente imunocoradas, fato que foi observado tanto para *A. fasciatus* quanto para *P. maculatus* coletas durante os dois períodos.

A proliferação de células cloreto ajuda até certo ponto a manter a homeostasia do animal, uma vez que um grande número deste tipo de célula nas lamelas aumenta a barreira água-sangue reduzindo a transferência de gases (Sakuragui, 2006). O número de células de cloreto fracamente imunocoradas nas lamelas foi mais elevado em relação ao filamento no local FU10, que apesar de não ter apresentado concentrações de organoclorados na água apresentou altas concentrações de cobre no sedimento (ver Capítulo I). Dang et al. (1999) também encontraram um aumento de células jovens nas lamelas de peixes expostos ao cobre. Esta resposta pode estar relacionada a uma maior necessidade do balanço osmótico frente à exposição a agentes tóxicos que podem ocasionar estresse.

O aumento na diferenciação de células de cloreto pode ser devido a uma necessidade do organismo em manter seu balanço osmótico, como citado acima, frente a situações de estresse como a presença de xenobióticos. O endosulfan é conhecido por estimular o aumento da atividade específica da enzima Na^+/K^+ - ATPase (Yadwad et al., 1990). A alta concentração de endosulfan no local FU30, em Junho, parece influenciar a diferenciação de células de cloreto no filamento das brânquias de *A. fasciatus*, o que não foi observado em *P. maculatus*. Essa diferença pode estar relacionada à sensibilidade que as espécies possuem frente à exposição a diferentes tipos de substâncias.

A condutividade da água aparentou influenciar negativamente a proliferação de células de cloreto fortemente imunocoradas na lamela de *A. fasciatus* durante o mês de Dezembro, este comportamento é esperado uma vez que a condutividade representa todos os íons presentes na água, portanto com o aumento da condutividade subentende-se uma maior quantidade de íons no ambiente, não havendo a necessidade do aumento no número de células cloreto.

A influência da qualidade da água na diferenciação de células cloreto aparentou ser maior na espécie *A. fasciatus*.

Células mucosas

A importância do muco na superfície branquial começou a ser estudado por Carpenter (1927), que documentou pela primeira vez, em peixes, o aumento da produção de muco, principalmente nas brânquias, após serem expostos em águas com elevadas concentrações de metais e postulou que provavelmente o muco corroboraria para manter a regulação iônica. Mais recentemente, Sherphard (1982) e Handy et al. (1989) sugeriram uma possível função do muco na osmorregulação. Os diferentes tipos de mucosubstâncias produzidos por estas células também estão envolvidos com a proteção do epitélio contra agentes abrasivos, partículas suspensas na água e contra entrada de patógenos no tecido branquial, por formar uma barreira entre a água e o epitélio.

Hormônios como o cortisol e a prolactina, liberados durante períodos de estresse, podem induzir a diferenciação de células mucosas. Handy & Eddy (1991) demonstraram a ausência de muco na superfície das brânquias de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, que não sofreram nenhum tipo de estresse.

De forma geral, a distribuição das células mucosas varia entre as diferentes espécies como também a resposta dessas células, tais como densidade e atividade secretora frente às alterações ambientais (Laurent, 1984).

De acordo com Varsamos et al. (2005) possivelmente existe uma influência indireta das células mucosas na osmorregulação, em função da disponibilidade iônica no ambiente. A maioria das glicoproteínas possuem pH ácido ou próximo ao neutro e, conseqüentemente, as cargas elétricas na superfície das mucosubstâncias podem atrair íons e facilitar a absorção de íons (Powell et al., 1994), o que pode possivelmente explicar as correlações negativas encontradas entre células com mucosubstâncias neutras e sulfatadas com a concentração de cálcio e a condutividade da água para *A. fasciatus* em Dezembro e *P. maculatus* em Junho.

Mucosubstâncias neutras têm baixa viscosidade e protegem e lubrificam o epitélio branquial contra o atrito enquanto que as mucosubstâncias ácidas e ácidas sulfatadas apresentam alta viscosidade e podem auxiliar na adesão de partículas em suspensão (Sibbing e Uribe, 1985). A exposição a agentes poluidores pode influenciar a proliferação de células mucosas com diferentes tipos de mucosubstâncias. Alberto et al. (2005) e Mallat et al. (1985) citam a proliferação de células mucosas frente a exposição de peixes a agentes estressores. No presente estudo, a presença de metolacoloro na água aparentou influenciar a proliferação de células mucosas com mucosubstâncias neutras e sulfatadas em *P. maculatus* nos dois períodos de coleta, demonstrando o potencial desta substância como agente estressor.

A diminuição das células mucosas contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas em *A. fasciatus* nos locais FU40 e FU50, no mês de Junho, pode ter sido devido à presença de organoclorados na água. Peixes expostos a agentes estressores podem experimentar uma mucocitopenia, a qual pode ocorrer devido ao estímulo da apoptose das células mucosas pelo hormônio cortisol como citado por vários autores (Zuchelkowski et al., 1985; Benedetti et al., 1989; Wendelaar Bonga et al., 1990; Iger et al., 1988; Urawa, 1992). Apoptose de células mucosas também tem sido observada após a elevação da temperatura da água e acidificação. Esta resposta pode causar prejuízos, até certo ponto, ao animal, uma vez que a proliferação de células mucosas com diferentes tipos de mucosubstâncias ajuda a proteger o epitélio branquial da ação de poluentes e agentes patogênicos, além de auxiliar na osmorregulação, mas uma grande quantidade de muco nas brânquias também pode ser prejudicial, uma vez que pode dificultar as trocas gasosas. Uma resposta contrária foi observada em *P. maculatus* que apresentou um aumento de células mucosas com mucosubstâncias sulfatadas e ácidas nos locais FU30 e FU40 em Dezembro. *P. maculatus* é

uma espécie bentônica e fica em contato direto com o sedimento, podendo ter sofrido a ação da presença de metais como o cromo. Metais pesados são conhecidos por causar hipertrofia e hiperplasia de células mucosas, especialmente de células mucosas com mucosubstâncias sulfatadas ácidas, uma vez que estas participam mais ativamente, por atraírem uma maior quantidade de íons, da osmorregulação (Powell et al., 1994) e por aumentarem a resistência do muco a bactérias, as quais as brânquias podem ficar mais susceptíveis devido a ação abrasiva e irritante que os metais podem exercer (Roberts e Powell, 2002).

As células mucosas contendo mucosubstâncias sulfatadas e ácidas aparentaram ser as mais influenciadas pela presença de elementos como cromo, além de serem influenciadas pela concentração de íons no ambiente aquático, onde dependendo do tipo de habitat da espécie, estas substâncias agiram de formas diferenciadas.

7. CONCLUSÕES

Investigações dos aspectos do tecido branquial, assim como respostas compensatórias como a proliferação de células de cloreto e mucosa são ferramentas importantes na detecção dos efeitos de várias substâncias, e contribui para o entendimento da natureza da resposta ao estresse nos pequenos níveis de organização biológica. No presente estudo, substâncias como endosulfan, metolacloro, cobre e cromo, assim como a concentração de íons na água, aparentou influenciarem estas respostas compensatórias nas espécies estudadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberto, A., Camargo, F. M., Verani, J.R., Costa, O. F. T. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 61: 247-255, 2005.
- Arellano, J. M., Storch, V., Sarasquete, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales sole (*Solea senegalensis*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 44: 62-72, 1999.
- Avella, M., Masoni, A., Bornancin, M. Mayer-Gostan, N. Gill morphology and sodium influx in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Acclimated to Artificial Freshwater Environments. *J. Exp. Zool.*, 241: 159-169, 1987.
- Benedetti, I., Albano, A. G., and Mola, L. Histomorphological changes in some organs of the brown bullhead, *ictalurus nebulosus* lesueur, following short-and long-term exposure to copper. *J. Fish Biol.*, 34: 273-280, 1989.
- Carpenter, K. E. The lethal action of soluble metallic salts on fishes. *Braz. J. Exp. Biol.*, 4: 378, 1927.
- Couch, J. A. and Fournie, J. W. Pathobiology of Marine and Estuarine Organisms: Advances in fisheries sciences. CRC. Boca Raton, 552 pp., 1993.
- Dang, Z. Lock, R. A. C., Flik, G., Wendelaar Bonga, S. E. The metallothionein response in gills of *Oreochromis mossambicus* Exposure to copper in fresh water. *Am. J. Physiol.*, 277: R320-R331, 1999.
- Dang, Z. R. A. C., Lock, G. Flik and S. E. Wendelaar Bonga. Na^+/K^+ - ATPase Immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. *J. Exp. Biol.*, 203: 379-387, 2000.

- Diaz, A. O., Garcia, A. M., Devincenti, C. V., Goldemberg, A. L. Mucous cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and Ultrastructure. *Ant. Histol. Embryol.*, 30: 135-139, 2001.
- Diaz, A. O., Garcia, A. M., Devincenti, C. V., Goldemberg, A. L. Ultrastructure and histochemical study of glycoconjugates in the gills of the white croaker (*Micropogonias furnieri*). *Ant. Histol. Embryol.*, 34: 117-122, 2005.
- Evans, D. H. Cell signaling and ion transport across the fish gill epithelium. *J. Exp. Zool.*, 293: 336-347, 2002.
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., Choe, K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid – base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev.*, 85: 97-177, 2005.
- Fernandes, M. N., Mazon, A. F. Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val, A. L., Kapoor, B. G. (Eds.). *Fish Adaptations*, 418 pp., 2003.
- Fernandes, M. N., Moron, S. E., Sakuragui, M.N., Gill morphological adjustments to environment and the gas exchange function, p. 94-120. In: Fernandes, M. N., Rantin, F. T., Glass, M. L., Kapoor, B.G (eds), *Fish Respiration and Environmental*, 392 pp., 2007.
- Flik, G., P. H. M. Klaren, T. J. M. Schoenmakers, M. J. C. Bijvelds, P. M. Verbost and S. E. Wendelaar Bonga. Cellular calcium transport in fish: unique and universal mechanisms. *Physiol. Zool.*, 69: 403-417, 1995.
- Gray, I. E. Comparative study of the gill area of marine fishes. *Biol. Bull.*, 107: 219-225, 1954.
- Handy, R. D., Eddy, F. B., Romain, G. In vitro evidence for the ionoregulation role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminum and zinc toxicity. *J. Fish Biol.*, 35: 737, 1989.
- Hughes, G. M. Morphometrics of fish gills. *Respir. Physiol.*, 14: 1-26, 1972.

- Iger, Y., Balm, P. H. M., Jenner, H. A. and Wendelaar Bonga, S. E. Cortisol induces stress-related changes in the skin of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gener. Comp. Endocr.*, 97: 188-198, 1995.
- Laurent, P. Internal morphology of the gill. In: Hoar, W. S. and Randall, D. J. *Fish Physiol.*, 10A: 73-183, 1984.
- Laurent, P. Gill structure and function. In: *Comp. Pulmonary Physiol.*, [s.n.], 69-120, 1989.
- Laurent, P. and Perry, S. F. Environmental effects on fish gill morphology. *Physiol. Zool.*, 64: 4-25, 1991.
- Lumsden, J. S., Ferguson, H. W., Ostland, V. E., Byrne, P. J. The mucous coat on the gill lamellae of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cell. Tissue Res.*, 275: 187-193, 1994.
- Mallat, J., Bailey, J., Lampa, S. Evans, M., Brumbaugh, S. A fish system for quantifying the ultrastructural effects of environmental stressors: methylmercury, kepone and heat shock. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 52: 1165-1182, 1995.
- Martinez, C. B. R., Souza, M. M. Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species. *Comp. Biochem. Physiol. Part A.*, 133: 151-160, 2002.
- Martinez, C. B. R., Cólus, I.M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio tibagi. In: Medri, M. E., Bianchini, E., Shibatta, O. A., Pimenta, J. A. (Eds.). *A Bacia do Rio Tibagi (PR)*, (29) 551-577, 2002.
- Mazon, A. F., Monteiro, E. A. S., Pinheiro, G. H. D., Fernandes, M. N. Hematological and physiological changes induced by short – term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Braz. J. Biol.*, 62: 1-7, 2002.
- McCormick, S. D. Hormonal control of gill Na^+/K^+ - ATPase and chloride cell function. In: *Cell. Mol. App. Fish Regulat.*, (14): 285-315, 1995.
- Meyers, T. R., Hendricks, J. D. Histopathology. In: Rand, G. M., Petrocelli, S. R. (Eds.) *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications*, p. 283-331, 1985.

- Perry, S. F., Goss, C. G., Laurent, P. The interrelationships between gill chloride cell morphology and ionic uptake in four freshwater teleosts. *Can. J. Zool.*, 70: 1775-1786, 1992.
- Perry, S. F. The chloride cell: structure and function in the gill of freshwater fishes. *Annu. Rev. Fish Physiol.*, 59: 325-347, 1997.
- Poleksic, V., Mitrovic-Tutundzic, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Muller, R., Lloyd, R. *Sublethal and Chronic Effects of pollutants on Freshwater fish*. Published by arrangement with the Food and Agriculture Organization of the United Nations by Fishing News Books, (30) 339-352, 1994.
- Powell, M. D., Speare, D. J., Wright, G. M. Comparative ultrastructural morphology of lamellar epithelial, chloride and mucous cell glycocalyx of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Gill. *J. Fish Biol.*, 44: 725-730, 1994.
- Roberts, S. D., Powell, M. D. Comparative ionic flux and gill mucous cell histochemistry: effects of salinity and disease status in atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 134: 525-537, 2003.
- Sakuragui, M. M., Respostas ao estresse osmótico e hipóxico em traíra, *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) aspectos fisiológicos e adaptativos. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, 2006.
- Scherle, W.A. Simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie*, 26: 57-63, 1970.
- Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Honnen, W., Triebs Korn, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquat. Ecosyst. Stress and Recovery*, 6: 75-86, 1997.
- Shephard, K. L. The influence of mucous on the diffusion of ions across the esophagus of Fish, *Physiol. Zool.*, 55: 23, 1982.

- Sibbing, F. A. & Uribe, R. Regional specialization in the oro – pharyngeal wall and food processing in the carp *Cyprinus carpio*., *Neth. J. Zool., Leiden*, 35: 377-422, 1985.
- Tuurala, H. and Soivio, A. Structural and circulatory changes in the secondary lamellae of *Salmo gairdneri* gills after sublethal exposure to dehydroabietic acid and zinc. *Aquat. Toxicol.*, 2: 21-29, 1982.
- Urawa, S. Epidermal responses of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fry to the ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo necator*. *Can. J. Zool.*, 70: 1567-1575, 1992.
- Van der Heuvel. M. R., Power, M. Richards, J., Mackinnon, M. Dixon, D. G. Disease and gill lesions in yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to oil sands mining – associated waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 46: 334-341, 2000.
- Varsamos, S., Nebel, C., Charmantier, G. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comp. Biochem. Physiol.*, 141A: 401-429, 2005.
- Wendelaar Bonga, S. E., Flik, G., Balm, P. H. M., van der Meij, J. C. A. the ultrastructure of chloride cells in the gills of the Teleost *Oreochromis mossambicus* during exposure to fresh water. *Cell Tissue Res.*, 259: 575-585, 1990.
- Wilhelm Filho, D., Torres, M. A., Tribess, T. B., Pedrosa, R. C., Soares, C. H. L. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acar (*Geophagus brasilienses*). *Braz. J. Medical Biol. Res.*, 34: 719-726, 2001.
- Winkaler, E. U., Silva, A. G., Galindo, H. C., Martinez, C. B. R. Biomarcadores histolgicos e fisiolgicos para o monitoramento da sade de peixes de ribeires de londrina, Estado do Paran. *Acta Scientiarum*, 23 (2): 507-514, 2001.
- Yadward, V. B., Kallapur, V. L. and Basalingappa, S. Inhibition of gill Na⁺/K⁺ - ATPase activity in dragonfly larva, *Pantala flavescens*, by Endosulfan. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 44: 585-589, 1990.

Zuchelkowski, E. M., Pinkstaff, C. A., and Hinton, D. E. Mucosubstance histochemistry in control and acid-stressed epidermis of brown bullhead catfish, *Ictalurus nebulosus* (LeSueur). *Anat. Rec.*, 212: 327-335, 1985.

CAPÍTULO III

VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS

ÍNDICE

1. RESUMO.....	82
2. INTRODUÇÃO.....	83
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	85
4. RESULTADOS.....	86
5. DISCUSSÃO.....	107
6. CONCLUSÕES.....	110
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

1. RESUMO

As variáveis hematológicas de *A. fasciatus* e *P. maculatus* coletados em diferentes pontos do reservatório da UHE de Furnas, foram avaliadas. O número total de eritrócitos (RBC), o hematócrito (Hct), a concentração de hemoglobina ([HB]), os índices hematimétricos (VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média e o CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média) e a contagem diferencial de leucócitos (linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, células granulocítica especial) e trombócitos dos animais revelaram variações de acordo com a diferença de concentração de xenobióticos, assim como certa dependência dos períodos de coleta (inverno e verão). *Astyanax fasciatus* apresentou um aumento significativo da [HB], HCM, CHCM, neutrófilos e monócitos no local FU10 em Junho. Comparando os meses de Junho e Dezembro, o local FU10 apresentou um aumento significativo do RBC e uma diminuição significativa da [HB] e do CHCM. As células granulocítica especial foram encontradas somente em Junho e eosinófilos somente em Dezembro. O número total de leucócitos apresentou grandes variações sendo mais elevado em FU30 em Junho. *P. maculatus* apresentou uma diminuição do VCM em FU10 e FU30, uma diminuição do HCM em FU40 e FU50 e uma diminuição do CHCM em FU30, FU40 e FU50, os neutrófilos e foram significativamente menores em FU10, os eosinófilos foram identificados somente no mês de Dezembro. O número total de leucócitos foi mais elevado em FU10 (Junho) e FU30 (Dezembro) e o número total de trombócitos foi mais elevado em FU20. Correlações foram encontradas entre as variáveis biológicas e ambientais, indicando possivelmente a presença de substâncias na água ou sedimento.

Palavras – chave: UHE de Furnas; variáveis hematológicas; organoclorados e elementos traço.

2. INTRODUÇÃO

O sangue dos peixes é um dos componentes que vem sendo muito estudado na ecotoxicologia e no biomonitoramento ambiental, sendo um ótimo indicador de possíveis mudanças fisiológicas e patológicas sofridas por peixes expostos a ambientais contaminados (Cerqueira e Fernandes, 2002; Adhikari, et al., 2003).

Nos peixes, assim como nos mamíferos, o sangue é formado de duas fases: o plasma e os glóbulos sanguíneos. Os glóbulos sanguíneos são os eritrócitos, trombócitos e diversos tipos de leucócitos (Junqueira e Carneiro, 1999). As células vermelhas de teleósteos são produzidas em tecidos hematopoéticos que estão localizados na porção final do rim anterior e também possivelmente no baço (Heath, 1987). Em contraste com os mamíferos, os peixes não possuem medula óssea e linfonodos e as células do sistema imune possuem sua origem a partir de células progenitoras localizadas no rim anterior e baço (Rand, 1995).

Os eritrócitos maduros dos peixes, células mais numerosas no sangue, são ovais, nucleadas com citoplasma abundante, pálido e eosinofílico e a cromatina nuclear é densa e com manchas escuras. São similares em tamanho aos leucócitos, em contraste com os mamíferos, no qual estas são as maiores células. Os eritrócitos dos peixes possuem várias funções como transporte de gases (oxigênio e dióxido de carbono) e tamponamento de íons hidrogênio além da função de transporte de várias moléculas (sódio, potássio, cálcio, magnésio, hidrogênio, aminoácidos, glicose e nucleosídeos). Várias variáveis são utilizadas para a avaliação da série vermelha dos peixes. O hematócrito (Hct) fornece valores da porcentagem de eritrócitos no sangue periférico, o número total de eritrócitos (RBC) fornece o número de eritrócitos/ μl de sangue, a concentração de hemoglobina ([HB]) fornece informações sobre a concentração de hemoglobina em uma amostra de sangue. A partir desses parâmetros é possível o cálculo dos índices hematimétricos (volume corpuscular médio; hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média) que fornecem informações sobre os estado de saúde desses organismos.

Os leucócitos podem ser classificados em dois grupos, os granulócitos ou polimorfonucleares e os agranulócitos. Os granulócitos possuem núcleo de forma irregular e tem no citoplasma grânulos específicos que, ao microscópio eletrônico, aparecem envoltos por membrana. De acordo com a afinidade tintorial de seus grânulos citoplasmáticos, distinguem-se três tipos de granulócitos: neutrófilos, eosinófilos e basófilos (Junqueira e Carneiro, 1999).

O núcleo dos agranulócitos tem forma mais regular e o citoplasma não possui granulações específicas, podendo, porém, apresentar grânulos azurófilos inespecíficos, presentes também em outros tipos celulares. Há dois tipos de agranulócitos: os linfócitos e os monócitos (Junqueira e Carneiro, 1999).

A origem dos trombócitos nos peixes ainda não é clara. Alguns estudos sugerem que estas células são formadas a partir de pequenos linfócitos, outros sugerem que os trombócitos possuem a mesma linhagem dos linfócitos a partir de uma célula fonte pluripotente. A célula pluripotente dá origem a duas linhagens celulares, as linfóides e as mielóides, as primeiras originam os linfócitos e a segunda aos granulócitos (neutrófilos, basófilos e eosinófilos), eritrócitos, monócitos e trombócitos.

O sistema imunológico nos vertebrados é composto pelos sistemas fagocitário e linfóide, assim como pelos componentes do sistema complemento, um sistema complexo constituído por muitas proteínas com atividade enzimática (Calich e Vaz, 2001).

Sob uma visão generalizada das bases funcionais e ecológicas, os peixes enfrentam uma maior adversidade dos parâmetros naturais comparados com os mamíferos. Conseqüentemente, em relação ao seu sistema imune, eles necessitam lutar contra uma variedade de microorganismos, que estão mais ou menos ativos dependendo da composição físico-química do meio ambiente aquático, como por exemplo, a temperatura, oxigênio dissolvido e compostos químicos. O fato de os peixes serem pecilotérmicos leva seu sistema de defesa a funcionar sobre uma ampla extensão de condições ambientais, onde a temperatura é o principal fator, porém, níveis de oxigênio, salinidade e compostos químicos, também possuem um papel importante (Tort, *et al.*, 2004).

As variáveis hematológicas fornecem informações importantes sobre o status fisiológico dos peixes e são importantes indicadores de mudanças dos ambientes interno e/ou externo dos animais (Silveira-Coffigny *et al.*, 2004)). Em peixes, exposições a agentes químicos podem induzir o aumento ou a diminuição das variáveis hematológicas dependendo da concentração destas substâncias, do tempo de exposição e sensibilidade da espécie (Alberto *et al.*, 2005). As variáveis relativas à série vermelha podem levar a identificação de processos de anemia enquanto que o leucograma pode auxiliar no diagnóstico de processos infecciosos (Serpunin e Likhatchyova, 1998)

Neste contexto, o presente estudo analisou as variáveis hematológicas de duas espécies de peixes, *Astyanax fasciatus*, que habita a coluna d'água, e *Pimelodus maculatus*, espécie bentônica, coletadas no reservatório da Usina Hidroelétrica (UHE) de Furnas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A. fasciatus (n = 131) com massa corpórea (M_C) = $37,77 \pm 2,61$ g e comprimento total (C_T) = $14,33 \pm 0,28$ cm e *P. maculatus* (n = 82) com M_C = $184,27 \pm 32,98$ g e C_T = $25,1 \pm 1,39$ cm foram coletados no reservatório da UHE de Furnas, MG, nos meses de junho (inverno) e dezembro (verão) de 2006 concomitantemente com coletas de água e sedimento (ver Capítulo I). As coletas foram efetuadas no reservatório na confluência dos rios Grande e Sapucaí: Turvo (FU10, S20° 40' 835" W46° 13' 232"), no eixo do rio Grande: Guapé (FU20, S20° 44' 331" W 45° 55' 800") e Porto Fernandes (FU50, S20° 48' 826" W45° 40' 567") e no eixo do rio Sapucaí: Barranco alto (FU30, S21° 10' 510" W45° 57' 061") e Fama (FU40) S21° 24' 074" W45° 49' 621").

Imediatamente após a coleta, os animais foram pesados e medidos e amostras de sangue foram retiradas via punção caudal, para análise das variáveis hematológicas.

Análises hematológicas

Alíquotas do sangue retiradas após as coletas foram imediatamente utilizadas para as análises da série vermelha e confecção das extensões sanguíneas para análise da série branca. O hematócrito (Hct= %) foi determinado em réplicas por centrifugação do sangue em tubo capilar heparinizado em uma centrífuga de microhematócrito (Fanem, 211). A concentração de hemoglobina ([HB]= g/100 ml) foi determinada pelo método de formação de cianometohemoglobina (reagente de Drabkin) e a contagem de número total de eritrócitos (RBC= 10^4) foi estimada utilizando uma câmara de Newbawer após o sangue ter sido diluído em formol citrato (19%). Os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM= μm^3); hemoglobina corpuscular média (HCM= $\text{pg}/\text{cel}^{-1}$) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM= %) foram calculados a partir dos dados obtidos na determinação do Hct, RBC e [Hb].

As extensões sanguíneas foram secas a temperatura ambiente, fixadas e coradas utilizando o kit Panótico Rápido (Lio Serum, Laborclin). As contagens foram efetuadas sob microscópio de luz Olympus BX, em imersão. O número total de leucócitos e trombócitos foram calculados a partir do número total de eritrócitos e o número de leucócitos contados em 5.000 células sanguíneas e a porcentagem dos tipos de leucócitos foi calculado segundo metodologia proposta por Tavares-Dias et al. (2002).

Análises estatísticas

Os dados estão apresentados como a média \pm erro padrão da média ($P < 0,05$). ANOVA foi aplicada para cada variável biológica, seguido de testes *post-hoc* Tukey-Kramer, Dunnett ou Barlett conforme o caso ou ANOVA não paramétrica Kruskal-Wallis para comparações entre os locais de coleta. O teste *Mann-Whitney* foi aplicado nos casos de comparações entre as coletas de Junho e Dezembro. O nível de significância aceito foi de 5% ($P < 0,05$) em todos os testes e todas as análises foram efetuadas utilizando os programas XlStat 7.5 (correlação parcial) e BioEstat Versão 3.0 (ANOVA).

4. RESULTADOS

Série vermelha

Astyanax fasciatus

A Tabela I e as Figuras 1 e 2 mostram os valores médios de Hct, RBC, Hb, VCM, HCM e CHCM em Junho (inverno) e Dezembro (verão) de *A. fasciatus*. O Hct e o RBC não apresentaram variações significativas tanto entre os locais de coleta quanto entre os dois meses, com exceção do local FU10, onde o RBC foi mais baixo em Dezembro.

A [HB] de *A. fasciatus* coletados em FU10 foi mais alta em relação aos coletados em FU40 em Junho. O VCM não apresentou diferenças entre os locais de coleta e entre Junho e Dezembro. O HCM foi mais elevado em FU10 em relação a FU20, em Junho. Em dezembro, este não apresentou diferenças entre os locais de coleta e entre as duas coletas. O CHCM foi mais alto em FU10 e FU30 em relação a FU40 e mais alto em FU30 em relação a FU20 em Junho. Em Dezembro foi mais alto em FU50 em relação ao local FU10.

Os resultados da análise de correlação parcial para o mês de Junho e Dezembro estão apresentados na Tabela II (A e B).

Tabela I. Valores médios (média \pm erro) do hematócrito (Hct), número total de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina ([HB]) e dos índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *A. fasciatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B)/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.

Parâmetros Hematológicos (A)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Hct (%)	37,2 \pm 1,4	42,8 \pm 2,6	33,9 \pm 2,01	36,25 \pm 1,9	31,7 \pm 1,2
RBC ($\times 10^4$)	246 \pm 13,5	222 \pm 49,2	204,17 \pm 29,8	276,6 \pm 28,9	175,6 \pm 25
[HB] (g/100mL)	12,9 \pm 0,49 ^d	8,95 \pm 0,9	11,7 \pm 0,9	7,28 \pm 0,25 ^a	8,39 \pm 0,7
VCM (μm^3)	187,8 \pm 15,4	170 \pm 7,9	156 \pm 11,3	195 \pm 6,7	150 \pm 8,9
HCM (pg/cel ⁻¹)	59,98 \pm 4,3 ^b	34,4 \pm 2,9 ^a	51,9 \pm 2	37,03 \pm 1,9	51,54 \pm 8,3
CHCM (%)	34,95 \pm 1,4 ^{bd}	21,93 \pm 2,7 ^{ac}	35,94 \pm 2,2 ^{bd}	19,28 \pm 0,056 ^{ac}	30,62 \pm 4,1

Parâmetros Hematológicos (B)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Hct (%)	45 \pm 1,63	39,85 \pm 1,56	35,5 \pm 1,81	36,6 \pm 2,57	32,17 \pm 1,61
RBC ($\times 10^4$)	154,62 \pm 7,28 [★]	201,46 \pm 10,6	168,45 \pm 8,66	183,3 \pm 14,49	164,17 \pm 11,27
[HB] (g/100mL)	7,38 \pm 0,27 [★]	9,39 \pm 0,48	7,85 \pm 0,39	6,93 \pm 0,42	9,07 \pm 0,48
VCM (μm^3)	297 \pm 20,4	200 \pm 11,3	210 \pm 16,2	214 \pm 25	190 \pm 11,1
HCM (pg/cel ⁻¹)	47,49 \pm 3,31	48,72 \pm 3	45,62 \pm 2,17	39,95 \pm 5,31	53,64 \pm 3,59
CHCM (%)	16,03 \pm 0,52 ^{e★}	23,67 \pm 0,96	22,73 \pm 1,41	19,52 \pm 1,47	27,61 \pm 2,04 ^a

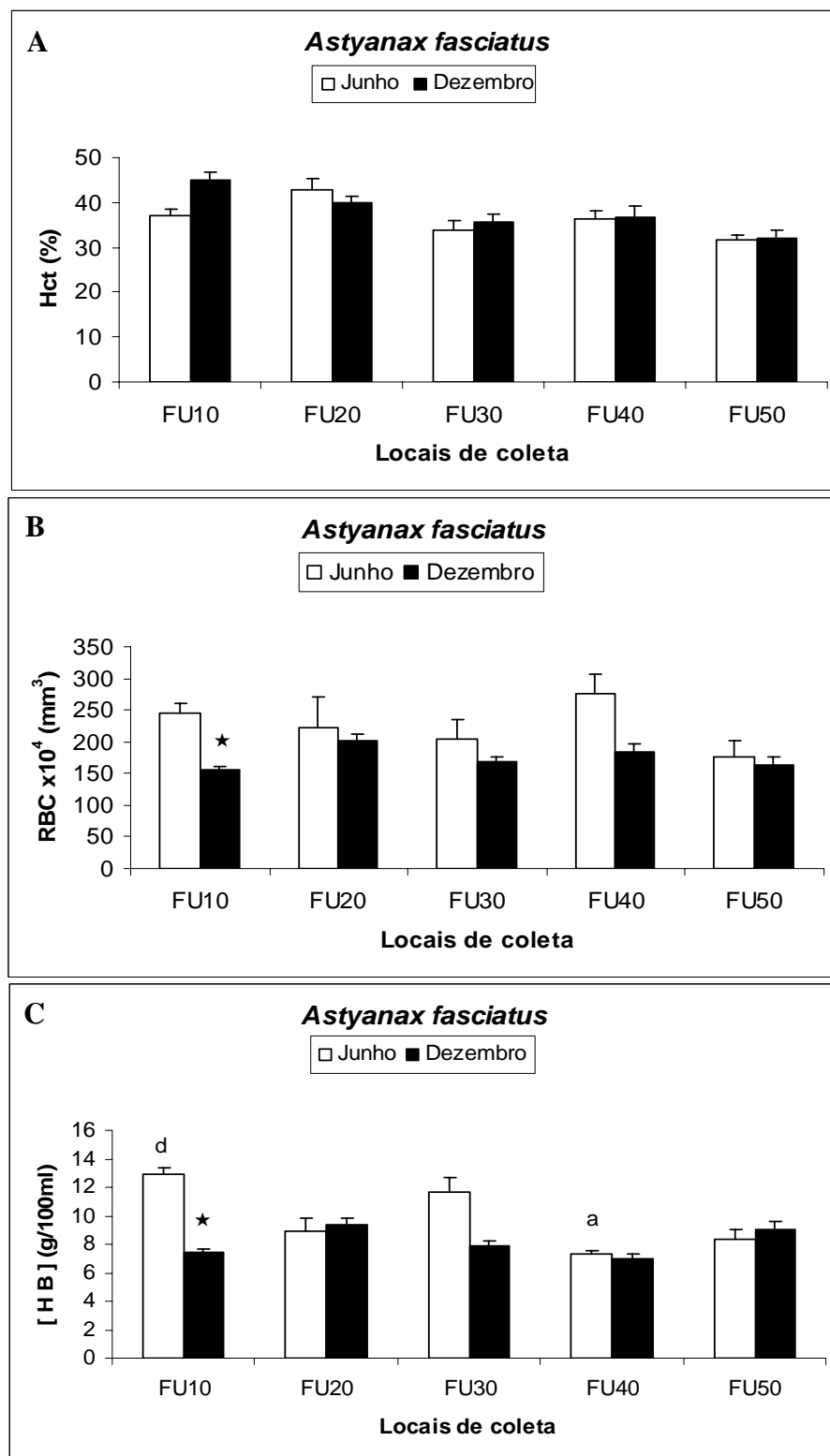


Figura 1. Médias \pm erro padrão de **A.** hematócrito (Hct), **B.** número total de eritrócitos (RBC) e **C.** concentração de hemoglobina (HB) de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

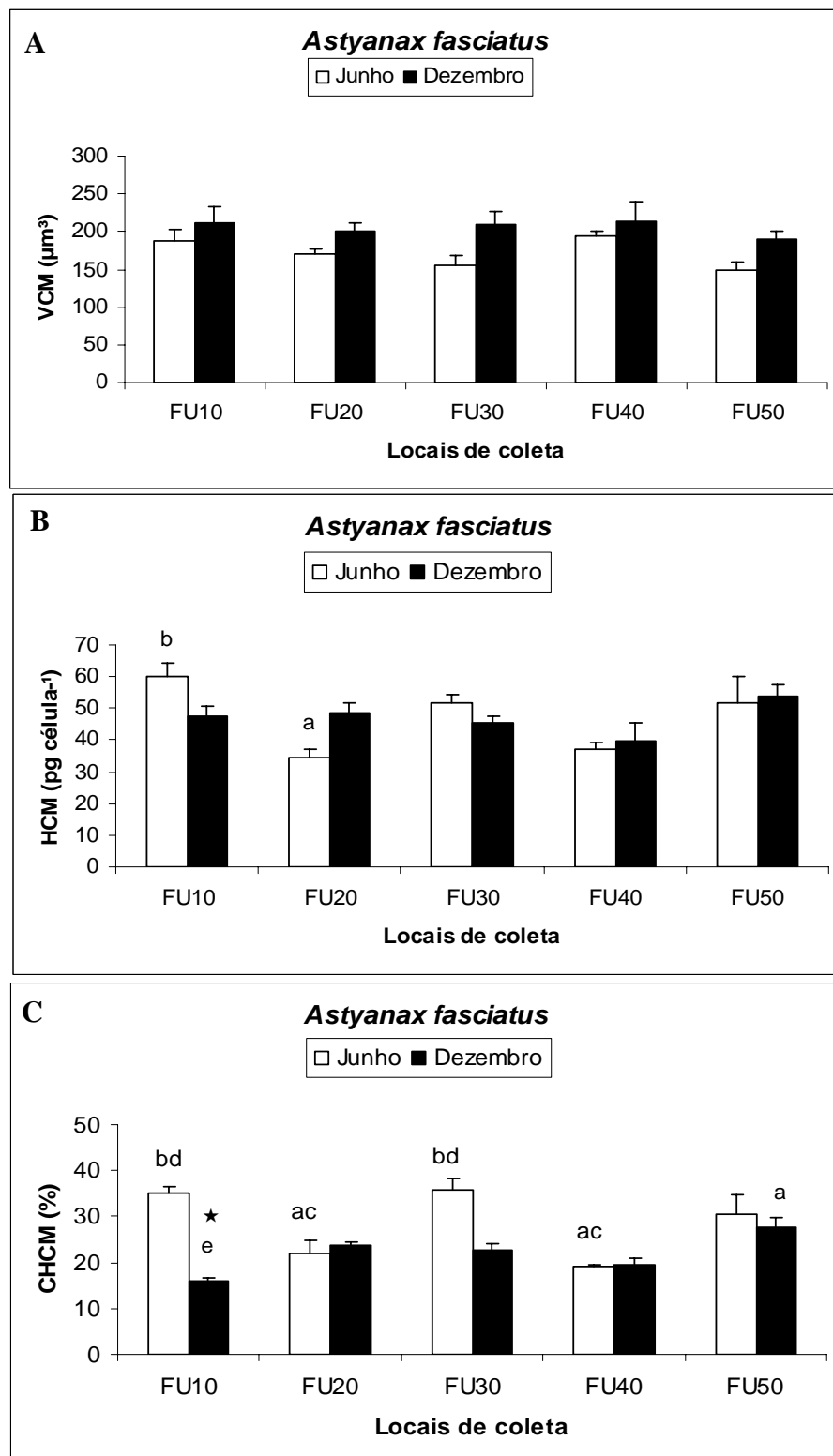


Figura 2. Médias \pm erro padrão de **A.** volume corpuscular médio (VCM), **B.** hemoglobina corpuscular média (HCM) e **C.** concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre as coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.

Tabela II. Correlações parciais encontradas entre as variáveis ambientais e biológicas de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006. Hct: hematócrito. VCM: Volume corpuscular médio.

	EQUAÇÃO	R²	P
(A) JUNHO			
Hct x Zinco e cromo sedimento	$Hct = 85,62 - 5,52 * Zinco + 4,82 \times 10^{-2} * Cromo$	99,4%	< 0,006
(B) DEZEMBRO			
VCM x Nitrito na água	$VCM = 187,63 + 1080,26 * Nitrito$	96,7%	< 0,003

Pimelodus maculatus

A Tabela III e as Figuras 3 e 4 mostram os valores médios de Hct, RBC, [HB], VCM, HCM e CHCM em *P. maculatus*. Essas variáveis não mostraram diferenças entre os pontos de coleta em Junho (inverno) e Dezembro (verão), entretanto em dezembro o VCM foi mais alto em FU10 e FU30, o HCM foi mais alto em FU40 e FU50, e o CHCM foi mais baixo em FU30, FU40 e FU50 em relação a Junho.

Nesta espécie não foram encontradas correlações parciais entre as coletas.

Tabela III. Valores médios (média \pm erro) do hematócrito (Hct), número total de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina ([HB]) e dos índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *P. maculatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) /2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.

Parâmetros Hematológicos (A)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Hct (%)	43,5 \pm 0,3	39,7 \pm 1,7	25,4 \pm 1,7	41,5 \pm 3	30 \pm 3,3
RBC ($\times 10^4$)	246 \pm 13,5	295 \pm 25	178 \pm 18,7	288 \pm 24	200 \pm 7,3
[HB] (g/100 mL)	11 \pm 1	13,28 \pm 1,1	9,59 \pm 0,8	15,07 \pm 1	10,7 \pm 0,6
VCM (μm^3)	134 \pm 9,5	146 \pm 5,05	119 \pm 9	168 \pm 19	141 \pm 1,8
HCM (pg/cel ⁻¹)	39,4 \pm 2,3	47,3 \pm 1,07	44,8 \pm 1,3	62,9 \pm 5,3	51,6 \pm 3,2
CHCM (%)	29,4 \pm 0,5	32,6 \pm 1,7	38,6 \pm 2,3	41,2 \pm 3,3	38,3 \pm 4,3

Parâmetros Hematológicos (B)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Hct (%)	46,33 \pm 5,05	44 \pm 3,03	36,16 \pm 3	41,83 \pm 1,6	35,66 \pm 2
RBC ($\times 10^4$)	237 \pm 24,7	217 \pm 13,8	204,5 \pm 4	223 \pm 9,5	212,5 \pm 16
[HB] (g/100 mL)	10 \pm 0,9	11,02 \pm 0,9	6,68 \pm 0,6	8,16 \pm 0,6	9,32 \pm 0,4
VCM (μm^3)	216 \pm 13,6 ★	200 \pm 10,2	195 \pm 13,1 ★	189 \pm 6,4	171 \pm 11,8
HCM (pg/cel ⁻¹)	53,73 \pm 3	54,83 \pm 1,7	43,89 \pm 4	38,76 \pm 2,1 ★	37,6 \pm 3 ★
CHCM (%)	23,41 \pm 1,05	27,62 \pm 0,7	21,99 \pm 0,7★	20,41 \pm 1,01 ★	26,64 \pm 1,9 ★

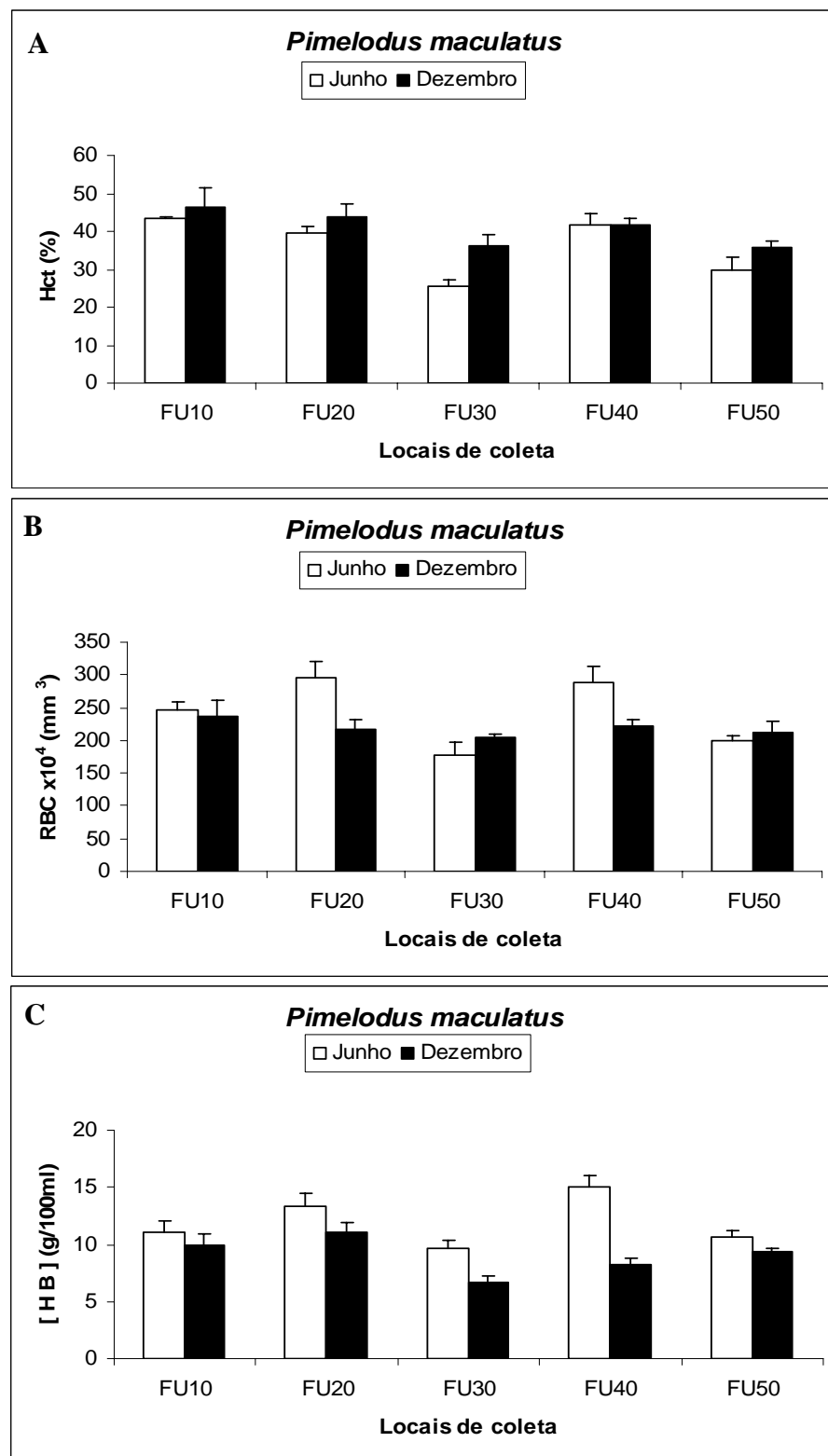


Figura 3. Médias \pm erro padrão de **A.** hematócrito (Hct), **B.** número total de eritrócitos (RBC) e **C.** concentração de hemoglobina ([HB]) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

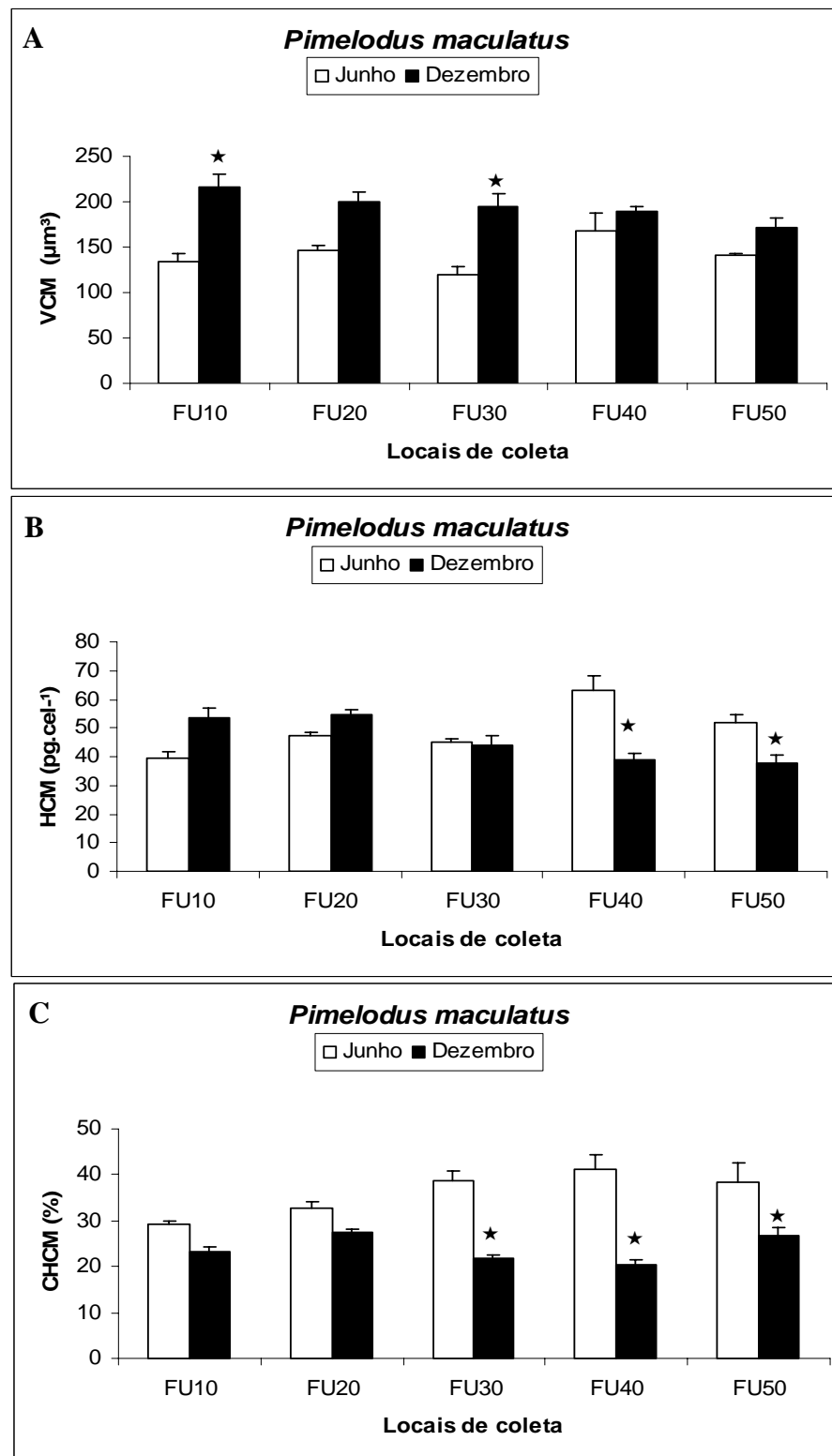


Figura 4. Médias \pm erro padrão de **A.** volume corpuscular médio (VCM), **B.** hemoglobina corpuscular média (HCM) e **C.** concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e a coleta Dezembro/2006.

Leucócitos

Os leucócitos (linfócitos, monócitos, neutrófilos, células granulocíticas especial (CGE) e eosinófilos) identificados no sangue periférico de *A. fasciatus* e *P. maculatus* eram morfológicamente semelhantes nas duas espécies (Figura 5 e 6). Neutrófilos, eosinófilos e basófilos (granulócitos) possuem núcleo irregular e grânulos no citoplasma, os linfócitos e monócitos (agranulócitos) possuem núcleo arredondado e ausência de granulações no citoplasma podendo, porém, apresentar grânulos azurófilos. Basófilos não foram identificados para nenhuma das duas espécies. Os trombócitos de *A. fasciatus* eram fusiformes, entretanto trombócitos ovóides foram freqüentemente encontrados em agregados celulares; em *P. maculatus* os trombócitos em forma de bastonetes ou fusiformes não formavam agregados celulares.

Astyanax fasciatus

O número total de leucócitos e trombócitos e a contagem diferencial de leucócitos em *A. fasciatus* são mostrados na Tabela IV e Figura 7. O número total de leucócitos em junho foi mais alto ($P < 0,05$) em FU30 em relação à FU20, FU40 e FU50 e em FU10 em relação à FU40; em Dezembro foi mais alto em FU20 em relação à FU50. O número total de trombócitos não apresentou diferença significativa entre os locais de coleta e entre as coletas de Junho e Dezembro. Em Junho não houve diferenças na porcentagem de linfócitos, monócitos e neutrófilos entre os pontos de coleta, entretanto em Dezembro, a porcentagem de monócitos foi mais alta em FU10 em relação à FU20 e FU40. Eosinófilos foram encontrados somente na coleta de dezembro em FU10, FU40 e FU50 e CGE foram encontradas somente em Junho em FU10, FU30, FU40 e FU50.

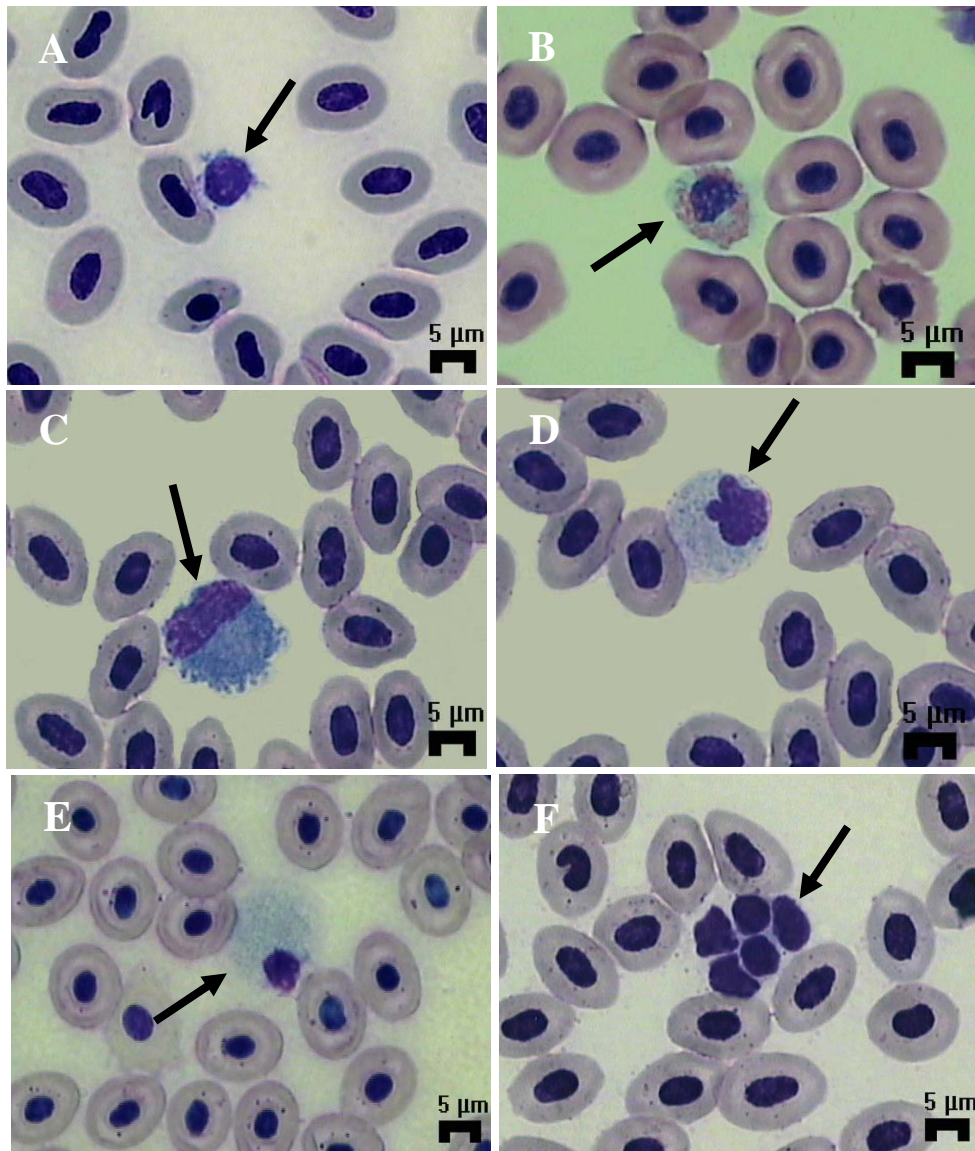


Figura 5. Células sanguíneas de *Astyanax fasciatus* coletados na UHE de Furnas- MG. **A-** Linfócito, **B-** Eosinófilo, **C-** Monócito, **D-** Neutrófilo, **E-** Célula Granulocítica Especial e **F-** Aglomerado de trombócitos (◀).

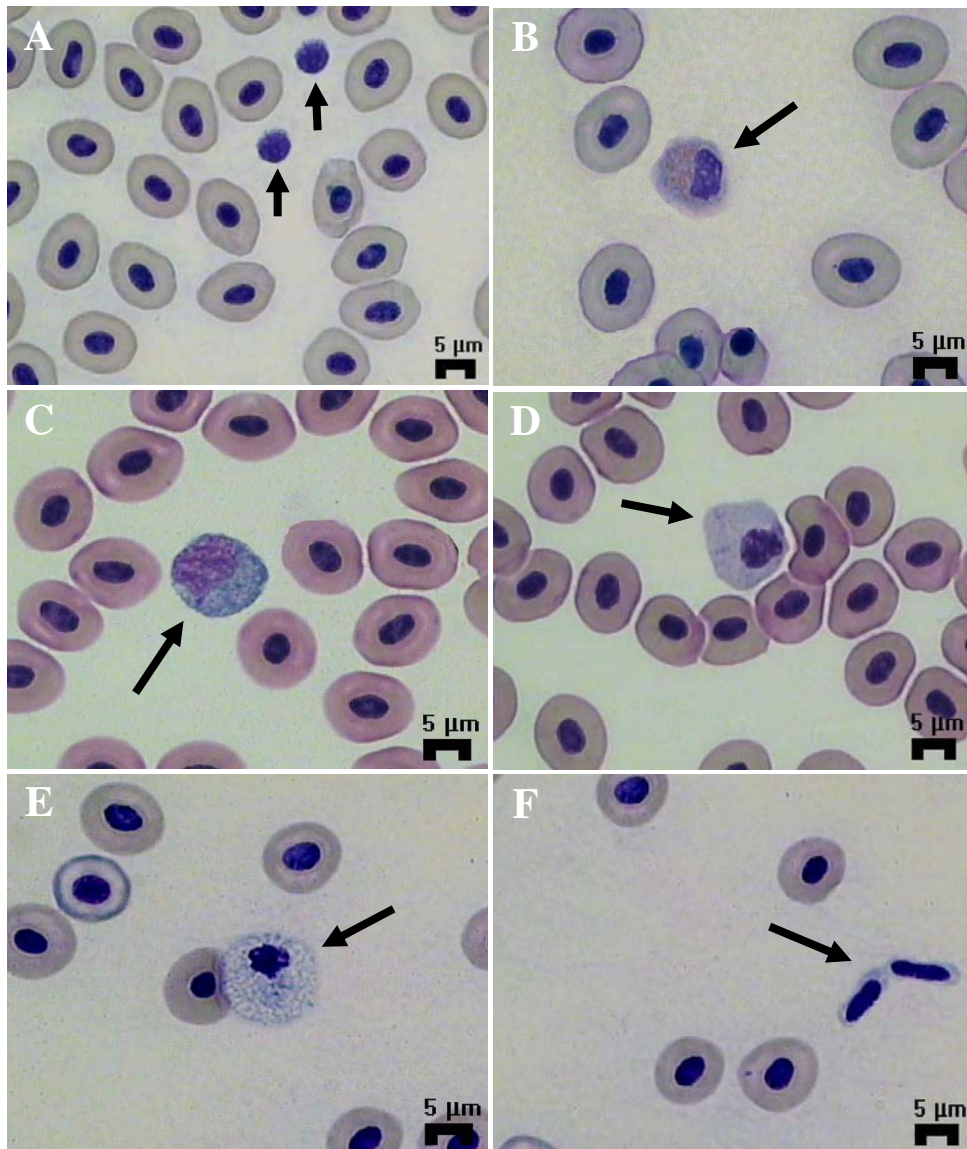


Figura 6. Células sanguíneas de *Pimelodus maculatus* coletados na UHE de Furnas- MG. **A-** Linfócito, **B-** Eosinófilos, **C-** Monócito, **D-** Neutrófilo, **E-** Célula Granulocítica Especial e **F-** Trombócitos (↔).

Tabela IV. Valores médios (média \pm erro) da porcentagem de linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, células granulocítica especial e o número total de leucócitos e trombócitos em *Astyanax fasciatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) /2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

Tipo de Leucócito (A)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Linfócito (%)	27,4 \pm 4,7	41,75 \pm 6,3	40,7 \pm 4	42,4 \pm 6,6	25,7 \pm 4,2
Monócito (%)	27,35 \pm 7,01	34,55 \pm 5,28	25,8 \pm 4,5	34,03 \pm 9,46	44,15 \pm 8,01
Neutrófilo (%)	45,25 \pm 7,2	23,7 \pm 8,9	33,3 \pm 7,6	22,17 \pm 7,9	26,4 \pm 6,3
Eosinófilo (%)	0	0	0	0	0
Granulocítica especial (%)	1,4 \pm 0,9	0	0,2 \pm 0,2	1,4 \pm 1,3	1,75 \pm 0,8
Número Total de Leucócitos ($\times 10^3$)	19,7 \pm 2,6 ^d	16,2 \pm 1,5 ^c	27,2 \pm 3,3 ^{bde}	7,8 \pm 0,9 ^{ac}	10,5 \pm 1,2 ^c
Número Total de Trombócitos ($\times 10^3$)	4,2 \pm 0,6	9 \pm 1,1	7,5 \pm 2	5,8 \pm 1,4	6,8 \pm 1,9

Tipo de Leucócito (B)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Linfócito (%)	32,6 \pm 2,9	47,9 \pm 6,6	26,5 \pm 4,7	31,37 \pm 3,2	31,1 \pm 4,1
Monócito (%)	43,7 \pm 2,94 ^{bd★}	9,7 \pm 0,82 ^{a★}	29,3 \pm 4,69	9,7 \pm 1,7 ^{a★}	25,3 \pm 6,23
Neutrófilo (%)	18 \pm 3,8 ^{d★}	42,4 \pm 6,9	44,2 \pm 5,6	58,2 \pm 4,6 ^{a★}	41,8 \pm 5,5
Eosinófilo (%)	5,7 \pm 3,9 ^{bc★}	0	0	0,76 \pm 0,7	1,8 \pm 1,2
Granulocítica especial (%)	0	0	0	0	0
Número Total de Leucócitos ($\times 10^3$)	9,3 \pm 1,5 [★]	19,4 \pm 2,7 ^c	14,4 \pm 2 [★]	16 \pm 2,1	8,9 \pm 1,7 ^b
Número Total de Trombócitos ($\times 10^3$)	4,8 \pm 0,9	5,8 \pm 1,7	2,9 \pm 1,1	4,8 \pm 1,1	4,4 \pm 0,9

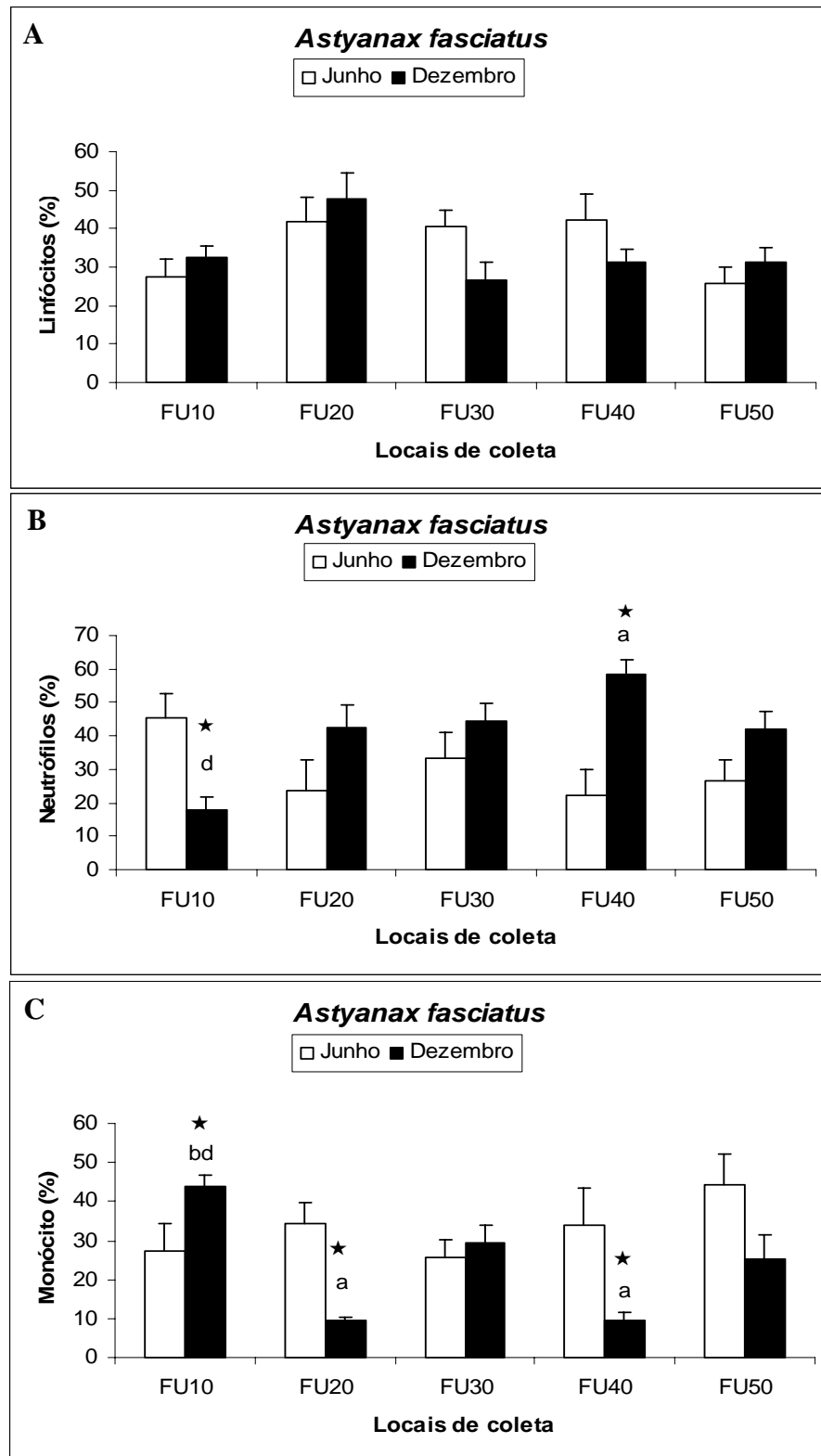


Figura 7. Médias \pm erro padrão de **A.** linfócitos, **B.** neutrófilos, **C.** monócitos, **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos e **G.** num. total de trombócitos de *A. fasciatus* coletados em cinco locais na UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) durante os meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre Junho e Dezembro/2006.

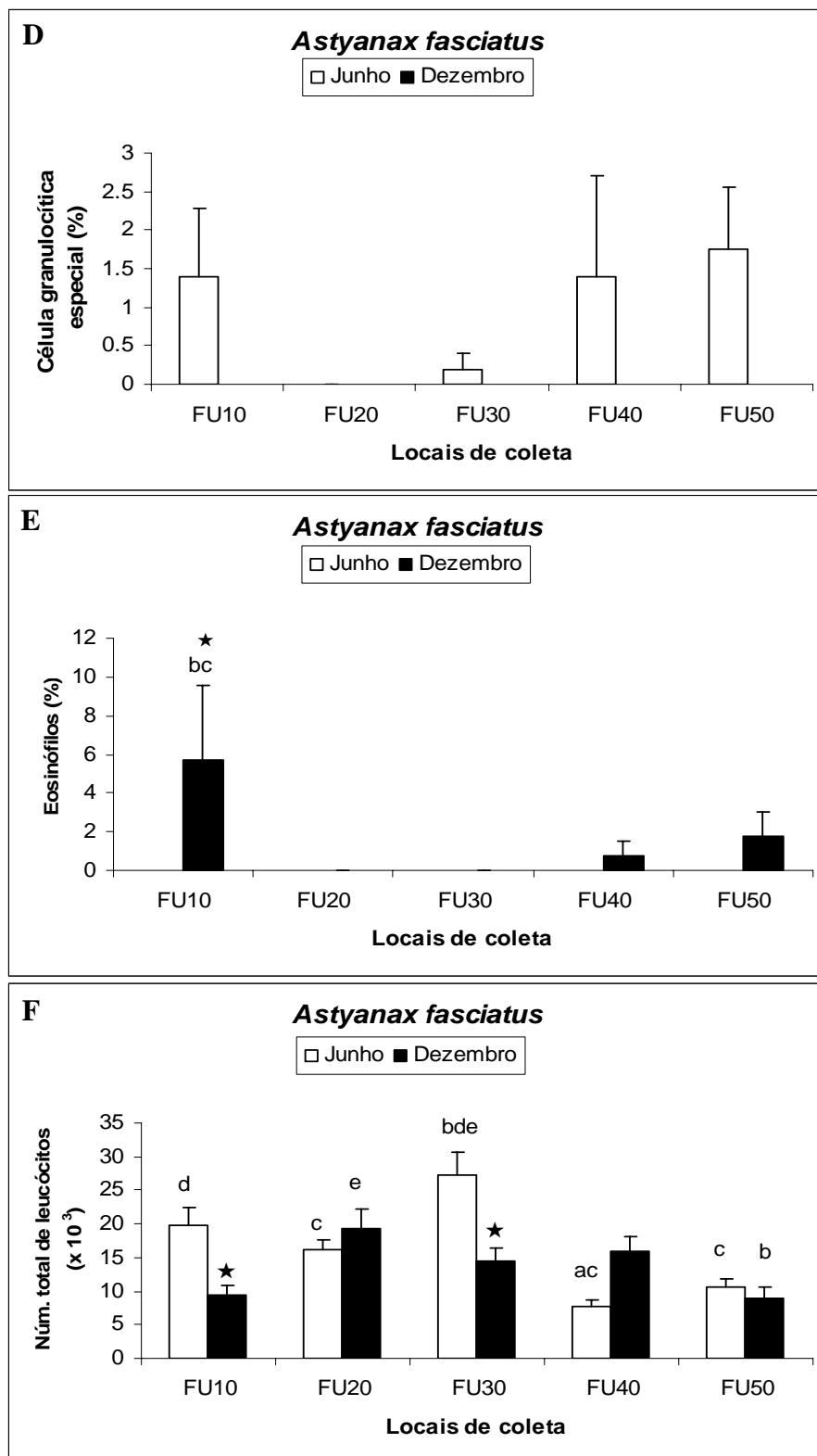


Figura 8. Médias \pm erro padrão de **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos e **G.** num. total de trombócitos de *A. fasciatus* coletados em cinco locais na UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) em Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre Junho e Dezembro/2006.

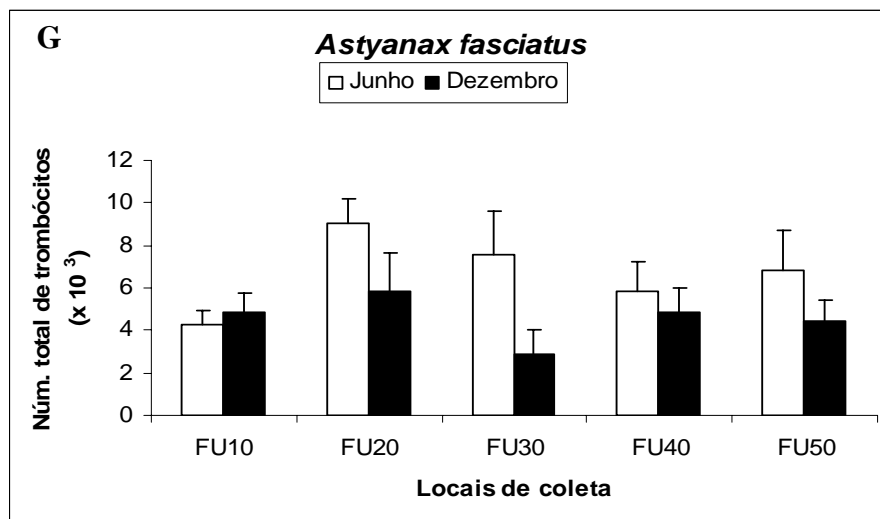


Figura 9. Médias \pm erro padrão de **G.** num. total de trombócitos de *A. fasciatus* coletados em cinco locais na UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) em Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre Junho e Dezembro/2006.

Os resultados da análise de correlação parcial para o mês de Junho e Dezembro estão apresentados na Tabela V (A e B).

Tabela V. Correlações parciais encontradas entre as variáveis ambientais e biológicas de *A. fasciatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B)/2006.

	EQUAÇÃO	R ²	P
(A) JUNHO			
Linfócito x Endosulfan na água e cobre sedimento	$\text{Linf} = 15,13 + 23,18 * \text{Endosulfan} + 0,29 * \text{Cobre}$	99%	< 0,005
(B) DEZEMBRO			
Número total de trombócitos x Cromo	$\text{NTT} = 5,99 - 0,05 * \text{Cromo}$	77%	< 0,04

Pimelodus maculatus

O número total de leucócitos e trombócitos e a contagem diferencial de leucócitos em *Pimelodus maculatus* são mostrados na Tabelas VI e Figura 8. O número total de leucócitos foi mais alto em FU10 em relação a FU50 em junho e mais alto em FU30 em relação a FU50 em Dezembro. Comparando as duas coletas, foi mais alto em FU30 em

dezembro. O número total de trombócitos foi mais alto em FU20 em relação a FU40 em Junho e não houve diferença entre os pontos de coleta em Dezembro entre inverno e verão. Os monócitos não apresentaram diferença entre os locais de coleta em Junho e em Dezembro, exceto em FU40. Em Junho, a porcentagem de neutrófilos foi mais baixa em FU10 em relação a FU40 e não houve diferença entre Junho e Dezembro. Eosinófilos foram encontrados somente em FU20 em Junho e em FU20 e FU50 em Dezembro. CGE foram encontradas em todos os exemplares coletados não apresentando diferença significativa entre os locais de coleta e entre as coletas de Junho e Dezembro.

Tabela VI. Valores médios (média \pm erro) da porcentagem de linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, células granulocítica especial e o número total de leucócitos e trombócitos em *Pimelodus maculatus* coletados em Junho (A) e Dezembro (B) /2006. a, b, c, d, e: indicam diferença em relação aos locais FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: indica diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

Tipo de Leucócito (A)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Linfócito (%)	65,12 \pm 13,2	35,8 \pm 3,3	39,96 \pm 7,1	34,2 \pm 9,1	31,8 \pm 5,4
Monócito (%)	22,04 \pm 14,8	28,4 \pm 5,3	29,04 \pm 4,03	20,94 \pm 3,6	37,8 \pm 7,5
Neutrófilo (%)	9,55 \pm 4,8 ^d	30,4 \pm 2	14,7 \pm 3,3	38,3 \pm 7,7 ^a	21,7 \pm 9,2
Eosinófilo (%)	0	0,28 \pm 0,1	0	0	0
Granulocítica Especial (%)	3,2 \pm 0,5	5,08 \pm 0,8	16,3 \pm 4,6	6,56 \pm 3,2	8,4 \pm 2,3
Número Total de Leucócitos (x 10 ³)	39,08 \pm 5,3 ^e	14,51 \pm 3,4	17,56 \pm 4	28,5 \pm 7,3	13,57 \pm 1,8 ^a
Número Total de Trombócitos (x 10 ³)	34,47 \pm 12,7	45,37 \pm 17 ^d	10,34 \pm 2,6	7,44 \pm 2,3 ^b	5,29 \pm 1,2

Tipo de Leucócito (B)	Locais de coleta				
	FU10 Turvo	FU20 Guapé	FU30 Barranco Alto	FU40 Fama	FU50 Porto Fernandes
Linfócito (%)	60,2 \pm 8,5	56 \pm 7,6	50,6 \pm 2,8	39,4 \pm 6,1	40,5 \pm 7,5
Monócito (%)	12,9 \pm 1,9	9,9 \pm 1,4	12,4 \pm 0,6	6,4 \pm 1,04 [★]	18,2 \pm 4,4
Neutrófilo (%)	13,7 \pm 3,9	25,6 \pm 7,3	32 \pm 5,7	50 \pm 6,2	33,7 \pm 10
Eosinófilo (%)	0	0,5 \pm 0,3	0	0	0,7 \pm 0,6
Granulocítica Especial (%)	13,2 \pm 1,4	8 \pm 2,9	5 \pm 2,1	4,2 \pm 1	6,9 \pm 2,9
Número Total de Leucócitos (x 10 ³)	23,2 \pm 3,6	25,2 \pm 3,5	41,3 \pm 4,6 ^{e★}	37,4 \pm 4	14,2 \pm 2,1 ^c
Número Total de Trombócitos (x 10 ³)	14 \pm 12	8,7 \pm 4,4	23,5 \pm 20,3	7,8 \pm 4,8	14,7 \pm 5,5

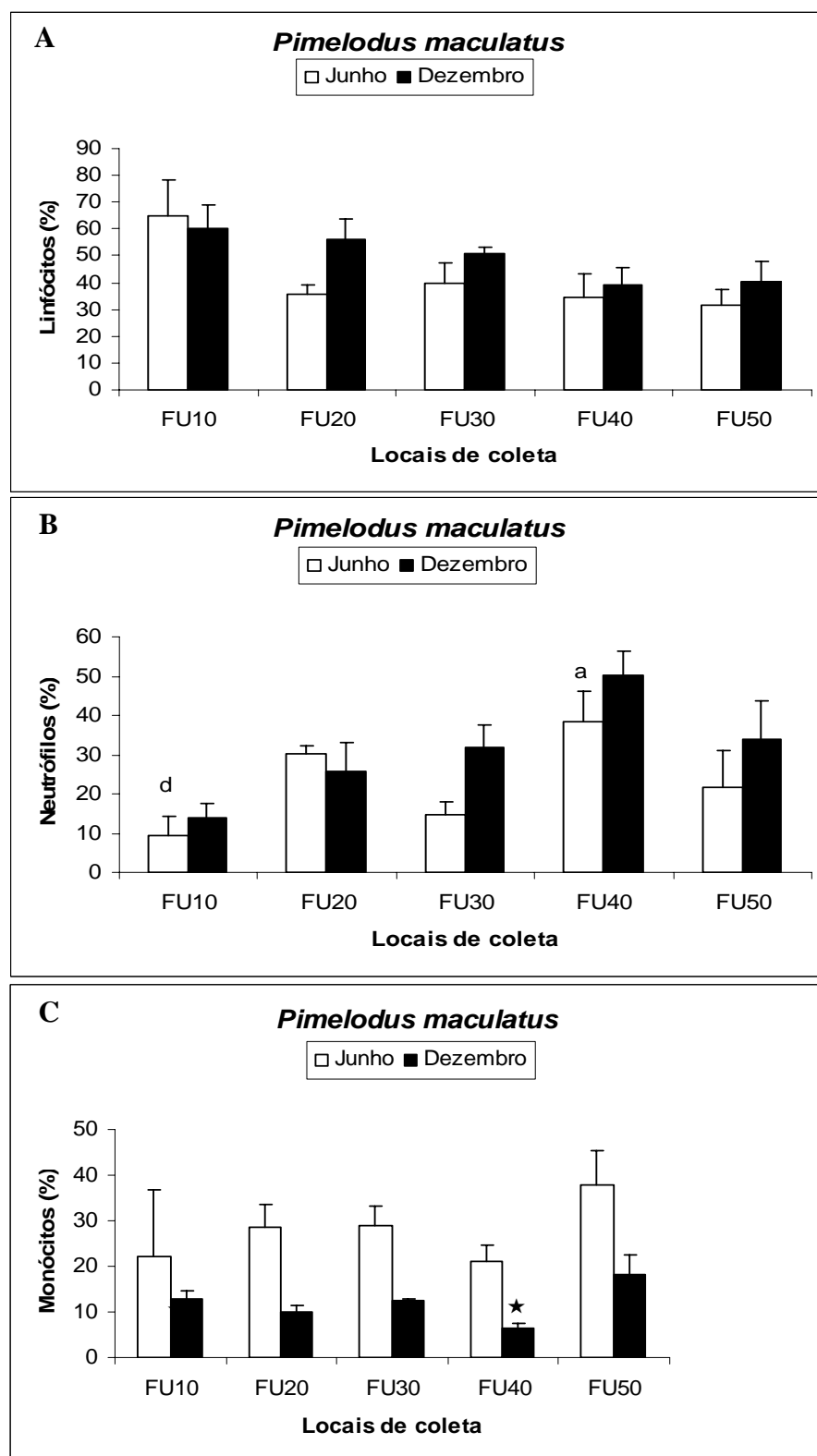


Figura 10. Médias \pm erro padrão de **A.** linfócitos, **B.** neutrófilos, **C.** monócitos, **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos e **G.** num. total de trombócitos de *P. maculatus* coletados em cinco locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

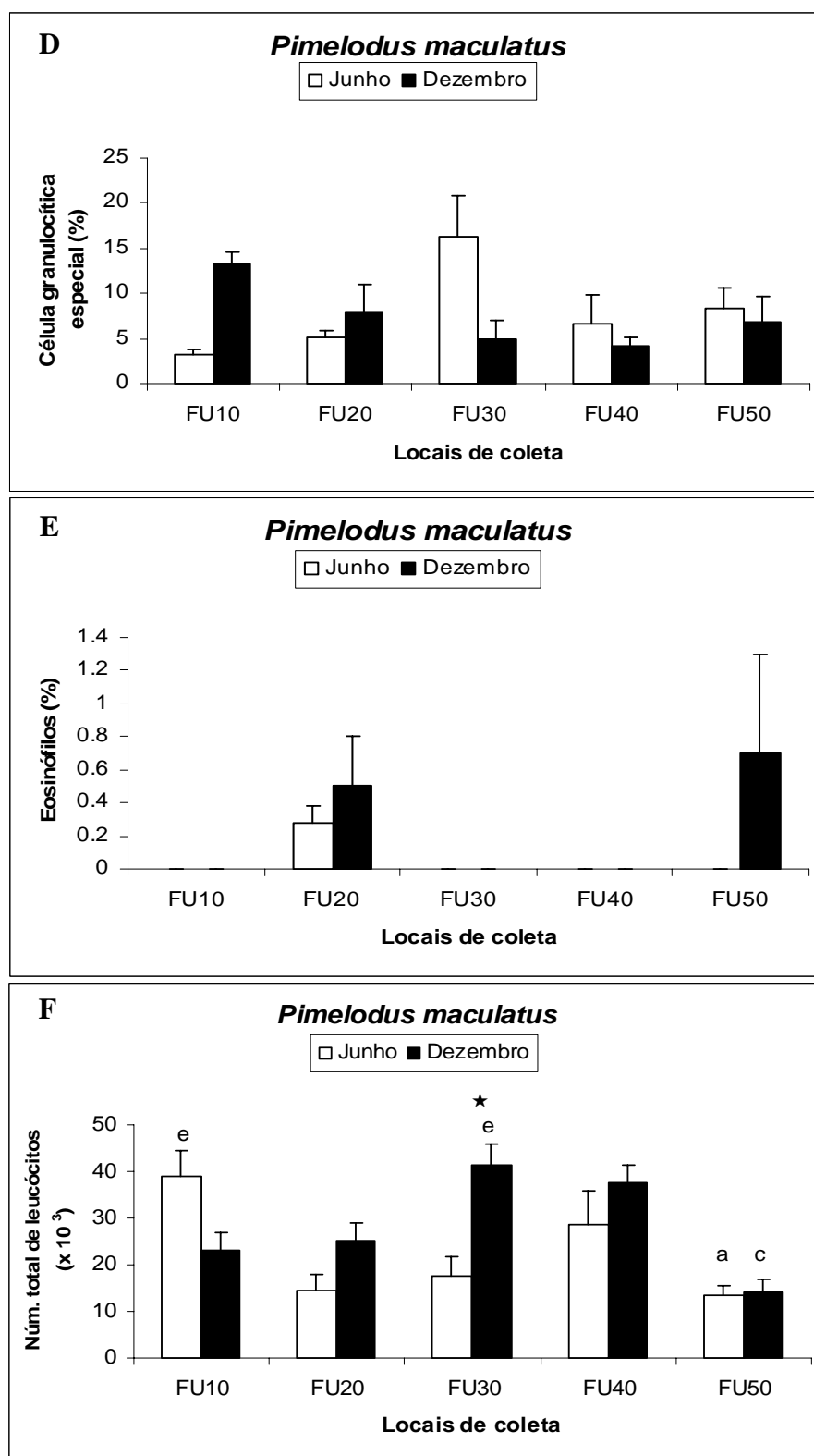


Figura 11. Médias \pm erro padrão de **D.** célula granulocítica especial, **E.** eosinófilo, **F.** num. total de leucócitos de *P. maculatus* coletados em cinco locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

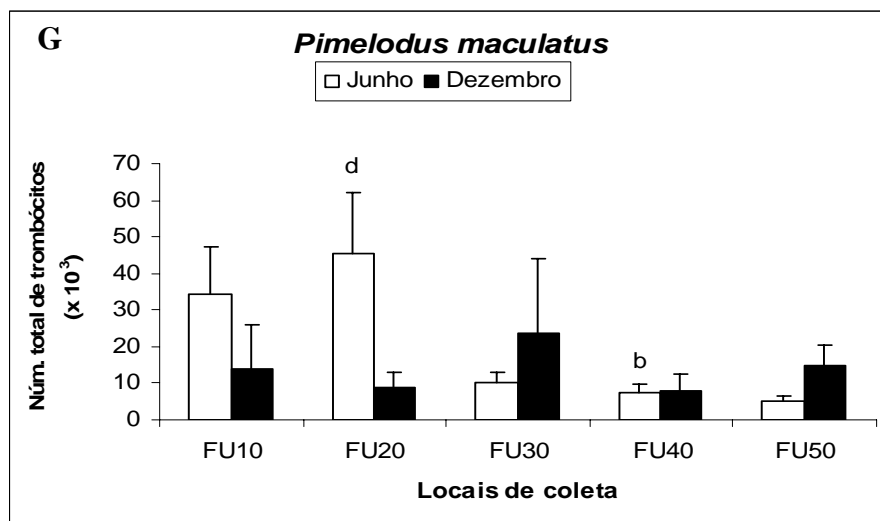


Figura 12. Médias \pm erro padrão de **G.** num. total de trombócitos de *P. maculatus* coletados em cinco locais da UHE de Furnas: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) nos meses de Junho e Dezembro/2006. a, b, c, d, e: diferença em relação à FU10; FU20; FU30; FU40 e FU50. ★: diferença entre a coleta de Junho e Dezembro/2006.

Os resultados da análise de correlação parcial para o mês de Junho e Dezembro estão apresentados na Tabela VII (A e B).

Tabela VII. Correlações parciais encontradas entre as variáveis ambientais e biológicas de *P. maculatus* coletados em cinco diferentes pontos (FU10: Turvo; FU20: Guapé; FU30: Barranco Alto; FU40: Fama e FU50: Porto Fernandes) na UHE de Furnas durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006.

	EQUAÇÃO	R ²	P
(A) JUNHO			
Célula granulocítica especial x Cobre	CGE = 3,22 - 0,27 * Cobre	87%	< 0,019
(B) DEZEMBRO			
Número total de trombócitos x Cromo	NTT = 4 + 0,38 * Cromo	97,8%	< 0,001

5. DISCUSSÃO

Os valores médios das variáveis hematológicas, serie vermelha, de ambas as espécies, foram semelhantes as já determinadas para *A. fasciatus* (Alberto et al., 2005) e *Pimelodus maculatus* (Ribeiro, 1978; Ranzani-Paiva et al., 2000). Entretanto, a variabilidade encontrada entre os diferentes locais de coletas podem indicar possível influência das características ambientais. As correlações positivas encontradas entre as variáveis hematológicas Hct, VCM e [Hb] e algumas variáveis ambientais analisadas tais como cromo, nitrito e metolacoloro em *A. fasciatus* evidenciam a complexidade das respostas hematológicas em peixes expostos a múltiplos agentes tóxicos em concentrações subletais.

De forma geral, as correlações positivas encontradas sugerem que os diferentes valores encontrados em cada local estão associados a um ajuste fisiológico para manutenção adequada ou aumento do transporte de O₂ pelos eritrócitos devido à necessidade de reparação de possíveis danos causados aos tecidos por essas substâncias. Alterações no Hct e [Hb] estão diretamente relacionados à demanda de O₂ podendo ocorrer via liberação de eritrócitos maduros na corrente sanguínea pelo baço (Nikinma, 1990; Rantin et al., 2007). As alterações no VCM podem também estar relacionadas à demanda de O₂, porém, neste caso, o mecanismo de ação ocorre por movimento de íons e água que aumentam o volume celular e, conseqüentemente, a capacidade da Hb se ligar ao O₂ (Nussey, 1995).

Estudos em laboratório têm mostrado que pesticidas e metais podem causar alterações nas variáveis hematológicas (série vermelha) e que essas alterações são dependentes da dose e tempo de exposição, como já descrito para *Clarias lazera* (Vosyliene e Kazlauskienė, 1999), *Labeo rohita* (Adrikari et al., 2004) e *Silurus glanis* (Koprucu et al., 2006). Entretanto, algumas espécies não mostram alterações nas variáveis hematológicas quando expostas a concentrações subletais de cobre (Mazon et al., 2002). Silveira-Coffigny et al. (2004) mostrou um aumento do hematócrito e VCM e diminuição do HCM e CHCM em *Oreochromis aureus* expostas ao nitrito o que corrobora com o resultados do presente estudo em *A. fasciatus* coletados em FU10. A não correlação entre nitrito e as variáveis hematológicas em *P. maculatus* deve-se possivelmente à sensibilidade da espécie ao nitrito e cloreto e a competição desses íons pelos sítios de absorção na membrana celular como descrito por Costa et al. (2004) que pode reduzir a entrada e os efeitos do nitrito no organismo.

Organoclorados, organofosforados, piretróides e metais pesados são conhecidos por afetarem os leucócitos e, conseqüentemente, o sistema imunológico dos peixes (Haniffa, 1990). Os linfócitos são considerados os agranulócitos mais comuns no sangue de peixes (70% a 80%) e estão relacionados com a produção de anticorpos e participam do processo inflamatório (Takashima e Hibiya, 1995), entretanto esses valores podem apresentar grandes variações nas diferentes espécies (Tavares-dias e Moraes, 2004). Nas espécies estudadas a porcentagem de linfócitos foi relativamente baixa, variando de 20 e 48% e 21 a 66%, respectivamente em *A. fasciatus* e *P. maculatus*. Estudos anteriores com *P. maculatus* mostraram que 60 a 70% dos leucócitos são linfócitos (Ribeiro, 1978; Silva-Souza et al., 2000). Dentre os demais leucócitos, 0 a 12% corresponde aos eosinófilos, basófilos e as CGE. Eosinófilos tem função de fagocitose, além de estarem relacionados com reações alérgicas (Esh e Huffines, 1973) e as CGE, cuja função no sistema imune ainda não está bem definida, embora haja evidências de que elas sejam uma variação dos neutrófilos e, portanto estariam relacionadas a processos inflamatórios e a fagocitose. Segundo Martins et al. (2002) as CGE tem sua freqüência aumentada em diferentes situações de estresse (exposição a poluentes e alteração na qualidade da água). Em *A. fasciatus* os eosinófilos, basófilos e CGE foram raros, variando entre 0 e 5%, porém em *P. maculatus* as CGE foram encontradas em até 16% dos leucócitos totais em FU30.

As correlações parciais positivas entre linfócitos e endosulfan juntamente com o cobre em *A. fasciatus* e as porcentagens de neutrófilos e monócitos, que são células com capacidade citotóxica, sugerem que estas espécies possam estar sofrendo processos inflamatórios que possivelmente estão associados à presença dessas substâncias na água e/ou sedimento, como sugerido por vários autores (Nussey et al., 1995, Vosyliene e Kazlauskienė, 1999; Kotsanis et al., 1999, Shrivastava et al., 2002 Mgbenka et al., 2003).

Os trombócitos, cuja função é comparada a das plaquetas dos mamíferos e têm papel importante na coagulação sanguínea, pode ser alterado na presença de organoclorados. Shafiq-ur-rehman (2006) observou trombocitose em *Cyprinus carpio* expostos durante 120 e 240 h a concentrações subletais de endosulfan.

Nos locais onde foram detectadas concentrações de cromo, houve uma correlação negativa entre este metal e trombócitos em Dezembro em *A. fasciatus* e uma correlação positiva para *Pimelodus maculatus*. As duas espécies apresentaram comportamentos diferentes em relação à presença deste metal no sedimento. Em *A.*

fasciatus o cromo parece reduzir o número de trombócitos na corrente sanguínea que pode ocorrer através da destruição de órgãos hematopoiéticos (Heath, 1995). Em *P. maculatus* a presença do cromo no sedimento aparentou estimular a presença dos trombócitos na corrente sanguínea, que pode ser explicado por efeitos indiretos do metal, como a maior susceptibilidade destes organismos a agentes patogênicos e/ou destruição dos tecidos pela ação dos poluentes.

6. CONCLUSÕES

Em conclusão, as diferenças nas variáveis hematológicas bem como na contagem diferencial de leucócitos encontradas em *A. fasciatus* e *P. maculatus* coletados na UHE de Furnas mostraram correlações com diferentes xenobióticos presentes na água e ou sedimento evidenciando diferenças quanto à sensibilidade das duas espécies a essas substâncias. Entretanto, não é possível definir uma causa específica a variabilidade encontrada devido ao grande número de substâncias presentes na água e a possível interação entre elas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adhikari, S.; Sarkar, B.; Chatterjee, A.; Mahapatra, C.T.; Ayyappan, S., Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and predictions of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 58: 220-226, 2004.
- Alberto, A., Camargo, F. M., Verani, J.R., Costa, O. F. T., Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 61: 247-255, 2005.
- Bervoets, L., Blust, R., Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. *Environ. Pollut.*, 126: 9-19, 2003.
- Cerqueira, C.C.C., Fernandes, M.N., Blood cell response of the tropical fish *Prochilodus scrofa* to acute copper exposure and subsequent recovery. In: Kennedy, C, Kolok, A. & MacKinlay (eds). *Mechanisms and Consequences*. American Fisheries Society, Physiology section, *Aquatic Toxicol.*, 2002.
- Costa, O. T. F., Ferreira, D. J. S. F., Lo Presti Mendonça, F. L. M., Fernandes, M. N., Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. *Aquaculture*, 232: 627-636, 2004.
- Esh, G. W., Huffines, W. J., Histopathology associated with endoparasitic helminthes in bass. *J. Parasitol.*, 59: 306-313, 1973.
- Koprucu, S.S., Koprucu, K, Ural, M.S., Ispir, U., Pala, M. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). *Pesticide Biochem. & Physiol.*, 86: 99-105, 2006.

- Kotsanis, N., Iliopoulou-Georgudaki, J., Kapata-Zoumbos, K., Changes in selected haematological parameters at early stages of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, subjected to metal toxicants: arsenic, cadmium and mercury. *J. Appl. Ichthyol.*, 16: 276-278, 1999.
- Haniffa, M. A., In Haematological effects of textile mills effluents on freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *Environ. Res.*, 17: 191, 1990.
- Heath, A.G. *Water Pollution and Fish Physiology* 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 384 pp., 1995.
- Martins, M. L., Moraes, F. R., Fujimoto, R. Y., Nomura, D. T., Fenerick, J., Respostas do híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 macho x *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 fêmea) a estímulos simples ou consecutivos de captura. *Boletim do Instituto de Pesca*, 28(2): 195-204, 2002.
- Mazon, A. F., Monteiro, E. A. S., Pinheiro, G.H. D., Fernandes, M. N., Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Braz. J. Biol.*, 62(4A): 621-631, 2002.
- Mgbenka, B. O., Oluah, N. S., Umeike, I., Effect of Gammalin 20 (Lindane) on differential white blood cell counts of the African catfish, *Clarias albopunctatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 71: 248-254, 2003.
- Nikinmaa, M., *Vertebrate red blood cells*. New York: Springer, 1990.
- Nussey, G., Van Vuren, J. H. J., Du Preez, H. H., Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 11(3): 381-388, 1995.
- Rantin, F. T., Kalinin, A. L., Glass, L.M., The effects of temperature on respiratory and cardiac function of teleost fish, 55-82. In: Fernandes, M. N., Rantin, F. T., Glass, M. L., Kapoor, B.G (eds), *Fish Respiration and Environment*, 392 pp., 2007.

- Ranzani-Paiva, M. J. T., Hematological evaluation in commercial fish species in the foodplain of the Upper Paraná river, Brazil. *Acta Scientiarum*, Maringá, 22(2): 507-513, 2000.
- Ribeiro, W. R., Contribuição ao estudo de hematologia de peixes. Morfologia e citoquímica das células do sangue e dos tecidos hematopoéticos do mandi amarelo, *Pimelodus maculatus* Lacépède 1803. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. 110 pp., 1978.
- Schulz, U. H. & Martins-Junior, H., *Astyanax fasciatus* as Bioindicator of Water Pollution of Rio Sinos, RS, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 61(4): 615-622, 2001.
- Serpunin, G.G., Likhatchyova, O.A., Use of the ichthyohaematological studies in ecological monitoring of the reservoirs. *Acta Vet. Brno*, 67: 339-345, 1998.
- Shafiq-Ur-Rehman: Endosulfan Toxicity and its Reduction by Selenium: A Behavioral, Hematological and Peroxidative Stress Evaluation: *The Internet J. of Toxicol.*, 1(3), 2006.
- Shivastava, R., Upreti, R. K., Seth, P.K., Chaturvedi, U. C., Effects of chromium on the immune system. *FEMS, Immunol. Medic. Microb.*, 34: 1-7, 2002.
- Silva-Souza, A. T., Machado, P. M., Almeida, S. C., Haematology of fish from Tibagi river. I. differential white blood cell counts in *Pimelodus maculatus* females. *Boletim do Instituto de Pesca*, 26(1): 33-39, 2000.
- Silveira-Coffigny, R., Prieto-Trujillo, A., Ascencio-Valle, F., Effects of different stressors in haematological variables in culture *Oreochromis aureus* S. *Comp. Biochem. Physiol.*, Part C 139: 245-250, 2004.
- Straskraba, M., Theoretical models of population dynamics and cybernetic theory of ecosystems. In: B. C. Patten (ed.), *The George M. Van Memorial Series in System Ecology*. 1 (in print), 1992.

- Takashima, F. & Hibiya, T., *An atlas of fish histology: normal and pathological features*. 2. ed. Stuttgart: Fischer Verlag, 195 pp., 1995.
- Tavares-Dias, M., Melo, J. F. B., Moraes, G., Moraes, F. R., Haematological characteristics of Brazilian teleost. VI. Parameters of Jundiá, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Ciência Rural, Santa Maria*, 4(32): 693-698, 2002.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F. R., Hematologia de peixes teleósteos. Biblioteca central – FMRP –USP. 144 pp., 2004.
- Tort, L., Balasch, J.C., Mackenzie, S., Fish health challenge after stress. Indicator of immunocompetence. *Contributions to Science*, 2(4): 443-454, 2004.
- USEPA, Test Method for Evaluating solid Waste Report, no. SW846, Washington, DC, 1986.
- Vasconcelos, T.B., Paschoal, L. R., Metais Pesados (Cd, Cu, Cr, Pb e Zn) no córrego de machadinho: Um afluente do reservatório de Furnas – MG. *Interação*, 4: 39-44, 2001.
- Vosyliene, M. Z., Kazlauskienė, N., Alterations in fish health state parameters after exposure to different stressors. *Acta Zool. Lituanica. Hidrob.*, 9(2): 83-94, 1999.

CAPÍTULO V

RELAÇÃO PESO - COMPRIMENTO

ÍNDICE

1. RESUMO.....	115
2. INTRODUÇÃO.....	116
3. OBJETIVOS.....	116
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	117
5. RESULTADOS.....	118
6. DISCUSSÃO.....	129
7. CONCLUSÕES.....	131
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	132

1. RESUMO

O fator de condição (K) e o fator de condição relativo (Kn) fornecem importantes informações sobre a relação peso – comprimento e sobre a “condição” ou bem estar dos peixes. Espécimes de *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus* foram coletados na UHE de Furnas – MG, pesados e medidos e o K e do Kn foram calculados. *A. fasciatus* e *P. maculatus* apresentaram menor K e Kn no local de coleta FU30, durante as duas coletas. K e Kn das duas espécies aparentemente foram influenciados negativamente pela presença de cromo no sedimento no local FU30, que apresentou altas concentrações de cromo, durante as coletas dos meses de Junho e Dezembro.

Palavra – chave: UHE de Furnas; fator de condição; *A. fasciatus*; *P. maculatus*.

2. INTRODUÇÃO

As medidas de peso e comprimento das populações de peixes revelam a complexidade das inter-relações entre o comprimento, o peso e a condição dos indivíduos (Le Cren et al., 1951). O fator de condição é um indicador quantitativo do grau de hígidez ou de bem estar do peixe, refletindo condições alimentares recentes. O fator de condição relativo maior que 1 indica se o indivíduo se encontra em melhores condições do que a média individual para o mesmo comprimento total, enquanto que valores menores que 1 indicam que o indivíduo está em piores condições do que a média individual também para o mesmo comprimento total.

Vários autores investigaram a influência da qualidade da água no crescimento e bem estar dos peixes (Alberto et al., 2005; Copp, 2003; Schulz e Martins-Junior, 2001). Qualquer fator ambiental que afete o consumo de energia e/ou metabolismo pode influenciar o crescimento dos peixes. Temperaturas muito baixas afetam o crescimento, uma vez que peixes são ectotérmicos, sendo que o aumento na temperatura da água pode levar a um maior crescimento. Além das mudanças sazonais, o estágio de maturação gonadal e o peso do conteúdo estomacal também podem levar a alteração no fator de condição das espécies. A presença de substâncias tóxicas também pode vir a influenciar de forma indireta o crescimento destes organismos, principalmente de formas indiretas. A adaptação a novas condições ambientais leva a uma alteração na homeostasia elevando o gasto energético e essa condição faz com que a reprodução e o crescimento sejam afetados negativamente.

Indicadores biológicos vêm sendo utilizados em várias ocasiões para monitoramento da qualidade da água. Ghetti e Ravena (1994) mencionaram mais de 90 diferentes métodos baseados na fisiologia, patologia e alterações na estrutura da comunidade. Os peixes são muito utilizados no biomonitoramento ambiental, uma vez que estes podem ser afetados de várias formas como, por exemplo, através da redução no desempenho e crescimento que pode ocorrer em níveis subletais dependendo do tempo de exposição, toxicidade e concentração da substância química envolvida (Lanno e Dixon, 1994).

3. OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo foram avaliar o fator de condição (K) e o fator de condição relativo (Kn) das espécies *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus* coletados na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro e verificar possíveis influências da qualidade da água sobre esses parâmetros.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta dos animais

A. fasciatus (n = 131) com massa corpórea (M_C) = $37,77 \pm 2,61$ g e comprimento total (C_T) = $14,33 \pm 0,28$ cm e *P. maculatus* (n = 82) com M_C = $184,27 \pm 32,98$ g e C_T = $25,1 \pm 1,39$ cm foram coletados no reservatório da UHE de Furnas, MG, nos meses de junho (inverno) e dezembro (verão) de 2006 concomitantemente com coletas de água e sedimento (Capítulo I). As coletas foram efetuadas no reservatório na confluência dos rios Grande e Sapucaí: Turvo (FU10, S20° 40' 835" W46° 13' 232"), no eixo do rio Grande: Guapé (FU20, S20° 44' 331" W 45° 55' 800") e Porto Fernandes (FU50, S20° 48' 826" W45° 40' 567") e no eixo do rio Sapucaí: Barranco alto (FU30, S21° 10' 510" W45° 57' 061") e Fama (FU40) S21° 24' 074" W45° 49' 621").

Relação peso – comprimento, fator de condição (K) e fator de condição relativo (Kn)

Após a coleta, os animais foram medidos e pesados e o fator de condição (K) e o fator de condição relativo (Kn) foram calculados.

Para tanto foram estabelecidas as relações peso-comprimento aplicando-se a metodologia proposta por Le Cren (1951), lançando-se em gráficos os valores das variáveis peso (variável dependente) e comprimento (variável independente), verificando a tendência dos pontos empíricos (em gráficos de dispersão) e ajustando-se a curva da relação utilizando a expressão:

$$W_t = K \times L_t^b$$

Em que:

W_t = peso total (g)

L_t = comprimento total (cm)

K = fator de condição

b = coeficiente de isometria

Os valores de K e b foram estimados através da transformação logarítmica dos valores de W_t e L_t e ajustando-se uma relação linear pela aplicação do método dos mínimos quadrados (Santos, 1978).

Em complementação à análise do peso – comprimento foram estimadas as variações individuais desta relação, expressas pelo fator de condição (K) estimado utilizando a expressão:

$$K = Wt / Lt^b$$

Sendo:

Wt = peso total (g)

Lt = comprimento total (cm)

b = coeficiente de crescimento relativo

O fator de condição relativo (Kn) foi estimado utilizando a expressão:

$$Kn = Wt / We$$

Em que:

Wt = peso total

We = peso teórico esperado (estimado pela equação obtida da relação peso – comprimento).

Análise estatística

Os dados estão apresentados como a média \pm erro padrão da média ($P < 0,05$). ANOVA foi aplicada para cada variável biológica, seguido de testes *post-hoc* Tukey-Kramer, Dunett ou Barlett conforme o caso ou ANOVA não paramétrica Kruskal-Wallis para comparações entre os locais de coleta. O teste *Mann-Whitney* foi aplicado nos casos de comparações entre as coletas de Junho e Dezembro. Os valores médios do fator de condição relativo foram comparados ao valor centralizador ($Kn = 1$) pelo teste “t” de Student com 95% de confiança. O nível de significância aceito foi de 5% ($P < 0,05$) em todos os testes e todas as análises foram efetuadas utilizando o programa BioEstat Versão 3.0 (ANOVA).

5. RESULTADOS

Astyanax fasciatus

Estabelecida a relação linear entre as variáveis Wt (peso total) e Lt (comprimento total), foram obtidas as equações para a relação peso – comprimento para ambos os sexos agrupados de *Astyanax fasciatus* (Figura 1) coletados na UHE de Furnas.

Uma vez que o coeficiente b da relação peso – comprimento é pouco maior que 3, pode-se caracterizar o crescimento da espécie como alométrico levemente positivo.

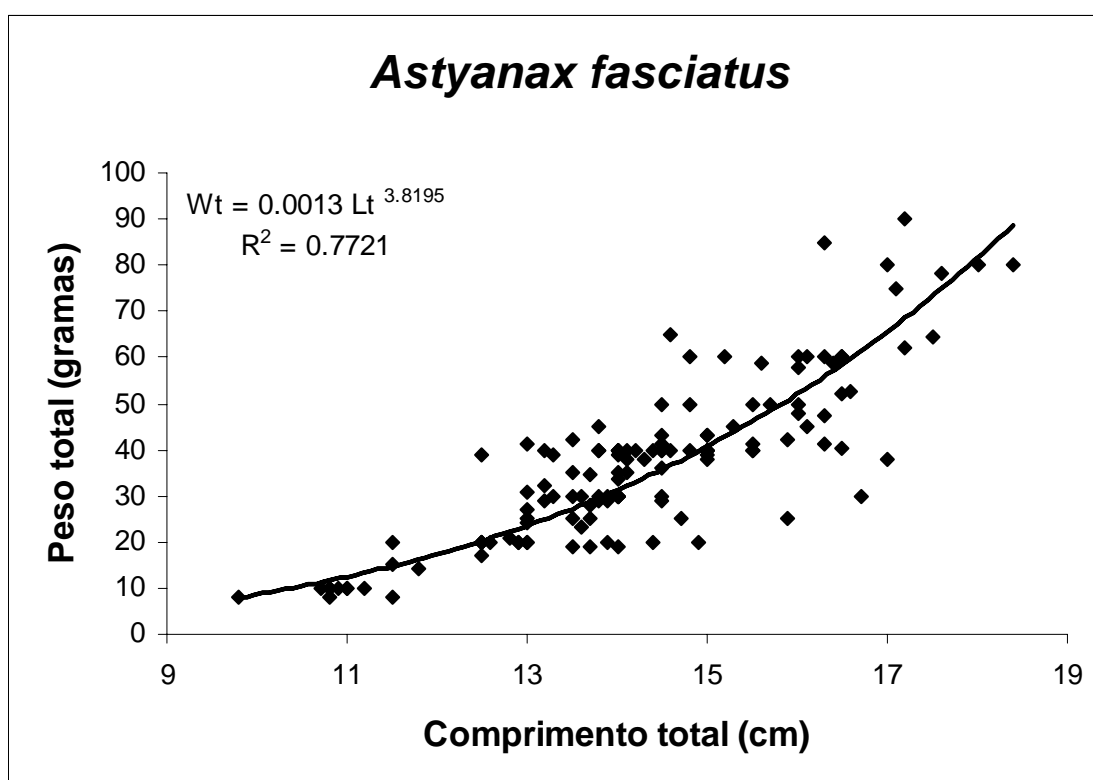


Figura 1. Curva e equação da relação peso – comprimento de ambos os sexos agrupados, para *A. fasciatus* coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro/2006.

No mês de Junho, os valores médios do K de cada local de coleta tiveram uma amplitude de variação de 0,000849 (em FU30) a 0,001988 (em FU50) e para o mês de Dezembro de 0,001173 (em FU30) e 0,00141 (em FU10). O Kn apresentou uma amplitude de variação de 0,64 em FU30, a 1,51 em FU50 em Junho e em Dezembro de 0,8954 em FU30 a 1,0763 em FU10. Observando-se a Figura 2 (A e B) nota-se que nas duas estações do ano o comportamento de engorda foi semelhante, havendo uma diminuição do K e Kn em FU30 para as duas estações do ano, sendo mais acentuada no inverno.

Considerando que as variáveis K e Kn são dependentes, um comportamento semelhante de variação entre os pontos de coleta é esperado. Constatou-se um aumento significativo do Kn e do K respectivamente entre os pontos FU20 ($1,0503 \pm 0,0709$ e $0,1376 \pm 0,0092$) e FU50 ($1,5172 \pm 0,0598$ e $0,1987 \pm 0,0078$), FU30 ($0,6482 \pm 0,0678$ e $0,0849 \pm 0,0088$) e FU40 ($1,3055 \pm 0,0951$ e $0,1710 \pm 0,0124$), FU30 ($0,6482 \pm 0,0678$ e $0,0849 \pm 0,0088$) e FU50 ($1,5172 \pm 0,0598$ e $0,1987 \pm 0,0078$) e uma diminuição entre os pontos FU10 ($1,1885 \pm 0,0568$ e $0,1557 \pm 0,0074$) e FU30 ($0,6482 \pm 0,0678$ e $0,0849$) durante a coleta de inverno (FIGURA 3), e durante a coleta de verão houve uma diminuição do Kn e do K, respectivamente, somente entre os pontos FU10 ($1,0763 \pm 0,0366$ e $0,141 \pm 0,0047$) e FU30 ($0,8954 \pm 0,0363$ e $0,1173 \pm 0,0047$) (Figura 3). Comparando as coletas de Junho e Dezembro através da aplicação do teste de Mann-Whitney, constatou-se uma diferença sazonal entre os pontos FU30, FU40 e FU50 tanto para o K quanto para o Kn, onde foi observada uma diminuição nos pontos FU40 e FU50 e um aumento no ponto FU30 no mês de Dezembro (Figura 3).

Com base nos resultados do teste “t” para a comparação entre os valores médios de cada ponto das duas coletas do fator de condição relativo estimados e o valor centralizador 1,0, a hipótese nula $H_0: Kn = 1,0$ foi rejeitada para alguns pontos. Dentre os pontos de coleta em que a média dos valores de Kn estimados foi diferente de 1,0, destacam-se os pontos FU10, FU30, FU40 e FU50 para Junho e FU10 e FU30 para Dezembro (Tabela I: A e B).

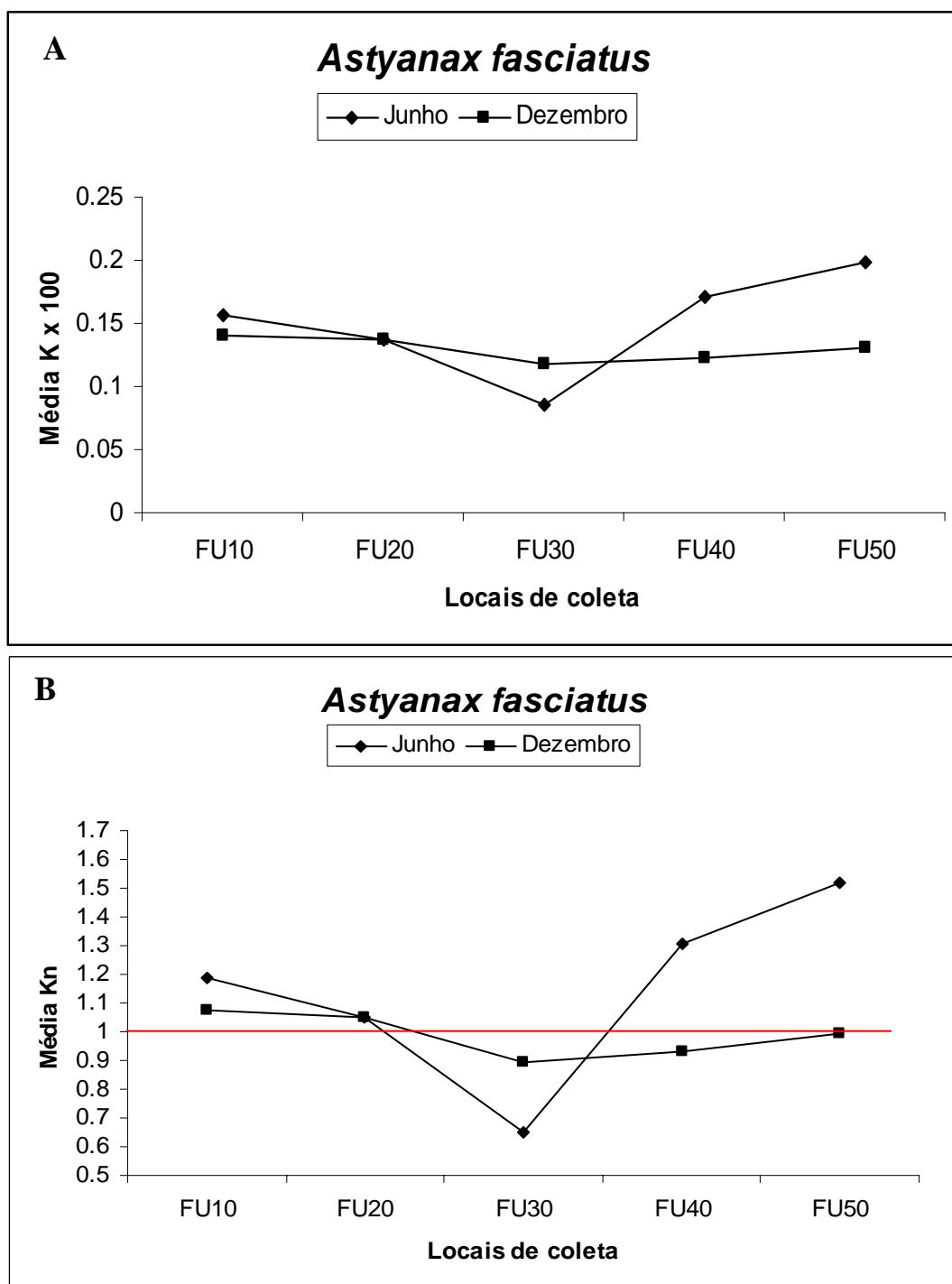


Figura 2. (A) Variação dos valores médios do fator de condição (K) e (B) do fator de condição relativo (Kn) para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* coletados nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho (◆) e Dezembro (■)/2006. (—) valor centralizador.

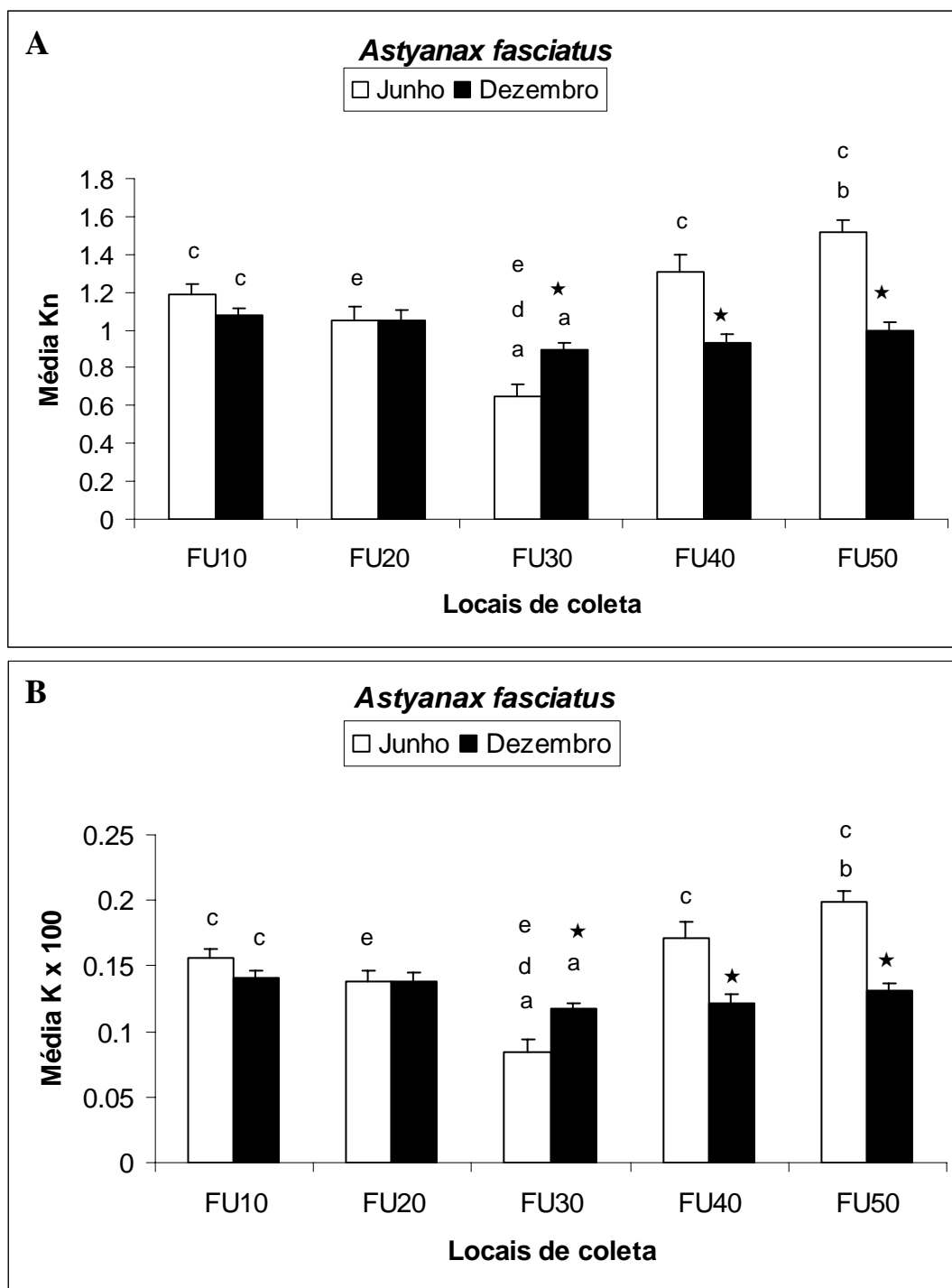


Figura 3. Variação dos valores de Kn (A) e K (B) para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* coletas nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006.

Tabela I. Teste “t” de student para a comparação dos valores de Kn (fator de condição relativo) estimados para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* com o valor centralizador (Kn = 1,0) em relação aos locais de coleta: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Barranco Alto) durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006.

(A) Locais de coleta						
	N	Kn médio	Desvio padrão	"t" calculado	p calculado	
FU10	9	1.189	0.1707	3.313*	0.0053	
FU20	10	1.05	0.2242	0.7102	0.2478	
FU30	9	0.6482	0.2035	5.187*	0.0004	
FU40	8	1.306	0.269	3.212*	0.0074	
FU50	9	1.517	0.1794	8.648*	< 0.0001	

(B) Locais de coleta						
	N	Kn médio	Desvio padrão	"t" calculado	p calculado	
FU10	9	1.076	0.1098	2.086*	0.0352	
FU20	14	1.052	0.1932	1.011	0.1653	
FU30	14	0.8954	0.136	2.876*	0.0065	
FU40	14	0.9312	0.1675	1.536	0.0742	
FU50	14	0.9965	0.1609	0.08225	0.4678	

Pimelodus maculatus

Estabelecida a relação linear entre as variáveis Wt (peso total) e Lt (comprimento total), foram obtidas as equações para a relação peso – comprimento para ambos os sexos agrupados de *Pimelodus maculatus* (figura 4) coletados na UHE de Furnas.

Uma vez que o coeficiente b da relação peso – comprimento é pouco maior que 3 podemos caracterizar o crescimento da espécie como alométrico levemente positivo.

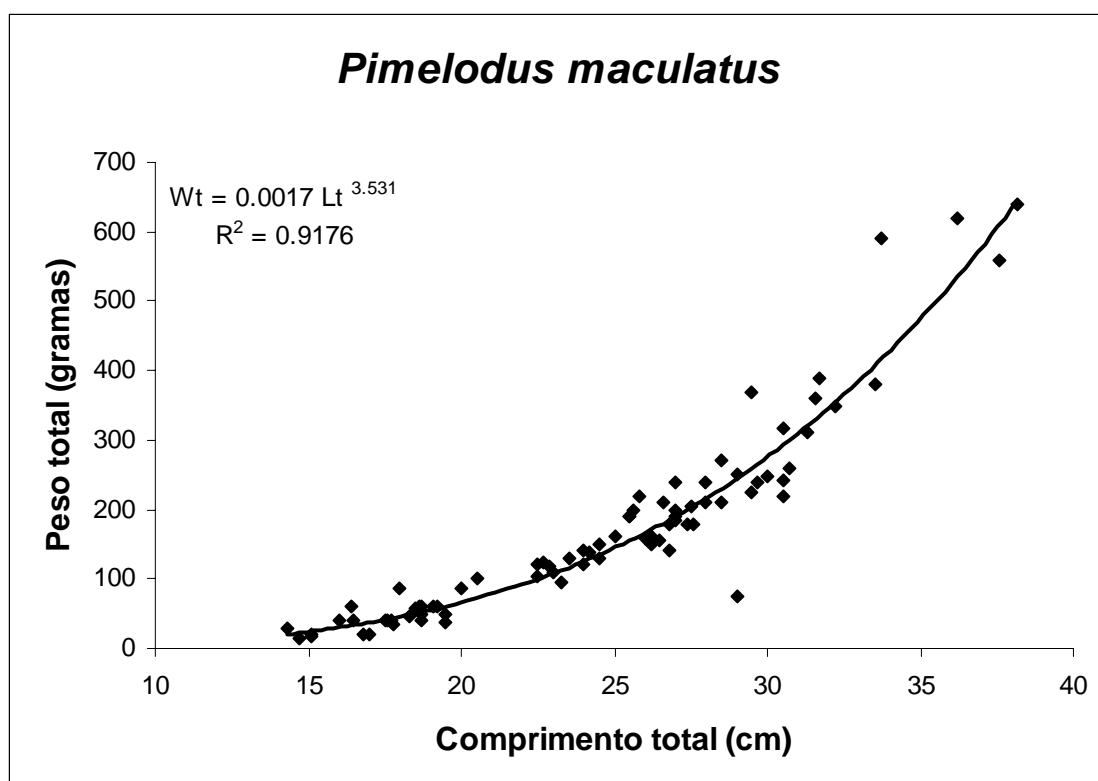


Figura 4. Curva e equação da relação peso – comprimento de ambos os sexos agrupados, para *A. fasciatus* coletados na UHE de Furnas durante os meses de Junho e Dezembro/2006.

No mês de Junho, os valores médios do K de cada ponto tiveram uma amplitude de variação de 0,0012 em FU30, a 0,0022 em FU50 e para o mês de Dezembro de 0,0015 em FU40 e 0,0019 em FU10. O Kn apresentou uma amplitude de variação de 0,7168 em FU30, a 1,3163 em FU50 para o mês de Junho e para o mês de Dezembro de 0,9186 em FU40 a 1,1396 em FU10.

O comportamento de engorda do mandi amarelo foi diferente nas coletas de Junho e Dezembro, sendo que na coleta do mês de Junho o K foi maior em FU50 e em FU10 e menor em FU30 e em FU40 em Junho e Dezembro respectivamente (Figura 5).

O teste de Kruskal-Wallis apontou um aumento significativo do Kn e do K respectivamente em FU30 ($0,7168 \pm 0,0538$ e $0,1991 \pm 0,0122$) em relação a FU40 ($1,2199 \pm 0,1158$ e $0,2044 \pm 0,0194$) e em relação a FU50 ($0,2206 \pm 0,0229$ e $1,3163 \pm 0,1371$) e uma diminuição de FU20 ($1,1880 \pm 0,0731$ e $0,1991 \pm 0,0122$) em relação a FU30 ($0,7168 \pm 0,0538$ e $0,1201 \pm 0,0090$) na coleta de inverno não houve diferença significativa entre os pontos de coleta, mas houve um aumento significativo entre as duas coletas do K para os pontos FU20 e FU30 e uma diminuição para os pontos FU40 e FU50 e para o Kn uma diminuição para os pontos FU20 e FU50 e um aumento para os pontos FU30 e FU40, testados utilizando o teste de Mann-Whitney (Figura 6).

Com base nos resultados do teste “t” para a comparação entre os valores médios de cada ponto das duas coletas do fator de condição relativo estimados e o valor centralizador 1,0, a hipótese nula $H_0: Kn = 1,0$ foi rejeitada para alguns pontos. Dentre os pontos de coleta em que a média dos valores de Kn estimados foi diferente de 1,0, destacam-se os pontos FU20, FU30, FU40 e FU50 em Junho e FU10 em Dezembro (Tabela II: A e B).

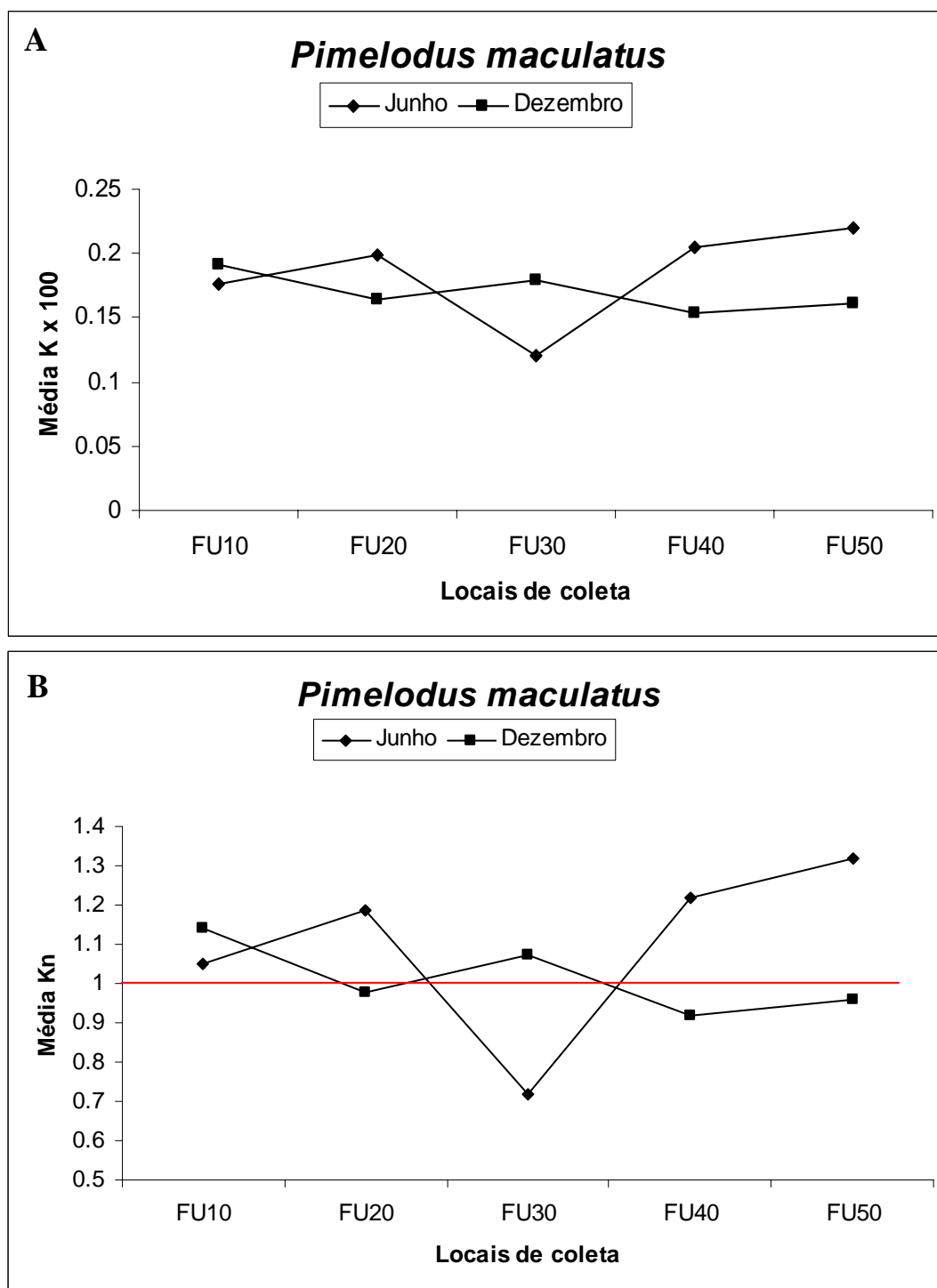


Figura 5. (A) Variação dos valores médios do fator de condição (K) e (B) do fator de condição relativo (Kn) para fêmeas e machos de *Pimelodus maculatus* coletados nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho (◆) e Dezembro (■)/2006. (—) valor centralizador.

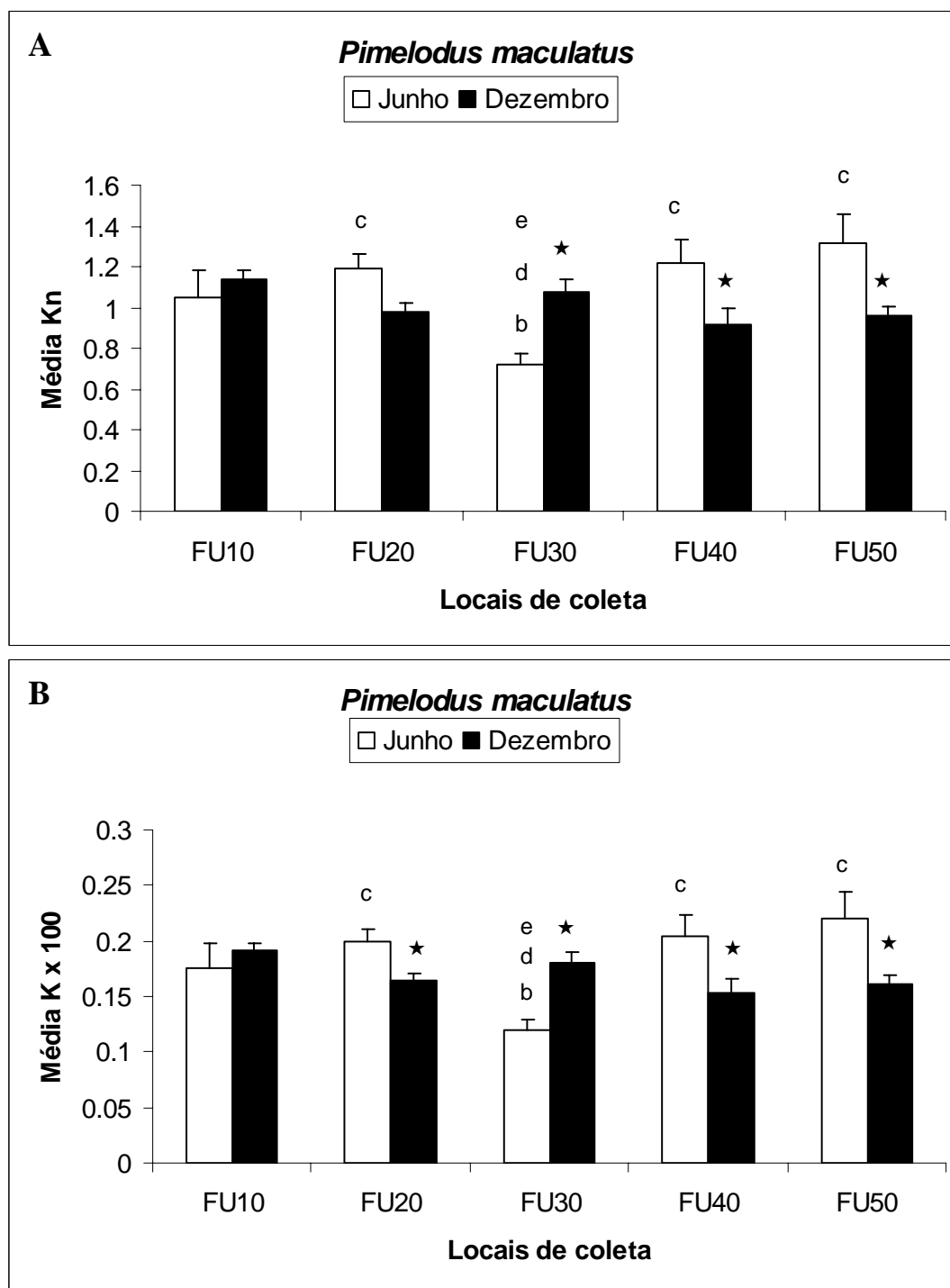


Figura 6. Variação dos valores de Kn (A) e K (B) para fêmeas e machos de *Astyanax fasciatus* coletas nos locais: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Porto Fernandes) na UHE de Furnas nos meses de Junho e Dezembro/2006.

Tabela II. Teste “t” de student para a comparação dos valores de Kn (fator de condição relativo) estimados para fêmeas e machos de *Pimelodus maculatus* com o valor centralizador (Kn = 1,0) em relação aos locais de coleta: FU10 (Turvo); FU20 (Guapé); FU30 (Barranco Alto); FU40 (Fama) e FU50 (Barranco Alto) durante os meses de Junho (A) e Dezembro (B) /2006.

(A) Locais de coleta	n	Kn médio	Desvio padrão	"t" calculado	p calculado
FU10	4	1.048	0.2622	0.3659	0.3694
FU20	4	1.188	0.1463	2.571*	0.0412
FU30	7	0.7168	0.1424	5.263*	0.0009
FU40	8	1.22	0.3277	1.898*	0.0497
FU50	5	1.316	0.3067	2.306*	0.0412

(B) Locais de coleta	n	Kn médio	Desvio padrão	"t" calculado	p calculado
FU10	9	1.14	0.1264	3.313*	0.0053
FU20	9	0.9783	0.1303	0.5002	0.3152
FU30	8	1.073	0.1772	1.159	0.1423
FU40	12	0.9187	0.255	1.105	0.1464
FU50	7	0.9594	0.1213	0.8856	0.205

6. DISCUSSÃO

A relação peso e comprimento de peixes vêm sendo comumente analisada para produzir informações biológicas sobre as espécies. O K fornece informações sobre a relação peso – comprimento e o Kn fornece informações sobre a variação do peso esperado em certa classe de tamanho como indicador do bem estar, desenvolvimento gonadal, ou seja, da “condição” de cada indivíduo.

A constante “a” da relação peso – comprimento, geralmente não obedece à regra do cubo ($a = 3$), que seria o fato de os peixes não modificarem sua estrutura corpórea durante o desenvolvimento (Le Cren, 1951). Em *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus* essa constante foi acima de 3, caracterizando um crescimento alométrico positivo.

O K e o Kn representam o estado de bem estar dos peixes, portanto estas variáveis indicam se alterações no meio aquático podem influenciar a sobrevivência dos indivíduos.

Muitos estudos investigaram o efeito de poluentes no fator de condição dos peixes (Clements e Rees, 1997; De La Torre et al., 2000; Dethloff et al., 2001). No presente estudo foram encontradas diferenças significativas do K e Kn entre os locais e entre os meses de Junho e Dezembro, e alterações nessas variáveis das duas espécies foram encontradas nos locais onde a concentração de cromo no sedimento estava elevada (ver Capítulo II). Estes resultados corroboram com outros realizados que investigaram a relação entre níveis de metais no ambiente e o K e Kn (Bervoets e Blust, 2003).

Schulz e Martins-Junior (2001) e Alberto et al. (2003) encontraram um aumento do fator de condição dos peixes em áreas poluídas ao longo dos rios. Os autores relacionaram esse aumento na condição dos peixes a maior disponibilidade de alimentos fornecido pelo despejo de esgotos domésticos. No presente estudo, não houve um gradiente de poluição ao longo da represa, mas sim a presença de locais de coleta com elevadas concentração de certos tipos de organoclorados na água e elementos – traço no sedimento. O cromo presente no sedimento do local FU30 (ver Capítulo II) pode ter influenciado o K e o Kn de formas indiretas, como por exemplo, através da desestabilização da homeostasia interna do animal, levando a um deslocamento de energia para o ajustamento fisiológico que pode ser verificado através do teste “t” de Student realizado onde os peixes do local FU30 apresentaram o Kn abaixo do peso esperado ($Kn = 1$) para cada indivíduo levando em consideração seu comprimento total.

A presença de organoclorados na água aparentou não influenciar negativamente o bem estar dos peixes, uma vez que o K e Kn não tiveram grandes modificações com exceção dos locais FU40 e FU50, no qual, o fator de condição estava mais elevado em relação aos outros locais para as duas espécies durante as duas coletas.

Alterações do K e Kn talvez não estejam relacionadas diretamente ao estresse ambiental, mas também a outros fatores como, por exemplo, a disponibilidade de alimento; maturação gonadal e peso do conteúdo estomacal, além da influência da sazonalidade. Segundo Vazzoler (1996) temperaturas mais altas elevam o crescimento uma vez que o metabolismo dos peixes em temperaturas mais altas é mais elevado. A temperatura da água variou entre os meses de Junho e Dezembro entre 2° e 4°, portanto, a sazonalidade não aparentou influenciar as variações encontradas no K e Kn das duas espécies.

O aumento do K e Kn de *P. maculatus* no local FU30 em Dezembro ainda não estão bem compreendidas, mas sugere-se que esta resposta pode estar relacionada com a menor concentração do cromo no sedimento. Também não pode ser descartado o fato de durante o mês de Dezembro, este metal estar menos biodisponível, uma vez que para *A. fasciatus* o K e Kn foram levemente mais elevados em relação aos meses de Junho.

Os resultados do presente estudo supõem que o K e Kn dos peixes não foram influenciados pela presença de organoclorados no ambiente aquático, mas a presença de cromo no sedimento aparentou causar alterações nos organismos de natureza indireta, ou seja, causando um ajustamento da homeostasia dos animais e levando a uma tentativa de adaptação que possua um custo energético.

7. CONCLUSÕES

A presença de organoclorados na água e a sazonalidade (ver Capítulo II) não influenciaram o K e Kn das duas espécies analisadas nos meses de Junho e Dezembro. Somente a presença de cromo no sedimento parece influenciar negativamente o K e Kn das espécies durante as duas coletas com exceção do mês de Dezembro em *P. maculatus*. O fator de condição pode ser alterado não somente através de um estresse ambiental, mas também através de outros fatores como maturação gonadal, competição por alimentos e sua disponibilidade, que podem vir a alterar o grau de hígidez ou o bem estar das espécies.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberto, A., Camargo, F. M., Verani, J.R., Costa, O. F. T., Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 6: 247-255, 2005.
- Bervoets, L., Blust, R., Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. *Environ. Pollut.*, 126: 9-19, 2003.
- Clements, W.H., Rees, D.E., Effects of heavy metals on prey abundance, feeding habitats, and metal uptake of brown trout in the Arkansas River, Colorado. *Amer. Fisher. Soc.*, 126: 74-785, 1997.
- Copp, G.H., Is fish condition correlated with water conductivity?. *J. Fish Biol.*, 63: 263-266, 2003.
- De la Torre, F.R., Ferrari, L., Salibian, A., Long – term in situ toxicity bioassays of the Reconquista River (Argentina) water with *Cyprinus carpio* as sentinel organism. *Water air Soil Pollut.*, 121: 205-215, 2000.
- Dethloff, G.M. Bailey, H.C., Maier, K.J., Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical, and immunological parameters of wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 40: 371-380, 2001.
- Guetti, P. F. & Ravera, O., European perspective on biological monitoring, 31 – 48. In: S. Loeb & A. Spacie (eds.), *Biol. Monit. Aquat. System.*, 381 pp., 1994.
- Lanno, R. P. & Dixon, D. G., Chronic toxicity of waterborn thiocyanate to the fathead minnow (*Pimephales promelas*): a partial life cycle study. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13(9): 1423-1432, 1994.
- Le Cren, E. D., The length – weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). *J. Animal Ecol.*, 20(2): 201-219, 1951.

Santos, E.P. *Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura*. São Paulo: EDUSP, 129 pp., 1978.

Schulz, U. H. & Martins-Junior, H., *Astyanax fasciatus* as Bioindicator of Water Pollution of Rio Sinos, RS, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 61(4): 615-622, 2001.

Vazzoler, A. E. A. M, *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*, EDUEN; São Paulo: SBI, 1996.

CONCLUSÕES FINAIS

→ A água nos locais de coleta, com exceção do local FU10, apresentou concentrações dos organoclorados aldrin e dieldrin; endosulfan; metolacloro e epóxido e heptacloro acima do recomendado pela resolução CONAMA 357/2005 para águas classe II. Os elementos-traço na água estavam dentro dos padrões recomendados por essa resolução, porém a análise do sedimento mostrou que em FU10 e FU30 as concentrações de cobre e cromo, respectivamente, estavam acima do estabelecido pela resolução 344/2004 para sedimento nível 1. As diferenças encontradas entre os locais de coleta em relação à qualidade da água e sedimento podem estar relacionadas com a composição e ocupação do entorno do local e da aplicação de agrotóxicos e fertilizantes nas culturas encontradas na região como café, milho e áreas de pastagens.

→ As diferenças encontradas nas variáveis hematológicas podem ser devido à presença de organoclorados e elementos-traço na água e sugerem um ajuste fisiológico para a manutenção adequada ao aumento do transporte de oxigênio pelos eritrócitos. Os organoclorados e elementos-traço, de uma forma geral, afetaram a percentagem diferencial de leucócitos e o número de trombócitos sugere a presença de um possível processo inflamatório nas duas espécies.

→ A estrutura anatômica dos arcos branquiais de *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus* é semelhante à descrita para os demais teleósteos.

→ A presença de organoclorados e elementos-traço na água aparentou influenciar as alterações histopatológicas nas brânquias das duas espécies estudadas. As alterações mais encontradas nas brânquias de ambas as espécies como hipertrofia e proliferação de células pavimentosas, fusão lamelar, descolamento do epitélio lamelar e edema são respostas de defesa e/ou compensatórias que aumentam a distância água-sangue. A proliferação de células cloreto e mucosa nas duas espécies são respostas para tentar manter a homeostase iônica e osmótica e aumentar a proteção do epitélio branquial.

→ *A. fasciatus* e *P. maculatus* não apresentaram grandes modificações no fator de condição e no fator de condição relativo, o que mostra que essas espécies, apesar das alterações observadas, ainda conseguem manter a alimentação e crescimento, com exceção dos exemplares coletados em FU30, que apresentou menores valores do fator de condição. Os ajustes para manter a homeostasia dos animais têm alto custo energético podendo afetar o desenvolvimento do animal.