

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM BRÂNQUIAS DE *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) COMO BIOMARCADORES DE POLUIÇÃO AQUÁTICA NA LAGUNA DA JANSEN, SÃO LUÍS, MA (BRASIL)

MORPHOLOGICAL CHANGES IN FISH GILLS OF *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) AS BIOMARKERS OF AQUATIC POLLUTION IN THE LAGOON OF JANSEN, SÃO LUÍS, STATE OF MARANHÃO (BRAZIL)

Dayane Pestana PEREIRA¹; Débora Martins Silva SANTOS²;
Alcina Vieira CARVALHO NETA³; Cristiano Ferreira CRUZ⁴;
Raimunda Nonata Fortes CARVALHO NETA³

1. Departamento de Biologia, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, Itapecuru Mirim, MA, Brasil. dayanebio_@hotmail.com; 2. Departamento de Química e Biologia- Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, São Luís, MA, Brasil; 3. Departamento de Química e Biologia – UEMA, São Luís, MA, Brasil; 4. Cruz Vermelha Brasileira, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

RESUMO: Uma investigação de biomarcadores histológicos pode ser uma ferramenta de baixo custo para determinar a saúde das populações de peixes, refletindo a saúde de um ecossistema aquático inteiro. Na presente pesquisa objetivou-se estudar as alterações histológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* como biomarcadores em combinação com a análise microbiológica da água a partir de dois diferentes locais da "Laguna da Jansen" (São Luís, Brasil). As amostras de água e tecidos de peixes (brânquias) foram coletadas em duas estações de amostragem. Amostras de brânquias para análise histológica (arcos branquiais completos) foram dissecadas e fixadas por 24 horas. Notáveis mudanças estruturais foram detectadas nos tecidos dos peixes amostrados. As principais lesões moderadas observadas foram descolamento do epitélio lamelar, fusão de lamelas primárias e fusão das lamelas secundárias. As lesões mais graves foram infiltrado heterofílico, hemorragia, necrose e eritrofagocitose. O exame microbiológico da água indicou contaminação por coliformes totais, *Escherichia coli* e bactérias heterorólicas. Esses resultados indicam que as lesões branquiais são respostas adaptativas dos peixes à baixa qualidade microbiológica, da água do ambiente analisado.

PALAVRAS-CHAVES: Tilápia, *Oreochromis niloticus*, Histopatologia. Poluição. Brânquias.

INTRODUÇÃO

A poluição aquática é um dos grandes problemas ambientais da atualidade, e está comumente associada com a descarga de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas (MASON, 1996). Os peixes são animais extremamente sensíveis a poluentes aquáticos, e em especial, àqueles que afetam a permeabilidade à água e aos íons (LUPI et al., 2007).

Os peixes estão sujeitos a duplo perigo de contaminação por poluentes, pois podem ser contaminados através de absorção direta de substâncias do meio pelas brânquias ou pelo alimento ingerido (ODUM, 1988). Sinais de toxicidade evidentes, como diminuição na tomada de alimento, perda do equilíbrio e da pigmentação, e morte, são precedidas por mudanças bioquímicas, fisiológicas e ou morfológicas do organismo (LUPI et al., 2007), que funcionam com respostas biológicas e que podem ser validadas como biomarcadores.

A avaliação qualitativa ou quantitativa dessas mudanças antes da morte do organismo fornece indicações antecipadas de toxicidade (LUPI

et al., 2007). Essas respostas biológicas ao estresse provocado pelos poluentes podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais de danos aos peixes e têm sido sugeridas como biomarcadores em várias espécies (NOGUEIRA et al. 2008).

O epitélio branquial tem importante papel na manutenção osmótica e iônica dos peixes e as células que o constituem respondem direta ou indiretamente aos fatores ambientais e a alterações internas do organismo (LUPI et al., 2007). Isso ocorre porque os agentes irritantes que se encontram dissolvidos na água e que entram em contato com os filamentos branquiais e com as lamelas respiratórias em altas concentrações poderão alterar a morfologia normal das brânquias (LUVIZOTO, 1994).

No meio científico, o estudo e a utilização de brânquias como biomarcadores ambientais vem sendo comumente empregada por diversos cientistas e publicada por vários autores (LUPI et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2008; WINKALER et al., 2001; ALBINATI et al., 2009). No entanto, para o estado do Maranhão esses estudos ainda são escassos, sendo realizado apenas para alguns grupos taxonômicos (SANTOS et al., 2012; CARVALHO-NETA et al., 2012).

Na Laguna da Jansen (Parque Ecológico localizado em São Luís-MA) não são conhecidos estudos sobre biomarcadores de contaminação aquática em peixes, mesmo sendo essa uma região onde ainda se realiza pesca artesanal e que apresenta um conhecido histórico de contaminação por efluentes domésticos. Assim, neste trabalho objetivou-se validar as alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* como biomarcadores de contaminação aquática em combinação com a análise microbiológica da água a

partir de dois diferentes locais da "Laguna da Jansen" (São Luís, Brasil).

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

A área de estudo situa-se na parte ocidental da ilha de São Luís (Maranhão) entre as coordenadas 02°29'07"LS e 44°18'02"LW, com uma área de aproximadamente 160 hectares, e lâmina d'água com profundidade média de 2,5 m (GOMES; IBÁÑEZ, 2000) (Figura 1).



Figura 1. Imagem de satélite da Laguna da Jansen, São Luís – MA. Fonte: GOOGLE MAPS.

A Laguna da Jansen é um corpo de água costeiro, de origem antrópica, originada do represamento dos igarapés Ana Jansen e Jaracati, devido à construção da avenida Coronel Colares Moreira (1969/70) e da avenida Maestro João Nunes (1974), que ocasionaram o afogamento do manguezal existente na área (GOMES; IBÁÑEZ, 2000).

Amostragens de *Oreochromis niloticus* e de água

Realizou-se no período de janeiro a julho do ano de 2009 amostragens da espécie estudada e de água da Laguna da Jansen. Realizou-se duas coletas em dois pontos da Laguna da Jansen, sendo o ponto 1 localizado entre as coordenadas 2°30'12"S, 44°18'04" e o ponto 2 entre as coordenadas 2°29'40"S, 44°18'13"; os pontos distavam entre si cerca de 100 m (Figura 1).

Os peixes e as amostras de água foram coletados simultaneamente. Coletou-se 19 exemplares de tilápias nos dois pontos de amostragem, sendo 10 exemplares no ponto 1 e nove no ponto 2; e duas amostras de água, uma em cada ponto.

As amostras de peixes foram acondicionadas em gelo e levadas ao Laboratório

de Pesca e Ecologia Aquática (LABPEA) da Universidade Estadual do Maranhão para as análises histopatológicas. As amostras de água foram conduzidas ao Laboratório de Água e Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual do Maranhão para análise microbiológica.

Análise histopatológica

Em laboratório, os exemplares coletados seguiram o procedimento experimental: eutanásia por comoção cerebral, e a remoção de brânquias, conforme projeto aprovado por comissão interna da UEMA. Para a análise histopatológica das brânquias, removeu-se o segundo arco branquial esquerdo de cada amostra e fixou-se em formol a 10% por 24 horas.

Após as 24 horas, as amostras foram descalcificadas para melhor realização dos cortes histológicos em ácido nítrico a 10% durante 6 horas e incluídas em blocos de parafina pelo método de inclusão em parafina e confecção de lâminas histológicas, segundo Luna (1968).

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de luz com o auxílio das objetivas de 4x, 10x, 40x e foram posteriormente fotomicrografadas em fotomicroscópio

AXIOSKOP- ZEISS. As lesões foram classificadas em moderadas e intensas, conforme Bernet et. al. (1999).

Análise microbiológica da água

As análises da água foram realizadas segundo procedimentos indicados em Apha et. al (1995). A primeira técnica foi a identificação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, e a segunda foi a contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbicos restritos e facultativos em ágar para determinar o número mais provável de microrganismos.

Análise estatística

Os resultados da análise histopatológica dos tecidos dos peixes nos pontos amostrados foram expressos como média±desvio padrão e como porcentagem, sendo comparados por meio do teste t de *Student*. O nível de significância considerado foi de 0,05.

RESULTADOS

Análise histopatológica

O padrão normal das brânquias de *O. niloticus* está mostrado na figura 2a. Observa-se o mesmo padrão descrito por Santos et al., 2007. *O. niloticus* possui quatro arcos branquiais, situados a cada lado da cavidade bucal. Cada arco branquial

tem uma estrutura cartilaginosa e possui uma fileira dupla de filamentos branquiais achatados dorsoventralmente. Esses filamentos subdividem-se em lamelas branquiais, que se encontram dispostas perpendicularmente.

Os filamentos branquiais apresentam um epitélio estratificado, constituído por diversos tipos de células, entre os quais se podem distinguir as células de cloro, mucosas e pavimentosas. O epitélio assenta-se sobre o seio venoso central e encontra-se segmentado por eixos vasculares que originam as lamelas. Desse modo, as lamelas são constituídas por um eixo vascular e por um epitélio composto por células pavimentosas de revestimento e indiferenciadas. Esse epitélio assenta-se na lâmina basal de células endoteliais modificadas (células pilar) que suportam e delimitam o compartimento sanguíneo lamelar (SANTOS et al., 2007).

As análises histopatológicas realizadas nas brânquias dos peixes amostrados indicou a presença de diferentes tipos de alterações morfológicas nos tecidos. As principais lesões observadas foram descolamento do epitélio sugestivo de edema subepitelial, fusão de lamelas primárias (fusão total), fusão de lamelas secundárias (fusão parcial) e aneurisma. As lesões menos frequentes foram infiltrado inflamatório hidrofílico, hemorragia, eritrofagocitose, e necrose, apresentando frequência variada nos diferentes pontos de coleta (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição e frequência de lesões histopatológicas presentes nas brânquias de Tilápias coletadas na Laguna da Jansen, São Luís-MA.

Lesões histopatológicas	Percentual de peixes com lesões		
	Ponto 1	Ponto 2	TOTAL
Descolamento do epitélio	100%	100 %	100 %
Fusão de lamelas secundárias	100 %	100 %	100 %
Fusão de lamelas primárias	80 %	90%	85 %
Aneurisma	60 %	80%	70 %
Infiltrado inflamatório Heterofílico	0%	30 %	30 %
Hemorragia	0%	20%	20 %
Eritrofagocitose	0 %	10 %	10 %

Necrose	0 %	10%	10 %
---------	-----	-----	------

As alterações foram classificadas em moderadas e intensas de acordo com o grau de severidade das lesões. As lesões moderadas observadas foram descolamento do epitélio sugestivo de edema subepitelial, fusão total ou

parcial de lamelas primárias, fusão total ou parcial de lamelas secundárias e aneurisma (Figura 2) e as lesões intensas foram caracterizadas por infiltrado inflamatório heterofilíco, hemorragia, eritrofagocitose e necrose (Figura 3).

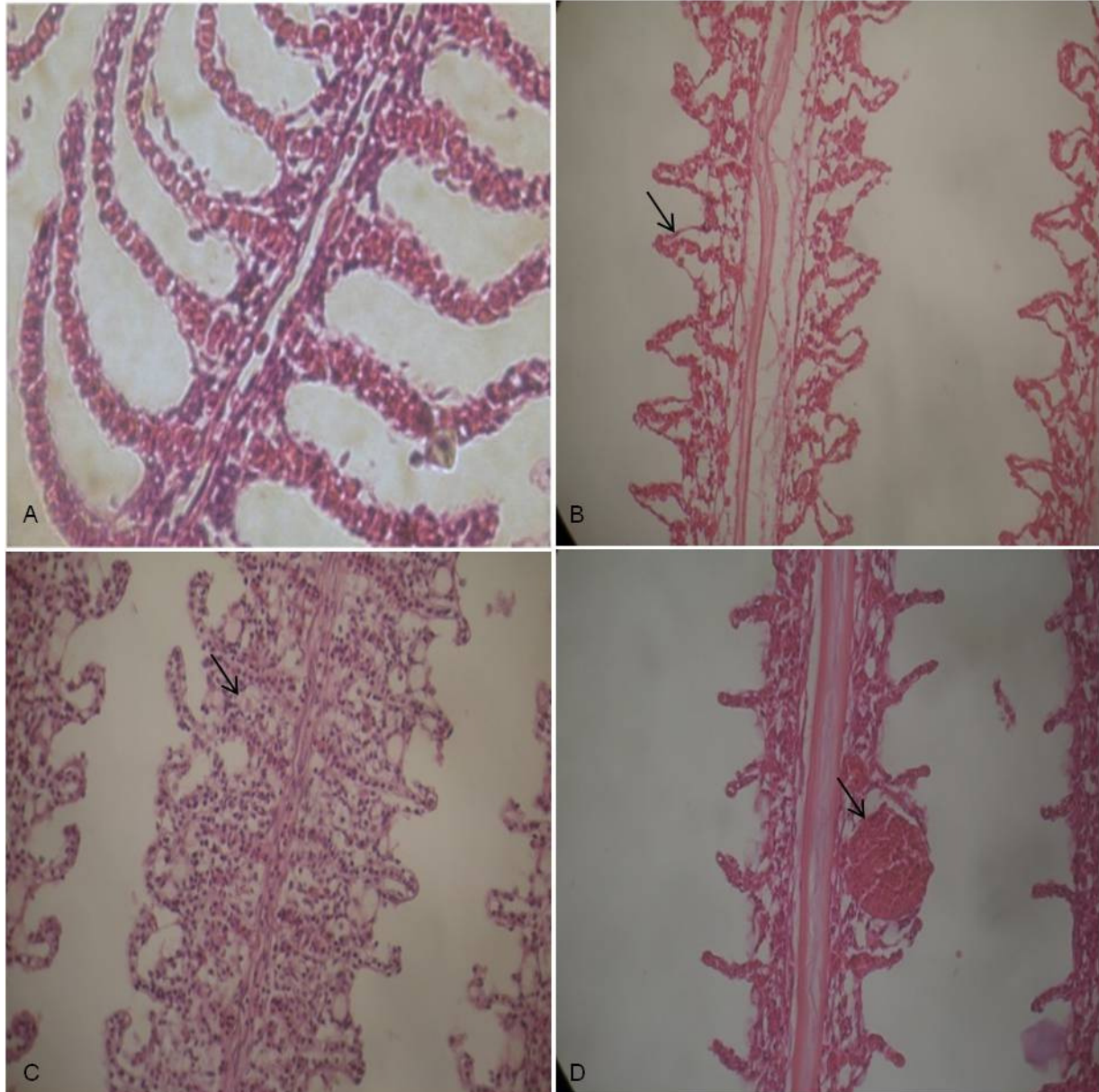


Figura 2. Lesões branquiais moderadas observadas em *Oreochromis niloticus* coletados na Laguna da Jansen. A) Padrão Normal B) Descolamento de epitélio lamelar (seta) C) Fusão de lamelas secundárias (seta). D) Em detalhe, aneurisma (seta). Aumento de 400x. Coloração HE.

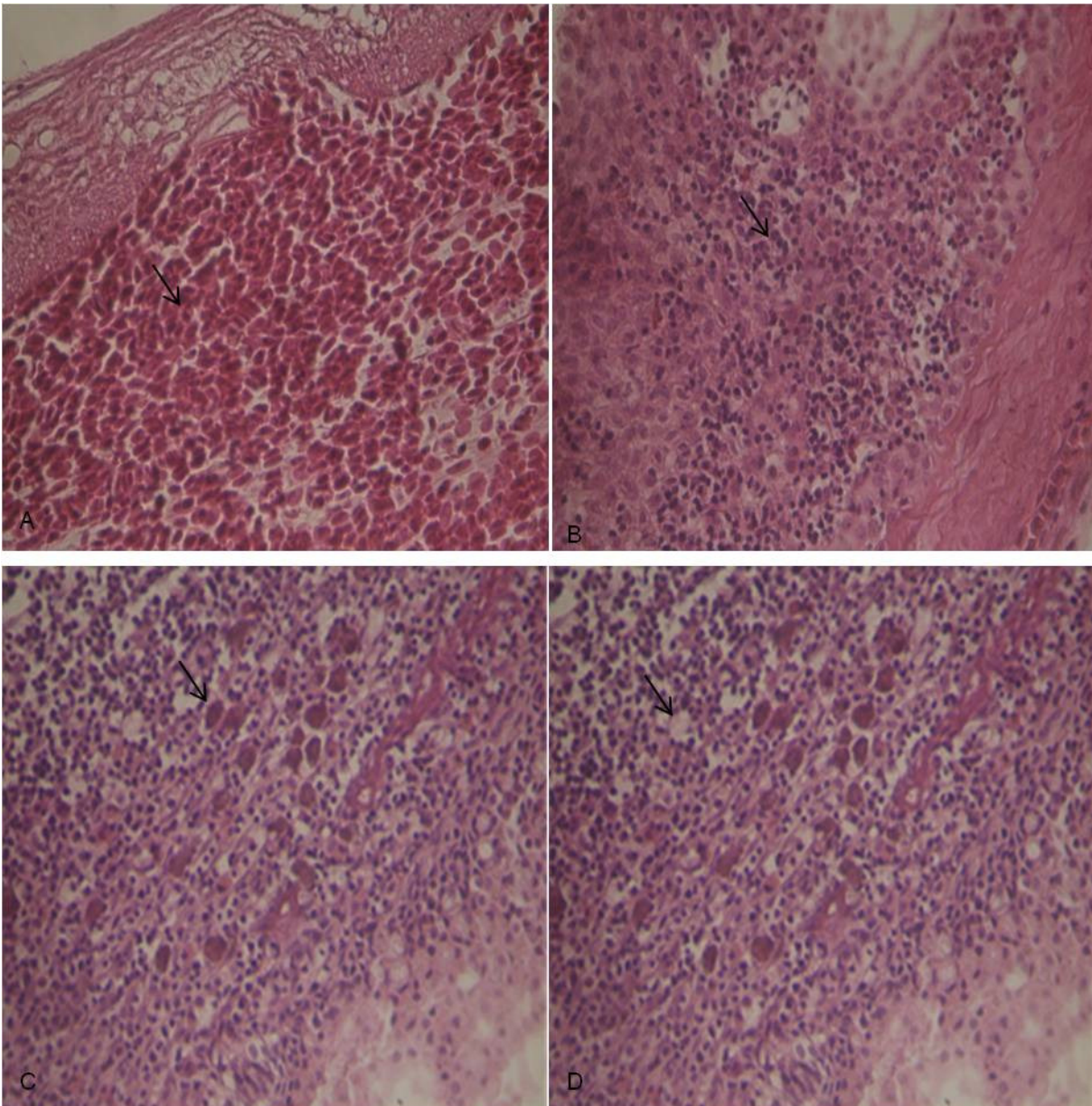


Figura 3. Lesões intensas observadas em *Oreochromis niloticus* coletados na Laguna da Jansen. A) Presença de hemorragia na base das lamelas primárias (seta) B) Infiltrado inflamatório (seta) C) Eritrofagocitose (seta) e D) Necrose (seta). Aumento de 400 x. Coloração HE.

No total de 19 amostras de brânquias de peixes analisadas, observou-se que 37% das amostras apresentavam-se com lesões severas nos tecidos e 63% apresentavam lesões moderadas. As lesões frequentemente observadas foram fusão de lamelas secundárias e descolamento de epitélio (Figura 4).

Análise microbiológica da água

A técnica de identificação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes mostrou como resultado um índice de 1.600 coliformes totais e termotolerantes no ponto 1 e 1.700 ponto 2 conforme figura 4. Esse resultado indica contaminação aquática, pois 50% das amostras encontram-se alteradas em relação ao valor máximo indicado pela legislação em vigor.

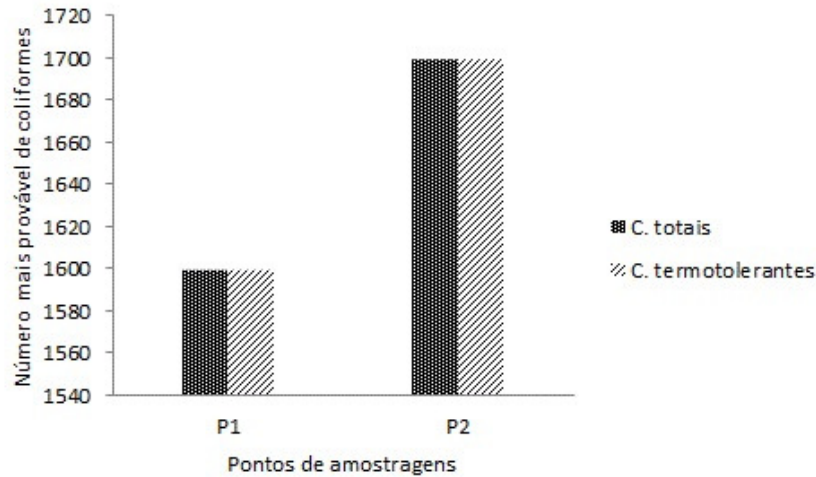


Figura 4. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes presentes em água nos pontos 1 e 2 da Lagoa da Jansen no período de fevereiro a julho de 2009.

A técnica da contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbicos restritos e facultativos da amostra de água crescidos em ágar indicou valores altos de mesófilos aeróbicos,

especialmente na amostra 1, onde se encontrou valor de 5.700 microorganismos, indicando contaminação conforme observado na figura 5.

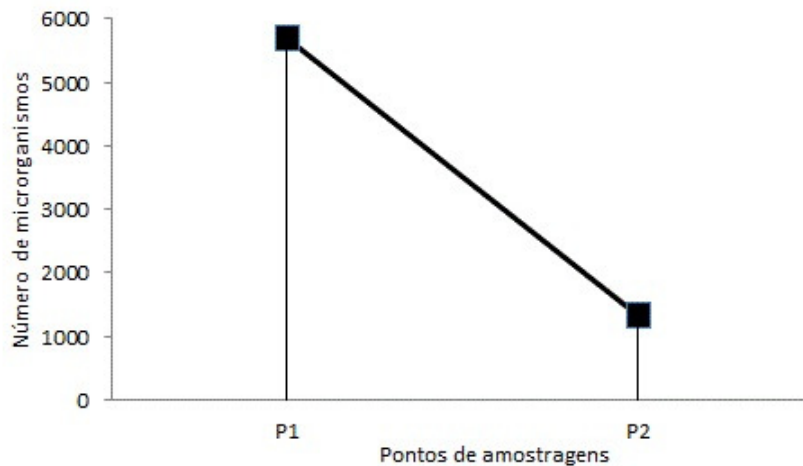


Figura 5. Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbicos restritos e facultativos da amostra de água nos pontos 1 e 2 da Laguna da Jansen em ágar, no período de fevereiro a julho de 2009.

DISCUSSÃO

As lesões branquiais encontradas em tilápias da Laguna da Jansen são compatíveis com as lesões registradas por outros autores para peixes de ambientes contaminados (MACHADO, 1999; LUPI et al., 2007). Vários autores têm observado e associado a presença das lesões morfológicas em brânquias de peixes com diferentes tipos de poluentes no corpo d'água (SANTOS et al., 2012; CARVALHO-NETA et al., 2012; LUPI et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2008).

No presente trabalho pode-se inferir a ocorrência das lesões como respostas biológicas adaptativas à baixa qualidade da água. Vários estudos realizados sugerem que as alterações morfológicas das brânquias podem ocorrer durante mudanças ambientais como tentativas adaptativas de se conservar funções fisiológicas (LAURENT; PERRY, 1991) As alterações do epitélio branquial parecem ser uma resposta generalizada à maioria dos agentes tóxicos que pode comprometer a função do órgão (NOGUEIRA et al., 2008).

A fusão das lamelas causadas pela proliferação celular encontrada nos peixes analisados neste trabalho pode ser um mecanismo de defesa utilizado pelo organismo para diminuir o acesso dos poluentes às brânquias. Pesquisas mostram que a proliferação e a presença de edemas podem reduzir e até mesmo impedir a passagem da água entre as lamelas secundárias (LUPI et al., 2007), dificultando o acesso do poluente ao sangue, mas prejudicando, contudo, a realização de trocas gasosas (SANTOS, 2007).

Os aneurismas encontrados nas tilápias podem estar relacionados com dificuldades respiratórias, uma vez que estas podem ser responsáveis pela indução da vasodilatação. A vasodilatação do eixo vascular da lamela, encontrada nas amostras estudadas conduzem por sua vez, à ruptura das células pilares com perda de sua capacidade de suporte, levando ao aparecimento dos aneurismas lamelares convergindo com o observado no trabalho de (SANTOS, 2007). Todas as lesões citadas causam prejuízos na vida do peixe e podem levá-lo à morte, em especial, os descolamentos epiteliais, assim como a fusão lamelar, que podem levar a distúrbios na osmorregulação, mecanismo essencial à vida dos peixes (NOGUEIRA, 2008).

Podemos inferir a causa das alterações morfológicas nos peixes da Laguna da Jansen como uma resposta do organismo numa tentativa de defesa ao estresse causado pelos poluentes. Vários autores citam os poluentes que podem alterar a morfologia das brânquias de peixes, entre os quais se destacam pesticidas orgânicos, detergentes; ácidos; sais; despejos industriais; amônia e metais pesados (MACHADO, 1999; MOZETTO; ZAGATO, 2006; MAYON et al., 2006; FONTAÍNHAS-FERNANDES, 2006; MYERS; FOURNIE, 2002).

A origem da poluição causadora das lesões nas tilápias analisadas é difusa, pois a área da Laguna da Jansen recebeu, durante muito tempo, poluentes originários das mais diversas fontes. Atualmente, esse ecossistema aquático ainda é o receptáculo final de esgotos domésticos, industriais e hospitalares (COSTA et al., 2008; GOMES; IBANEZ, 2000).

Pode-se inferir, também, um estado de contaminação biológica do ambiente estudado, pois na análise microbiológica da água, 75% das amostras apontaram valores altos de coliformes termotolerantes. O índice de coliformes termotolerantes é empregado como indicador de

contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias, visto presumir-se que a população deste grupo é constituída de uma alta proporção de *Escherichia coli*, que tem seu hábitat exclusivo no intestino do homem e de outros animais. Assim, sua presença indica possibilidade de ocorrerem outros microrganismos entéricos na amostra (SIQUEIRA, 1995).

Vários pesquisadores, estudando a qualidade da Laguna da Jansen, constataram também o estado de poluição da área pela análise físico-química (GOMES et al., 2000) e microbiológica da água (SERRA et al., 2007; CAVALCANTE et al., 2005). Foram encontrados neste trabalho valores altos de organismos mesófilos na água, indicando contaminação. Pesquisas mostram que a presença de bactérias mesófilas em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada (SIQUEIRA, 1995).

Pode-se perceber com esses dados que os peixes encontrados na Laguna da Jansen estão sendo afetados pela poluição, apresentando respostas ao estresse local. As lesões branquiais observadas sugerem mecanismos de defesa das tilápias para tentar diminuir a área de superfície exposta do tecido ao ambiente, assim como evitar e ou diminuir a difusão do poluente no tecido e a entrada para a corrente sanguínea.

A poluição difusa pode ser apontada como o principal motivo de aparecimento das alterações histopatológicas, oriunda de esgotos lançados na Laguna na sua forma *in natura*, não sendo possível estabelecer a relação com um poluente específico. Estudos da composição química da água e do sedimento devem ser realizados concomitantemente às análises dos biomarcadores nos peixes da região, a fim de se estabelecer uma discussão aprofundada sobre os tipos de poluentes que podem estar ocasionando as lesões branquiais aqui registradas.

Os resultados dos biomarcadores validados nesta pesquisa podem subsidiar programas de monitoramento da Laguna da Jansen, visto que a espécie selecionada mostrou-se apropriada para diagnósticos sobre a saúde da biota desse importante ecossistema aquático localizado no aglomerado urbano de São Luís-MA.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Universidade Estadual do Maranhão, pelo suporte financeiro.

ABSTRACT: A histological biomarker investigation may be a cost effective tool to determine the health of fish populations, reflecting the health of an entire aquatic ecosystem. The present research aimed to study the histological changes on the gills of the *Oreochromis niloticus* as biomarkers in combination with microbiological analysis of the water from two different sites of the Laguna da Jansen (São Luís, Brazil). Water and gills samples were collected from two sampling stations. Gill samples for histological analysis (complete gill arches) were dissected and fixed for 24 hours. Remarkable structural changes were detected in the tissues of the fishes sampled. The main moderate lesions observed were lamellar epithelium lifting, fusion of primary lamellae and fusion of secondary lamellae. The severe lesions were heterophilic inflammatory infiltrate, hemorrhage, necrosis and erythrophagocytosis. Microbiological water analysis indicated contamination by total coliforms, *Escherichia coli* and heterotrophic bacteria. These results indicate that the gill lesions are adaptive responses of fish to poor water quality of the environment analyzed.

KEYWORDS: Tilapia. *Oreochromis niloticus*. Histopathology. Pollution. Gills.

REFERÊNCIAS

- APHA, A. E. G; AWWA, A. D. E; WEF, L. S. C. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19 th. Washington: American public health association. 1995. 520 p.
- ALBINATI, A. C. L.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; CARVALHO, J.V; LIRA, A. D.; SANTOS, G. B.; VIDAL, L. V. O. Biomarcadores histológicos - toxicidade crônica pelo Roundup em piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 621-627, 2009.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARD-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in Fish: Proposal for a Protocol to Assess Aquatic Pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25-34, 1999.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução N° 357, de 17 de março de 2005**, Brasília-DF, mar, 2005.
- CAVALCANTE, P. R. S.; IBÁÑEZ, M. do S. R.; SILVA, M. N. S. Avaliação de parâmetros físicos e químicos da água e colimetria em água e pescado da laguna da Jansen. (são luís – ma). In: 23° CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Campo Grande. 2005. **Anais do 23° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**.
- CARVALHO-NETA, R. N. F.; TORRES, A. R.; Abreu-Silva, A. L. Biomarkers in Catfish *Sciades herzbergii* (Teleostei: Ariidae) from Polluted and Non-polluted Areas (São Marcos Bay, Northeastern Brazil). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New Jersey, v. 166, p. 1-12, Jan, 2012.
- COSTA, N. N. S.; CASTRO, A. C. L.; COSTA, N. F. A. Análise de uma unidade de conservação de proteção integral: o caso do parque ecológico da Lagoa da Jansen, São Luís, MA. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, São Luis, v. 21, pg. 01-08, 2008.
- FONTAÍNHAS-FERNADES, A. **O Uso de Biomarcadores em Toxicologia Aquática**. Porto: UTAD, 2006. p 34.
- GOMES, L. V.; IBÁÑEZ, M. S. R. Variação Nictimeral de Parâmetros Físicos e Químicos da Lagoa da Jansen em Duas Fases do Ciclo Hidrológico. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, São Luís, v. 13, p. 19-32, 2000.
- HINTON, D.E.; LAURÉN, D. J. Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. **American Fisheries Society Symposium**, Bethesda, v. 8, p. 51-66, 1990.
- LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of Armed Forces Institute of Pathology**. 3 ed. New York: Mc Graw-Hill Book Company, 1968, 258 p.

LUPI, C.; NHACARINI, N. I.; MAZON, A. F.; SÁ, O. R. Avaliação da poluição ambiental através de alterações morfológicas das brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilápia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Fafibe on line**, Bebedouro, n. 3, Ago. 2007.

LUVIZOTTO, M. F. **Efeitos de diferentes salinidades sobre as células de cloreto e as células secretoras do epitélio branquial do peixe antártico *Nototheniops nudifrons* (Lonberg, 1906)**. Dissertação (Programa de pós- graduação- Mestrado em Biologia Celular) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 1994.

MACHADO, M. R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **UNOPAR Científica**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 63-76, Out, 1999.

MASON, C. F. **Biology of freshwater pollution**. 3. ed. Londres: Longman, 1996.

MAYON, N.; BERTRAND, A.; LEROY, D.; MALBROUCK, C.; MANDIKI, S. N. M.; SILVESTRE, F.; THOMÉ, J. P.; Kestemont, P. Multiscale approach of fish responses to different types of environmental contaminations: A case study. **Science of the Total Environment**, v. 367, p. 715–731, Jun, 2005.

MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P. A. Introdução de agentes químicos no ambiente. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. p 16-37.

MYERS, M. S.; FOURNIE, J. W. Histopathological Biomarkers as Integrators of Anthropogenic and Environmental Stressors. In: Adams, S. M Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. **American Fisheries Society**, Bethesda, Maryland, USA, p. 221-287, 2002.

NOGUEIRA, D. J.; CASTRO, S. C.; SÁ, O. R. Avaliação da qualidade da água no reservatório UHE Furnas - MG, utilizando as brânquias de *Pimelodus maculatus* (LACÈPÈDE, 1803) como biomarcador de poluição ambiental. **Ciência et Praxis**, Passos, v. 1, n. 1, 2008.

ODUM, E. P. **Ecologia**. 22 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1988.

SANTOS, S. G.; MONTEIRO, S. M; CARROLA, J; FERNANDES, FONTAINHAS. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, Abril, 2007.

SANTOS, D. M. S.; CRUZ, C. F.; PEREIRA, D. P.; ALVES, L. M. C.; MORAES, F. R. Qualidade microbiológica da água e histopatologia de brânquias de peixes provenientes de pisciculturas do município de Itapecuru-Mirim-Maranhão. **Acta Scientiarum Biological Sciences (Online)**, Maringá, v. 34, n. 2, p. 199-205, 2012.

SERRA, J. L.; Nascimento, A. R.; Filho Moucherek, J. E ; Almeida, A. G. L. Efeitos da emissão de efluentes doméstico na proliferação de bactérias em águas da Lagoa da Jansen, São Luís/MA. In: 47° Congresso Brasileiro de Química. 2007. Natal. **Anais do 47° Congresso Brasileiro de Química**.

SIQUEIRA, R. S. Manual de microbiologia de alimentos. **Embrapa**. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ). Brasília: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa-CTAA, 159 p., 1995.

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