



Programa de Pós-graduação
em Recursos Aquáticos
e Pesca

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS AQUÁTICOS E PESCA

JANDERSON BRUZACA GOMES

**BIOMARCADORES DE EFEITO E PARASITOS PARA AVALIAÇÃO DO
IMPACTO AMBIENTAL E SANIDADE DE *Hoplias malabaricus*
(CHARACIFORMES: ERYTHRINIDAE) DE UM AMBIENTE LACUSTRE DA
BAIXADA MARANHENSE, MARANHÃO**

São Luís - MA
2021

JANDERSON BRUZACA GOMES

**BIOMARCADORES DE EFEITO E PARASITOS PARA AVALIAÇÃO DO
IMPACTO AMBIENTAL E SANIDADE DE *Hoplias malabaricus*
(CHARACIFORMES: ERYTHRINIDAE) DE UM AMBIENTE LACUSTRE DA
BAIXADA MARANHENSE, MARANHÃO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

Orientador(a): Prof. Dr^a. Débora Martins Silva Santos

São Luís - MA
2021

Gomes, Janderson Bruzaca.

Biomarcadores de efeito e parasitos para avaliação do impacto ambiental e sanidade de *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) de um ambiente lacustre da Baixada Maranhense, Maranhão / Janderson Bruzaca Gomes.– São Luís, 2021.

98 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientador: Profa. Dra. Débora Martins Silva Santos.

1.Contaminação. 2.Histopatologia. 3.Micronúcleo. 4.Parasitismo. 5.Poluentes.
I.Título.

CDU: 639.2.053.3(812.1)

JANDERSON BRUZACA GOMES

**BIOMARCADORES DE EFEITO E PARASITOS PARA AVALIAÇÃO DO
IMPACTO AMBIENTAL E SANIDADE DE *Hoplias malabaricus*
(CHARACIFORMES: ERYTHRINIDAE) DE UM AMBIENTE LACUSTRE DA
BAIXADA MARANHENSE, MARANHÃO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

Aprovado em: ____/____/____

Banca examinadora

Débora Martins Silva Santos

Profa. Dra. Débora Martins Silva Santos (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão

Nancyleni Pinto Chaves Bezerra

Profa. Dra. Nancyleni Pinto Chaves
Universidade Estadual do Maranhão
1º Examinador

Laércio

Prof. Dr. Laércio dos Anjos Benjamin
Universidade Federal de Viçosa
2º Examinador

Dedico este trabalho a minha família e a todos que contribuíram para a sua realização.

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio e por acreditarem em mim...

À minha guerreira e amada mãe, Raimunda Nonata Santos Bruzaca (*in memoriam*), por me proporcionar a vida, pelo amor, pela presença, pela generosidade, pela educação, pelos ensinamentos, pelo incentivo, por sempre me apoiar em todos os momentos da minha vida. Te amo imensamente minha mãe. Ao meu pai, Eider Lopes Gomes, *in memoriam*. À minha irmã, Heloisa Karem Santos Bruzaca e ao meu irmão Johnatan Bruzaca Gomes, pelo apoio, pelo amor.

A minha querida e dedicada orientadora, Profa. Dr.^a Débora Martins Silva Santos, pela orientação, pela oportunidade, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pela credibilidade, pela generosidade, pelo profissionalismo indiscutível, pelo cuidado, pela atenção, pelo apoio, pela amizade, pelas conversas, pela contribuição na minha formação acadêmica e profissional e pela imensa contribuição na realização deste estudo.

Ao professor Maurício Laterça Martins, à Elenice e à Elisabeth, e ao Laboratório AQUOS (Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos) da Universidade Federal de Santa Catarina, pela grande contribuição neste estudo.

A todos do grupo de pesquisa BioAqua (Grupo de Pesquisa Biologia e Ambiente Aquático), à Jovita, Itallo, Ruan, Ingrid, Denise Sousa e Maycon.

Aos meus queridos amigos, Cleber, Ádila e Ionne. Nesses 2 anos de curso e amizade compartilhamos muitos momentos bons juntos. Agradeço pela amizade, pelo apoio, pelo companheirismo, pelos ensinamentos e pelos momentos alegres.

À CAPES, pelo financiamento e à FAPEMA, pela concessão da bolsa.

Ao Programa de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão pela formação acadêmica.

RESUMO

Estudos têm alertado para o fato de que o acúmulo de resíduos lançados pelo homem no meio ambiente vem comprometendo a saúde dos ecossistemas aquáticos. O uso dos parasitos e biomarcadores de peixes podem contribuir para o monitoramento dos efeitos da poluição aquática, pois atuam como sinalizadores dos efeitos causados pelos contaminantes químicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto ambiental, a sanidade e a ocorrência de parasitos em *Hoplias malabaricus* do lago do Coqueiro da Baixada Maranhense. Foram coletados 30 exemplares de *H. malabaricus*, 15 exemplares em março de 2019, correspondendo ao período chuvoso, e 15 exemplares em outubro de 2019, correspondendo ao período de estiagem. Os parâmetros abióticos da água (temperatura, pH, condutividade e oxigênio dissolvido) foram obtidos *in loco*, e as análises microbiológicas (contagens de coliformes totais de e *Escherichia coli*) foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão. Todo procedimento de biomarcadores genotóxico e histológico e de investigação da fauna parasitária foi realizado em laboratórios da Universidade Estadual do Maranhão e da Universidade Federal de Santa Catarina. Os valores dos parâmetros abióticos mostraram-se em desacordo com a legislação vigente. Alta concentração de bactéria de contaminação fecal (*Escherichia coli*) foi registrada. Micronúcleos, lesões nucleares de eritrócitos, lesões branquiais e hepáticas foram registradas em ambos os períodos, porém com maior frequência no período chuvoso, indicando que a espécie *H. malabaricus* está respondendo aos impactos ambientais no ambiente, afetando funções orgânicas. Valores diferentes dos índices de alteração histológica indicaram maior sensibilidade das brânquias em relação ao fígado. Foram encontrados *Argulos carteri*, *Dolops discoidalis*, *Urocleidoides spp.*, *Contracaecun sp.* e *Trypanossoma sp.*, parasitando diferentes órgãos. Maior ocorrência de parasitos foi observada no período de estiagem, estando relacionada com a migração dos peixes para regiões mais cheias em busca de alimento, causando estresse no animal e afetando a imunidade, favorecendo o parasitismo. A espécie *H. malabaricus* mostra-se como um bom bioindicador de mudanças ambientais, apresentando respostas biológicas relacionadas à exposição a xenobióticos.

Palavras-chave: Contaminação. Histopatologia. Micronúcleo. Parasitismo. Poluentes.

ABSTRACT

Studies have alerted to the fact that the accumulation of waste released by man in the environment has been compromising the health of aquatic ecosystems. The use of parasites and fish biomarkers can contribute to the monitoring of the effects of water pollution, as they act as signals of the effects caused by chemical contaminants. The objective of this work was to evaluate the environmental impact, the health and the occurrence of parasites in *Hoplias malabaricus* from the Coqueiro da Baixada Maranhense lake. Thirty specimens of *H. malabaricus* were collected, 15 specimens in March 2019, consisting of the rainy season and 15 specimens in October 2019, consisting of the dry season. The abiotic parameters, temperature, pH, conductivity and dissolved oxygen were measured *in loco* and the microbiological parameters included counts of total coliforms and *Escherichia coli*. The microbiological analysis of the water was carried out in the food and water laboratory at the State University of Maranhão. All genotoxic, histological and parasitic fauna investigation procedures were carried out in laboratories at the State University of Maranhão and the Federal University of Santa Catarina. The values of the abiotic parameters are in disagreement with the current legislation. High concentration of fecal contamination bacteria (*Escherichia coli*) has been recorded. Micronuclei, nuclear lesions, branchial and hepatic lesions were recorded in both periods, but more frequently in the rainy season, indicating that the species *H. malabaricus* is responding to environmental impacts on the environment, affecting its physiological system. Different values of the histological alteration indices indicated greater sensitivity of the gills in relation to the liver. *Argulos carteri*, *Dolops discoidalis*, *Urocleidoides spp.*, *Contracecum sp.* and *Trypanossoma sp.*, parasitizing different organs. A higher occurrence of parasites was observed in the dry season, being related to the migration of fish to more crowded regions in search of food, causing stress in the animal and affecting immunity, favoring parasitism. The *H. malabaricus* species is shown to be a good bioindicator of environmental changes, presenting biological responses related to exposure to xenobiotics.

Keywords: Contamination. Histopathology. Micronucleus. Parasitism. Pollutants.

LISTA DE FIGURAS

TEXTO INTEGRADOR

	p
Figura 1 Lago do Coqueiro em São João Batista em períodos sazonais diferentes. A- Período chuvoso com a presença de búfalos criados de forma extensiva, B- Período de estiagem.....	20
Figura 2 Lago do Coqueiro, município de São João Batista, Baixada Maranhense, Maranhão, Brasil.....	30
Figura 3 Exemplar de <i>Hoplias malabaricus</i> coletado no Lago do Coqueiro, São João Batista, Maranhão.....	31
Figura 4 Preparação de esfregaço sanguíneo logo após a coleta de sangue.....	33

CAPÍTULO I: Parasitic fauna and zoonotic risk in *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from environmental protection area of international importance in the Brazilian Northeast

	p
Figure 1 Coqueiro Lake of Baixada Maranhense of the Brazilian Northeast.....	42
Figure 2 Positive linear correlation of Pearson between biometrics and number of <i>Argulus carteri</i> in <i>Hoplias malabaricus</i> . A- <i>Argulus carteri</i> and total length (TL); B- <i>Argulus carteri</i> and standard length (SL); C- <i>Argulus carteri</i> and weight (W).....	47
Figure 3 Positive linear correlation of Pearson between biometrics and number of <i>Contracaecum</i> sp. em <i>Hoplias malabaricus</i> . A- <i>Contracaecum</i> sp. and total length (TL); B- <i>Contracaecum</i> sp. and standard length (SL); C- <i>Contracaecum</i> sp. and weight (W).....	48

CAPÍTULO II: Alterações histológicas e genotóxicas em *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) como biomarcador de efeitos de impacto ambiental de um lago da Área de Proteção Ambiental do Nordeste Brasileiro

	p
Figura 1 Lago do Coqueiro da Baixada Maranhense, Nordeste Brasileiro, Brasil.....	62

- Figura 2** Micronúcleo e lesões nucleares em eritrócitos de *Hoplias malabaricus*. **a-** Células normais, **b-** Micronúcleos (setas), **c-** Células com núcleo entalhado (setas), **d-** Células com núcleo lobulado (setas), **e-** Célula com núcleo segmentado (seta) e **f-** Célula binucleada (seta). Escala: 10µm 67
- Figura 3** Alterações branquiais de *Hoplias malabaricus*. **a-** Levantamento do epitélio respiratório(setas), **b-** Dilatação do seio sanguíneo (círculo), **c-** Aneurisma lamelar (seta) 69
- Figura 4** Alterações hepáticas de *Hoplias malabaricus*. **a-** Núcleo na periferia da célula (asteriscos); **b-** Vacuolização (asteriscos) e Dilatação do vaso (seta); **c-** Centro de melanomacrófagos (círculo); **d-** Degeneração gordurosa (asteriscos)..... 72
- Figura 5** Índice de alteração histológica (IAH) de brânquias (A) e fígado (B) de *Hoplias malabaricus* coletados no lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil. ^a^b Letras diferentes indicam diferença significativa entre os períodos sazonais pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$)..... 73

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: Parasitic fauna and zoonotic risk in *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from environmental protection area of international importance in the Brazilian Northeast

	p
Table 1 Abiotic parameters and microbiological data of water from the Coqueiro Lake and recommended values of CONAMA nº 357/2005 e 430/2011.....	45
Table 2 Biometric variables of <i>Hoplias malabaricus</i> collected in the Coqueiro Lake, Baixada Maranhense, Brazilian Northeast.....	46
Table 3 Parasitological indices in <i>Hoplias malabaricus</i> from the Coqueiro Lake, Baixada Maranhense, Brazilian Northeast.....	47

CAPÍTULO II: Alterações histológicas e genotóxicas em *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) como biomarcador de efeitos de impacto ambiental de um lago da Área de Proteção Ambiental do Nordeste Brasileiro

	p
Tabela 1 Parâmetros abióticos e microbiológicos da água do Lago do Coqueiro e valores recomendados pela Resolução CONAMA nº 357/2005 e 430/2011.....	65
Tabela 2 Frequência de micronúcleo e eritrócitos alterados em <i>Hoplias malabaricus</i> coletados no lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil.....	66
Tabela 3 Frequências de ocorrência em porcentagem das lesões branquiais de <i>Hoplias malabaricus</i> coletados no lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil.....	68
Tabela 4 Frequências de ocorrência em porcentagem das lesões hepáticas de <i>Hoplias malabaricus</i> coletados no lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil.....	71

LISTA DE QUADROS

TEXTO INTEGRADOR

	P
Quadro 1 Classificação das alterações histológicas branquiais quanto ao tipo e os estágios em que se inserem por Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994)	35
Quadro 2 Classificação das alterações histológicas hepáticas quanto ao tipo e os estágios em que se inserem por Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994)	35
Quadro 3 Classificação da severidade das lesões por categoria de IAH, segundo Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994)	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivo Geral	18
2.2	Objetivos Específicos.....	18
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1	Área de Proteção Ambiental (APA) da Baixada Maranhense.....	19
3.2	Contaminação dos ambientes aquáticos	20
3.3	Município de São João Batista e Lago do Coqueiro	21
3.4	Biomonitoramento de ambientes aquáticos.....	22
3.5	Biomarcadores e peixes como bioindicadores.....	23
3.5.1	<i>Hoplias malabaricus</i>	25
3.6	Biomarcador genotóxico.....	26
3.6.1	<i>Teste do micronúcleo</i>	27
3.7	Biomarcador histológico	28
3.7.1	<i>Brânquias</i>	28
3.7.2	<i>Fígado</i>	29
3.8	Parasitismo	29
4	METODOLOGIA.....	30
4.1	Área de amostragem	30
4.2	Licença Ambiental e Autorizações.....	31
4.3	Avaliação dos parâmetros abióticos da água	31
4.4	Avaliação microbiológica da água.....	31
4.5	Amostragem do material biológico	32
4.6	Normas de conduta para uso de animais na pesquisa e coleta dos peixes.....	33
4.7	Teste do Micronúcleo e Lesões nucleares	33
4.8	Biometria de <i>Hoplias malabaricus</i>	34
4.9	Processamento histológico	35
4.9.1	<i>Avaliações histopatológicas</i>	35
4.9.2	<i>Índice de Alteração Histológica (IAH)</i>	37
4.10	Exame parasitológico	37

4.10.1 Ectoparasitos: muco, superfície do corpo e brânquias	38
4.10.2 Endoparasitos	38
4.10.3 Hemoparasitos	38
4.10.4 Índices parasitológicos	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 CAPÍTULO I: Parasitic fauna and zoonotic risk in <i>Hoplias malabaricus</i> (Characiformes: Erythrinidae) from environmental protection area of international importance in the Brazilian Northeast	40
5.2 CAPÍTULO II: Alterações histológicas e genotóxicas em <i>hoplias malabaricus</i> (Characiformes: Erythrinidae) como biomarcador de efeitos de impacto ambiental de um lago da Área de Proteção Ambiental do Nordeste Brasileiro	60
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

As bacias hidrográficas brasileiras caracterizam-se por uma imensa rede de pequenos cursos de água, com diferentes características fisiográficas, o que propicia a ocorrência de uma elevada diversidade de organismos (NOGUEIRA et al., 2010). Entretanto, grande parte desses ecossistemas encontra-se extremamente ameaçados pela crescente poluição decorrente da atividade humana (MIRANDA, 2012), e a contínua contaminação desses ecossistemas de água doce pelo lançamento de poluentes urbanos, industriais e agrícolas, tornou-se tema de grande preocupação nas últimas décadas (AYADI et al., 2015; JORDAO et al., 2002).

Araújo et al. (2001) e Jha (2004), consideram os ambientes aquáticos como sendo os mais atingidos pela poluição decorrente do crescimento populacional. Podemos associar esta poluição aos dejetos liberados no ambiente, resultando em efeitos negativos, como extinção de algumas espécies menos resistentes, comprometimento na qualidade da água e surgimento de doenças (BATISTA-NETO et al., 2008). Os impactos ambientais nos ecossistemas aquáticos têm diferentes origens e formas, o lançamento de compostos químicos nas águas resulta em modificações no curso e composição físico-química natural dos rios, na cobertura vegetal, nas margens, na cor da água e na biota existente (CALLISTO; GONÇALVES; MORENO, 2005).

A maioria dos contaminantes químicos presentes em águas subterrâneas e superficiais está relacionado às fontes industriais, agrícolas e domésticas. A diversidade é grande, com ênfase para os agrotóxicos, compostos orgânicos voláteis e metais; muitos destes oferecem riscos para o equilíbrio da fauna e da flora aquática, e principalmente, perigo à saúde humana no uso público da água, considerando a estreita relação entre a qualidade de água e as inúmeras enfermidades que acometem as populações (HU; KIM, 1994; LIBÂNIO et al., 2005).

Uma parte desses compostos não é seletivo e geralmente são tóxicos para diversos organismos, incluindo o homem e demais animais do ambiente em que se encontram (HAGAR; FAHMY, 2002). Dessa forma, é necessário o biomonitoramento dos ambientes aquáticos. O termo biomonitoramento refere-se ao uso sistemático das respostas de organismos vivos, seja ele como um todo ou, através de um determinado tecido, para avaliar mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antrópicas (MATTHEWS et al., 1982).

Avaliar a qualidade ambiental por meio de biomonitoramento tem o diferencial de se obter análise preditiva de contaminantes que provocam efeitos biológicos negativos, mesmo quando a concentração desses contaminantes no ambiente não é detectável pelos métodos instrumentais analíticos (CHIESSE, 2010). Nesses estudos de biomonitoramento são utilizados organismos que possam indicar sinais precoces de degradação ambiental causada por

contaminantes, sendo classificados como bioindicadores (ADAMS, 2002; SANTOS, 2013). A análise da espécie bioindicadora pode ser feita através de um grupo de respostas biológicas, denominadas biomarcadores, e esses podem determinar o grau de impacto na saúde da biota, bem como identificar os possíveis estressores responsáveis por esses efeitos (BAINY, 1993; OOST et al., 2003; FUENTES-RIOS et al., 2005).

No monitoramento aquático, os peixes são considerados bons bioindicadores para avaliar a toxicidade ambiental, pois participam de diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar, apresentam ampla distribuição geográfica e estão presentes em vários ambientes, desta forma são classificados como ótimos modelos biológicos de estudo (JESUS; CARVALHO 2008). Espécies de peixes respondem a variações de habitat em adaptações em nível celular, histológico, bioquímico, fisiológico e comportamental (SARAIVA et al., 2015), onde essas respostas são consideradas biomarcadores (JAVED et al., 2016).

As alterações histológicas em órgãos de peixes são reconhecidas como biomarcadores de efeito por estarem expostos a estressores que estão presentes no seu habitat, sendo consideradas cada vez mais como uma ferramenta valiosa para a avaliação do campo de poluentes ambientais (TEH et al., 1997). Tais alterações avaliam a sanidade dos peixes expostos a contaminantes, tanto no laboratório (WESTER; CANTON, 1991; THOPHON et al., 2003) quanto em estudos de campo (HINTON et al., 1992; SCHWAIGER et al., 1997; TEH et al., 1997).

O uso de parasitos de peixes como bioindicadores de impactos ambientais em ecossistemas aquáticos tem recebido considerável atenção (POULIN, 1992; LAFFERTY, 1997; SURES, 2004; MARCOGLIESE ET AL. 2010; VIDAL-MARTÍNEZ ET AL., 2010; KHAN, 2011). Muitos desses estudos têm demonstrado uma estreita relação entre o parasitismo e as condições ecológicas em que os hospedeiros estão expostos, demonstrando como os parasitos podem responder as mudanças ambientais, ampliando dessa forma o conhecimento sobre a função e integridade dos ecossistemas (HUDSON et al., 2006; LAFFERTY et al., 2008).

O uso dos parasitos e biomarcadores de peixes podem contribuir para o monitoramento dos efeitos da poluição aquática, pois atuam como sinalizadores dos efeitos causados pelos contaminantes químicos, antecipando assim possíveis danos irreversíveis nas populações e comunidades biológicas (GALLOWAY et al., 2004; SURES, 2008). Neste aspecto, o monitoramento biológico é eficaz na identificação de mecanismos e efeitos em níveis de organização biológica, principalmente, quando associados ao monitoramento simultâneo da

sensibilidade ao estresse, à integração das respostas às concentrações de poluentes e à avaliação dos efeitos sinérgicos e antagônicos dos mesmos (ADAMS, 1990).

Devido a Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense ainda não ter um plano de manejo, o que dificulta ainda mais a conservação das espécies estuarinas e dulcícolas (CARVALHO NETA et al., 2015; CANTANHEDE et al., 2016), tem sido comprovado em estudos um desequilíbrio ambiental dos recursos aquáticos, provavelmente, devido a atividades antropogênicas. Desta forma, mediante a relevância ecológica e social da região, a pesquisa com biomarcadores de contaminação ambiental em peixes pode contribuir para subsídios de gestão ambiental, minimizando a degradação nos recursos hídricos. Além disso, a região apresenta importância internacional, pois está incluída na lista de zonas úmidas mundiais e de relevância internacional para a sustentabilidade ambiental e social, esta lista foi realizada pela Convenção Ramsar, no ano de 1971.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar o impacto ambiental, a sanidade e a ocorrência de parasitos em *Hoplias malabaricus* por meio de biomarcadores de efeito, capturados do lago do Coqueiro no Município São João Batista da Baixada Maranhense, Maranhão.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar as características físico-químicas e microbiológica da água;
- Identificar e quantificar as alterações histológicas em brânquias e fígados dos espécimes;
- Verificar a frequência de micronúcleo e anormalidades nucleares nos eritrócitos píceos;
- Investigar a fauna parasitária nos espécimes de *Hoplias malabaricus*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Área de Proteção Ambiental (APA) da Baixada Maranhense

A Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense foi originada pelo Decreto Estadual nº 11.900, de 11 de junho de 1991, justificada por ser uma região importante que acomoda “uma complexa interface de ecossistemas ou incluindo manguezais, babaçuais, campos abertos e inundáveis, uma série de bacias lacustres em sistema de “rosário”, um conjunto estuarino e lagunar e matas ciliares – todos abrigo de rica e complexa fauna e flora aquática e terrestre, com destaque à ictiofauna, à avifauna migratória e permanente e às variedades de espécies da flora local e regional considerados alguns daqueles ecossistemas como Reservas Biológicas” (MARANHÃO, 1991).

Esta é uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável, definida segundo o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC) como sendo “uma área em geral extensa, com certo grau de ocupação humana, dotada de atributos abióticos, bióticos, estéticos ou culturais, especialmente importantes para a qualidade de vida e o bem-estar das populações humanas, e tem como objetivos básicos proteger a diversidade biológica, disciplinar o processo de ocupação e assegurar a sustentabilidade dos recursos naturais” (BRASIL, 2000).

A Baixada Maranhense está localizada na mesorregião norte do estado do Maranhão, com características transicionais da Amazônia e do Nordeste brasileiro, com influência de ambientes fluviais, costeiros e marinhos (SILVA; MOURA, 2004). A região é composta por um significativo contingente populacional de 563.895 habitantes que se distribuem nos 21 municípios maranhenses da baixada: Anajatuba, Conceição do Lago-Açu, Presidente Sarney, Arari, Cajari, Pedro do Rosário, Matinha, Monção, São João Batista, Olinda Nova do Maranhão, Palmeirândia, Igarapé do Meio, Penalva, Bela Vista do Maranhão, Perimirim, Pinheiro, São Vicente Ferrer, Santa Helena, São Bento, Viana e Vitória do Mearim (IBGE, 2015).

Ambientalmente, a Baixada é constituída por um complexo conjunto ecológico de rios, campos, estuários, agroecossistemas, manguezais, babaçuais, e um dos maiores conjuntos de bacias hidrográficas do nordeste brasileiro, composta pelos rios Mearim, Pindaré, Grajaú, Pericumã, Turiaçu e outros menores, que acolhe uma flora e fauna silvestre bastante representativa (NOGUEIRA, 2003). A microrregião também possui um regime hidrológico peculiar, com precipitação anual variando em torno de 2000 mm. O nível d’água no ambiente lacustre atinge o pico máximo no período de março a meados de maio, e a cota mínima de

outubro a dezembro. O período de enchente começa em fevereiro e continua até o final de maio, decrescendo até o final de julho. Durante a vazante, a água flui dos lagos para o rio, secando quase por completo entre outubro e novembro. Os períodos de cheia e seca podem variar conforme a pluviosidade na região (SILVA; MOURA, 2004; VIEGAS, 2011). Essa dinâmica ocasiona o transbordamento de rios e lagos copiosos que alagam os campos e transforma-os em amplos lagos de pouca profundidade (COSTA NETO, 1990).

A população da Baixada ainda apresenta características socioeconômicas rurais, apesar de que uma porção dos habitantes já vive nos núcleos urbanos municipais, e essa condição relaciona-se mais com o modo de vida das pessoas, do que propriamente com o local de habitação, uma vez que, mesmo vivendo nas cidades, os moradores ainda praticam atividades como a pesca, a agricultura e a pecuária, em modos de subsistência ou de pequena comercialização (ARAÚJO; PINHEIRO, 2008; FUNO; PINHEIRO; MONTELES, 2010; LAFONTAINE, 2011).

3.2 Contaminação dos ambientes aquáticos

Estudos têm alertado, nas últimas décadas, para o fato de que o acúmulo de resíduos lançados pelo homem no meio ambiente vem comprometendo gravemente a saúde dos ecossistemas aquáticos (NRIAGU, 1990; MOZETO; PATELLA, 1997; MOZETO et al., 2003; MORTATTI et al., 2010; RIVA et al., 2017).

Os corpos aquáticos contaminados, muitas vezes, são os mesmos usados para o abastecimento urbano (SANTANA, 2013). Em diversas regiões brasileiras, o abastecimento de água para consumo doméstico ou industrial vem sendo seriamente comprometido, pois a maioria dos mananciais límnicos, lacustres ou fluviais apresenta-se eutrofizados e contendo substâncias tóxicas que são prejudiciais à biota e à saúde humana (NASCIMENTO, 2003; CETESB, 2009). O nível de contaminação das águas constitui fator limitante às condições e a qualidade de vida dos seres vivos que habitam os ecossistemas aquáticos e também aos seres humanos que usam a água e seus recursos pesqueiros (BRITO; LUZ, 2015).

Os ecossistemas aquáticos têm sido alterados de maneira significativa devido aos diversos impactos ambientais resultantes de atividades humanas. Os impactos ambientais incluem: construção de barragens, mineração, retificação e desvio do curso natural de rios, lançamentos de efluentes domésticos e industriais não tratados e uso inadequado do solo em regiões ripárias e planícies de inundação; exploração de recursos pesqueiros e introdução de espécies exóticas (CALLISTO; GOULART; MORETTI, 2000; GOULART; CALLISTO,

2003; BEGUM, 2004; BRITO; LUZ 2015; RODRIGUES et al., 2016), afetando a disponibilidade de água e consequentemente a biodiversidade natural aquática (MASSARO, 2006).

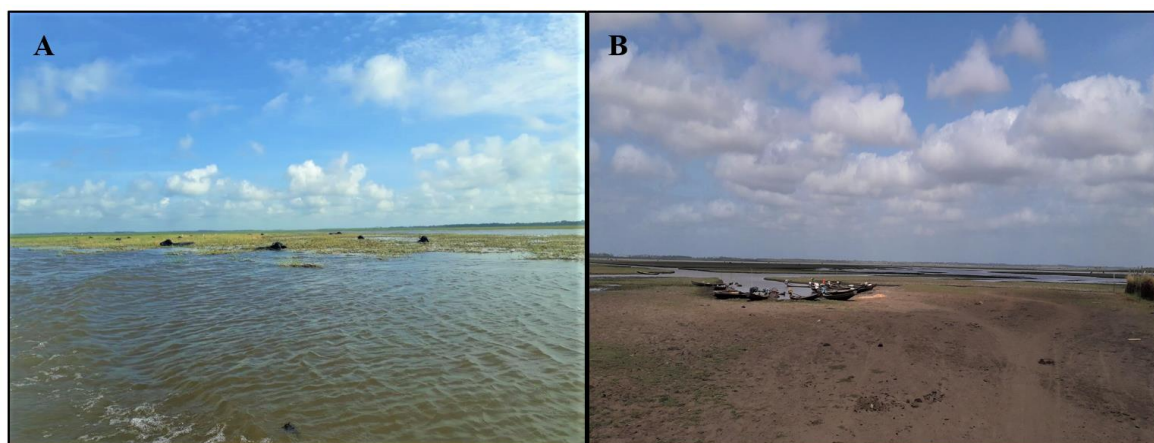
Existem diversos tipos de poluentes que afetam o ambiente aquático e cujos efeitos são preocupantes, sendo que o conhecimento e a compreensão detalhada dos reais efeitos destes diferentes tipos de efluentes nos corpos d'água são essenciais para o controle da poluição (MARTINEZ; CÓLUS, 2002).

3.3 Município de São João Batista e Lago do Coqueiro

São João Batista é um município da Mesorregião Norte Maranhense e da Microrregião da Baixada Maranhense, com altitude de 29 metros, com relevo de planície e clima tropical de monção, definindo bem o período chuvoso e o período de estiagem. Está localizado a 280 km da Capital São Luís, abrange uma, com uma população de 19.966 habitantes, com densidade populacional de 28,91 habitantes por Km² (IBGE, 2010). O município apresenta as seguintes coordenadas geográficas: longitude 02° 57' 27" Sul e latitude 044° 47' 56" Oeste (AB'SABER, 1960).

O lago do Coqueiro (Figura 1) integra o complexo de lagos presentes na Baixada Maranhense cujas características são bastante similares e sua principal importância econômica está na pesca que é praticada durante o período chuvoso não só no lago, mas em toda área inundada. No período de estiagem a atividade pesqueira é mais intensa, por ser um período impróprio para a agricultura rudimentar praticada na região (CAMPOS NETO, 2008).

Figura 1. Lago do Coqueiro em São João Batista em períodos sazonais diferentes. **A-** Período chuvoso com a presença de búfalos criados de forma extensiva, **B-** Período de estiagem.



Fonte: Próprio autor, 2019.

3.4 Biomonitoramento de ambientes aquáticos

A legislação do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA 430 do ano de 2011 é responsável por regulamentar as condições e padrões de lançamento de efluentes, proibindo concentrações nocivas para todas as formas de vida considerando a classificação dos corpos d'água, mantendo a qualidade ambiental e um meio ambiente ecologicamente equilibrado. Entretanto, nem sempre os valores descritos são seguros aos organismos. Ainda a resolução CONAMA 357 de 2005 classifica os corpos de água em função de usos desejáveis, dentre eles a proteção de vida aquática, considerando-se concentrações máximas de diferentes classes de poluentes permissíveis em tais ambientes, de modo a assegurar o uso pretendido.

Os seres humanos utilizam os recursos aquáticos em diferentes atividades como alimentação, lazer, geração de energia, abastecimento de água dentre outras (SPERLING, 1993; RAZZOLINI; GUNTHER, 2008; GIATTI; CUTOLO, 2012; MANNARINO et al., 2013). Porém, o uso demasiado destes recursos pelo homem resulta num grande desequilíbrio ambiental, podendo minimizar a sobrevivência de muitas espécies, da flora e fauna (DE OLIVEIRA, 1958; MORAES; JORDÃO, 2002; CANTANHEDE et al., 2014).

Dessa forma, o monitoramento convencional a partir da avaliação de parâmetros físicos e químicos não é suficiente para inferir sobre a saúde de ecossistemas aquáticos (KARR, 1998). Segundo Metcalfe (1989), as medidas físicas e químicas da água registram o momento em que foram coletadas, como uma fotografia do rio, necessitando assim de um grande número de análises para a realização de um monitoramento temporal eficiente. Além disso, se forem feitas longe da fonte poluente, as medições químicas não serão capazes de detectar perturbações sutis sobre o ecossistema (PRATT; COLER, 1976).

Métodos biológicos têm substituído ou complementado estas medidas na avaliação das condições de um rio (KARR, 1991; WRIGHT, 1995; RESH et al., 1995). Os organismos integram as condições ambientais durante toda a sua vida, permitindo que a avaliação biológica seja utilizada com bastante eficiência na detecção tanto de ondas tóxicas intermitentes agudas quanto de lançamentos crônicos contínuos (PAUW; VANHOOREN, 1983).

Para a caracterização e o monitoramento de áreas ambientais, devem ser levados em consideração a complexidade do ambiente como um fator de suma importância, não podendo separar os processos físicos, químicos e biológicos uma vez que, estes são integrados e interconectados no ambiente. É o conjunto dessas informações que contribui para a manutenção da saúde e preservação dos ecossistemas (BRUSSEAU et al., 2004).

O biomonitoramento ou monitoramento ambiental é definido como uma análise repetida e temporal de determinados parâmetros biológicos, químicos e físicos de uma área utilizando-se de parâmetros específicos, comparáveis e padronizados (STRIEDER et al., 2006; KIRBY et al., 2014; WANG et al., 2016; MACHADO; BAPTISTA, 2016).

Para Oost; Beyer; Vermeulen (2003) o monitoramento ambiental é composto por cinco métodos de diagnóstico dos efeitos de poluentes no ambiente: 1) Monitoramento químico - é caracterizado pela análise de poluentes nos compartimentos ambientais; 2) Monitoramento da bioacumulação - é explicado pela análise da acumulação destes na biota regional; 3) Monitoramento de ecossistemas - é caracterizado pela análise das espécies presentes naquele ambiente; 4) Monitoramento da saúde - são os danos causados à saúde daquele animal; 5) Monitoramento dos efeitos biológicos - caracteriza-se pelos efeitos que podem ser reversíveis ou irreversíveis nos organismos.

Nesse contexto, a definição de biomonitoramento, refere-se ao uso sistemático das respostas de organismos vivos para avaliar as mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antropogênicas (MATTHEWS et al., 1982). Essas respostas de organismos vivos são conhecidas como biomarcadores.

3.5 Biomarcadores e peixes como bioindicadores

Os biomarcadores podem ser utilizados em monitoramentos ambientais para indicar a presença de determinado composto químico, sua relação de exposição com uma determinada espécie ou uma população, além de quantificar o risco de poluição, quando houver dados de referências acerca da concentração do poluente (ALBA-TERCEDOR, 1996; WHITFIELD, 2001). A importância dos biomarcadores enquanto parâmetro biológico se diferencia dos dados abióticos, uma vez que eles refletem diretamente os efeitos na saúde dos organismos, e não somente nas características ambientais, assim, podem fornecer uma melhor estimativa dos riscos ecológicos (BARBOUR et al., 1999).

Biomarcadores são alterações biológicas presentes em nível molecular, celular, fisiológico ou comportamental como consequência das mudanças ambientais com relação direta ou indireta à exposição ou a efeitos tóxicos de compostos químicos (SOUZA et al., 2013). Os biomarcadores devem apresentar o máximo de especificidade, assim como refletir um único efeito, ser facilmente determinado, além de apresentar estreita relação dose-efeito (OOST et al., 2003).

O uso dos marcadores biológicos apresenta várias vantagens, uma vez que, permite detectar prematuramente a existência de contaminação por substâncias tóxicas biodisponíveis; identificar espécies ou populações que apresentam risco de contaminação; avaliar o grau da contaminação e determinar o grau de severidade dos efeitos causados pelos contaminantes (STGEMAN et al., 1992). O uso de biomarcadores no monitoramento de ambientes aquáticos é justificado por expressar informações sobre efeitos biológicos de poluentes em vez de uma mera análise ou quantificação do estado em que o ambiente se apresenta (OOST et al., 2003).

O uso de bioindicadores nos ambientes aquáticos é amplamente usado em análises ambientais (BOLOGNESIE; HAYASHI, 2011). Dentre os vários organismos utilizados para o biomonitoramento ambiental, os peixes mostram-se como excelentes modelos experimentais para estudos de biomonitoramento aquático (RAMISDORF, 2007).

Conforme Arias et al. (2007), bioindicadores são organismos ou comunidades que respondem à poluição ambiental, apresentando alterações nas suas funções vitais ou acumulando toxinas. Esse fato permite que esses organismos ou comunidades forneçam informações necessárias para a análise de risco ecológico e estudos de impacto ambiental. Atuam como fatores bióticos no reconhecimento das condições de determinado ecossistema por conseguirem realizar a detecção precoce dos efeitos reais que possam estar ocorrendo aos seres vivos em virtude da exposição aos poluentes ambientais.

Organismos que ocupam o topo da cadeia alimentar são normalmente utilizados como bioindicadores, pois possuem uma intrínseca relação com toda a cadeia inferior, demonstrando respostas de efeitos crônicos, persistentes e acumulativos no nível de cadeia, além de efeitos diretos no organismo do indivíduo (LINS et al., 2010).

Os peixes são geralmente escolhidos como bioindicadores por serem organismos pertencentes ao topo da cadeia alimentar (JAVED, USMANI, 2019), sendo comumente utilizados por possuírem intrínseca relação com toda a cadeia inferior, indicando respostas de efeitos crônicos (SOUSA et al., 2016), acumulativos e persistentes no nível de cadeia, além de efeitos diretos no nível do indivíduo (LINS et al., 2010). Os peixes apresentam vantagem como sentinelas porque respondem aos agentes xenobióticos de forma similar aos vertebrados e podem ser usados para avaliar a presença de substâncias que são prejudiciais aos seres humanos (BRITO; LUZ, 2015).

A utilização desses organismos como bioindicadores da qualidade ambiental tem mostrado bons resultados na avaliação dos efeitos de contaminantes químicos em diferentes ambientes aquáticos (GRISOLIA, 2005). Somando-se a isso, esses animais apresentam grande

importância na cadeia alimentar, além de fazerem parte da alimentação humana (BOLOGNESU; HAYASHI, 2011).

Desta forma, os biomarcadores em bioindicadores ambientais são metodologias utilizadas para gerenciamento de uma área, seja ela aquática ou terrestre (VAMPRE; FUCCILLO; ANDRÉA, 2010; PINHEIRO-SOUSA, 2015). Devido a sua ecologia e hábito alimentar, a espécie *Hoplias malabaricus* tem sido utilizada em trabalhos como bioindicadores ambientais.

3.5.1 *Hoplias malabaricus*

Hoplias malabaricus (BLOCH, 1794), é uma espécie encontrada na maioria das bacias de rios das Américas Central e do Sul, da Costa Rica até a Argentina, estando bem adaptada a ambientes lênticos (ZARÁTE et al., 1989; PRADO et al., 2006). É um peixe de hábitos diurnos e crepusculares, vive em águas paradas e suporta baixos níveis de oxigênio dissolvido (DRIEDZIC et al., 1978).

A ecologia dessa espécie é descrita como sendo um organismo planctófago no período larval, insetívoro na fase juvenil e piscívoro quando adulto, indicando um peixe predador de topo de cadeia, podendo mostrar consequências constantes bioacumulativas transportadas através da cadeia trófica (AZEVEDO; GOMES, 1942; MESCHIATTI & ARCIFA, 2002; MIRANDA, 2006).

Hoplias malabaricus, popularmente conhecida como traíra é considerada uma espécie biomonitora, apresentando características que favorecem o seu uso em trabalhos de biomarcadores de contaminação ambiental, como a importância na pesca regional e tradicional brasileira, tanto com a finalidade de subsistência, quanto comercial (NOVAES; CARVALHO, 2011). É uma espécie bem adaptada aos ambientes aquáticos lênticos como lagos e lagoas (BIALETZKI et al., 2008). Apresenta uma ampla distribuição geográfica, é uma espécie residente em ambientes dulcícolas da América do Sul (ARAUJO-LIMA; BITTENCOURT, 2001), tendo disponibilidade durante todo o ano compreendendo os períodos sazonais e por ser predadora carnívora podendo bioacumular xenobióticos (BATISTA et al., 2016; JESUS et al., 2016; CORRÊA et al., 2016; COIMBRA et al., 2018).

Estes organismos mostram-se muito resistentes nos ambientes em que estão inseridos, podendo suportar períodos de seca e frio intensos e pouco oxigenados, essa resistência à hipóxia pode ser explicada pela grande influência desses animais nos seus sistemas cardíaco e respiratório, ou seja, a traíra apresenta auto controle sobre o metabolismo dos órgãos destes

sistemas, adaptando-se facilmente às alterações ambientais (PETRY et al., 2007; LINS et al., 2010) bem como aos habitats muito contaminados (COSTA et al., 2007).

É uma espécie com grande potencial para a comercialização, por apresentar características rústicas e pouca exigência de manejo, sendo encontrada em abundância nos rios, barragens, lagos e lagoas, com uma carne de alto valor proteico e de boa aceitação pelo mercado consumidor (SANTOS et al., 2001).

3.6 Biomarcador genotóxico

Entre os principais biomarcadores, aqueles que são baseados na resposta em relação aos níveis molecular e celular trazem respostas sobre os primeiros sinais de estresse no ambiente e são conhecidos como biomarcadores genotóxicos (NIGRO et al., 2006).

O uso de biomarcadores genotóxicos tem sido proposto como uma metodologia aplicada para avaliações da qualidade ambiental e hídrica, consistindo em uma boa ferramenta de alerta para os efeitos biológicos medidos no ambiente permitindo avaliar o efeito dos poluentes no meio, bem como alterações de seu potencial tóxico ou genotóxico após interação com o ambiente (CAJARAVILLE et al., 2000; JESUS; CARVALHO, 2008; CANTANHEDE et al., 2016).

Monserrat et al. (2003) ressaltaram que uma das principais características do uso dos biomarcadores de baixa organização biológica (biomarcadores genotóxicos) é que sua avaliação funciona precocemente, antecipando mudanças de maior relevância ecológica, no que se refere a população, comunidade ou ecossistema. Antes da morte ou de maiores alterações fisiológicas e/ou morfológicas, os organismos podem responder ao estresse, sendo estas possíveis de serem observadas através das alterações moleculares e celulares.

Os danos genotóxicos podem ser detectados por técnicas como o teste de micronúcleo. Essa técnica tem sido utilizada, em vários estudos para avaliar o impacto dos poluentes no ambiente a diferentes compostos químicos, com grande sucesso. Alguns autores têm sugerido a utilização de biomarcadores genotóxicos devido à capacidade de detectar diferentes efeitos adversos ao material genético (BUSCHINI et al., 2004; RUSSO et al., 2004; VANZELLA et al., 2007). Esses ensaios têm demonstrado sensibilidade em diferentes espécies, sendo possível à detecção de danos em indivíduos expostos a baixas concentrações de contaminantes e com a vantagem de não exigir um conhecimento detalhado sobre a identidade e as propriedades físico-químicas dos contaminantes (FRENZILLI et al., 2009).

3.6.1 *Teste do micronúcleo*

O Teste de Micronúcleo é um dos métodos preferenciais para avaliar o dano genético e alterações cromossômicas estruturais nos organismos, pois através dele é possível detectar danos provenientes tanto de agentes clastogênicos, responsáveis por quebras cromossômicas, como de agentes aneugênicos que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal (THOMAS et al., 2009; ANSARI et al., 2011; ARSLAN; PARLAK, 2015; ; GONZÁLES et al., 2017). O teste do micronúcleo é considerado simples, sensível e apresenta um resultado rápido dos efeitos xenobióticos em uma determinada área (POLLO et al., 2015; CARRAFA et al., 2013).

A origem desses micronúcleos ocorre durante a divisão mitótica, onde fragmentos ou cromossomos inteiros aparecem desassociados do núcleo principal (ANGELIERI et al., 2014; SARPAL et al., 2016). Esta formação pode surgir quando alguma substância induz a ruptura cromossômica ou quando agentes afetam o aparelho do fuso mitótico (BELIEN et al., 1995, MAJER et al., 2001; SARPAL et al., 2016).

Os micronúcleos são massas de cromatina citoplasmática com a aparência de pequenos núcleos que emergem de fragmentos cromossômicos ou são cromossomos inteiros deixados para trás na anáfase, durante a divisão celular. Sua presença na célula é um reflexo de aberração cromossômica estrutural ou numérica durante a mitose (FENECH et al., 1999).

Além dos micronúcleos outras alterações nucleares também podem ser identificadas seguindo a técnica de identificação do micronúcleo. Carrasco et al. (1990), descreveram as alterações morfológicas encontradas em núcleos de eritrócitos de peixes da seguinte forma: a) Entalhado: núcleos com uma pequena evaginação da membrana nuclear parecendo conter eucromatina ou heterocromatina; b) Lobulado: núcleos com evaginações mais largas. Sua estrutura não é tão definida como a anterior; c) Segmentado: núcleos com corte bem definido em sua forma, geralmente com uma profundidade apreciável no núcleo; d) Binucleado: dois núcleos em uma única célula.

Assim o teste do micronúcleo tornou-se um importante biomarcador de poluição, e, desse modo, tem sido uma ferramenta para a previsão do potencial de efeitos em longo prazo de xenobióticos em espécies selvagens (GONZÁLES et al. 2017). Além disso, é um teste de custo relativamente baixo e de rápida execução (SCHAUMBURG et al., 2012; BORGES et al., 2019).

3.7 Biomarcador histológico

Os biomarcadores morfológicos se apresentam como uma importante ferramenta de avaliação da exposição e dos efeitos de diferentes poluentes, tais como metais pesados, compostos organometálicos e xenobióticos orgânicos, que podem ser aferidos através de diferentes abordagens (ROSS et al., 2002).

A histologia de órgãos é uma maneira morfológica eficaz de diagnosticar lesões de efeitos diversos causados por determinado poluente presente no meio (FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2007; HINTON et al., 2018). Dessa forma, a observação dessas lesões pode ser indício que o ambiente está contaminado. Vale destacar que, somente as análises histológicas não determinam o contaminante, nem qual é o local de despejo e nem se a fonte é pontual ou difusa: Logo é necessário a utilização de outros métodos científicos para averiguação de tal objetivo (LINS et al., 2010). Todavia os biomarcadores histológicos são considerados excelentes ferramentas de monitoramento da saúde do ecossistema aquático e têm sido utilizados em vários programas de monitoramento ambiental (WALKER et al., 1996). As lesões em brânquias e fígado são as mais utilizados em estudos com biomarcadores morfológicos.

3.7.1 *Brânquias*

As brânquias apresentam características fundamentais que propiciam o seu uso em respostas biológicas, pois apresenta grande superfície de contato com o ambiente externo, por causa das lamelas, bem como estão em contato direto e permanente com o ambiente aquático; além disso, sendo um órgão de vital importância para peixes, as brânquias são responsáveis por trocas gasosas, processo de osmorregulação, equilíbrio ácido básico, transporte e excreção de compostos nitrogenados e ainda função sensorial de degustação (GARCIA, 1995; LINS et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2011).

O epitélio branquial é altamente sensível às variações ambientais do meio aquático, atendendo a uma necessidade funcional pela modificação quantitativa e constitutiva de suas células (NOGA, 1996). As brânquias constituem um órgão alvo para o estudo das ações dos poluentes no meio aquático, pois estão em permanente contato com a água e possuem uma superfície de contato relativamente grande (ARELLANO et al., 1999).

3.7.2 *Fígado*

O fígado dos peixes é um dos órgãos responsável por diversas funções metabólicas, entre elas o processamento de compostos orgânicos e inorgânico. Este órgão é sensível para mostrar alterações bioquímicas, fisiológicas e estruturais (HEATH, 1987; HINTON; COUCH, 1998). Alguns parâmetros hepáticos, tais como alterações histológicas e depleção de glicogênio, têm sido utilizados para avaliação dos impactos de poluentes ambientais (HINTON et al., 1992) em programas de biomonitoramento (SCHWAIGER et al., 1997, CASTRO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016).

O fígado tem a função primordial de biotransformar os metais presentes no organismo dos animais, bem como reduzi-los a pequenas moléculas, afim de os eliminar para o meio (BERVOETS et al., 2013; ARANTES et al., 2016). Esta glândula digestiva é composta pelos hepatócitos que são as células responsáveis pelo metabolismo dos xenobióticos, fibras para a sustentação, vasos sanguíneos, ductos biliares, tecido pancreático, entre outros componentes (HIBIYA, 1982).

3.8 **Parasitismo**

Os parasitos têm sido reconhecidos como importantes componentes da biodiversidade global, devido aos importantes papéis desempenhados por esses organismos em ecossistemas naturais, e também pelo fato de que entre 30 e 50% das espécies de animais conhecidas em qualquer lugar podem ser classificadas como parasitos (POULIN; MORAND, 2004).

Os parasitos são indicativos de muitos aspectos biológicos de seus hospedeiros, incluindo a dieta, a migração, o recrutamento e a filogenia, podendo também ser bons indicadores diretos do estado de qualidade ambiental (WILLIAMS et al., 1992; SURES et al., 1994; MARCOGLIESE; CONE, 1997).

Neste contexto, os parasitos podem manifestar as mudanças ambientais mais rapidamente do que os seus hospedeiros, uma vez que o aumento ou decréscimo na taxa de parasitismo pode ser resultado de ações antrópicas, que podem estar beneficiando ou não o desenvolvimento de alguma fase do ciclo de vida de determinado parasito (SILVA-SOUZA et al., 2006).

A biodiversidade de parasitos pode ser muito importante, uma vez que o parasitismo também desempenha um papel chave nos ecossistemas, regulando a abundância ou densidade das populações de hospedeiros, estabilizando as teias alimentares e estruturando as

comunidades animais (POULIN; MORAND, 2004). Assim, um bom conhecimento da diversidade parasitária, e se ela está ou não em declínio, torna-se crucial para a gestão e conservação ambiental (POULIN, 2004).

As pesquisas ictioparasitológicas mundiais enfatizam o uso dos parasitos de peixes como indicadores biológicos, analisando a ecologia dos parasitos, incluindo estudos de dinâmica populacional e estrutura das comunidades parasitárias, estudo do parasitismo como fator limitante em atividades de cultivo marinho e o estudo da biologia e a determinação de estágios larvais de helmintos com potencial zoonótico (LUQUE, 2004).

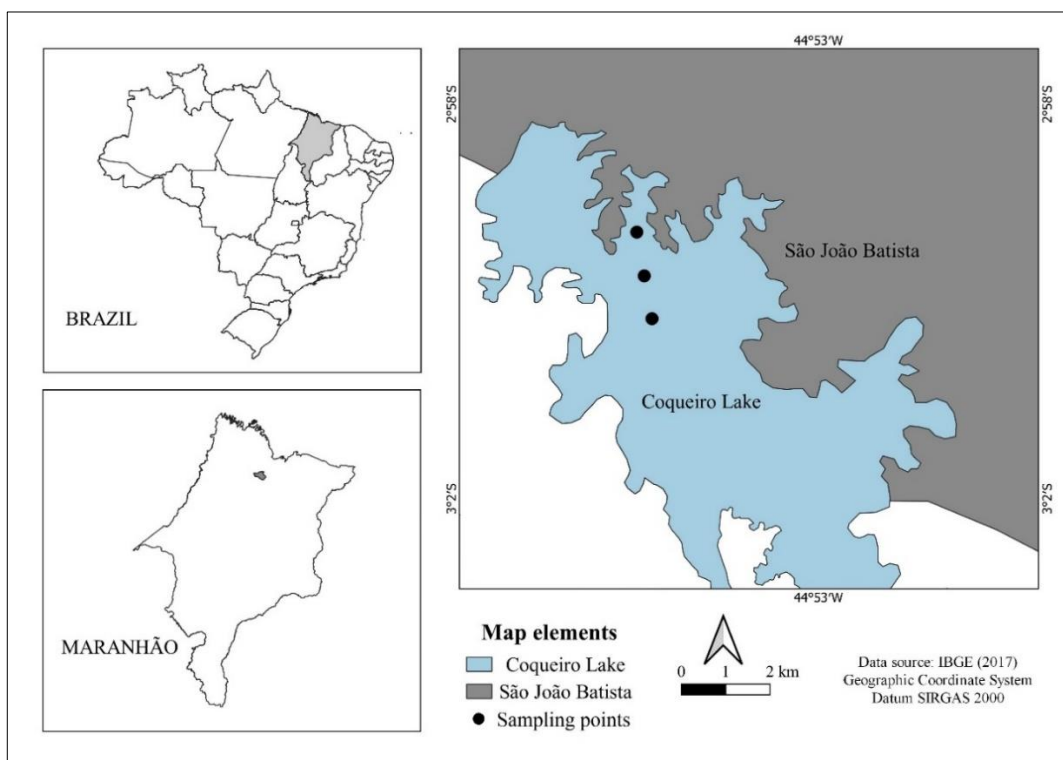
O conhecimento sobre os parasitos de peixes é essencial para a aquisição de produtos (pescado) de boa qualidade, pois podem infectar todos os órgãos dos peixes. As lesões causadas por parasitos podem ocasionar desorganização estrutural do órgão parasitado, hiperplasia do epitélio, hipertrofia celular, necrose e inflamação. Estas anormalidades são resultado de inúmeros fatores como, por exemplo, duração da exposição, intensidade da infecção, grau de regeneração, sendo que tais complicações podem levar ao comprometimento da integridade do animal (CAMPOS et al., 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de amostragem

O Lago do Coqueiro está localizado no município de São João Batista, Maranhão (Figura 1). Abrange uma área de aproximadamente 52,49 km², tendo uma grande importância para a comunidade que está ao entorno que tira sua renda por meio da pesca extrativista. Nesse ambiente lacustre foi estabelecido 3 pontos de amostragem (Figura 2).

Figura 2. Lago do Coqueiro, município de São João Batista, Baixada Maranhense, Maranhão, Brasil.



4.2 Licença Ambiental e Autorizações

A pesquisa foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/SISBIO) (Número 69518-1), e da Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Naturais (SEMA) (Número 46/2019) em que foram aprovadas coletas de água e peixes.

4.3 Avaliação dos parâmetros abióticos da água

Os parâmetros físico-químicos como temperatura (°C), potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD) em mg/L, condutividade em $\mu\text{S}/\text{cm}$ foram aferidos *in situ* utilizando o aparelho multiparâmetro AK88.

4.4 Avaliação microbiológica da água

As amostras de água para análises microbiológicas foram coletadas em frascos de vidro esterilizados (500mL) na coluna superficial da água, acondicionadas em caixa de material isotérmico contendo cubos de gelo e transportadas antes do prazo de 24 horas para o

Laboratório de Alimentos e Água do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão.

As avaliações microbiológicas consistiram em contagens de coliformes totais (número mais provável – NMP /100 ml) e *Escherichia coli* (NMP / 100 ml), utilizando kit Colilert® IDEXX (técnica de substrato cromogênio) segundo Apha (2005) e Silva et al. (2000). No laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da UEMA, as amostras de água foram colocadas em frascos de vidro onde foi adicionado o reagente Colilert, a solução diluída foi distribuída uniformemente em cúpulas sendo incubadas a 35°C na estufa durante 24 horas. A leitura foi feita com auxílio de uma lâmpada ultravioleta (115 volts, 6hz, 20 AMPS). O teste era positivo para coliformes totais se a cúpula mantivesse a coloração amarela e para *E. coli* se apresentasse coloração azul e os testes eram negativos com ausência de coloração.

4.5 Amostragem do material biológico

As duas coletas foram realizadas em períodos sazonais diferentes, a primeira coleta foi no mês de maio de 2019, correspondendo ao período chuvoso e a segunda coleta no mês de outubro de 2019, correspondendo ao período de estiagem.

Foram coletados o total de trinta (30) indivíduos de *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae) (Figura 3) popularmente conhecida no Brasil como traíra, sendo 15 exemplares por coleta.

Figura 3. Exemplar de *Hoplias malabaricus* coletado no Lago do Coqueiro, São João Batista, Maranhão.



Fonte: Próprio autor, 2019.

4.6 Normas de conduta para uso de animais na pesquisa e coleta dos peixes

Todos os espécimes coletados de *Hoplias malabaricus* foram acondicionados em uma caixa isotérmica imersos em gelo e água gelada para serem eutanasiados.

O choque térmico por congelamento é um dos métodos de abate de peixe mais habitual (ASHLEY, 2007), que consiste em submergir os peixes em água gelada, a uma temperatura em torno de 5° a 1°C, até a morte. A hipotermia causa insensibilização nos animais, sendo aplicado em estudos que avaliam tanto questões de bem-estar dos peixes, como sua relação com a qualidade do produto final não interferindo na condição natural de seus sistemas e tecidos, até facilitando e contribuindo para a conservação dos órgãos dos peixes (LAMBOOIJ et al., 2002). Além disso, o poder anestésico com o choque térmico em baixa temperatura faz os peixes sofrerem menos estresse e tornarem-se menos sensíveis à dor (ASHLEY, 2007).

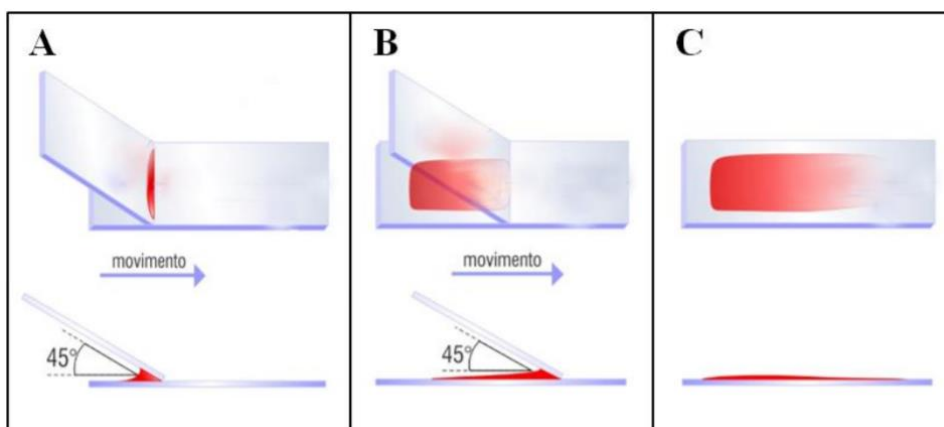
Todos os procedimentos foram realizados procurando seguir os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, <http://www.cobea.org.br>) e do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Estadual do Maranhão (Protocolo n° 022/2019).

4.7 Teste do Micronúcleo e Lesões nucleares

A confecção das lâminas sanguíneas foi realizada em campo baseada na técnica descrita por Ranzani- Paiva et al. (2013). O sangue foi coletado dos espécimes de *Hoplias malabaricus*, aproximadamente 1mL, coletados por punção branquial com auxílio de seringas de calibre 6 mm x 0,25 mm, sem anticoagulante, e as lâminas confeccionadas por meio da técnica do esfregaço sanguíneo.

Uma gota de sangue foi colocada na extremidade de uma lâmina de vidro e outra lâmina foi colocada com os cantos recortados em frente à gotícula de sangue, formando um ângulo de 45°, deixando que a gota se difundisse uniformemente na superfície de contato das duas lâminas por capilaridade (Figura 4A). Com a lâmina que estava apoiada a outra, fez-se um movimento rápido, carregando a gota de sangue, que se estendia em uma camada delgada e uniforme sobre a lâmina inferior (Figura 4B), sendo assim, preparado o esfregaço sanguíneo (Figura 4C). Para cada peixe foram preparados dois esfregaços, sendo considerados 3.000 eritrócitos por lâmina, em um total de 6.000 eritrócitos por peixe.

Figura 4. Preparação de esfregaço sanguíneo logo após a coleta de sangue.



Fonte: Adaptado de VLab, 2014.

Os esfregaços sanguíneos secaram em temperatura ambiente por 24 horas e foram submetidos à coloração com o corante Rosenfeld modificado, que é uma combinação de corantes eosina azul de metileno May-Grünwald, Giemsa e Wright e metanol absoluto. (RANZANI- PAIVA et al., 2013). Os esfregaços foram submersos no Corante Rosenfeld modificado por 6 minutos, posteriormente colocados em água destilada por 4 minutos, secas em temperatura ambiente e prontas para as análises sob microscopia de luz. Nas análises em microscópio de luz utilizou-se a objetiva de aumento de 1.000 x, com a utilização de óleo de imersão para a identificação de micronúcleos e lesões nucleares por um único observador. Os esfregaços também foram utilizados para identificação e contagem de parasitos. Os critérios para a identificação de micronúcleos seguiram os padrões de Fenech et al. (2003) e Cavas et al. (2005): (a) o micronúcleo precisa ser menor que um terço dos núcleos principais, (b) micronúcleos são claramente separados dos núcleos principais e (c) micronúcleos precisam estar no mesmo plano de foco e ter a mesma cor. A identificação das lesões nucleares seguiu os padrões de Carrasco et al. (1990).

4.8 Biometria de *Hoplias malabaricus*

De todos os exemplares coletados de *H. malabaricus* foram obtidas as medidas do comprimento total (Lt) e padrão (Lp), e peso do animal, com balança digital de sensibilidade mínima de 10 g e máxima de 10000 g.

4.9 Processamento histológico

Amostras de brânquias (segundo arco branquial direito) e fígado foram retiradas com o auxílio de pinça e tesoura de cada espécime para fixação em formalina a 10% por 24 horas, de forma a impedir o processo de autólise das células e tecidos. A clivagem das amostras biológicas dos órgãos foi realizada posteriormente, em que se reduziram as dimensões, em 3 a 5 mm de espessura, para facilitar a penetração do fixador formalina e a difusão dos reagentes que foram usados nas demais etapas do processamento histológico (CAPUTO et al., 2010). Posteriormente a clivagem, as amostras permaneceram em formalina a 10% por mais 24 horas.

Em Laboratório procederam as etapas de descalcificação, desidratação, diafanização, inclusão em parafina e microtomia. Somente as amostras de brânquias foram descalcificadas em ácido nítrico a 10%, após a fixação, por aproximadamente seis horas, para remover os sais minerais presentes nos arcos branquiais. Posteriormente, as amostras de brânquia, fígado e rim foram desidratadas em banhos de alcoóis (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), por aproximadamente 7 horas, para remoção da água dos tecidos, pois as substâncias previamente utilizadas para inclusão em parafina não se combinam homoganeamente com água. Depois de desidratadas, as amostras seguiram para a etapa de diafanização ou clarificação em xilol, por cerca de 2 horas, para remover completamente o álcool, de modo que a parafina possa penetrar completamente no interior dos tecidos (CAPUTO et al., 2010).

Após a diafanização, as amostras biológicas foram submersas em parafina líquida, mantida em temperatura entre 55°C a 60°C, por aproximadamente 3 horas, para infiltração da parafina nos tecidos. Em seguida, construíram-se blocos de parafina com o material biológico de brânquia e fígado incluídos. Os blocos resfriaram em temperatura ambiente e foram levados a microtomia em micrótomo, na espessura de 5 µm, em que se realizaram cortes histológicos.

Os cortes foram corados por Hematoxilina e Eosina (HE) no Laboratório de Organismos Aquáticos da UEMA, com etapas que envolveram banhos de xilol, álcool, água corrente, Hematoxilina e Eosina, segundo Lopes (2016).

4.9.1 Avaliações histopatológicas

As alterações branquiais (Quadro 1) e hepáticas (Quadro 2) foram identificadas segundo adaptado de Poleksic e Mitrovic – Tutundzic (1994), que classifica as alterações em três estágios progressivos de severidade:

Quadro 1. Classificação das alterações histológicas branquiais quanto ao tipo e os estágios em que se inserem por Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994).

Alterações histológicas branquiais	Estágio
Congestão dos vasos sanguíneos Levantamento do epitélio respiratório Desorganização das lamelas Hiperplasia do epitélio lamelar Fusão incompleta de várias lamelas Fusão completa de várias lamelas Dilatação do seio sanguíneo Hipertrofia do epitélio respiratório	I
Hemorragia e ruptura do epitélio lamelar Hiperplasia e hipertrofia das células de muco Hiperplasia e hipertrofia das células de cloro Fusão completa de todas as lamelas Espessamento descontrolado do tecido proliferativo Rompimento de células pilares	II
Aneurisma lamelar Telangiectasia lamelar Necrose e degeneração celular	III

Quadro 2. Classificação das alterações histológicas hepáticas quanto ao tipo e os estágios em que se inserem por Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994).

Alterações histológicas hepáticas	Estágio
Núcleo na periferia da célula Deformação do contorno celular Hipertrofia celular Hipertrofia nuclear Atrofia celular Atrofia nuclear Centro de melanomacrófagos Vacuolização	I
Vacuolização nuclear Degeneração citoplasmática Hiperemia	II
Rompimento celular Estagnação biliar Degeneração nuclear	

Necrose	III
---------	-----

4.9.2 Índice de Alteração Histológica (IAH)

As alterações histológicas branquiais e hepáticas foram avaliadas semiquantitativamente pelo cálculo do Índice de Alteração Histológica (IAH), adaptado de Poleksic e Mitrovic – Tutundzic (1994), baseado na severidade de cada lesão. As alterações foram classificadas em fases progressivas de danos nos tecidos: alterações de estágio I, que não comprometem o funcionamento do órgão; de estágio II, mais severas e que prejudicam o funcionamento normal do órgão; e de estágio III, muito severas e irreversíveis.

Para cada peixe foi calculado o valor do IAH através da fórmula: $IAH = 1 \times \sum I + 10 \times \sum II + 100 \times \sum III$, sendo que *I*, *II* e *III* correspondem respectivamente ao número de alterações de estágio I, II e III. O valor do IAH teve como referência o quadro de classificação da severidade das lesões por categoria de IAH (Quadro 3), segundo Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994).

Quadro 3. Classificação da severidade das lesões por categoria de IAH, segundo Poleksic e Mitrovic - Tuntundzic (1994).

Valores	Categoria (Efeitos)
0 – 10	Funcionamento normal do tecido
11- 20	Alteração leve a moderada do tecido
21 – 50	Alteração moderada a severa do tecido
51 – 100	Alteração severa do tecido
> 100	Alteração irreversível do tecido

4.10 Exame parasitológico

O exame parasitológico seguiu a localização dos parasitos nos peixes, aplicando a metodologia de acordo com o tipo de parasito. Dessa forma, foram coletados os ectoparasitos (presentes no muco, superfície do corpo e nas brânquias dos peixes), endoparasitos (presentes dentro da cavidade gastrointestinal) e os hemoparasitos (parasitos no sangue periférico).

4.10.1 *Ectoparasitos: muco, superfície do corpo e brânquias*

Após observação macroscópica da superfície do corpo dos espécimes os ectoparasitos foram retirados e fixados em álcool a 70%. Identificaram-se de acordo com Mousavi et al. (2011), Rushton-Mellor (1994) e Soes et al. (2010).

Para a coleta dos ectoparasitos nas brânquias, os arcos branquiais inteiros foram armazenados em frascos e banhados com água quente a 55°C, depois os frascos foram completados com formol a 10% por 24 horas. Em seguida, o conteúdo de cada frasco foi colocado em uma placa de petri, para que as monogeneas fossem coletadas com auxílio da lupa. Após a coleta, os monogenéticos presentes foram quantificados e conservados em álcool 70% (JERÔNIMO et al. 2016). Os parasitos foram montados em lâminas com Hoyer (PUTZ; HOFFMAN, 1963; KRITSKY et al., 1995; EIRAS et al., 2000) corados para o estudo de suas estruturas e assim identificados segundo Dzika et al. (2009) e Sujan e Shameem (2015).

Para identificação dos parasitos monogenéticos foi utilizado microscópio de contraste de interferência de fase (DIC) (Zeiss Axio Imager.A2), acoplado a um sistema computadorizado de análise de imagem.

4.10.2 *Endoparasitos*

Os endoparasitos foram coletados das cavidades gastrointestinais dos peixes, onde dissecaram-se os músculos, fígado, superfície das vísceras, intestino e gordura. Foram colocados em solução salina a 0,65% e agitados para remoção de impurezas e restos de musculatura do peixe. Posteriormente fixaram-se em AFA (álcool - formalina - ácido acético) a 65°C e após 48 horas seguiram para conservação em álcool 70% (JERÔNIMO et al., 2012). Para identificação, endoparasitos nematódeos foram submetidos ao processo de desidratação em séries de álcool (70%, 80%, 90%) por aproximadamente 3 horas e *over night* em álcool absoluto, clarificação em creosoto por no mínimo 3 horas e montados entre lâminas e lamínulas, em preparação histológica semipermanente, para observação das estruturas internas e identificação. Os nematódeos foram identificados de acordo com Moravec (2001), Pardo et al. (2008), Colorado et al. (2015).

4.10.3 *Hemoparasitos*

Os hemoparasitos foram observados em programa Leica Application Suite (LAS EZ) versão 3.3.0 (Copyright© 2016) a partir dos esfregaços sanguíneos em lâminas. Sua

identificação foi baseada em características morfológicas dos parasitos segundo Svobodova; Vykusova (1991) e Molina et al. (2016), como presença de ondulações na membrana ondulante, de estrias na superfície do corpo, de vacúolos citoplasmáticos, de cinetoplasto e de flagelo.

4.10.4 Índices parasitológicos

Para determinar a ocorrência de ectoparasitos, endoparasitos e hemoparasitos nos peixes, os parasitos foram contados de acordo com Jerônimo et al. (2016) e calculados os índices parasitológicos de prevalência e intensidade média conforme recomendado por Bush et al. (1997):

$$\text{Taxa de prevalência} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de peixes infectados}}{\text{N}^\circ \text{ de peixes analisados}} \times 100$$

$$\text{Intensidade média} = \frac{\text{Quantidade de um parasito}}{\text{N}^\circ \text{ de peixes infectados por aquele parasito}}$$

4.11 Análises estatística

Os parâmetros abióticos e microbiológicos da água e as variáveis biométricas dos peixes foram submetidos aos Testes de Normalidade Shapiro-Wilk e Homogeneidade Levene ($p \geq 0,05$). Os dados não apresentaram distribuição normal e por isso foi aplicado Kruskal-Wallis, considerando $p \leq 0,05$ para a comparação dos dados entre os períodos sazonais. Para verificar a ocorrência de relações das variáveis biométricas e os parasitismos foi realizado o teste de Correlação Linear de Pearson, considerado como significativo com $p \leq 0,05$, correlação de fraca $< 0,40$, moderada $> 0,40$ a $< 0,69$ e forte $> 0,70$. Todas as análises estatísticas mencionadas foram realizadas no Statistica 7.1.30.0 (StatSoft, Inc. 2005).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta dissertação são apresentados em dois capítulos. Cada capítulo corresponde a um artigo que foi ou será submetido a um periódico da área.

O primeiro artigo trata sobre a fauna parasitária de *Hoplias malabaricus*, variáveis biométricas dos peixes e variáveis abióticas e microbiológicas da água do Lago do Coqueiro da Baixada Maranhense. Este artigo foi submetido ao periódico “Diversity” na área de Biodiversidade (2013-2016), avaliado como B1. Normas para submissão: <https://www.mdpi.com/journal/diversity/instructions>

O segundo artigo aborda sobre o uso de biomarcadores histológicos e genotóxicos na espécie de peixe *Hoplias malabaricus* assim como análises de parâmetros abióticos e microbiológicos para o diagnóstico da qualidade ambiental do Lago do Coqueiro da área de proteção ambiental da Baixada Maranhense. Este artigo será submetido ao periódico “Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology” na área de Biodiversidade (2013-2016), avaliado como B2. Normas para submissão: https://www.springer.com/journal/128/submissionguidelines#Instructions%20for%20Authors_Text

5.1 CAPÍTULO I: Parasitic fauna and zoonotic risk in *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from environmental protection area of international importance in the Brazilian Northeast¹

Janderson B. Gomes ^{1*}, Natália J. Pereira ¹, Manoel C. S. Silva ¹, Elenice M. Brasil², Elisabeth A. Bertaglia², Lucas Cardoso², Maurício L. Martins ², Débora M. S. Santos ³

¹Postgraduate Program in Aquatic Resources and Fisheries, State University of Maranhão (UEMA), Av. Lourenço Vieira da Silva, nº 1000, Jardim São Cristóvão, 65055-310, São Luís, Maranhão, Brazil; jandersonbruzaca@hotmail.com

²AQUOS- Aquatic Organisms Health Laboratory, Department of Aquaculture, Federal University of Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina, Brazil; mauricio.martins@ufsc.br

³Department of Biology, Postgraduate Program in Aquatic Resources and Fisheries, State University of Maranhão (UEMA), São Luís, Maranhão, Brazil; debsan70@gmail.com

*Correspondence: jandersonbruzaca@hotmail.com

Abstract: Fish can be affected by a variety of disease-causing parasites, posing fish and consumer health at risk. The aim of this study was to investigate the parasitic fauna and the zoonotic risks associated with the species *Hoplias malabaricus* from an Environmental Protection Area of international importance in Northeast Brazil. Two samplings were carried out in 2019 in different seasonal periods. A total of 30 specimens of *H. malabaricus* were collected, measured, weighed, analyzed macroscopically and eviscerated for examination of the external, internal and cavities, with separation of the organs and verification with a microscope and magnifying glass. Correlations were made with the biometric data and the quantity of each parasite, as well as the parasitological descriptors prevalence and average parasitic intensity. All 30 fish were parasitized. 596 parasites were collected in the rainy season and 1732 in the dry season, distributed in 5 genera. Zoonotic Nematoda specimens were found associated with internal organs, with 100% prevalence, as they are parasites of interest to public health, potentially zoonotic. Little is known about the occurrence of these parasites at the study site, being an important contribution to public health.

Keywords: Ectoparasites; Freshwater fish; Nematodes; Parasitism; Public health; Zoonosis

1. Introduction

Hoplias malabaricus BLOCH, 1794, popularly known as traíra, is a carnivorous species found in most of the river basins in Central and South America, from Costa Rica to Argentina,

¹ Este capítulo foi submetido ao periódico Diversity. Qualis B1 em Biodiversidade.

being well adapted to lentic environments [1,2]. It has diurnal and twilight habits, lives in standing water and supports low levels of dissolved oxygen [3].

The ecology of this species is described as a planktophagous organism in the larval period, insectivore in the juvenile phase and piscivore as an adult, indicating a predatory fish at the top of the chain, which may present parasite accumulation through the trophic chain [4,5,6]. Studies made by [7] showed that the species *H. malabaricus* is susceptible to infection by parasites due to its feeding habit.

Parasite biodiversity can be important, since parasitism also plays a key role in ecosystems, regulating the abundance or density of host populations, stabilizing food webs and structuring animal communities [8]. Thus, knowledge of parasitic diversity, and whether or not it is in decline, becomes crucial for environmental management and conservation [9].

The use of fish parasites as bioindicators of environmental impacts in aquatic ecosystems has received considerable attention [10,11,12,13,14,15]. Many of these studies have demonstrated a close relationship between parasitism and the ecological conditions in which hosts are exposed, demonstrating how parasites can respond to environmental changes, thereby expanding knowledge about the function and integrity of ecosystems [16,17]. The quality of the fish is linked to several factors, such as contamination by heavy metals, deterioration by microorganisms, sensory changes and the presence of parasites [18].

Fish can be affected by several disease-causing agents, both bacterial, viral, fungal and parasitic origin, which can endanger the human as zoonotic agent [19]. Although the majority of fish parasites are not pathogenic to humans, some species can cause serious illnesses due to the ingestion of parasitic fish, the best known being that originated by nematode larvae [20,21,22].

Knowledge about fish parasites is of importance, both from a productive and health point of view, as they can cause various pathologies to hosts in severe cases leading to death. As a result, they can reduce the fish metabolism making it a poor source of nutrients [23].

Studies on parasites with zoonotic potential in native fish populations are of great importance for understanding the parasites transmission since they can serve as a basis for monitoring human food security [24]. To date, the Baixada Maranhense region has a significant diversity of fish species that are part of man's daily diet.

In view of the lack of studies and information about the parasitic fauna in fish of the Baixada Maranhense, especially in the municipality of São João Batista, it is essential to develop research to determine the sanitary and public health importance of fish traded and

consumed in that region. In addition, the region has international importance, as it is included in the list of global wetlands and of international relevance for environmental and social sustainability, this list was made by the Ramsar Convention, in 1971. On this view, the present study aimed to investigate the parasitic fauna and zoonotic risk associated with the *H. malabaricus* from an Environmental Protection Area of international importance in Northeast Brazil, being the first study with this species carried out in the region, once they constitute the main source of income and consumption is artisanal fishing.

2. Material and Methods

2.1 Study area and collection

The lake environment (Coqueiro Lake) (Figure 1) is located in the Northeast of Brazil in the western region of the State of Maranhão, being one of the eleven Ramsar sites of international importance. It covers an area of approximately 52.49 km², having great importance for the surrounding community that earns its income from extractivist fishing.

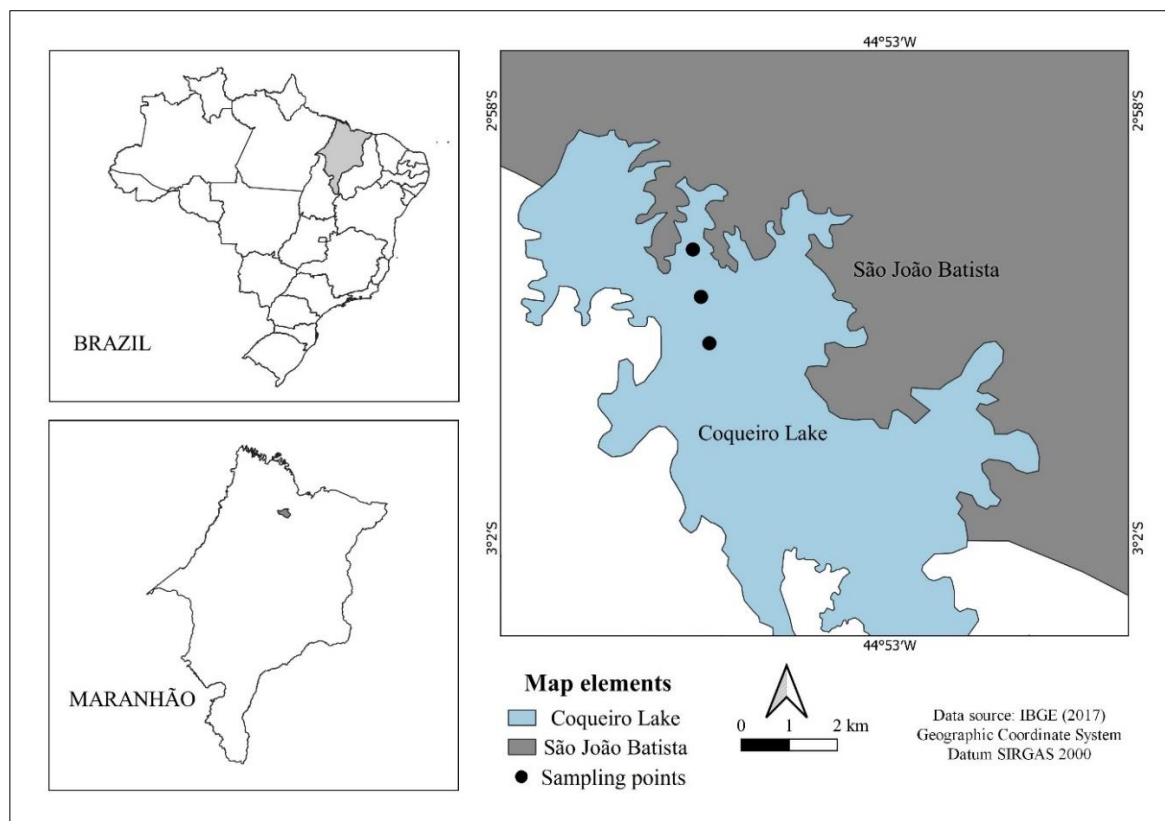


Figure 1. Coqueiro Lake of Baixada Maranhense of the Brazilian Northeast.

The two collections of biological material and water were carried out in different seasonal periods, the first collection was in the month of May 2019, corresponding to the rainy

period and the second collection in the month of October 2019, corresponding to the drought period. A total of thirty (30) individuals of *H. malabaricus* (Pisces, Erythrinidae) were collected, 15 specimens per collection.

From all specimens collected of *H. malabaricus*, measurements of total length and standard were obtained, and animal weight, with a digital scale with a minimum sensitivity of 10 g and a maximum of 10,000 g.

The research was authorized by the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio / SISBIO) (Number 69518-1), and by the State Secretariat for the Environment and Natural Resources (SEMA) (Number 46/2019) in which collections of water and fish were approved. All procedures were carried out seeking to follow the ethical principles established by the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA, <http://www.cobea.org.br>) and the Animal Experimentation Ethics Committee (CEEAA) of the State University of Maranhão (Protocol nº 022/2019).

2.2 Abiotic parameters and microbiological analysis of water

The abiotic parameters of water such as temperature (°C), hydrogen potential (pH), dissolved oxygen (mg L^{-1}), conductivity ($\mu\text{S/cm}$) were measured *in situ* using the AK88 multiparameter apparatus. The water samples for microbiological analysis were collected in sterilized glass bottles (500 mL) in the surface column of the water, packed in an isothermal material box containing ice cubes and transported before the deadline of 24 hours to the Food and Water Laboratory of the Course Veterinary Medicine at the State University of Maranhão.

The microbiological evaluations consisted of counts of total coliforms (most likely number - NMP 100 mL^{-1}) and *Escherichia coli* (NMP 100 mL^{-1}), using the Colilert® IDEXX kit (chromogen substrate technique) according to [25] and [26]. In the Food and Water Microbiology laboratory at State University of Maranhão, the water samples were placed in glass flasks where Colilert reagent was added, the diluted solution was evenly distributed in domes and incubated at 35°C in the oven for 24 hours. The reading was done with the aid of an ultraviolet lamp (115 volts, 6 Hz, 20 AMPS). The test was positive for total coliforms if the dome remained yellow and for *E. coli* if it was blue. The tests were negative with no staining.

2.3 Parasitological analysis

The parasitological examination followed the location of the parasites in the fish, applying the methodology according to the type of parasite. Thus, ectoparasites (present in the

mucus, body surface and in the gills of fish), endoparasites (present within the gastrointestinal cavity) and hemoparasites (parasites in peripheral blood) were collected.

After macroscopic observation of the specimens' body surface, the ectoparasites were removed and fixed in 70% alcohol. Identified themselves according to [27,28,29].

For the collection of ectoparasites in the gills, the complete branchial arches were stored in flasks and bathed in hot water at 55°C, then the flasks were filled with 5% formaldehyde for 24 hours and stored in 70% alcohol for later counting and identification according to [30]. The parasites were mounted between blade and coverslip with Hoyer [31,32,33] stained for the study of their structures, identified according to [34] and [35] and analyzed using a phase interference contrast microscope (DIC) (Zeiss Axio Imager A2), coupled to a computerized image analysis system.

Endoparasites were collected from the gastrointestinal cavity of the fish, where the muscles, liver, viscera surface, intestine and fat were dissected. They were placed in 0.65% saline and agitated to remove impurities and remains of the fish's musculature. Subsequently, they were fixed in AFA (alcohol - formalin - acetic acid) at 65°C and after 48 hours they went for conservation in 70% alcohol [36]. For identification, nematode endoparasites were submitted to the dehydration process in series of alcohol (70%, 80%, 90%) for approximately 3 hours over night in absolute alcohol, clarification in beech creosote for at least 3 hours and mounted between blade and coverslip for observation of internal structures and identification according to [37,38,39].

Hemoparasites were observed in Leica Application Suite program (LAS EZ) version 3.3.0 (Copyright © 2016) from blood extensions on blades. Its identification was based on the morphological characteristics of the parasites according to [40,41], such as the presence of undulations in the undulating membrane, streaks on the body surface, cytoplasmic vacuoles, kinetoplast and flagellum.

To determine the occurrence of ectoparasites, endoparasites and hemoparasites in fish, the parasites were counted according to [30] and calculated the parasitological indices of prevalence and average intensity as recommended by [42].

2.4 Data analysis

The abiotic and microbiological parameters of the water and the biometric variables of the fish were submitted to the Shapiro-Wilk Normality and Levene Homogeneity Tests ($p \geq 0.05$). The data did not present a normal distribution and therefore Kruskal-Wallis was

applied, considering $p \leq 0.05$ for the comparison of data between seasonal periods. To verify the occurrence of relations between biometric variables and parasitism, Pearson's Linear Correlation test was performed, considered as significant with $p \leq 0.05$, correlation of weak ≤ 0.40 , moderate > 0.40 to < 0.69 and strong > 0.70 . All statistical analyzes mentioned were performed in Statistica 7.1.30.0 (StatSoft, Inc. 2005).

3. Results

3.1 Abiotic parameters and microbiological analysis of water

The values of the abiotic and microbiological variables recorded in Coqueiro Lake are shown in Table 1. Data were obtained from two collections carried out in the rainy and dry periods. The data were compared with values recommended by current legislation, the National Environment Council [43,44].

Table 1. Abiotic parameters and microbiological data of water from the Coqueiro Lake and recommended values of [43,44].

Parameters	Rainy period	Dry period	Recommended values
Dissolved oxygen (mg L^{-1})	4.6 ^{b*}	5.66 ^a	≥ 5
Ph	6.17 ^{a*}	4.7 ^{b*}	6.5 a 8.5
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	29.5 ^a	27.7 ^b	≤ 40
Conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	44.8 ^b	200 ^a	-
MPN of total coliforms 100 mL^{-1} water	14136 ^a	1354 ^b	-
MPN of <i>Escherichia coli</i> 100 mL^{-1} water	5475 ^{a*}	10 ^b	≤ 200 100 mL^{-1}

^{a b} Different letters indicate significant difference between seasonal periods of sampling by Kruskal-Wallis test ($p \leq 0.05$); MPN: most probable number; * values differ from Conama resolution [43,44].

The parameters presented values that are in disagreement with the current legislation with statistical difference between the seasonal periods: pH, dissolved oxygen, conductivity, total coliforms and *Escherichia coli*. In all surface water samples collected, bacteria from the group of total and thermotolerant coliforms were present. The amount of total coliforms varied from 1,354 to 14,136 in the rainy season. The amount of *E. coli* in the rainy season was 5,475, this concentration was higher than in the dry season. This result is in disagreement with CONAMA resolutions No. 357 of 2005 and 430 of 2011, which establishes that in aquatic freshwater bodies, a limit of 200 thermotolerant coliforms per 100mL of samples should not be

exceeded. All abiotic and microbiological parameters of water showed significant difference between seasonal periods (Table 1).

3.2 Biometry

All biometric variables, total length ($p = 0.001739$), standard length ($p = 0.000576$) and weight ($p = 0.003691$) showed significant difference between seasonal periods. In the dry season the specimens of *H. malabaricus* had larger sizes and body weight (Table 2).

Table 2. Biometric variables of *Hoplias malabaricus* collected in the Coqueiro Lake, Baixada Maranhense, Brazilian Northeast.

Variables	Rainy period (n = 15)	Dry period (n = 15)
Total length (cm)	26.69 ± 1.28 ^b	30.6 ± 3.77 ^a
Standard length (cm)	21.92 ± 1.73 ^b	25.8 ± 3.23 ^a
Weight (g)	197.06 ± 32.25 ^b	290.93 ± 102.38 ^a

^{a b} Different letters indicate significant difference between seasonal periods of sampling by Kruskal-Wallis test ($p \leq 0.05$); n: number of examined fish.

3.3 Parasitological analysis

All parasites had higher prevalence in the dry season, ranging from 93.33% to 100%. The mean intensity showed higher numbers of parasites per specimen analyzed during the dry season. The prevalence and mean intensity of the parasites in the rainy season, although lower than the drought period, proved to be significant (Table 3).

Table 3. Parasitological indices in *Hoplias malabaricus* from the Coqueiro Lake, Baixada Maranhense, Brazilian Northeast.

Parasites	Rainy period				Drying period			
	IF	P%	MI	TNP	IF	P%	MI	TNP
Crustacea			2,30				4,33	
<i>Argulus carteri</i>	13	86.66	1.93±1.27 ^b	30	15	100	4.33±1.04 ^a	65
Crustacea			1,91				2,64	
<i>Dolops discoidalis</i>	12	80	1.53±1.06 ^b	23	13	93.33	2.46±1.12 ^a	37
Monogenea			15,33				22,46	
<i>Urocleidoides</i> spp.	15	100	13.06±4.38 ^b	196	15	100	22.46±21.18 ^a	337

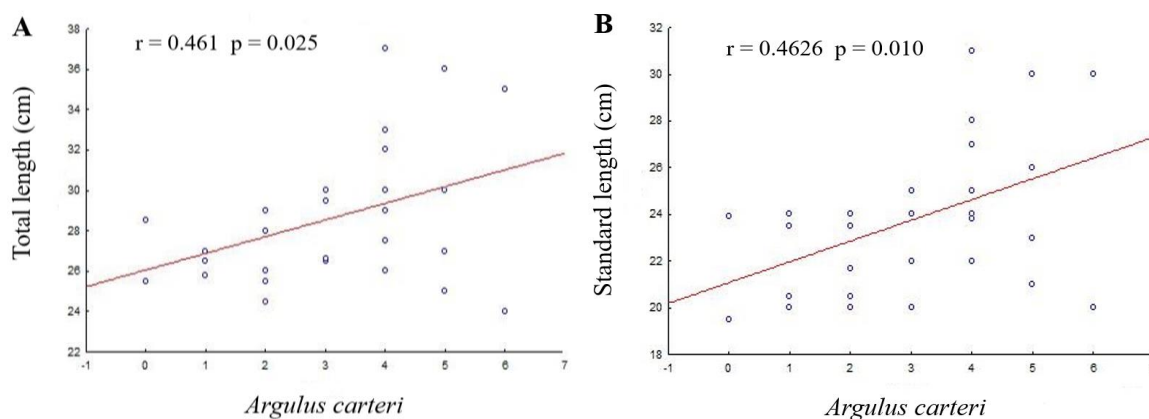
Nematoda				20,73				71,13
<i>Contracaecum</i> sp.	15	100	20.73±22.66 ^b	311	15	100	71.13±45.66 ^a	1067
Hemoparasite				5,14				15,06
<i>Trypanosoma</i> sp.	06	46.66	2.4±2.74 ^b	36	15	100	15.06±5.25 ^a	226

P: Prevalence; MI: mean intensity; IF: infected fish; TNP: total number of parasites;^{a, b} Different letters indicate significant difference between seasonal periods of sampling by Kruskal-Wallis test ($p \leq 0.05$).

3.4 Pearson correlation

Pearson's linear correlation analyzes between biometric variables and the number of parasites showed negative correlation for *Dolops discoidalis*: total length ($r = 0.0749$; $p = 0.694$), standard length ($r = 0.0583$; $p = 0.759$), weight ($r = 0.0491$; $p = 0.796$); *Urocleidoides* spp.: total length ($r = 0.1368$; $p = 0.471$), standard length ($r = 0.1371$; $p = 0.470$), weight ($r = 0.1150$; $p = 0.545$); *Trypanosoma* sp.: total length ($r = 0.2669$; $p = 0.155$), standard length ($r = 0.3111$; $p = 0.094$), weight ($r = 0.2465$; $p = 0.189$). All of these correlations were considered weak ($r \leq 0.40$) and without significant differences ($p > 0.05$).

The correlations were positive for *Argulus carteri*: total length ($r = 0.461$; $p = 0.025$), standard length ($r = 0.4626$; $p = 0.010$), weight ($r = 0.4206$; $p = 0.021$) (Figure 2) and for *Contracaecum* sp.: total length ($r = 0.6640$; $p = 0.000$), standard length ($r = 0.6479$; $p = 0.000$), weight ($r = 0.6476$; $p = 0.000$) (Figure 3), being considered moderate correlations ($r > 0.40$) and significantly differences ($p \leq 0.05$).



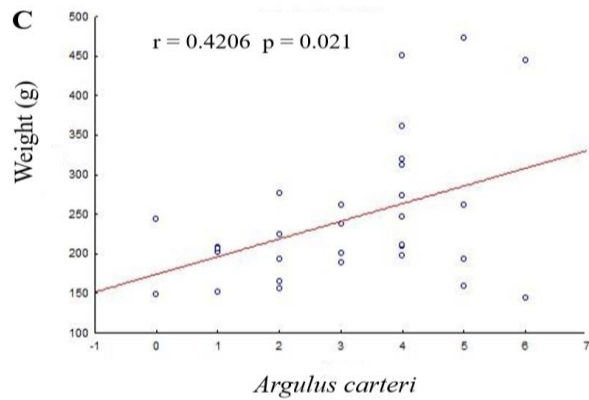


Figure 2. Positive linear correlation of Pearson between biometries and number of *Argulus carteri* in *Hoplias malabaricus*. A- *Argulus carteri* and total length (TL); B- *Argulus carteri* and standard length (SL); C- *Argulus carteri* and weight (W).

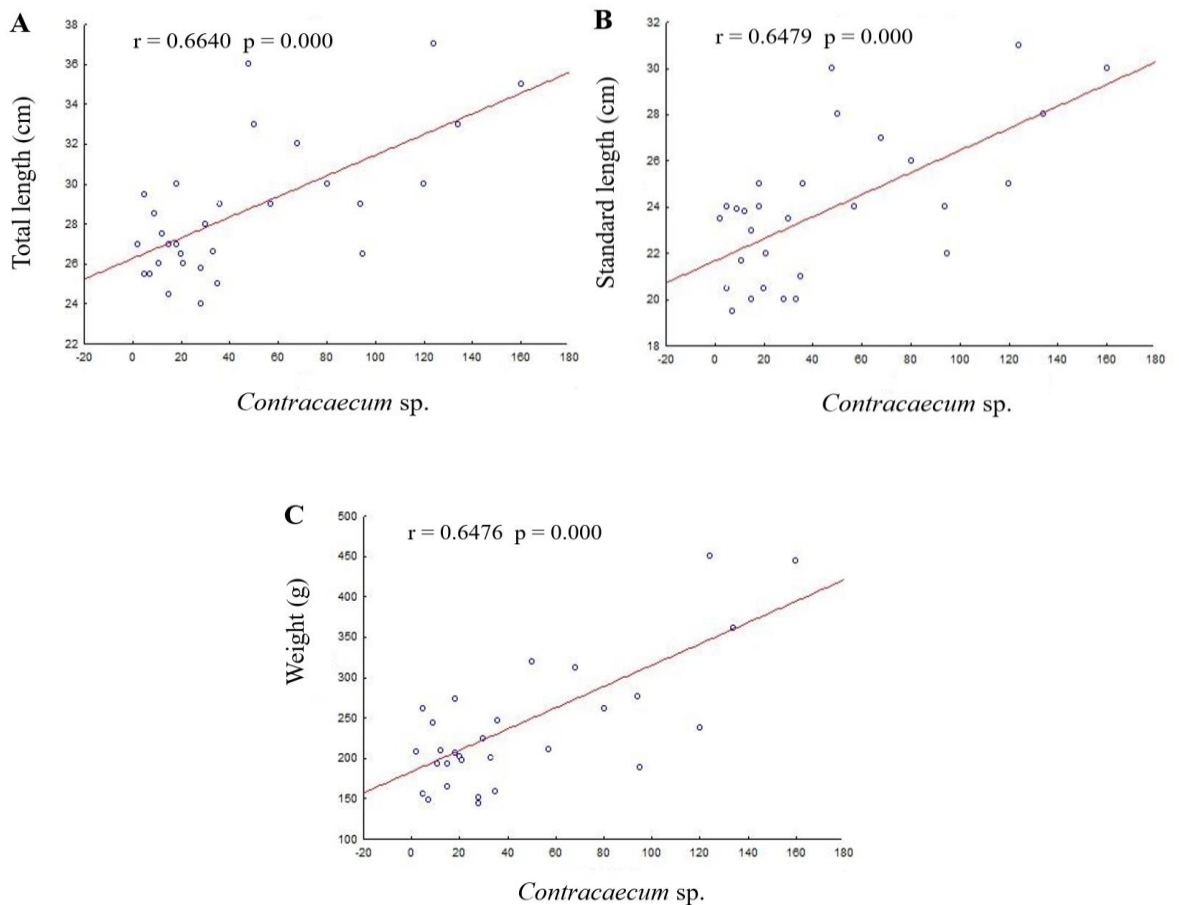


Figure 3. Positive linear correlation of Pearson between biometries and number of *Contracaecum* sp. em *Hoplias malabaricus*. A- *Contracaecum* sp. and total length (TL); B- *Contracaecum* sp. and standard length (SL); C- *Contracaecum* sp. and weight (W).

4. Discussion

The concentration of dissolved oxygen varied from 4.6 to 5.66, values that are in disagreement with those established by National Environment Council. These differences were found between rainy and dry periods, demonstrating that the concentration of dissolved oxygen may have decreased due to the introduction of organic matter from the sewers, mainly during the rainy season. The pH value of the water from the last collection was 4.7 during the drought period, which is at odds with resolutions [43,44]. Low water pH values tend to contribute to stress in fish, predisposing them to infectious and parasitic diseases.

According to [45], there is significant positive correlation between the indices of total and thermotolerant coliforms and rainfall. During the rainy season, microorganisms present in the surroundings of aquatic environments can be dragged from the soil to the water, triggering a more intense contamination of the place [46,47]. The total coliforms have been used for several years in the evaluation of the microbiological quality of environmental samples [48], and meet several of the requirements for a good fecal contamination indicator.

The concentrations of total coliforms and *E. coli* could be related to the parasitological indices found, since [39] pointed out that the discharge of domestic and industrial effluents, as well as eutrophication, human activities in livestock and agronomy and other environmental stressors increase the environmental imbalance causing disturbances that provide the diversity of parasites.

Parasitological indices showed a higher occurrence of parasites in the dry season. [49] pointed out that decreased water level, during the drought period, causes stress in the fish due to the migration of the fish to more crowded regions and the decrease in the availability of food, compromising the animals' immunity, leaving them more susceptible to parasitism.

The crustaceans recorded in this study, *A. carteri* and *D. discoidalis*, were collected from the gills and mucus of *H. malabaricus* specimens. Among some ectoparasite rates, crustaceans are only a few found in freshwater fish species in Brazil [50]. Studies indicate that these parasitic crustaceans can cause damage to fishery resources, which includes the reduction of growth, reproduction and activities of the host, such as swimming [51,50].

The prevalence of ectoparasitic crustaceans was higher than that found by [51], where they studied fauna parasitic crustaceans in six species of fish from Amapá and reported a prevalence of 30.4% and by [52] who recorded prevalence of 2.2%. [53] registered a prevalence of 63.8% in their study. Analyzing the parasitic fauna of *H. malabaricus*, [54] reported the prevalence of *Argulus* sp. (50%) and *Dolops* sp. (60%) on the body surface.

The Monogenea collected in this study parasitized the gills of *H. malabaricus* and belongs to the genus *Urocleidoides*. The parasitological index showed a prevalence of 100% in both seasonal periods, however, a higher average intensity in the dry season, totaling 337 monogenous collected in the gills, higher than the rainy season with 196 monogeneans collected.

Our results indicate that *H. malabaricus* was susceptible to monogenean infection, thus explaining the high prevalence found. Studies have already shown high parasitological indexes of the monogenean group of the genus *Urocleidoides* in *H. malabaricus* [55,56,57,7] with prevalence similar to our results. The occurrence of more than one monogeneans species in *H. malabaricus* has been recorded in parasitological studies by [58,59].

The nematodes found were identifies as Anisakidae Family, of the genus *Contracaecum*, collected from the gastrointestinal cavities of *H. malabaricus* associated with organs of the visceral cavity. *Contracaecum* sp. larvae were found adhered to the mesentery and to the serous lining of the stomach, liver, intestines, and presented varying sizes. The same infection sites were identified by [60] which still highlights the risk to human health from contaminated fish. The highest levels of infection were *Contracaecum* sp., found in all the specimens analyzed, with a prevalence of 100% in both seasonal periods and an average intensity of 20.73 and 71.13 in the rainy and dry periods, respectively. High prevalence of *Contracaecum* sp. in *H. malabaricus* it was also observed in several studies [61,62,63,64,65]. This finding could be related to the low parasitic specificity of this nematode [66,67].

Our results were superior to that found by [7], registering mean intensity of 7.3 for *Contracaecum* spp. in *H. malabaricus* of São Bento da Baixa Maranhense. [68] found three species of nematodes parasitizing *H. malabaricus*, among them *Contracaecum* sp. with a prevalence of 77.5% and an average intensity of 16.88, values close to that found herein. [24] reported a 100% prevalence of *Contracaecum* sp. in *H. malabaricus*, a value similar to this study.

The high prevalence of *Contracaecum* sp. in *H. malabaricus* of this study points to a public health risk, mainly for the riverside populations, who use this species of fish as a food source. Zoonotic potential of nematodes such as *Contracaecum* sp. has been reported for several species of freshwater piscivorous fish in Brazil [69,70,71,66,67].

The parasites found in the blood of *H. malabaricus* of the genus *Trypanossoma* showed a greater difference in prevalence and average intensity between seasonal periods, ranging from 46, 66% to 100% of prevalence and from 5.14 to 15.06 of average intensity.

The dry period showed the greatest parasitological prevalence of *Trypanosoma* sp. being explained because of in this season the floodplain lakes dry quickly favoring the escape of aquatic organisms to the rivers or lakes to survive. Many fail and die from lack of water or are easily preyed on in shallow pools of water. This environmental pressure generates great stress on the fish, compromising the immune response and causing the parasitic indices to be higher, [72,49].

[73] in a laboratory experiment with marine fish experimentally infected with *Trypanosoma murmanense*, observed pathophysiological changes in different organs and a higher mortality rate in young specimens. [74] reported several changes in vital organs, such as: marked hyperplasia of hematopoietic precursors and plasma cells in the kidneys; changes in the renal tubule epithelium; small foci of necrosis and infiltrates of trypanosomes and macrophages in the spleen; changes in hepatocytes; increased size of endothelial cells in the hepatic veins; excessive disintegration of erythrocytes in the kidneys and spleen. [75] verified the anorexia associated with high parasitemia in experimental infections by *Trypanosoma danilewskyi* in goldfish *Carassius auratus*.

Pearson's correlation analysis showed that the values of nematodes and *Argulus* are closely related to the biometry of *H. malabaricus*. It was largest and heaviest in fish parasitized by *Contracaecum* sp. and *A. carteri*. However, it showed negative relationship between biometrics and the frequency of monogenean, *Dolops* and hemoparasites showing no connection with the size and weight of the analyzed fish.

5. Conclusions

Our results suggest that variations in parasitic indices by seasonal period in fish are related to a set of natural variables and related to the environmental condition of Coqueiro Lake. The presence *Contracaecum* sp. nematodes with zoonotic potential, alert for greater care of public managers in the area of fisheries and food health, proving the need for further studies with *H. malabaricus* and other fish species to obtain additional information on the types of parasites present in the lake, since fishing is the main source of food for riverside residents.

Author Contributions: J.B.G., M.C.S.S., E.M.B., and E.A.B. visited and collected biological material in the field. M.L.M., E.M.B., and E.A.B. application of the methodology. J.B.G., E.M.B., E.A.B., M.L.M., and L.C. parasite identification. J.B.G., N.J.P., M.L.M and D.M.S.S.

organization and writing of the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Council for Scientific and Technological Development (CAPES).

Acknowledgements: The authors thank the Foundation for the Support of Research and Scientific and Technological Development of Maranhão (FAPEMA), for the scholarship to Janderson B. Gomes and for the support of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the approval of the project (n° 88887200470/2018-00) and to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for granting to Maurício L. Martins (CNPq 306635/2018-6).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Zaráte, M.V.; Martínez, J. R.; Sánchez, F.R.; Valderrama, M.B. Evaluación de las pesquerías del embalse del Guajaro junto com algunos criterios de manejo. *Trianea*. **1989**, 3, 215-226.
2. Prado, C.P.A.; Gomiero, L.M.; Froehlich, O. Spawning and parental care in *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae) in southern pantanal, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. **2006**, 66, 697-702. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842006000400013>
3. Driedzic, W.R.; Phelger, C.F.; Fields, J.H.; Frensh, C. Alteration in energy metabolism associated with the transition from water to breathing in fish. *Canadian Journal of Zoology*. **1978**, 56, 730-735. <https://doi.org/10.1139/z78-102>
4. Azevedo, P.; Gomes, A.L. Contribuição ao estudo da biologia da traíra *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794). *Boletim da Indústria Animal*. **1942**, 5, 15-64.
5. Meschiati, A.J.; Arcifa, M.S. Early stages of fish and the relationships with zooplankton in a tropical brasilian reservoir: lake Monte Alegre. *Brazilian Journal of Biology*. **2002**, 62, 41-50. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000100006>
6. Miranda, A.L.C. Bioacumulação de poluentes organopersistentes (POPs) em traíra (*Hoplias malabaricus*) e seus efeitos in vitro em células do sistema imune de carpa (*Cyprinus carpio*). Dissertação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

7. Rodrigues, L.C; Santos, A.C.G; Ferreira, E.M; Teófilo, T.S; Pereira, D.M; Costa, F.N. Aspectos parasitológicos da traíra (*Hoplias malabaricus*) proveniente da cidade de São Bento, MA. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **2017**, 69, 264-268. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8798>
8. Poulin, R.; Morand, S. Parasite Biodiversity. Smithsonian Books: Washington, DC, 2005. 216p.
9. Poulin, R. Parasite species richness in New Zealand fishes: a grossly underestimated component of biodiversity. *Diversity and Distributions.* **2004**, 10, 31-37. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2004.00053.x>
10. Poulin, R. Toxic pollution and parasitism in freshwater fish. *Parasitology Today.* **1992**, 8, 58–61. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(92\)90090-O](https://doi.org/10.1016/0169-4758(92)90090-O)
11. Lafferty, K.D. Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on the environment? *Parasitology Today.* **1997**, 13, 251–255. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(97\)01072-7](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(97)01072-7)
12. Sures, B. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. *Trends in Parasitology.* **2004**, 20, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.01.014>
13. Marcogliese, D.J.; Dautremepuits, C.; Gendron, A.D.; Fournier, M. Interactions between parasites and pollutants in yellow perch (*Perca flavescens*) in the St. Lawrence River, Canada: implications for resistance and tolerance to parasites. *Canadian Journal of Zoology.* **2010**, 88, 247-258. <https://doi.org/10.1139/Z09-140>
14. Vidal-Martinez, V.M.; Pech, D.; Sures, B.; Purucker, T.; Poulin, R. Can parasites really reveal environmental impact? *Trends in Parasitology.* **2010**, 26, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.11.001>
15. Khan, R.A. Chronic Exposure and Decontamination of a Marine Sculpin (*Myoxocephalus scorpius*) to Polychlorinated Biphenyls Using Selected Body Indices, Blood Values, Histopathology, and Parasites as Bioindicators. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* **2011**, 60, 479–485. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9547-9>
16. Hudson, P.J.; Dobson, A.P.; Lafferty, K.D. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology and Evolution.* **2006**, 21, 381–385. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.04.007>
17. Lafferty, K.D.; Allesina, S.; Arim, M.; Briggs, C.J.; De Leo, G.; Dobson, A.P.; Dunne, J.A.; Johnson, P.T.J.; Kuris, A.M.; Marcogliese, D.J.; Martinez, N.D.; Memmott, J.; Marquet, P.A.; Mclaughlin, J.P.; Mordecai, E.A.; Pascual, M.; Poulin, R.; Thielges, D.W. Parasites in food webs: the ultimate missing links. *Ecology Letters.* **2008**, 11, 533–546. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01174.x>
18. Machado, M.T.; Furlan, F.E. Fatores que afetam a qualidade do pescado na pesca artesanal de municípios da costa sul de São Paulo, Brasil. São Paulo, 2010.

19. Oliveira, S.A.L. Pesquisa de helmintos em musculatura e serosa abdominal de peixes de importância comercial capturados no litoral norte do Brasil. Dissertação, Universidade Federal do Pará, Pará, 2005.
20. Klimpel, S.; Palm, H. W. Anisakid nematode (Ascaridoidea) life cycles and distribution: increasing zoonotic potential in the time of climate change?. In: MEHLHORN, H. (Ed.). *Progress in Parasitology*. Springer Berlin Heidelberg. 338 p. cap. 11, p. 201 – 222. 2011. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21396-0_11
21. Saad, C.D.R.; Vieira, F.M.; Luque, J.L. As larvas de Anisakidae Skrjabin&Karakhin de 1945 (Nematoda, Ascaridoidea) em *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 (Actinopterygii, Lophiidae) a partir da zona costeira do estado de Rio de Janeiro, Brazil. *Neot Helmitol.* **2012**, 6, 159-177.
22. Mancini, P.L.; Hobson, K.A.; Bugoni, L. Role of body size in shaping the trophic structure of tropical seabird communities. *Mar Ecol Prog Ser.* **2014**, 497, 243-257. <https://doi.org/10.3354/meps10589>
23. Neves, N. D. Helmintos parasitos de peixes de importância higiênico sanitária. Monografia, Universidade Castelo Branco, Belém, 2009.
24. Oliveira, M.S.B.; Corrêa, L.L.; Ferreira, D.O.; Tavares-Dias, M. Larvas de nematoides de potencial zoonótico infectando peixes carnívoros do baixo Rio Jari, no Norte do Brasil. *Biota Amazônia.* **2019**, 9, 50-52. <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746>
25. Apha – American Public Health Association. Standard methods for examination of water and wastewater. 21 th Ed. Washington, DC: APHA, 2005.
26. Silva, N.; Neto, R.C.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica da água. Campinas: ITAL/Núcleo de Microbiologia, 2000.
27. Mousavi, H.E.; Behtash, F.; Rostami-Bashman, M.; Mirzargar, S.S.; Shayan, P.; Rahmati-Holasoo, H. Study of *Argulus* spp. infestation rate in Goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) in Iran. *Human & Veterinary Medicine.* **2011**, 3, 198-204.
28. Rushton-Mellor, S. K. The genus *Argulus* (Crustacea: Branchiura) in Africa: identification keys. *Systematic Parasitology.* **1994**, 28, 51-63. <https://doi.org/10.1007/BF00006909>
29. Soes, D. M.; Walker, P. D.; Kruijt, D. B. The Japanese fish louse *Argulus japonicus* new for The Netherlands. *Lauterbornia.* **2010**, 70, 11-17.
30. Jerônimo, G.T.; Pádua, S.B.; Ventura, A.S.; Gonçalves, E.L.T.; Ishikawa, M.M.; Martins, M.L. Parasitological assessment in the hybrid surubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *P. corruscans*), with uncommon occurrence of Monogenea parasites. *Braz. J. Vet. Parasitol.* **2016**, 25, 179–186. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016037>
31. Putz, R. E.; Hoffman, G. L. Two new Gyrodactylus (Trematoda, Monogenea) from cyprinid fishes with synopsis of those found on North American fishes. *Journal of Parasitology.* **1963**, 49, 559. <https://doi.org/10.2307/3275760>

32. Kritsky, D. C.; Boerger, W. A.; Popazoglo, F. Neotropical Monogenoidea. 22. Variation in *Scleroductus* species (Gyrodactylidea, Gyrodactylidae) from Siluriform fishes of southeastern Brazil. *Journal of the Helminthological Society of Washington*. **1995**, 62, 53-56.
33. Eiras, J.C.; Takemoto, R.M.; Pavanelli, G.C. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes, 1ª ed.; Editora: Universidade Estadual de Maringá, Brasil, 2000; 71 p.
34. Dzika, E.; Dzikowiec, M.; Hoffmannh, R.H. Description of the development of the attachment and copulatory apparatus of *Dactylogyrus extensus* from *Cyprinus carpio* var. *Koi*. *Helminthology*. **2009**, 46, 39–44. <https://doi.org/10.2478/s11687-009-0008-9>
35. Sujan, M.; Shameem, U. Monogenoidean parasites of some cyprinid fishes from north coastal andhra pradesh. *Int. J. Rec. Sci. Res.* **2015**, 6, 3147–3155.
36. Jerônimo, G.T.; Tavares-Dias, M; Martins, M.L.; Ishikawa, M.M. manual para coleta de parasitos em peixes de cultivo. Brasília, DF: Embrapa, 2012.
37. Moravec, F. Thichinelloid Nematodes Parasitic in Cold-Blooded Vertebrates. Academia Praha. 2001.
38. Pardo, C.; Zumaque, M.S.; Noble, C.A.; Hernando, Suárez M.H. *Contracaecum* sp (Anisakidae) en el pez *Hoplías malabaricus*, capturado en la Ciénaga Grande De Lorica, Córdoba. *Revista MVZ Córdoba*. **2008**, 13, 1304-1314.
39. Colorado, B.E.J; Salgado, B.A.; Garcés, L.C.R. Organochlorine pesticides and parasites in *Mugil incilis* collected in Cartagena Bay, Colombia. *Environmental Science and Pollution Research*. **2015**, 22, 17475–17485. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4986-5>
40. Svobodova, Z.; Vykusova, B. Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, 1991.
41. Molina, J.P.; Madi, R.R.; Solferini, V.N.; Ceccarelli, P.S.; Pinheiro, H.P.; Ueta, M.T. Trypanosomatids (Protozoa: Kinetoplastida) in three species of Armored Catfish from Mogi-Guaçu river, Pirassununga, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. **2016**, 25, 131-141. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016027>
42. Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. *Revisited*. *J. Parasitol.* **1997**, 83, 575–583. <https://doi.org/10.2307/3284227>
43. Brazil – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Brasília: Diário Oficial da União, 2011. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=17214> (Acesso em 02 de março de 2020).

44. Brazil – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº357 de 17 de março de 2005. Brasília: Diário Oficial da União, 2005. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747> (Acesso em 02 de março de 2020).
45. Vasconcelos, S.M.S.; Serafini, A.B. Ocorrência de indicadores de poluição no rio Meia Ponte e ribeirão João Leite, Goiás: coliformes totais e fecais. *Revista de Patologia Tropical*. **2002**, 31, 175-193.
46. Silva, A.B.A.; Ueno, M. Qualidade sanitária das águas do rio Una, São Paulo, Brasil, no período das chuvas. Taubaté. *Revista Biociências*. **2008**, 14, 82-86.
47. Moura, A.C.; Assumpção, R.A.B.; Bischoff, J. Monitoramento físico-químico e microbiológico da água do rio Cascavel durante o período de 2003 a 2006. *Arquivos do Instituto Biológico*. **2009**, 76, 17-22.
48. Tallon, P.; Magajna, B.; Lofranco, C.; Leung, K. T. Microbial indicators of faecal contamination in water: a current perspective. *Water, Air and Soil Pollution*. **2005**, 166, 139-66. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-7905-4>
49. Vital, J.F.; Varella, A.M.B.; Porto, D.B.; Malta, J. C. D. O. Seasonality of the metazoan fauna of *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1858) in Piranha Lake (Amazonas, Brazil), and evaluation of its potential as an indicator of environmental health. *Biota Neotropica*. **2011**, 11, 199-204. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000100021>
50. Tavares-Dias, M.; Dias-Júnior, M.B.F.; Florentino, A. C.; Silva, L. M. A.; Cunha, A.C.D. Distribution pattern of crustacean ectoparasites of freshwater fish from Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. **2015**, 24, 136-147. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015036>
51. Mamanim, H.C.; Vandamme, P.A. Ectoparasitas (Crustacea: Branchiura) de *Pseudoplatystoma fasciatum* (surubí) e *P. tigrinum* (chuncuina) em várzeas de águas brancas bolivianas. *Ecol Boliv*. **2004**, 39, 9-20.
52. Vasconcelos, H. C. G.; Tavares-Dias, M. Interação parasita-hospedeiro entre crustáceos de seis espécies de peixes da Amazônia brasileira. *Acta Sci Biol Sci*. **2016**, 38, 113-123. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v38i1.29601>
53. Neves, L. G; Tavares-Dias, M. Baixos níveis de infestação de parasitas por crustáceos em espécies de peixes do rio Matapi no estado do Amapá, Brasil. *Braz. J. Vet. Parasitol*. **2019**, 28, 493-498. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019006>
54. Oliveira, M.S.B.; Corrêa, L.L.; Oliveira, F.D.; Neves, L.R.; Tavares-Dias, M. Registros de novas localidades e hospedeiros para crustáceos parasitas em peixes da Amazônia oriental no norte do Brasil. *J Parasit Dis*. **2017**, 41, 565- 570.
55. Bernardino, M.G.; Silva, E.G.; Bezerra, T.I.; Lucena, R.B.; Satake, F. Avaliação ectoparasitológica, hematológica e histopatológica de traíras *Hoplias malabaricus*

- Bloch, 1794 provenientes de açudes localizados no município de Sumé, estado da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. **2016**, 36, 581-586. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700003>
56. Malacarne, P.L.C.; Godoi, M.M.M.M. Monogenéticos parasitos de brânquias de *Hoplias malabaricus* (Traíra) e saúde animal na Amazônia Ocidental Revista Brasileira de Ciências da Amazônia/Brazilian. *Journal of Science of Amazon*. **2012**, 1, 109-113.
 57. Graça, R.J.; Costa, A.P.L.; Takemoto, R.M. Ecological aspects of Monogenea gill parasites (Platyhelminthes) from *Hoplias* aff. *malabaricus* (Bloch, 1794) (Pisces, Erythrinidae) in a Neotropical Floodplain. *Neotropical Helminthology*. **2013**, 7, 105-116.
 58. Corrêa, L.L.; Karling, L.C.; Takemoto, R.M.; Ceccarelli, P.S.; Ueta, M.T. Alterações hematológicas causadas por alta intensidade de larvas L de *Contracaecum* sp Railliet & Henry, 1912 (Nematoda, Anisakidae) no estômago de *Hoplias malabaricus* em lagos em Pirassununga, São Paulo. *Parasitol Res*. **2013**, 112, 2783-2789.
 59. Gasques, L.S.; Graça, R.J.; Prioli, S.M.A.P.; Takemoto, R.M.; Prioli, A.J. Molecular characterization of *Urocleidoides cuiabai* and *U. malabaricus* (Monogenea: Dactylogyridae) from the trahira fish *Hoplias* aff. *malabaricus* in the Paranaíba River, Brazil. *Journal of Helminthology*. **2016**, 90, 693-697. <https://doi.org/10.1017/S0022149X15000966>
 60. Ferreira, K.D.C.; Rodrigues, A.R.O.; Cunha, J.M.; Domingues, M.V. Dactylogyrids (Platyhelminthes, Monogenoidea) from the gills of *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from coastal rivers of the Oriental Amazon Basin: species of *Urocleidoides* and *Constrictoanchoratus* n. gen. *Journal of Helminthology*. **2018**, 92, 353-368. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17000384>
 61. Mattos, D.P.B.G.; Lopes, L.M.S.; Afonso-Verícimo, M.; Alvares, T.S.; São Clemente, S.C. Anisakidae infection in five commercially important fish species from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Med. Vet*. **2014**, 36, 375-379.
 62. Moravec, F.; Kohn, A.; Fernandes, B.M.M. Nematode parasites of fishes of the Paraná river, Brasil. Part 2. Seuratoidea, Ascaridoidea, Habronematoidea and Acuarioidea. *Folia Parasitologica*. **1993**, 40, 115-134.
 63. Moravec, F.; Prouza, A.; Royero, R. Some nematodes of freshwater fishes in Venezuela. *Folia Parasitologica*. **1997**, 44, 33-47.
 64. Madi, R.R.; Silva, M.S.R. *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912 (Nematoda, Anisakidae): o parasitismo relacionado à biologia de três espécies de peixes piscívoros no reservatório do Jaguari, SP. *Revista Brasileira de Zootecias*. **2005**, 7, 15-24.
 65. Martins, M.L.; Onaka, E.M.; Fenerick, J. Larval *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in *Hoplias malabaricus* and *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes: Erythrinidae) of economic importance in ocidental marshlands of Maranhão, Brazil.

66. Olivero-Verbel, J.; Baldiris-Ávila, R.; Güette-Fernández, J.; Benavides-Alvarez, A.; Mercado-Camargo, J.; ARROYO-SALGADO, B. *Contracaecum sp.* infection in *Hoplias malabaricus* (moncholo) from rivers and marshes of Colômbia. *Veterinary Parasitology*. **2006**, 140, 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.014>
67. Alcântara, N.M.; Tavares-Dias, M. Structure of the parasites communities in two Erythrinidae fish from Amazon river system (Brazil). *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*. **2015**, 24, 183-190. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015039>
68. Gonçalves, R. A.; Oliveira, M. S. B.; Neves, L. R.; Tavares-Dias, M. Seasonal pattern in parasite infracommunities of *Hoplerythrinus unitaeniatus* and *Hoplias malabaricus* (Actinopterygii: Erythrinidae) from the Brazilian Amazon. *Acta Parasitologica*. **2016**, 61, 119-129. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0016>
69. Carvalho, A.R.; Martins, R.T.; Bellei, P.M.; Lima, S.S. Aspectos ecológicos da helmintofauna de *Hoplias malabaricus* (Bloch,1794) (Characiformes, Erythrinidae) da Represa Dr. João Penido (Juiz de Fora-MG, Brasil). *Rev. Bras. de Zoociências*. **2017**, 18, 7-20. <https://doi.org/10.34019/2596-3325.2017.v18.24413>
70. Meneguetti, D.U.O.; Laray, M.P.O.; Camargo, L.M.A. Primeiro relato de larvas de *Eustrongylides sp.* (Nematoda: Dioctophymatidae) em *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. **2013**, 4, 55-58. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232013000300008>
71. Martins, M. L.; Santos, R.D.S.; Marengoni, N.G.; Takahashi, H.K.; Onaka, E.M. Seasonality of *Eustrongylides sp.* (Nematoda: Dioctophymatidae) larvae in fishes from Paraná River, South-western Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*. **2009**, 35, 29-37.
72. Benigno, R.N.M.; Sao Clemente, S.C.; Matos, E.R.; Pinto, R.M.; Gomes, D.C.; Knoff, M. Nematodes in *Hoplerythrinus unitaeniatus*, *Hoplias malabaricus* and *Pygocentrus nattereri* (Pisces, Characiformes) in Marajó Island, Brazil. *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*. **2012**, 21, 165-170. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200018>
73. Mackenzie, K.; Willians, H.H.; Willians, B.; Mcvicar, A.H.; Siddal, R. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. *Advances in Parasitology*. **1995**, 35, 85-144. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60070-6](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60070-6)
74. Khan, R. A. Pathogenesis of *Trypanosoma murmanensis* in marine fish of the northwestern Atlantic following experimental transmission. *Canadian Journal of Zoology*. **1985**, 63, 2141-2144. <https://doi.org/10.1139/z85-315>
75. Dyková, I.; LOM, J. Histopathological changes in *Trypanosoma danilewskyi* Laveran & Mesnil, 1904 and *Trypanoplasma borelli* Laveran & Mesnil, 1902 infections of

goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Journal of Fish Diseases*. **1979**, 2, 381-390.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1979.tb00390.x>

76. Islam, A. K. M. N.; Woo, P. T. K. Anemia an in its mechanism in goldfish *Carassius auratus* infected with *Trypanosoma danilewskyi*. *Diseases of Aquatic Organisms*. **1991**, 11, 37-43. <https://doi.org/10.3354/dao011037>

5.2 CAPÍTULO II: Alterações histológicas e genotóxicas em *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) como biomarcadores de efeito de impacto ambiental de um lago da Área de Proteção Ambiental do Nordeste Brasileiro²

Janderson Bruzaca Gomes¹ .Manoel Cleber Sampaio Silva¹ .Natália Jovita Pereira¹ . Ingrid Caroline Moreira Lima² .Maurício Laterça Martins³ .Débora Martins Silva Santos⁴

¹Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil; jandersonbruzaca@hotmail.com

²Graduanda do curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil

³AQUOS-Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

⁴Departamento de Biologia, Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil
Corresponding author: jandersonbruzaca@hotmail.com

Resumo: Este trabalho teve por objetivo analisar as alterações histológicas e genotóxicas de *Hoplias malabaricus* como biomarcadores de efeito de impacto ambiental de um lago da Área de Proteção Ambiental do Nordeste Brasileiro. Foi realizada análise genotóxica e histológica de brânquia e fígado. Foram observadas frequências significativas de micronúcleo e lesões nucleares e de alterações histológicas em brânquias e fígado com diferenças significativas entre os períodos sazonais. As lesões encontradas foram mais frequentes no período chuvoso, demonstrando que os organismos ficam mais expostos ao estresse ambiental nesse período, comprometendo funções básicas dos órgãos. Os resultados indicam uma baixa qualidade da água do ambiente estudado, demonstrando que os organismos estão respondendo a algum tipo de perturbação ambiental.

Palavras-chave: Contaminação. Eritrócitos. Estresse ambiental. Histopatologia

Introdução

A maioria dos ecossistemas aquáticos encontra-se extremamente ameaçada pela crescente poluição decorrente da atividade humana (Miranda 2012), e a contínua contaminação desses ecossistemas de água doce pelo lançamento de poluentes urbanos, industriais e agrícolas, tornou-se tema de grande preocupação nas últimas décadas (Jordao et al. 2002; Ayadi et al. 2015). A exposição e o contato direto dos peixes com substâncias tóxicas presentes na água

² Este capítulo será submetido ao periódico Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. Qualis B2 em Biodiversidade.

promovem alterações moleculares, bioquímicas, celulares ou fisiológicas nas células, fluídos corpóreos, tecidos ou órgãos do organismo (Van Der Oost et al. 2003).

Os peixes são frequentemente utilizados em programas de monitoramento ambiental, como bioindicadores da qualidade da água, pois interagem com as propriedades físicas, químicas e biológicas do ecossistema (Krull e Barros 2012). Particularmente, brânquias, fígado e rim têm sido descritos como órgãos alvos afetados por poluentes aquáticos (Bernet et al. 2004; Liu et al. 2011; Abdel-Moneim et al. 2012).

Bioindicadores e biomarcadores têm sido utilizados para avaliar a contaminação de áreas impactadas (Nunes et al. 2015; Samanta et al. 2015; Tabassum et al. 2016). Assim, as alterações histopatológicas são amplamente utilizadas como biomarcadores na avaliação de contaminantes, tanto em ensaios de laboratório (Cerqueira e Fernandes 2002; Van Dyk et al. 2007; Hesni et al. 2011), quanto em campo (Flores-Lopes et al. 2010; Paulino et al. 2014; Dane e Sisman 2015).

A histopatologia é uma ferramenta utilizada para avaliar efeitos de contaminantes específicos em condições laboratoriais (Santos e Martinez 2014; Yancheva et al. 2016). Por outro lado, em condições naturais, onde ocorrem a interação de diversos xenobióticos, estudos que investiguem os efeitos negativos dessa exposição dos peixes têm sido mais explorados cada vez mais (Liebel et al. 2013; Paulino et al. 2014; Freire et al. 2015; Fonseca et al. 2016; Ghisi et al. 2016; Dang et al. 2017).

O emprego de parâmetros genotóxicos, principalmente em organismos aquáticos como forma de avaliação da qualidade hídrica é outro método que permite avaliar o efeito dos poluentes no meio, bem como alterações de seu potencial tóxico ou genotóxico após interação com o ambiente (Jesus e Carvalho 2008). Nesse contexto, os testes de genotoxicidade são indispensáveis para estudos de biomonitoramento, pois avaliam o grau dos impactos e as respostas biológicas nos organismos aquáticos (WHO 1993; Carvalho-Neta et al. 2015).

O uso integrado desses indicadores aumenta a faixa de resposta na espécie estudada com aplicação em programas de biomonitoramento por serem respostas rápidas, sensíveis e alertarem previamente sobre riscos de danos ambientais no ecossistema aquático (Pereira et al. 2011), bem como evidenciem o estado de saúde dos peixes (Sousa et al. 2013).

Diante do fato da região da Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense apresentar importância internacional por estar incluída na lista de zonas úmidas mundiais e de relevância internacional para a sustentabilidade ambiental e social, realizada pela Convenção de Ramsar, o presente trabalho teve por objetivo analisar as alterações histológicas e

genotóxicas de *Hoplias malabaricus* como biomarcadores de efeitos de impacto ambiental de um lago da Área de Proteção Ambiental do Nordeste Brasileiro.

Materiais e Métodos

O ambiente lacustre (Lago do Coqueiro) (Fig. 1) está localizado no Nordeste Brasileiro na região ocidental do Estado do Maranhão, sendo um dos 27 sítios Ramsar de importância internacional localizado no Brasil. O lago abrange uma área de aproximadamente 52, 49 km², tendo uma grande importância para a comunidade que está ao entorno e que obtém sua renda por meio da pesca extrativista.

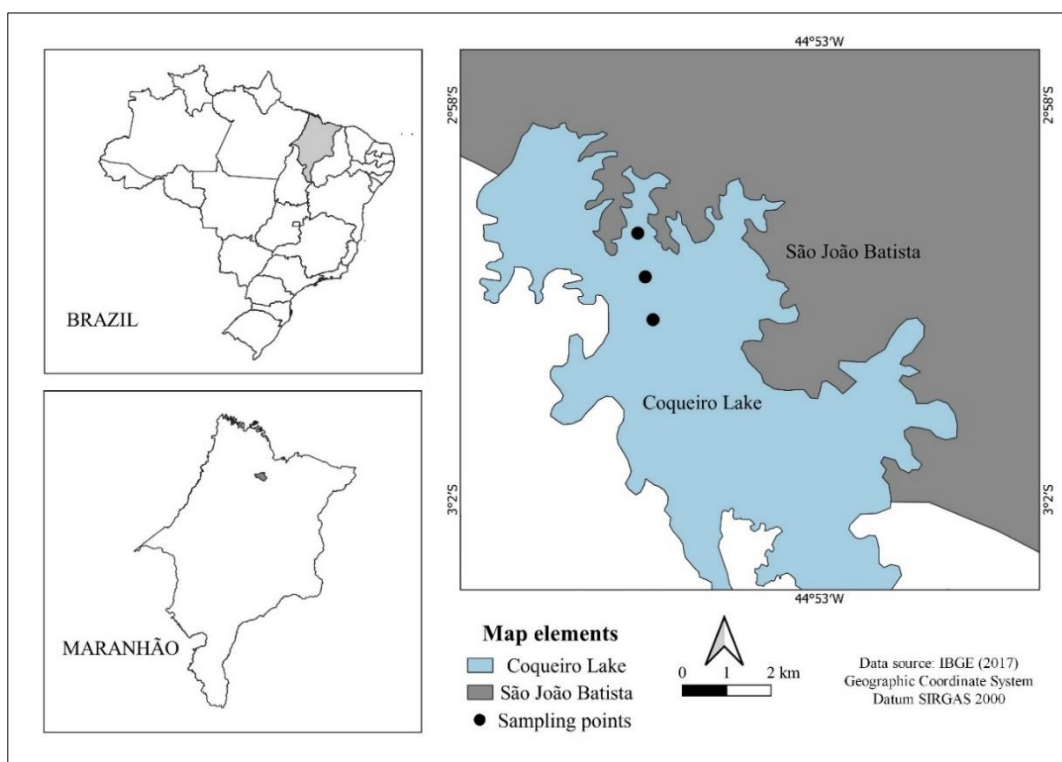


Fig. 1 Lago do Coqueiro da Baixada Maranhense, Nordeste Brasileiro, Brasil

As duas coletas do material biológico e da água foram realizadas em períodos sazonais diferentes. A primeira coleta foi no mês de maio de 2019, correspondendo ao período chuvoso, e a segunda coleta no mês de outubro de 2019, correspondendo ao período de estiagem. Foram coletados um total de 30 (trinta) indivíduos de *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae), sendo 15 exemplares por coleta.

A pesquisa foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/SISBIO) (Número 69518-1), e pela Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Naturais (SEMA) (Número 46/2019) em que foram aprovadas coletas de

água e peixes. Todos os procedimentos foram realizados procurando seguir os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, <http://www.cobea.org.br>) e pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Estadual do Maranhão (Protocolo n° 022/2019).

Os parâmetros abióticos da água como temperatura (°C), potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD em mg/L), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) foram aferidos *in situ* utilizando o aparelho multiparâmetro AK88. As amostras de água para análises microbiológicas foram coletadas na coluna superficial da água em frascos de vidro esterilizados (500mL), acondicionadas em caixa de material isotérmico contendo cubos de gelo e transportadas até o prazo máximo de 24 horas para o Laboratório de Alimentos e Água no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão.

As avaliações microbiológicas consistiram em contagens de coliformes totais (número mais provável NMP 100 mL^{-1}) e de *Escherichia coli* (NMP 100 mL^{-1}), utilizando kit Colilert® IDEXX (técnica de substrato cromogênio) segundo Apha (2005) e Silva et al. (2017). No Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da UEMA, as amostras de água foram colocadas em frascos de vidro onde foi adicionado o reagente Colilert. A solução diluída foi distribuída uniformemente em cúpulas e incubadas a 35°C em estufa durante 24 horas. A leitura foi feita com auxílio de uma lâmpada ultravioleta (115 volts, 6hz, 20 AMPS). O teste foi considerado positivo para coliformes totais se a cúpula mantivesse a coloração amarela e para *E. coli* se apresentasse coloração azul. Os testes foram negativos com ausência de coloração.

A confecção das lâminas sanguíneas foi realizada em campo com base na técnica descrita por Ranzani- Paiva et al. (2013). Os espécimes de *Hoplias malabaricus* foram anestesiados e o sangue, aproximadamente 1mL, coletados por punção branquial com auxílio de seringas de calibre 6 mm x 0,25 mm, sem anticoagulante, e as lâminas confeccionadas por meio da técnica do esfregaço sanguíneo. Para cada peixe foram preparados dois esfregaços, sendo considerados 3.000 eritrócitos por lâmina, em um total de 6.000 eritrócitos por peixe.

Os esfregaços sanguíneos secaram em temperatura ambiente por 24 horas e foram submetidos à coloração com o corante Rosenfeld modificado, que é uma combinação de corantes eosina azul de metileno May-Grünwald, Giemsa e Wrigth e metanol absoluto (Ranzani-Paiva et al. 2013). Os esfregaços foram submersos no corante Rosenfeld modificado por 6 minutos, posteriormente colocados em água destilada por 4 minutos, secos em temperatura ambiente e analisados sob microscopia de luz. Nas análises em microscópio de luz

utilizou-se a objetiva de aumento de 100 x, com a utilização de óleo de imersão para a identificação de micronúcleos e lesões nucleares.

Os critérios para a identificação de micronúcleos seguiram os padrões de Fenech et al. (2003) e Cavas et al. (2005): (a) o micronúcleo precisa ser menor que um terço dos núcleos principais, (b) os micronúcleos são claramente separados dos núcleos principais, e (c) os micronúcleos precisam estar no mesmo plano de foco e ter a mesma cor. A identificação das lesões nucleares seguiu os padrões de Carrasco et al. (1990).

Amostras de brânquias (segundo arco branquial direito) e fígado foram fixadas em formalina a 10% por 24 horas. A clivagem das amostras biológicas dos órgãos foi realizada posteriormente, quando suas dimensões foram reduzidas. Os tecidos permaneceram em formalina a 10% por mais 24 horas e os arcos branquiais foram descalcificados em ácido nítrico 10% por mais 6 horas. Em seguida, foram realizadas as etapas de desidratação em concentrações crescentes de álcoois, diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina, microtomia com cortes de espessura de 5µm e coloração com hematoxilina e eosina (HE) (LOPES, 2016) para descrição microscópica.

As alterações branquiais e hepáticas foram identificadas segundo adaptado de Poleksic e Mitrovic Tutundzic (1994), que classificam as alterações em três estádios progressivos de severidade: Estádio I, que não prejudicam o funcionamento do órgão; Estádio II, que são mais graves e prejudicam o funcionamento normal do órgão; e Estádio III, que são muito severas e irreversíveis.

Para cada peixe foi calculado o valor do IAH por meio da fórmula: $IAH = 1 \times \sum I + 10 \times \sum II + 100 \times \sum III$, sendo que *I*, *II* e *III* correspondem respectivamente ao número de alterações de estágio I, II e III. O valor do IAH teve como referência o quadro de classificação da severidade das lesões por categoria de IAH, segundo Poleksic e Mitrovic Tuntundzic (1994): 0-10 = funcionamento normal do tecido; 11-20 = dano leve para moderado do tecido; 21-50 = dano moderado para severo do tecido; 51-100 = dano severo do tecido; >100 = dano irreparável do tecido.

Os parâmetros abióticos e microbiológicos da água foram submetidos aos testes de normalidade Shapiro-Wilk e homogeneidade Levene ($p \geq 0,05$). Os dados não apresentaram distribuição normal e por isso foi aplicado Kruskal-Wallis, considerando $p \leq 0,05$ para a comparação do IAH de brânquia e fígado entre os períodos sazonais. Todas as análises estatísticas mencionadas foram realizadas no Statistica 7.1.30.0 (StatSoft, Inc. 2005).

Resultados e Discussão

3.1 Parâmetros abióticos e microbiológicos da água

Os valores das variáveis abióticas e das análises microbiológicos registrados no Lago do Coqueiro estão indicados na tabela 1. Os dados foram obtidos para as duas coletas realizadas nos períodos chuvoso e de estiagem e comparados com valores recomendados pela legislação vigente, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA 2005, 2011).

Tab. 1 Parâmetros abióticos e microbiológicos da água do Lago do Coqueiro e valores recomendados pelas Resoluções CONAMA nº 357/2005 e 430/2011.

Parâmetros abióticos e microbiológicos	Período chuvoso	Período de estiagem	Valores recomendados
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	4,6 ^{b*}	5,66 ^a	≥5
Ph	6,17 ^{a*}	4,7 ^{b*}	6.5 a 8.5
Temperatura (°C)	29,5 ^a	27,7 ^b	≤ 40
Condutividade (µS/cm)	44,8 ^b	200 ^a	-
NMP de coliformes totais /100 mL de água	14136 ^a	1354 ^b	-
NMP de <i>Escherichia coli</i> /100 mL de água	5475 ^{a*}	10 ^b	≤200/100 MI

^{a b} Letras diferentes indicam diferença significativa entre os períodos sazonais pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$); NMP: Número mais provável; *: valores em desacordo com o Conama (CONAMA 2005; 2011).

Todos os parâmetros abióticos e microbiológicos da água apresentaram diferença estatística significativa entre os períodos sazonais.

Dentre os parâmetros analisados, quatro apresentaram valores que estão em desacordo com a legislação vigente: pH, oxigênio dissolvido, condutividade e *Escherichia coli*. O valor de pH da água da última coleta foi de 4,7 durante o período de estiagem. Valores baixos de pH da água tendem a contribuir para o estresse nos peixes, predispondo-os às doenças infecciosas e parasitárias. As alterações de pH podem ter origem antropogênica (despejos domésticos e industriais) ou natural (dissolução de rochas e fotossíntese). Para a manutenção adequada da vida aquática, o pH deve situar-se geralmente na faixa de 6 a 9 (Gasparotto 2011).

A concentração de oxigênio dissolvido variou de 4,6 a 5,66, valores esses que estão em desacordo com as Resoluções nº 357/2005 e 430/2011 do CONAMA. Entende-se que o oxigênio dissolvido é de fundamental para a manutenção da vida aquática e para a qualidade da

água. Devido à sua importância, o oxigênio dissolvido é amplamente utilizado como principal parâmetro de qualidade da água e serve para determinar o impacto de poluentes sobre corpos hídricos (Tchobanoglous e Schroeder 1985; Araújo et al. 2004).

A quantidade de *Escherichia coli* entre os períodos sazonais foi bastante divergente, chegando a 5.475 no período chuvoso, concentração essa mais elevada que no período de estiagem. Esse resultado está em desacordo com as resoluções vigentes do CONAMA, que estabelecem que em corpos aquáticos de água doce não deve exceder um limite de 200 coliformes termotolerantes por 100mL das amostras.

A presença de coliformes na água mostrou relação direta com a intensidade das chuvas e com a presença de diferentes animais dentro e ao redor do lago, como búfalos, porcos e galinhas. A maior pluviosidade parece contribuir para uma maior quantidade de excretas humanas e animais carreados para dentro do Lago do Coqueiro, possivelmente via esgoto sanitário sem tratamento, explicando assim, a maior concentração de *E. coli* no período chuvoso.

A frequências de micronúcleos e outras lesões nucleares em eritrócitos de *Hoplias malabaricus* coletados nos períodos chuvoso e de estiagem estão indicadas na tabela 2.

Tab. 2 Frequência de micronúcleo e eritrócitos alterados em *Hoplias malabaricus* coletados no Lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil

		Média ± desvio padrão				
Período		Lesões Nucleares em <i>Hoplias malabaricus</i>				
N		MN	Entalhado	Lobulado	Segmentado	Binucleado
Chuvoso	15	7,33 ± 1,79 ^a	9,66 ± 1,79 ^a	8 ± 0,84 ^a	6,46 ± 1,50 ^a	6,93 ± 1,86 ^a
Estiagem	15	4,93 ± 0,79 ^b	6,26 ± 1,03 ^b	5,73 ± 1,22 ^b	5,4 ± 1,40 ^a	5,66 ± 1,29 ^a

N: número de espécimes analisados; MN: micronúcleo. ^{a b} Letras diferentes indicam diferença significativa entre os períodos sazonais pelo teste de Kruskal-Wallis (p≤0,05).

Ferraro et al. (2004) ressaltaram que micronúcleos e lesões nucleares ocorrem naturalmente nos organismos e demonstraram por meio de testes laboratoriais as frequências basais de eritrócitos lesionados para a espécie *Hoplias malabaricus*, ou seja, frequências espontâneas de micronúcleos e lesões nucleares de 0,33 e 10,67, respectivamente. Com base neste estudo, as frequências de micronúcleo encontradas em *Hoplias malabaricus*

apresentaram-se acima do considerado como frequência basal para a espécie, demonstrando que estes organismos estão expostos a xenobióticos com potencial genotóxico.

As frequências das lesões nucleares, no geral, apresentaram-se maiores que as dos micronúcleos. Alguns estudos indicam que a frequência das lesões geralmente é maior que os micronúcleos (Ferraro et al. 2004; Rocha et al. 2010; Monteiro et al. 2011), sugerindo que as demais lesões nucleares são respostas primárias antecedendo a formação de micronúcleos (Kirschbaum et al. 2009; Seriani et al. 2011; Baršienė et al. 2015).

Micronúcleos e demais lesões nucleares (Fig. 2) foram identificadas em todos os exemplares analisados em ambos os períodos, chuvoso e de estiagem. Contudo, no período chuvoso, a frequência tanto de micronúcleos como das demais lesões eritrocíticas foi mais significativa, isso pode ser explicado, pois no período chuvoso pode haver maior contaminação devido ao escoamento de materiais orgânicos para dentro do ambiente aquático carregados pela chuva. Mediante ao que foi observado no local da pesquisa quanto às condições do ambiente e aos valores encontrados e referentes a micronúcleos e alterações nucleares, pode-se sugerir indício que os peixes estudados estão sendo afetados pela ação de algum agente genotóxico, comprometendo o mecanismo fisiológico dos mesmos.

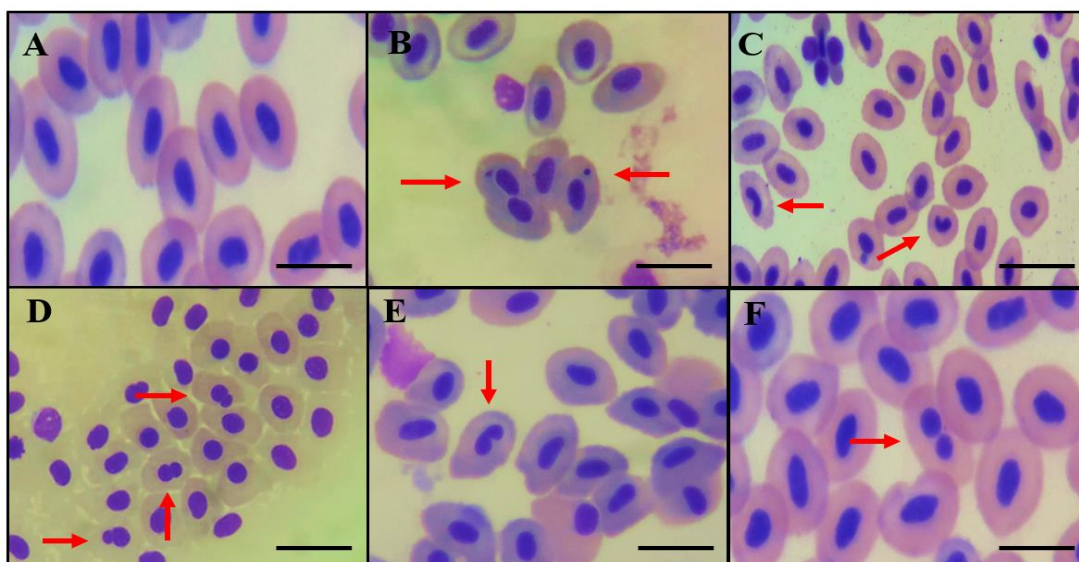


Fig. 2 Micronúcleo e lesões nucleares (setas) em eritrócitos de *Hoplias malabaricus*. **a-** Células normais, **b-** Micronúcleos, **c-** Células com núcleo entalhado, **d-** Células com núcleo lobado, **e-** Célula com núcleo segmentado e **f-** Célula binucleada (seta). Escala: 10µm

Os micronúcleos e anormalidades nucleares são frequentemente observados em eritrócitos de peixes, como consequência da exposição destes animais a contaminantes químicos, tóxicos, genotóxicos, mutagênicos ou carcinogênicos no meio ambiente (Palhares e

Grisolia 2002; Matsumoto et al. 2006). Como destacam Fontanele et al. (2010), esses agentes genotóxicos são agentes físicos, químicos ou biológicos que afetam a integridade do DNA dos organismos vivos, promovendo alterações cromossômicas.

Os danos celulares ocasionados podem ainda estar relacionados a outros fatores como, por exemplo, a contaminação do meio por agrotóxicos, poluentes atmosféricos, materiais orgânicos e inorgânicos, provenientes do escoamento das águas da chuva, hormônios, detergentes, metais pesados, corantes, esgotos domésticos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e outros compostos, derivados das atividades industriais, residenciais, agrícolas, de tratamento de água e esgoto (Bollmann e Marques 2006; Fontanele et al. 2010).

As frequências das alterações branquiais encontradas nos exemplares de *Hoplias malabaricus* nos períodos chuvoso e de estiagem estão indicadas na tabela 3.

Tab. 3 Frequências de ocorrência em porcentagem das lesões branquiais de *Hoplias malabaricus* coletados no lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil

Lesões branquiais	Período chuvoso	Período de estiagem
	Mai/2019	Out/2019
	%	%
Estádio I		
Congestão dos vasos sanguíneos	80	70
Elevação do epitélio respiratório	100	100
Desorganização das lamelas	100	100
Hiperplasia do epitélio lamelar	80	70
Fusão incompleta de várias lamelas	80	70
Fusão completa de várias lamelas	60	60
Dilatação do seio sanguíneo	60	50
Estádio II		
Hiperplasia e hipertrofia das células de muco	80	60
Fusão completa de todas as lamelas	60	40
Espessamento do tecido proliferativo	70	40
Rompimento de células pilares	80	30
Estádio III		
Aneurisma lamelar	90	40

As lesões encontradas tanto no período chuvoso quanto na estiagem foram as mesmas, diferindo somente na intensidade de observações entre os dois períodos sazonais.

Alterações nos três estádios de severidade foram identificadas nos exemplares analisados. A análise histológica (Fig. 3) realizada nas brânquias dos exemplares de *H. malabaricus* evidenciou que no período chuvoso os peixes apresentaram maior frequência de lesões que no período de estiagem. As alterações de estágio I mais frequentes e representativas, foram a congestão dos vasos sanguíneos, elevação do epitélio respiratório, desorganização das lamelas, hiperplasia do epitélio lamelar e fusão incompleta de várias lamelas, com frequências que variaram de 50% a 100% entre os períodos sazonais.

As lesões de estágio II mais frequentes foram a hiperplasia e hipertrofia das células de muco e espessamento do tecido proliferativo, com frequências que variaram de 40% a 80% entre os períodos sazonais. O aneurisma lamelar (lesão de estágio III) foi registrado em 90% dos espécimes no período chuvoso e em 40% dos espécimes no período de estiagem.

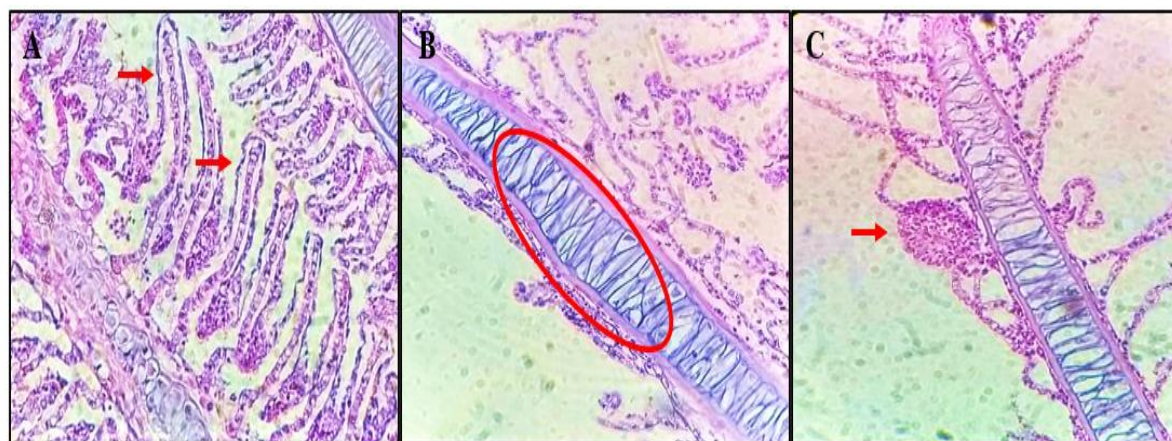


Fig. 3 Alterações branquiais de *Hoplias malabaricus*. **a-** Elevação do epitélio respiratório(setas), **b-** Dilatação do seio sanguíneo (círculo), **c-** Aneurisma lamelar (seta)

As alterações branquiais encontradas em *H. malabaricus* capturados no Lago do Coqueiro da Baixada Maranhense também foram encontradas em outros trabalhos para peixes de ambientes contaminados (Pereira et al. 2014; Santos et al. 2014; Rautenberg et al. 2015; Oliveira et al. 2016; Fonseca et al. 2017; Cardoso et al. 2018; Castro et al. 2018; Gomes et al. 2019).

Alterações como elevação do epitélio, fusão lamelar e hiperplasia são consideradas como os primeiros mecanismos de defesa das brânquias contra estressores ambientais, a exemplo da presença de contaminantes na água (Camargo e Martinez 2007; Georgieva et al. 2014; Paulino et al. 2014; Barni et al. 2016; Yancheva et al. 2016), além das oscilações físicas e químicas do próprio ambiente (Reis et al. 2009; Saber 2011).

Aneurisma lamelar é uma alteração no sistema venoso branquial, constituída de uma vasodilatação prolongada que pode levar à ruptura do epitélio lamelar com consequente hemorragia, afetando especialmente as trocas gasosas nas brânquias (Poleksic e Mitrovic-Tutundzic 1994; Martinez et al. 2004; Cengiz e Unlu 2006). Essa alteração, juntamente com a fusão total de lamela, é considerada mais grave, oriundas de efeitos crônicos que podem ser até irreversíveis (Roberts 2012; Yancheva et al. 2016). Essa histopatologia pode ser causada por ação de contaminantes presentes na água (Camargo e Martinez 2007; Paulino et al. 2014).

Todas essas lesões podem ocorrer para minimizar a absorção de poluentes presentes na água (Mallat 1985; Cerqueira e Fernandes 2002), sendo uma resposta comum a uma grande classe de contaminantes, como organofosforados e metais pesados, bem como à elevada presença de matéria orgânica suspensa na coluna de água.

As lesões branquiais observadas neste estudo indicam que os peixes estão respondendo aos efeitos de agentes tóxicos presentes na água e também no sedimento, pois as brânquias estão em contato direto com a água, bem como, com os poluentes, fazendo com que essas alterações sejam um indicativo de impacto. As alterações morfológicas das brânquias, em resposta a mudanças ambientais, podem representar estratégias adaptativas para conservação de algumas funções fisiológicas (Laurent e Perry 1991).

A frequência das alterações hepáticas encontradas nos exemplares de *Hoplias malabaricus* nos períodos chuvoso e de estiagem estão indicadas na tabela 4.

Tab. 4 Frequências de ocorrência, em porcentagem, das lesões hepáticas em *Hoplias malabaricus* coletados no Lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil

Lesões hepáticas	Período chuvoso	Período de estiagem
	Mai/2019	Out/2019
	%	%
Estádio I		
Núcleo na periferia da célula	100	100
Vacuolização citoplasmática	100	100
Centro de melanomacrófagos	90	80
Deformação do contorno celular	70	50
Atrofia Nuclear	40	40
Hipertrofia nuclear	40	20

Estádio II

Hiperemia	70	50
Degeneração citoplasmática	40	40
Vacuolização nuclear	40	30

Alterações hepáticas de estágio de severidade I e II foram identificadas nos exemplares analisados. A análise histológica de fígado (Fig. 4) mostrou maior frequência de alterações no período chuvoso quando comparado com o período de estiagem. As lesões de estágio I mais comumente observadas foram o núcleo na periferia da célula, vacuolização e centro de melanomacrófagos com frequência de ocorrência mínima de 80%. A lesão de estágio II mais comum foi hiperemia com frequências que variaram de 50% a 70%.

Outras lesões não incluídas no quadro de alterações proposto por Poleksic e Mitrovic Tutundzic (1994), como degeneração gordurosa e dilatação do vaso, também foram observadas nos fígados de *H. malabaricus*.

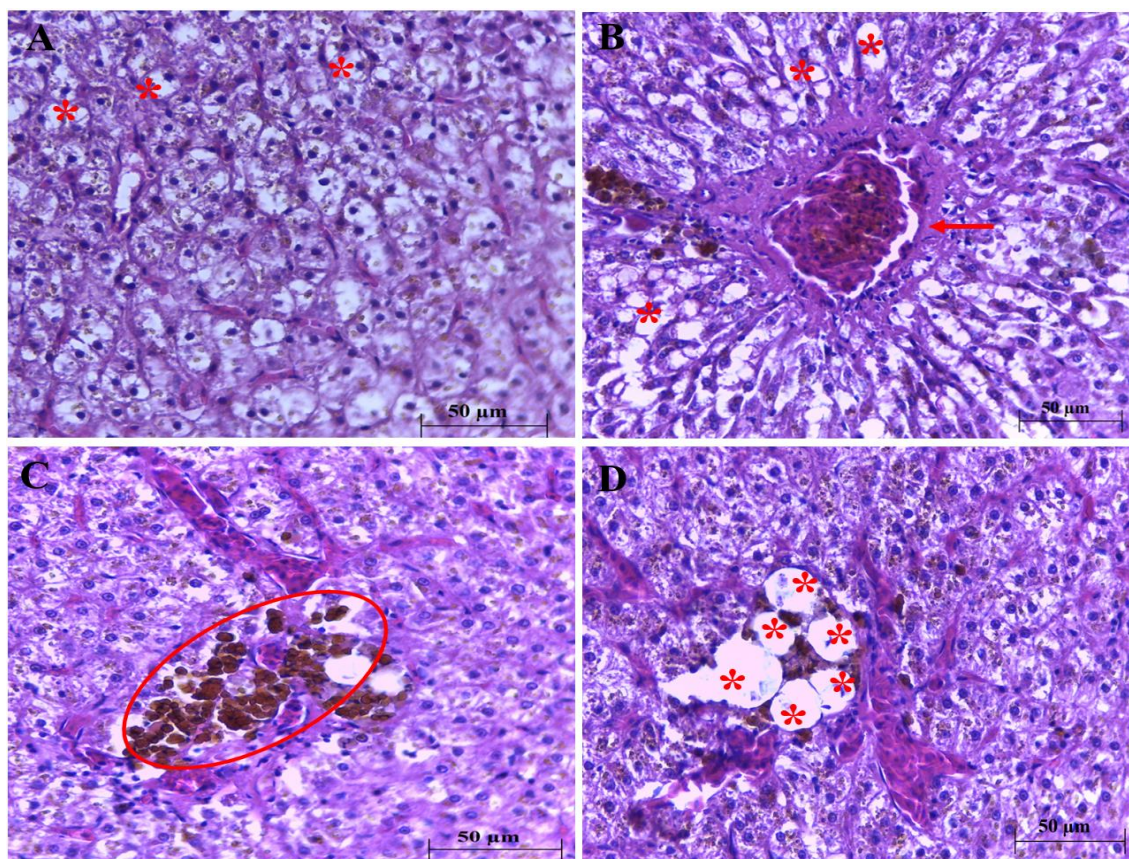


Fig. 4 Alterações hepáticas de *Hoplias malabaricus*. **a-** Núcleo na periferia da célula (asteriscos); **b-** Vacuolização (asteriscos) e dilatação do vaso centrolobular (seta); **c-** Centro melanomacrófago (círculo); **d-** Degeneração gordurosa (asteriscos)

O fígado desempenha importantes funções de desintoxicação, sendo um órgão essencial no metabolismo e na excreção de substâncias tóxicas no corpo do peixe (Van Der Oost et al. 2003; Salamat e Zarie 2012). Assim, estas alterações no fígado dos peixes sinalizam processos degenerativos e podem levar a complicações severas ao metabolismo do organismo, que geralmente estão relacionados à presença de agentes contaminantes no ambiente aquático (Boran et al. 2010; Van Dyk et al. 2012; Ghisi et al. 2016).

Centros de melanomacrófagos são elementos críticos do sistema imune de peixes, incluindo resposta imune contra compostos de origem externa, doenças e condições ambientais (Ferguson 1989; Hartley et al. 1996). Assim, acúmulo de centro de melanomacrófagos em peixes é indicativo de estresse ambiental.

Alterações hepáticas como as observadas neste estudo estão normalmente associadas a peixes expostos a altas concentrações de metais pesados como cobre, cádmio, zinco, herbicidas, organofosforados e pesticidas botânicos (Srivastava et al. 1990; Figueiredo-Fernandes et al. 2007; Van Dyk et al. 2007; Peebua et al. 2008; Authman 2011; Kumar et al. 2013).

A vacuolização citoplasmática decorre da metabolização anormal de lipídeos, podendo resultar no deslocamento do núcleo para a periferia, bem como, na degeneração citoplasmática (Lee et al. 2012; Yancheva et al. 2016). Além disso, essa alteração é uma resposta comumente associada com a exposição a diferentes substâncias tóxicas, como metais pesados (Mishra e Mohanty 2008; Rajamanickam e Narayanan 2009).

Os valores dos Índices de Alteração Histológica (IAH) (Figura 5) diferiram-se entre os órgãos e entre os períodos sazonais, apresentando graus de severidade diferentes.

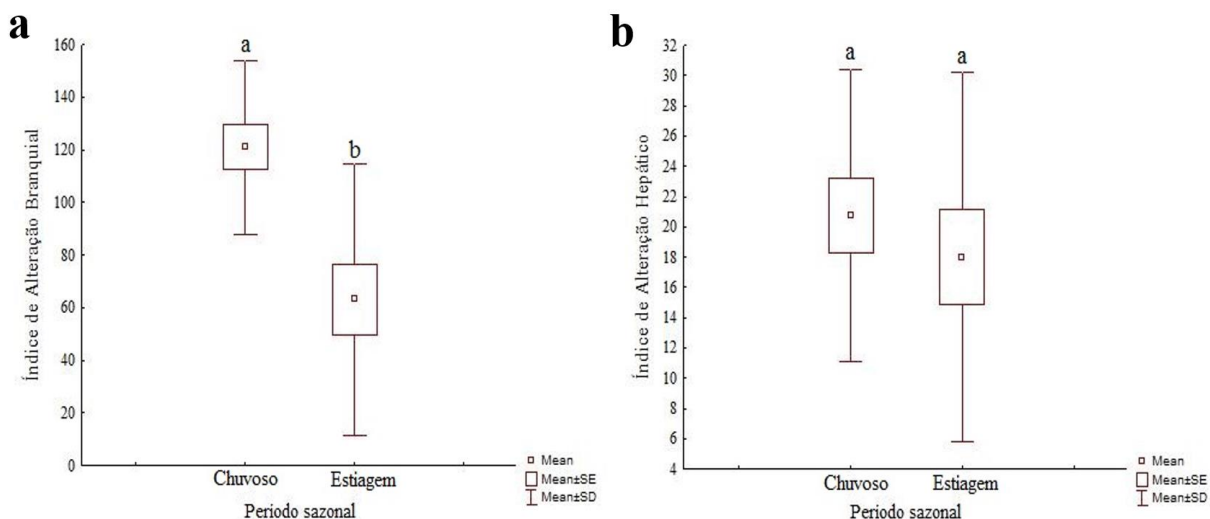


Fig. 5 Índice de alteração histológica (IAH) de brânquias (A) e fígados (B) de *Hoplias malabaricus* coletados no lago do Coqueiro em São João Batista, Maranhão, Brasil. ^{a b} Letras diferentes indicam diferença significativa entre os períodos sazonais pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$)

Diferenças significativas no índice de alteração histológica de brânquia (IAH_B) foram observadas entre os períodos sazonais. No período chuvoso a média do IAH branquial foi de 120, indicando alterações irreversíveis do tecido e no período de estiagem foi de 63, o que indica alterações severas do tecido. A diferença significativa do IAH_B entre os períodos sazonais acentua o fato de que esse órgão é sensível a variações ambientais. Diferenças não foram encontradas no índice de alteração histológica de fígado (IAH_F) entre os períodos sazonais com média de 20,5 e 18 para o período chuvoso e de estiagem respectivamente, sinalizando como alterações leves a moderadas do tecido.

Maiores valores de IAH_B, em relação a IAH_F encontrados no nosso estudo podem ser explicados pelo constante contato da brânquia com água, tornando este órgão muito sensível e o primeiro alvo de contaminantes presentes no ambiente aquático. Dessa forma, as brânquias sofrem inicialmente consequências agudas devido à exposição a contaminantes pelo maior contato com a coluna de água, com as alterações hepáticas indicando efeitos crônicos. Diferenças no índice de alteração histológica entre brânquia e fígado também foram observadas em outros estudos (Paulino et al. 2014; Ghisi et al. 2016; Soares et al. 2020).

Conclusões

O estudo das alterações teciduais em brânquias e fígados e das alterações genotóxicas em *Hoplias malabaricus* como biomarcadores de efeito mostrou-se eficaz para uma análise preditiva da qualidade do ambiente lacustre estudado. As lesões histológicas mostraram-se mais graves em brânquias que em fígado, reforçando a importância do uso de biomarcadores histológicos que respondam de maneira distinta a efeitos de curto e longo prazo aos estressores ambientais. As diferenças nos valores dos índices de alteração histológica indicam que os órgãos respondem de forma diferente aos contaminantes nos períodos sazonais estudados, constituindo-se, assim, excelentes ferramentas para estudos de biomonitoramento.

Agradecimentos: agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Grupo de Pesquisa Biologia e Meio Aquático (Gp BioAqua) da Universidade Estadual do Maranhão (Uema).

Financiamento: Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

Abdel-Moneim AM, Al-Kahtani MA, Elmenshawy OM (2012) Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere* 88: 1028–1035. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.001>

Apha A (2005) Standard methods for examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington

Araújo SCS (2004) Modelos de simulação baseados em raciocínio qualitativo para avaliação da qualidade da água em bacias hidrográficas. Tese, Universidade de Brasília

Authman MMN (2011) Environmental and experimental studies of aluminium toxicity on the liver of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fish. *Life Science Journal* 8: 764–776.

Ayadi I, Monteiro SM, Regaya I, Coimbra A, Fernandes F, Oliveira MM, Peixoto F, Mnif W (2015) Biochemical and histological changes in the liver and gills of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to Red 195 dye. *The Royal Society of Chemistry* 5: 87168-87178. <https://doi.org/10.1039/C5RA13127H>

Barni MFS, Ondarza PM, Gonzalez M, Da Cuña R, Mejjide F, Grosman F, Miglioranza KS (2016) Persistent organic pollutants (POPs) in fish with different feeding habits inhabiting a

shallow lake ecosystem. *Science of the Total Environment* 550: 900-909. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.176>

Barsiene J, Butrimavičienė L, Michailovas A, Grygiel W (2015) Assessing the environmental genotoxicity risk in the Baltic Sea: frequencies of nuclear buds in blood erythrocytes of three native fish species. *Environ Monit Assess* 187: 4078-4090. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4078-x>

Bernet D, Schmidt H, Wahli T, Burkhardt-Holm P (2004) Evaluation of two monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alterations in fish. *Hydrobiologia* 524: 53-66. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000036196.84682.27>

Bollmann HA, Marques DMLM (2006) Influência da densidade populacional nas relações entre matéria orgânica carbonácea, nitrogênio e fósforo em rios urbanos situados em áreas com baixa cobertura sanitária. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental* 11: 343-352. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522006000400007>

Boran H, Altinok I, Capkin E (2010) Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Tissue Cell* 42: 158-164. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2010.03.004>

Brazil (2005) Resolução Conama nº357/005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no Diário Oficial da União. <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705>. Acessado em 02 de março de 2020

Brazil (2011) Resolução Conama nº430/011. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no Diário Oficial da União. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=17214>. Acesso em 02 de março de 2020.

Camargo MMP, Martinez CBR (2007) Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop Ichthyol* 5: 327-336. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252007000300013>

Castro JS, Franca C, Fernandes J, Silva JS, Teixeira EG, Carvalho-Neta RNF (2018) Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 70: 410-418. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9906>

Cardoso RL, Carvalho-Neta RNF, De Castro ACL, Ferreira CFC, Silva MHL, AZEVEDO JWJ, Santos DMS (2018) Histological and Genotoxic Biomarkers in *Prochilodus lacustris* (Pisces, Prochilodontidae) for Environmental Assessment in a Protected Area in the Northeast of Brazil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 101: 570-579. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2464-8>

Carvalho-Neta RNF, Pinheiro-Sousa DB, Macêdo Sobrinho IC, HORTON EY, ALMEIDA ZS, Tchaicka L, SOUSA AL (2015) Genotoxic and hematological parameters in *Colossoma*

macropomum (Pisces, Serrasalmidae) as biomarkers for environmental impact assessment in a protected area in northeastern Brazil. *Environ Sci Pollut* 22: 15994-6003. <http://doi.org/10.1007/s11356-015-4748-4>

Carrasco KR, Tilbury KL, Myers MS (1990) Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 2123-2136. <https://doi.org/10.1139/f90-237>

Cavas T, Garanko NN, Arkhipchuk VV (2005) Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. *Food and Chemical Toxicology* 43: 569-574. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.12.014>

Cengiz EI, Unlu E (2006) Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study. *Environ Toxicol Pharmacol* 21: 246-253. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.08.005>

Cerqueira CCC, Fernandes MN (2002) Gill Tissue Recovery after Copper Exposure and Blood Parameter Responses in the Tropical Fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 52: 83-91. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2164>

Dane H, Sisman T (2015) Histopathological Changes in Gill and Liver of *Capoeta capoeta* living in the Karasu River, Erzurum. *Environ Toxicol* 30: 904-917 <https://doi.org/10.1002/tox.21965>.

Ferraro MVM, Fenocchio AS, Mantovani MS, Ribeiro CDO, Cestari MM (2004) Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. *Genetics and Molecular Biology* 27:103-107. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572004000100017>

Fenech M (2003) The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res* 455:81-95. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00065-8](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00065-8)

Ferguson H (1989) *Systemic pathology of fish: a text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts*. Iowa: Iowa State University Press

Figueiredo-Fernades A, Ferreira-Cardoso JV, Garcia- Santos S, Monteiro SM, Carrola J, Matos P and Fontainhas-Fernandes A (2007) Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27: 103-109. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2007000300004>

Flores-Lopes F, Cetra M, Malabarba LR (2010) Utilização de índices ecológicos em assembleias de peixes como instrumento de avaliação da degradação ambiental em programas de monitoramento. *Biota Neotropica* 10: 183-193.

Fonseca AR, Fernandes LS, Fontainhas-Fernandes A, Monteiro SM, Pacheco FAL (2017) The impact of freshwater metal concentrations on the severity of histopathological changes in fish gills: a statistical perspective. *Science of the Total Environment* 599: 217-226. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.196>

Fonseca AR, Fernandes LFS, Fontainha-Fernandes A, Monteiro SM, Pacheco FAL (2016) From catchment to fish: Impact of anthropogenic pressures on gill histopathology. *Sci Total Environ* 550: 972-986. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.199>.

Fontanele EGP, Martins MRA, Quidute ARP, Montenegro RMM (2010) Contaminantes ambientais e os interferentes endócrinos. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabólica* 54: 6-16. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302010000100003>

Freire CA, Souza-Bastos LR, Chiesse J, Tincani FH, Piancini LDS, Randi MAF, Prodocimo V, Cestari MM, Assis HCS, Abilhoa V, Vitule JRS, Bastos LP, Oliveira-Ribeiro CA (2015) A multibiomarker evaluation of urban, industrial and agricultural exposure of small characins in a large freshwater basin in southern Brazil. *Environ Sci Pollut Res Int* 22: 13263-13277. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4585-5>

Gasparotto FA (2011) Avaliação Ecotoxicológica e Microbiológica da água de nascentes urbanas no município de Piracicaba-SP. Dissertação, Universidade de São Paulo

Georgieva E, Stoyanova S, Velcheva I, Vasileva T, Bivolarski V, Iliev I, Yancheva V (2014) Metal effects on histological and biochemical parameters of common rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.). *Arch. Pol Fish* 22: 197-206. <https://doi.org/10.2478/aopf-2014-0020>

Ghisi NC, Oliveira EC, Mota TEM, Vanzetto GV, Roque AA, Godinho JP, Bettim FL (2016) Integrated biomarker response in catfish *Hypostumus ancistroides* by multivariate analysis in the Pirapó River, southern Brazil. *Chemosphere* 161: 69-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.113>

Gomes JB, Pereira NJ, Sousa EL, Sousa DS, Lenz TM, Santos DMS (2019) Evaluation of aquatic contamination in an urban lagoon environment in a coastal region in the north of Brazil. *Bioscience Journal* 35: 920-932. <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v35n3a2019-39858>

Hartley WR (1996) Liver Lesions in Gar Fish (Lepisosteidae) as Biomarkers of Exposure. *Mar. Environ. Res.*, Oxford 42: 217-221. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(95\)00037-2](https://doi.org/10.1016/0141-1136(95)00037-2)

Hesni MA, Savari A, Sohrab AD, Mortazavi MS (2011) Gill Histopathological changes in Milkfish (*Chanos chanos*) exposed to acute toxicity of diesel oil. *World Applied Sciences Journal* 14: 1487-1492.

Jesus TB, Carvalho CEV (2008) Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio. *Oecologia Brasiliensis* 12: 680-693. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2008.1204.07>

Jordao CP, Pereira MG, Bellato CR, Pereira JL, Matos AT (2002) Assessment of water systems for contaminants from domestic and industrial sewages. *Environ Monit Assess* 79: 75-100. <https://doi.org/10.1023/A:1020085813555>

Kirschbaum AA, Seriani R, Pereira CDS, Assunção A, Abessa DMS, Rotundo MM, Ranzani-Paiva MJT (2009) Cytogenotoxicity Biomarkers in Fat Snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 32: 151-154. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000007>

Krull M, Barros F (2012) Key Issues in Aquatic Ecotoxicology in Brazil: A Critical Review. J Braz Soc Ecotoxicol 7: 57-66. <http://doi.org/10.5132/jbse.2012.02.009>

Kumar A, Prasad M, Srivastava K, Srivastav SK, Suzuki N and Srivastav Ajai K (2013) Cyto-histopathological alterations in the liver of azadirachtin treated catfish, *Heteropneustes fossilis*. Proc National Acad Sci Section B: Biol Sci 83: 609-613. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0169-7>

Laurent P, Perry SF (1991) Environmental effects on fish gill morphology. Physiological Zoology 64: 4-25. <http://www.jstor.org/stable/30158511>

Lee JW, Kim JW, De Riu N, Moniello G, Hung SS (2012) Histopathological alterations of juvenile green (*Acipenser medirostris*) and white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) exposed to graded levels of dietary methylmercury. Aquat Toxicol 109: 90-99. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.12.008>

Liebel S, Tomotake MEM, Oliveira-Ribeiro CA (2013) Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. Ecotoxicol Environ Cont 8: 9-15. <https://doi.org/10.5132/eec.2013.02.002>

Liu XJ, Luo Z, Li CH, Xiong BX, Zhao YH, Li XD (2011) Antioxidant responses, hepatic intermediary metabolism, histology and ultrastructure in *Synechogobius hasta* exposed to waterborne cadmium. Ecotoxicol Environ Saf 74: 1156–1163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.02.015>

Lopes C (2016) Hematoxilina & Eosina. <https://pathologica.com/histoquimica/hematoxilina-eosina/>. Accessed 11 December 2019

Mallatt J (1985) Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. Can J Fish Aquat Sci 42:630–648. <https://doi.org/10.1139/f85-083>

Martinez CBR, Nagae MY, Zaia CTBV, Zaia DAM (2004) Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Braz J Biol 64: 797-807. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842004000500009>

Matsumoto ST, Mantovani MS, Malagutti RIA, Dias AL, Fonseca IC, Marin-morales MA (2006) Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and come assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. Genetics and Molecular Biology 29: 148-158. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000100028>

Miranda JC (2012) Ameaças aos peixes de riachos da Mata Atlântica. Natureza on line 10: 136-139.

Mishra AK, Mohanty B (2008) Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). Environ Toxicol Pharmacol 26: 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.02.010>

Monteiro V, Cavalcante DGSM, Viléla MBFA, Sofia SH, Martinez CBR (2011) In Vivo and in Vitro Exposures for the Evaluation of the Genotoxic Effects of Lead on the Neotropical Freshwater Fish *Prochilodus Lineatus*. *Aquatic Toxicol* 104: 291-98. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.05.002>

Nunes B, Antunes SC, Gomes R, Campos JC, Braga MR, Ramos AS, Correia AT (2015) Acute effects of Tetracycline exposure in the freshwater fish *Gambusia holbrooki*: Antioxidant effects, Neurotoxicity and Histological alterations. *Arch Environ Contam Toxicol* 68: 371-381. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0101-z>

Oliveira SRS, Pinheiro-Sousa DB, Almeida ZS, Castro JS, Carvalho-Neta RNF (2016) Lesões histopatológicas como biomarcadores de contaminação aquática em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes, Cichlidae) de uma área protegida no Maranhão. *Rev Bras Engenharia Pesca* 9: 12-26. <https://doi.org/10.18817/repesca.v9i1.1105>

Palhares D, Grisolia CK (2002) Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Genetics and Molecular Biology* 25: 281-284. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572002000300005>

Paulino MG, Benze TP, Sadauskas-Henrique H, Sakuragui MM, Fernandes JB, Fernandes MN (2014) The impact of organochlorines and metals on wild fish living in a tropical hydroelectric reservoir: bioaccumulation and histopathological biomarkers. *Sci Total Environ* 49-498:293-306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.122>

Peebua P, Kruatrachue M, Pokethitiyook P and Singhakaew S (2008) Histopathological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* in acute and subchronic alachlor exposure. *J Environ Biol* 29: 325–331.

Pereira CDS, Martin-Diaz ML, Zanette J, Cesar A, Choueri AB, Abessa DM de S, Catarino MGM, Vasconcellos MBA, Bairy ACD, SOUSA ECPM de; Del Valls TA (2011) Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone (São Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 1257–1264. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.02.019>

Pereira DP, Santos DMS, Carvalho-Neta AV, Cruz CF, Carvalho-Neta RNF (2014) Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis Niloticus* (Pisces, Cichlidae) como biomarcadores de poluição aquática na Laguna da Jansen, São Luís, Ma (Brasil). *Bioscience Journal* 30: 1213-1221.

Poleksić V, Mitrović-Tutundžić V (1994) Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Oxford, Reino Unido, pp 339-352

Rajamanickam V, Narayanan M (2009) Heavy Metal Induced Histopathological Alterations in Selected Organs of the *Cyprinus carpio* L. (Common Carp). *Int J Environ Res* 3: 95-100.

Ranzani-Paiva MJT, Pádua SB, Tavares-Dias ME, Gami MI (2013) Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá, Brazil

Rautenberg GE, Amé MV, Monferrán MV, Bonansea RI, Hued AC (2015) A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middle-lower basin of Suquia River. *Ecological Indicators* 48: 706-720. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.09.025>

Reis AB, Sant'Ana DMG, Azevedo JF, Merlini LS, Araújo EJA (2009) The influence of the aquatic environment in tanks sequentially interconnected with PVC pipes on the gill epithelium and lamellas of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29: 303-311. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000400005>

Roberts RJ (2012) *Fish Pathology*. Wiley-Blackell, Canadá

Rocha CAM, Almeida VHC, Pinheiro RHS, Cunha LA (2010) Micronuclei and other nuclear abnormalities in acará *Aequidens tetramerus* (Perciforms: Cichilidae) exposed. *Sci Magazine UAKARI* 6: 57-66, 2010. <http://dx.doi.org/10.31420/uakari.v6i2.95>

Saber TH (2011) Histological adaptation to thermal changes in gills of common carp fishes *Cyprinus carpio* L. *Rafidain J Scie* 22: 46-55. <http://dx.doi.org/10.33899/rjs.2011.32464>

Salamat N, Zarie M (2012) Using of fish pathological alterations to assess aquatic pollution: A Review. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 4: 223-231.

Samanta P, Bandyopadhyay N, Pal S, Mukherjee AK, Ghosh AR (2015) Histopathological and ultramicroscopical changes in gill, liver and kidney of *Anabas testudineus* (Bloch) after chronic intoxication of almix (metsulfuron methyl 10.1% + chlorimuron ethyl 10.1%) herbicide. *Ecotoxicology and Environmental safety*. 122: 360-367. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.08.022>

Santos DMS, Melo MRS, Mendes DCS, Rocha IKBS, Silva JPL, Cantanhêde SM, Meletti PC (2014) Histological changes in gills of two fish species as indicators of water quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil). *Int J Environ Res Public Health* 11:12927–12937. <https://doi.org/10.3390/ijerph111212927>

Santos KC, Martinez CBR (2014) Genotoxic and biochemical effects of atrazine and Roundup®, alone and in combination, on the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicol Environ Saf* 100: 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.014>

Seriani R, Ranzani-Paiva MJT, Silva-Souza ÂT, Napoleão SR (2011) Hematology, micronuclei and nuclear abnormalities in fishes from São Francisco river, Minas Gerais state, Brazil. *Acta Sci Biol Sci* 33:107-112. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v33i1.7117>

Silva N, Neto RC, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Gomes RAR, Okazaki MM (2017) *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. ITAL/Núcleo de Microbiologia, Campinas, Brazil

Soares SHC, Souza DBP, Jesus WB, Carvalho-Neta RNF (2020). Biomarcadores histológicos em *Sciades herzbergii* (Pisces, Ariidae) para avaliação de impactos em ambientes estuarinos da Baía de São Marcos, Maranhão. *Arq Bras Med Vet Zootec* 72: 1403-1412. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-11701>

Sousa DBP, Almeida ZS, Carvalho-Neta RNF (2013) Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq bras med vet zootec* 65: 369-376. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000200011>

Srivastava SK, Tiwari PR, Srivastav Ajai K (1990) Histological alterations in the liver architecture of a freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* after chlorpyrifos exposure. *Acta Hydrochimica Hydrobiol* 18: 279-289. <https://doi.org/10.1002/aheh.199001802>

Tabassum H, Ashafaq M, Khan J, Shah MDZ, Raisuddin S, Parevez S (2016) Short term exposure of pendimethalin induces biochemical and histological perturbations in liver, kidney and gill of freshwater fish. *Ecological Indicators* 63: 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.11.044>

Tchobanoglous G, Schroeder ED (1985) *Water quality: characteristics, modelling, modification*. Addison-WesleyPubl, United States

Van Der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol* 13:57–149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)

Van Dyk JC, Pieterse GM, Van Vuren JHJ (2007) Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cádmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 432-440. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.012>

Van Dyk JC, Cochrane MJ, Wagenaar GM (2012) Liver histopathology of sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere* 87: 301-311. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.002>

World Health Organization (WHO) (1993) *Report of the Joint Expert Committee on Food Additives*. JEFCA, United States

Yancheva, V, Velcheva I, Stoyanova S, Georgieva E (2016) Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. *Appl ecol environ Res* 14: 47-75. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1401_047075

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A análise das respostas biológicas de *Hoplias malabaricus* por meio dos biomarcadores histológico e genotóxico indica que o ambiente estudado sofre com impacto ambiental;
- A espécie *H. malabaricus* demonstrou ser uma boa espécie bioindicadora, apresentando diferentes respostas biológicas através dos biomarcadores analisados;
- A espécie *Hoplias malabaricus* está respondendo a estressores advindos da baixa qualidade da água, apresentando frequências significativas de micronúcleos, lesões nucleares, lesões branquiais e hepáticas, indicando que os peixes devem estar expostos a substâncias e/ou a condições ambientais de potencial xenobiótica e genotóxica;
- As alterações histopatológicas nas brânquias e fígado evidenciam que esses órgãos podem ser gravemente afetados pela ação de contaminantes, uma vez que, as lesões identificadas classificam-se como severas e irreversíveis;
- Os valores de infecção dos parasitos foram significativos, com destaque para *Contracaecum sp.* e *Urocleidoides spp.*, porém, outros estudos com outras espécies de peixe são necessários para o melhor entendimento sobre a fauna parasitária dos peixes da região. A alta ocorrência de *Contracaecum s.* em *H. malabaricus* merece atenção, pois são parasitos com potencial zoonótico apresentando risco à saúde pública;
- A utilização de diferentes biomarcadores em peixes do Lago do Coqueiro contribui para avaliação da qualidade hídrica, assim como a sanidade dos peixes e auxilia em programas de biomonitoramento na região da Baixada Maranhense, uma vez que, metodologias com uso de biomarcadores em peixes apresentam facilidades, tais como rapidez e baixo custo.

REFERÊNCIAS

- AB´SABER, A.N. Contribuição à geomorfologia do Estado do Maranhão. **Notícia Geomorfológica**, Campinas, v.3, n.5, p.35-45, abr. 1960.
- ACOSTA, A. A.; CARVALHO, E. D.; SILVA, R. J. Helminths of *Steindachnerina insculpta* in two distinct stretches of the Taquari River, state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22, n.4, p.539-47, 2013.
- ADAMS, S. M. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress in fish. Bethesda, **American Fisheries Society**, 1990.
- ADAMS, S. M. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. **Americas Fishers Society**, v. 3, p. 104-112, 2002.
- ALBA-TERCEDOR, Javier. Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los ríos. **IV Simposio del Agua em Andalucía (SIAGA)**, Almeria-Espanha, vol. II: 203-213, 1996.
- ALSARAKIBI, M.; WADEH, H.; LI G. Influência do fator ambiental em *Argulus japonicus* ocorrência da província de Guangdong, China. **Parasitol Res**, 113 (11): 4073-4083, 2014.
- ANGELIERI, F.; FRANCHI, L.; CEVIDANES, L.H.S.; SCANAVINI, M.A.; MCNAMARA-Jr J.A. Long-term treatment effects of the FR-2 appliance: a prospective evaluation 7 years post-treatment. **Eur J Orthod** 36: 192–199, 2014.
- ANSARI, R. A.; RAHMAN, S.; KAUR, M.; ANJUM, S.; RAISUDDIN, S. In vivo cytogenetic and oxidative stress-inducing effects of cypermethrin in freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 150-156, 2011.
- ANTONELLI, L.; QUILICHINI, Y. & MARCHAND, B. *Sparicotyle chrysophrii* (Van Beneden and Hesse 1863) (Monogenea: Polyopisthocotylea) parasite of cultured Gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linnaeus 1758) (Pisces: Teleostei) from Corsica: ecological and morphological study. **Parasitology Research**, v. 107, p.389-398, 2010.
- ARANTES, F. P.; SAVASSI, L. A.; SANTOS, H. B.; GOMES, M. V. T.; BAZZOLI, N. Bioaccumulation of mercury, cadmium, zinc, chromium and lead in muscle, liver and spleen tissues of a large commercially valuable catfish species from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, 2016.
- ARAÚJO-LIMA, C. A.; BITTENCOURT, M. M. A reprodução e o início da vida de *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae; Characiformes) na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 31, n. 4, p. 693-693, 2001.
- ARAÚJO, N. A.; PINHEIRO, C. V. B. Avaliação sócio-econômica da pesca artesanal e do potencial aquícola na região lacustre de Penalva – APA da Baixada Maranhense. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 21, n. 1, 2008.
- ARAÚJO, S. C. de S.; SALLES, P. S. B. de A.; SAITO, C. H. **Modelos qualitativos, baseados na dinâmica do oxigênio dissolvido, para avaliação da qualidade das águas em bacias hidrográficas**. Desenvolvimento tecnológico e metodológico para medição entre usuários e

comitês de bacia hidrográfica. Brasília: Departamento de Ecologia. Editora da UNB, 2004. p.9-24.

ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Duluth, v. 44, p. 62-72, 1999.

ARSLAN, O. C. & PARLAK, H. Micronucleus Test Good Biomarker for Determination of Genetic Changes in Aquatic Organism. **Journal of Aquatic Pollution Toxicology**, v. 1, n. 3, p. 18, 2017.

ARAÚJO, E. J.; MORAIS, J. O. R.; SOUZA, P. R.; SABOIA-MORAIS, S. M. T. Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivípara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 391-399, 2001.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBUQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUNGNAL, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.

ASHLEY, P. J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 104, p. 199-235, 2007.

BAINY, A.C.D. How to evaluate the safety chemical substances in aquatic environments. **Ciência e Cultura**, v. 45, p. 10-11, 1993.

BARBOUR, M.T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B.D.; STRIBLING, J.B. **Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish**. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C, 1999.

BARROS, L. A.; FILHO, J. M.; OLIVEIRA, R. L. Larvas de nematóides de importância zoonótica encontradas em traí as (*Hoplias malabaricus* Bloch, 1794) no município de Santo Antônio do Leverger, MT. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 533-535, 2007.

BATISTA-NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.; PATCHINEELAM, S. M. (Ed.). **Poluição Marinha**. Rio de Janeiro: EDITORA INTERCIÊNCIA, p. 20, 2008.

BATISTA, N. J. C.; CAVALCANTE, A. A. D. C. M.; DE OLIVEIRA, M. G.; MEDEIROS, E. C. N.; MACHADO, J. L.; EVANGELISTA, S. R.; DA SILVA, J. Genotoxic and mutagenic evaluation of water samples from a river under the influence of different anthropogenic activities. **Chemosphere**, v. 164, n. 1, p. 134-141, 2016.

BAYOUMY, E. M.; OSMAN, H. A. M.; EL-BANA, L. F.; HASSANAIN, M. A. Monogenean parasites as bioindicators for heavy metals status in some Egyptian Red Sea fishes. **Global Veterinaria**, v.2, n.3, p.117-22, 2008.

BECKER, C. D. 1977 Flagellate Parasites of fish *IN* KREIER, J. P. **Parasitic Protozoa. vol1.- Taxonomy, Kinetoplastids, and Flagellates of Fish** – New York: Academic Press, p. 358-412.

BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response. **Aquatic Toxicology**, n. 66, p. 83-92, 2004.

BELIEN, J.A.M.; COPPER, M.P.; BRAAKUIS B.J.M.; SNOW, G.B.; BAAK, J.P.A. Standardization of counting micronuclei - definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. **Carcinogenesis** 16:2395–2400, 1995.

BERVOETS, L.; KNAPEN, D.; DE SONGE, M.; CAMPENHOUT, K. V.; BLUST, R. Differential hepatic metal and metallothionein levels in three feral fish species along a metal pollution gradient. **Plos One**, v. 8, n. 3, 2013.

BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; BAUMGARTNER, G.; MAKRAKIS, M. C.; TAGUTI, T. L. Desenvolvimento inicial de *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae) da planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 141-149, 2008.

BOLOGNESI, C.; HAYASHI, M. Micronucleus assay in aquatic animals. **Mutagenesis**, v. 26, p. 205-213, 2011.

BORGES, R. E.; SANTOS, L. R. S.; ASSIS, R. A.; BENVINDO-SOUZA, M.; FRANCO-BELUSSI, L.; OLIVEIRA, C. Monitoring the morphological integrity of neotropical anurans. **Environmental Science and Pollution Research** 26:2623-2634, 2019.

BOLOGNESI, C.; HAYASHI, M. Micronucleus assay in aquatic animals. **Mutagenesis**, v. 26, p. 205-213, 2011.

BRASIL. **Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000, artigo Nº 15**. Conceitua Área de Proteção Ambiental e dá outras providências. Disponível em: <http://www.rbma.org.br/rbma/pdf/Caderno_18_2ed.pdf>. Acesso em: 02 de abril de 2020.

BRITO, L. O.; LUZ, L. D. Avaliação e monitoramento da qualidade das águas: usando análises moleculares. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, v. 3, n. 2, p. 76-90, 2015.

BRUSSEAU, M. L.; PEPPER, I. L.; ARTIOLA, J. F. Environmental Monitoring and Characterization. Departamento of soil, water & Environmental Science. **Elsevier**. 410 pages. 2004.

BUSCHINI, A.; MARTINO, A.; GUSTAVINO, B.; MONFRINOTTI M, POLI, P.; ROSSI, C.; SANTORO, M.; DÖRR, A. J.; RIZZONI, M. Comet assay and micronucleus test in circulating erythrocytes of *Cyprinus carpio* specimens exposed in situ to lake waters treated with disinfectants for potabilization. **Mutat Res**. 557(2):119-29. 2004.

CAJARAVILLE, M.P.; BENIANNI, J.M.; BLASCO, J.; PORTE, C.; SARASQUETE, C.; VIARENGO, A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal

environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of the Total Environment**, n. 245, p.295- 311, 2000.

CALLISTO, M.; GONÇALVES, J. F. JR.; MORENO, P. **Invertebrados Aquáticos como Bioindicadores**, v. 1, p. 1-12, 2005.

CALLISTO, M.; GOULART, M.; MORETTI, M. Macroinvertebrados Bentônicos como Ferramenta para Avaliar a Saúde de Riachos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 1, p. 71–82, 2000.

CAMPOS NETO, J. R. **Percepção ambiental na bacia do lago do Coqueiro: área do município de Olinda Nova do Maranhão - MA**. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2008.

CANTANHEDE, L. G.; CARVALHO, I. F. S.; SANTOS, N. B.; ALMEIDA, Z. S. Biologia reprodutiva do *Hassar affinis* (Pisces, Siluriformes, Doradidae), Lago de Viana, Baixada Maranhense, Maranhão, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 2, Manaus, apr. /june, 2016.

CARAFFA, E. et al. Determinación de la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos de *Bufo arenarum* que habitan ambientes urbanizados. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 21, n. 2, p. 78-84, 2013.

CAMPOS, C.M.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Histopathology of gills of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) infested by Monogenea and Myxosporea, caught in Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 20(1): 67-70, 2011.

CANTANHEDE, S. M.; MEDEIROS, A. M.; FERREIRA, J. R. C.; ALVES, L. M. C.; CUTRIM, M. V. J.; SANTOS, D. M. S. Uso de biomarcador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) na avaliação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna da Jansen, São Luís – MA. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 593-601, 2014.

CAPUTO, L. F. G.; GITIRANA, L. B.; MANSO, P. P. A. **Técnicas histológicas** (Capítulo 3) in MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratório de saúde. Rio de Janeiro: EPSJV, Vol. 2, 290p, 2010.

CARDIA, D. F. F.; BRESCIANI, K. D. S. 2012. Helmintoses zoonóticas transmitidas pelo consume inadequado de peixes. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 1, p. 55-65, 2012.

CARVALHO-NETA, R. N. F.; DANTAS, J. G.; SOUSA, D. B. P.; ANDRADE, T. S. O. M.; FARIAS FILHO, M. S. Área de Proteção da Baixada Maranhense: desafios atuais e futuros para a gestão dos recursos aquáticos. In: CARVALHO-NETA, R. N. F. (Org.). **Áreas de Proteção Ambiental no Maranhão: situação atual e estratégias de manejo**. São Luís: Editora UEMA, 2015.

CASTRO, J. S.; SILVA, J. S.; FREITAS, L. C.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Biomarcadores histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma

Unidade de Conservação de São Luís (MA). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p. 1687-1694, 2014.

CETESB – Companhia Estadual Técnica de Saneamento Básico e Defesa do Meio Ambiente. **Relatório de qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo**. São Paulo, 2001. Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov/agua/rios/variáveis.asp>> Acesso em: 29 de janeiro de 2020.

CETESB – Companhia Estadual Técnica de Saneamento Básico e Defesa do Meio Ambiente. **Relatório de qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo**. São Paulo, 2009. Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov/agua/rios/variáveis.asp>> Acesso em: 29 de janeiro de 2020.

CHIESSE, J.S. 2010. **Biomarcadores morfológicos e análise química da bile em peixes para a avaliação da qualidade da água do rio Iguaçu**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2010.

COHEN, S.C. On diversity of the monogenoidean fauna in a megadiverse country, Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2013.

COIMBRA, R. S. C.; MASCARENHAS, M. S.; SARAIVA, V. B.; SANTOS, C. R.; LOPES, R. M.; HAUSER-DAVIS, R. A.; CARVALHO, C. E. V. Metal loads and biomarker suite responses in a tropical carnivorous fish indicative of anthropogenic impacts in a Southeastern Brazilian lagoon. **Environmental monitoring and assessment**, v. 190, n. 9, p. 564, 2018.

CONCEICAO, M. V. S.; MOREIRA, J. F.; FARIAS FILHO, M. S. O espaço natural da Baixada Maranhense. In: Marcelino Silva Farias Filho. (org.). **O espaço geográfico da Baixada Maranhense**, v. 1, p. 23-32. (2 ed.). 2ed. São Luís -MA: Editora da Universidade Federal do Maranhão - EDUFMA, 2013.

CORRÊA, F.; OLIVEIRA, E. F.; POUÉY, J.; PIEDRAS, S. Length-weight relationship of trahira *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794) in a regulated stream of southern Brazil. **Revista Biotemas**, v. 29, p. 169-174, 2016.

COSTA, J. R. M. A.; MELA, M.; DE ASSIS, H. C. D. S.; PELLETIER, E.; RANDI, M. A. F.; DE OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Enzymatic inhibition and morphological changes in *Hoplias malabaricus* from dietary exposure to lead (II) or methylmercury. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 67, n. 1, p. 82-88, 2007.

COSTA NETO, J.P. **Bases limnológicas para manejo de tanques de cultivo de peixes - São Carlos**. 1990. 240p. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo São Paulo-SP, 1990.

DE OLIVEIRA, L. P. H. Poluição das águas marítimas: estragos na flora e fauna do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 56, n. 1, p. 39-59, 1958.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Maringá: Eduem, ed. 2ª, 199 p. 2006.

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. **Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: Clichetec, 2006, 333p. 2010.

FEITOSA, A. C.; TROVÃO, J. R. **Atlas escolar do Maranhão: espaço geo históricocultural**. v. 1. 207 p. João Pessoa: Editora Grafset, 2006.

FENECH, M.; HOLLAND, N.; CHANG, W.P.; ZEIGER, E.; BONASSI, S. The human micronucleous project-an international collaborative study on the use of micronucleous technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research**, v. 428, p. 271-283, 1999.

FONTANA, M.; TAKEMOTO, R.M.; MALTA, J.C.O.; MATEUS, L.A.F. Parasitismo por argulídeos (Crustacea: Branchiura) em piranhas (Osteichthyes: Serrasalminidae) capturadas nas baías do Caiçara, alto rio Paraguai, Pantanal, Mato Grosso, Brasil. **Neotrop Ichthyol**, 10 (3): 653-659, 2012.

FRENZILLI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B. P. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. **Mutation Research**, v. 681, p. 80-92, 2009.

FUENTES-RIOS, D.; ORREGO, R.; RUDOLPH, A.; MENDOZA, G.; GAVILAN, J.F.; BARRA, R. EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the South Pacific Ocean. **Chemosphere**, v. 61, p. 192-199, 2005.

FUNO, I. C. S. A.; PINHEIRO, C. V. B.; MONTELES, J. S. Identificação de tensores ambientais nos ecossistemas aquáticos da Área de Proteção Ambiental (APA) da Baixada Maranhense. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 1, 2010.

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

GALLOWAY, T.S.; BROWN, R.J.; BROWNE, M.A.; DISSANAYAKE, A.; LOWE, D.; JONES, M.B.; DEPLEDGE, M.H. A multi-biomarker approach to ecosystem management. **Marine Environmental Research**, 58, 233-237, 2004.

GARCIA, E. S. Biodiversidade, biotecnologia e saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, n. 3, 1995.

GAY, M.; BAO, M.; MACKENZIE, K.; PASCUAL, S.; BUCHMANN, K.; BOURGAU, O.; LEVSEN, A. Infection levels and species diversity of ascaridoid nematodes in Atlantic cod, *Gadus morhua*, are correlated with geographic area and fish size. **Fisheries Research**, v. 202, n. 1, p. 90-102, 2018.

GIATTI, L. L.; CUTOLO, S. A. Acesso à água para consume e aspectos de saúde pública na Amazônia Legal. **Ambiente & Sociedade**, v. 15, n. 1, p. 93-109, 2012.

GONZALES, E, C, L.; LARRIERA, P.A.; POLETTA, G.L. Micronuclei and other nuclear abnormalities on Caiman latirostris (Broad-snouted caiman) hatchlings after embryonic exposure to different pesticide formulations. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 136: 84-91, 2017.

GOULART, M. D. C.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade da água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista FAPAM**, 2003.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos, mutações, câncer e reprodução**. Editora UnB, p. 292, 2005.

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

HAGAR, H. H.; FAHMY, A. H. A. biochemical histochemical, and ultrastructural avaluation of the effect of dimethoate intoxication on rat pancreas. **Toxicology Letters (Shannon)**, v. 133, n. 2, p. 161-170, 2002.

HEATH, A. G. **Water Pollution and Fish Physiology**. C.R.C. Press, 1987.

HENDRIX, S. **Marine flora and fauna of the eastern United States. Platyhelminthes: Monogenea**. NOAA Technical Report, 106 p. 1994.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology normal and pathological features**. New York: Gustav Fisher Verlag, 1982.

HILTON, D. E.; COUCH, J. A. Architectural pattern, tissue and cellular morphology in livers of fishes: relationship to experimentally-induced neoplastic responses. **Fish Ecotoxicology**, v. 86, p. 141-164, 1998.

HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. Histopathologic Biomarkers. In: HUGGETT R. J.; KIMERLI, R. A.; MEHRLE Jr, P. M.; BERGMAN, H. L. **Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. cap. 4, p. 155 –196.

HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. **Histopathologic biomarkers**. In: Biomarkers. CRC Press, 2018. p. 155-210.

HU, H.; KIM, N. K. Drinking-water pollution and human health. In: CHIVIAN, E. *et al.* (Ed). **Critical condition: human health and the environment**. 2nd ed. Cambridge, MA: MIT Press, 1994.

IBGE. Perfil dos municípios brasileiros. 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/perfildosmunicipios>>. Acesso em: 04 de abril de 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico**. 2010. Disponível em: <<http://cod.ibge.gov.br/19DL>>. Acesso em: 06 abril de 2020.

IWASHITA, M.K.P.; MACIEL, P.O. Princípios básicos de sanidade de peixes. In: RODRIGUES, A.P.O., LIMA, A.F., ALVES, A.L., ROSA, D.K., TORATI, L.S., SANTOS,

V.R.V. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. EMBRAPA. Brasília-DF, p. 248, 2013.

JAVED, M.; AHMAD, I.; USMANI, N.; AHMAD, M. Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. **Chemosphere**, v. 151, n. 1, p. 210-219, 2016.

JAVED, M.; USMANI, N. An overview of the adverse effects of heavy metal contamination on fish health. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 89, n. 2, p. 389-403, 2019.

JERÔNIMO, G.T.; SPECK, G.M.; CECHINEL, M.M.; GONÇALVES, E.L.T.; MARTINS, M.L. Seasonal variation on the ectoparasitic communities of Nile Tilapia cultured in three regions in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, n.2, p. 365-373, 2011.

JERÔNIMO, G.T. et al. Haematological and histopathological analysis in South American fish *Piaractus mesopotamicus* parasitized by monogenean (Dactylogyridae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 4, p. 1000-1006, 2014.

JESUS, I. S.; CESTARI, M. M.; DE ALMEIDA BEZERRA, M.; DE MELLO AFFONSO, P. R. A. Genotoxicity effects in freshwater fish from a Brazilian impacted river. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 96, n. 4, p. 490-495, 2016.

KARR, J. R. Biological integrity: A long neglected aspect of water resource management. **Ecological Applications**, v. 1, p. 66-84, 1991.

KARR, J. R. Rivers as sentinels: using the biology of rivers to guide landscape management. In: NAIMAN, R. J.; BILBY, R. E. Ed. **River Ecology and Management: lessons from the Pacific Coastal Ecoregion**. Springer-Verlag, New York. p. 502-528, 1998.

KIRBY, M. F.; GIOIA, R.; LAW, R. I. The principles of effective post – spill environmental monitoring in marine environments and their applications to prepared ness assessment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 82, n. 1-2, p. 11-18, 2014.

KIRSCHBAUM, A. A.; SERIANI, R.; PEREIRA, C.D.S.; ASSUNÇÃO, A.; ABESSA, D.M.S.; ROTUNDO, M.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Cytogenotoxicity Biomarkers in Fat Snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, 32, 1, 151-154, 2009.

KRITSKY, D.C.; THATCHER, V.E.; BOEGER, W.A. Neotropical Monogenea. Revision of Urocleidoides (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae). **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, 53, 1–37, 1986.

KUBITZA, F.; K, L. M. M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 5 ed. Jundiaí: F. Kubitza, 130p, 2013.

JHA, A. N. Genotoxic studies in aquatic organisms: on overview. **Mutation Research**, v. 552, 1-17, 2004.

LAFONTAINE, T. C. **Implicações ambientais e territoriais: socioeconomia da construção da MA 014 para a Microrregião da Baixada Maranhense**. 2011. 108f. Dissertação (Mestrado em Geografia), Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2011.

LAMBOOIJ, E.; VAN DE VIS, J. W.; KUHLMANN, H.; MÜNKNER, W.; OEHLENSCHLÄGER, J.; KLOOSTERBOER, R. J.; PIETERSE, C. A. A feasible method for humane slaughter of eel (*Anguilla Anguilla* L.): electrical stunning in freshwater prior to gutting. **Aquaculture Research**, v. 33, p. 643-652, 2002.

LAURENT, P.; PERRY, S.F. Environmental effects on fish gill morphology. **Physiol. Zool**, Chicago, v.64, p. 4-25. 1991.

LIBÂNIO, P. A. C.; CHERNICHARO, C. D. L.; NASCIMENTO, N. D. O. A dimensão da qualidade da água: avaliação da relação entre indicadores sociais, de disponibilidade hídrica, de saneamento e de saúde pública. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 29-228, 2005.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIR, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CÍRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento aquático. **Revista Acadêmica das Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba, v. 8, p. 469- 484, 2010.

LOM, J. Biology of Trypanosomes and Trypanoplasms of fish. *IN*: LUMSDEN, W. H. R. 1979. ed. **Biology of Kinetoplastidae** – Vol.2. p.269-337.

LÔNDERO, E.; GARCIA, C. Sovergs. **Site Higienistas**, 2010. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/higienistas/trbalhos/10474.pdf>>. Acesso em: 12 de março de 2020.

LUQUE, J. L. Biologia, Epidemiologia e controle de parasitas de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2004. 13(1), p. 161-164.

MACHADO, M. T. S.; BAPTISTA, G. M. M. Sensoriamento remoto como ferramenta de monitoramento da qualidade da água do Lago Pararuvá (DF). **Engenharia Sanitária & Ambiental**, v. 21, n. 2, 2016.

MADI, R. R.; UETA, M. T. O papel de Ancyrocephalinae (Monogenea: Dactylogyridae), parasito de *Geophagus brasiliensis* (Pisces: Cichlidae), como indicador ambiental. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.2, p.38-41, 2009.

MAJER, B.J.; LAKY, B.; SNASMULLER, S.; KAISSIE, F. Use of the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. **Mutat Res** 489:147–172, 2001.

MANNARINO, C. F.; MOREIRA, J. C.; FERREIRA, J. A.; ARIAS, A. R. L. Avaliação de impactos do efluente do tratamento combinado de lixiviados de aterro de resíduos sólidos urbanos e esgoto domésticos sobre a biota aquática. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 11, p. 3235-3243, 2013.

MARANHÃO. **Decreto nº 11.900 de 11 de Junho de 1991**. Cria, no Estado do Maranhão, a Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense compreendendo 03 (três) Sub-Áreas:

Baixo Pindaré, Baixo Mearim-Grajaú e Estuário do Mearim-Pindaré – Baía de São Marcos incluindo a Ilha dos Caranguejos. Disponível em: <<http://www.oads.org.br/leis/2192.pdf>>. Acesso em: 02 de abril de 2020.

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**. Londrina: 2002. Cap. 29, p. 551 – 577.

MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.J.; SCHALCH, S.H.C.; ONAKA, E.M. Parasitic Infections in Cultivated Freshwater Fishes. A survey of diagnosed cases from 1993 to 1998. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 1, p.23-28, 2000.

MARCOGLIESE, D. J.; CONE, D.K Parasite communities as indicators of ecosystem stress. **Parassitologia**, v.39, p.227–232. 1997.

MASSARO, F. C. **Estudos ecotoxicológicos com *Hydra viridissima* (Cnidaria: Hydrozoa)**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006. 108p.

MATTHEWS, R. A.; JUNIOR, A.L.B.; JUNIOR, J.C.; JUNIOR, J.H.R. Biological monitoring: Part IIA - Receiving system functional methods, relationships and indices. **Water Research**, v. 16, n. 2, p. 129-139, 1982.

MAZON, A. F.; MONTEIRO, E.A.S.; PINHEIRO, G.H.D.; FERNANDEZ, M.N. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4a, p. 621–631, 2002.

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

METCALFE, J. L. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. **Environmental Pollution**, v. 60, p. 101-139, 1989.

MIKHEEV, V.N.; PASTERNAK, A.F.; VALTONEN, E.T. Adaptações comportamentais de parasitas argulídeos (Crustacea: Branchiura) aos principais desafios do seu ciclo de vida. **Vetores parasitas**, 8 (1): 394, 2015.

MONSERRAT, J. M.; GERACITANO, L. A.; BIANCHINI, A. Current and future perspectives using biomarkers to assess pollution in aquatic ecosystems. **Comments on Toxicology**, v. 9, p.255-269, 2003.

MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

MOREIRA, J.; SCHOLZ, T.; LUQUE, J.L. First data on the parasites of *Hoplias aimara* (Characiformes): description of two new species of gill monogeneans (Dactylogyridae). **Acta Parasitologica** 60, 254–260, 2015.

MORTATTI, J.; HISSLER, C.; PROBST, J. L. Distribuição de Metais Pesados nos Sedimentos de Fundo ao Longo da Bacia do Rio Tietê. **Revista do Instituto de Geociências – USP, Sér. cient.**, São Paulo, 10 (2), 3-11, 2010.

MOZETO, A.A.; PATELLA, E. Como avaliar a qualidade da água de mananciais. **Ciência Hoje**, 22 (127), 16-19, 1997.

MOZETO, A.A.; SILVÉRIO P.F.; DE PAULA F.C.F.; BEVILACQUA J.E.; PATELLA E.; JARDIM W.F. (2003). Weakly-bound metals and total nutrient concentrations of bulk sediments from some water reservoir in São Paulo State, SE Brazil. En: MUNAWAR M. (Ed.). **Sediment Quality assessment and management: insight and progress**. Ecovision World Monograph Series. Aquatic Ecosystem Health & Management Society.

MULLER, M.I.; CECCARELLI, P.S.; UETA, M.T. Supplementary studies on *Anacanthorus penilabiatus* and *Mymarothecium viatorum* (Monogenea: Dactylogyridae) from *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes: Serrasalminidae) in Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 61, p. 508-515, 2016.

NACHEV, M. **Bioindication capacity of fish parasites for the assessment of water quality in the Danube River**. Inaugural – Dissertation. Universität Duisburg- Essen, 2010.

NASCIMENTO, R.D.L. **Proposição de Valores de Referência para a concentração de metais e metalóides em sedimentos límnicos e fluviais da Bacia Hidrográfica do rio Tietê, SP**. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 142p. 2003.

NIGRO, M.; FALLENI, A.; BARGA, I. D.; SCARCELLI, V.; LUCCHESI, P.; REGOLI, F.; FRENZILLI, G. Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: transplanted versus native mussels. **Aquatic Toxicology**, v. 77, n. 4, p 339-347, 2006.

NOGUEIRA, N. M. C. **Estrutura da comunidade fitoplanctônica, em cinco lagos marginais do Rio Turiaçu, (Maranhão, Brasil) e sua relação com o pulso de inundação**. 2003. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 2003.

NOGUEIRA, D. J.; CASTRO, S. C.; SÁ, O. R. Utilização das brânquias de *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000) (Teleostei, Characidae) como biomarcador de poluição ambiental no reservatório UHE Furnas–MG. **Revista Brasileira de Zoociências**, v.11, n. 3, 2011.

NOGA, E. J. **Fish Disease: diagnosis and treatment**. St Louis: Mosby-Year Book, 2. Ed. p. 367, 1996.

NOGUEIRA, C.; BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; OYAKAWA, O.T.; KASECKER, T.P.; NETO, M.B.R.; DA SILVA, J.M.C. Restricted-Range fishes and the conservation of Brazilian freshwaters. **Plos one**, v. 5, n. 3, 2010.

NOVAES, J. L. C.; CARVALHO, E. D. Population structure and stock assessment of *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) caught by artisanal fishermen in river reservoir transition area in Brazil. **Revista de Biología Tropical**, v. 59, n. 1, p. 71-83, 2011.

NRIAGU, J.O. (1990). A history of global metal pollution. **Science**, 272, 223-224.

OKUMURA, M. P. M.; Pérez, A. C. A.; Filho, A. E. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado – revisão. **Revista de Educação Continuada – CRMVSP**, v. 2, n. 2, p. 66-80, 1999.

OLIVEIRA, S. R. S.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; DE ALMEIDA, Z. D. S.; DA SILVA CASTRO, J.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Lesões histopatológicas como biomarcadores de contaminação aquática em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes, Cichlidae) de uma Área Protegida no Maranhão. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 9, n. 1, p. 12-26, 2016.

PÁDUA, S. B.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 2013. 140p.

PAUW, N.; VANHOOREN, G. Method for biological quality assessment of watercourses in Belgium. **Hydrobiologia**, v 100, p. 153-168, 1983.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. Doenças de peixes: **Profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2008, 305p.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Eduem, 2ª ed., 305 p. 2002.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**, São Paulo: Pearson Education do Brasil LTDA, v. 2, p. 552, 1996.

PETRY, A. C.; AGOSTINHO, A. A.; PIANA, P. A.; GOMES, L. C. Effects of temperature on prey consumption and growth in mass of juvenile trahira *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794). **Journal of Fish Biology**, v. 70, p. 1855–1864, 2007.

PINHEIRO-SOUSA, D. B. **Um modelo preditivo baseado em biomarcadores em peixes aplicado a uma área protegida do Maranhão**. 2015. 88 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca), Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2015.

PINTO, A. L.; OLIVEIRA, G. H. DE.; PEREIRA, G. A. Avaliação da eficiência da utilização do oxigênio dissolvido como principal indicador da qualidade das águas superficiais da Bacia do Córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. **Rev. GEOMAE**, v. 1, n. 1, p. 69-82, 2010.

POLLO, F. E.; BIONDA, C. L.; SALINAS, Z. A.; SALAS, N. E.; MARTINO, A. L. Common toad *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) and its importance in assessing environmental health: test of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes. **Environmental Monitoring and Assessment**. v. 187, p. 581, 2015.

PRATT, J. M.; COLER, R. A. A procedure for the routine biological evaluation of urban runoff in small rivers. **Water Research**, v. 10, p. 1019-1025, 1976.

RAMSAR CONVENTION MANUAL. **The Ramsar Convention Manual: a guide to the Convention on Wetlands (Ramsar, Iran, 1971)**, 6th ed. Ramsar Convention Secretariat, Gland, Switzerland. 2013.

RAMSDORF, W. **Utilização de duas espécies de *Astyanax* (*Astyanax* sp B e *A. altiparana*) como bioindicadores de região contaminada por agrotóxico (Fazenda Cangüiri – UFPR)**. 127 f. Dissertação (Mestrado em Genética), Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

RAZZOLINI, M. T. P.; GUNTHER, W. M. R. Impactos na saúde das deficiências de acesso a água. **Saúde & Sociedade**, v. 17, n. 1, p. 21-32, 2008.

REIS, A. B.; SANT'ANA, D.M.G.; AZEVEDO, J.F.; MERLINI, L.S.; ARAÚJO, E.J.A. The influence of the aquatic environment in tanks sequentially interconnected with PVC pipes on the gill epithelium and lamellas of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.29, n. 4, p.303–311, 2009.

RESH, V. H.; NORRIS, R. H.; BARBOUR, M. T. Design and implementation of rapid assessment approaches for water resource monitoring using benthic macroinvertebrates. **Australian Journal of Ecology**, v. 20, p. 108-121, 1995.

RIVA, C. C.; TIOZO, C. A. S.; MOREIRA, A. M. M. A. M.; LIMA, M. M. Impactos Ambientais no Córrego Velha Joana do Município de Primavera do Leste–Mato Grosso. **UNICIÊNCIAS**, v. 20, n. 2, p. 88-94, 2017.

RODRIGUES, A. C. D.; DOS SANTOS, A. M.; DOS SANTOS, F. S.; PEREIRA, A. C. C.; SOBRINHO, N. M. Mecanismos de respostas das plantas à poluição por metais pesados: Possibilidade de uso de macrófitas para remediação de ambientes aquáticos contaminados. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 262-276, 2016.

ROSIM, D.F.; MENDONZA–FRANCO, E.F.; LUQUE, J.L. New and previously described species of Urocleidoides (Monogenoidea: Dactylogyridae) infecting the gills of *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from Brazil. **Journal of Parasitology** 97, 406–417, 2011.

ROSS, K.; COOPER, N.; BIDWELL, J. R.; ELDER, J. Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: a comparison between populations from contaminated and reference site. **Marine Pollution Bulletin**. v. 44, p. 671- 679, 2002.

RUSSO, C.; ROCCO, L.; MORESCALCHI, M. A.; STINGO, V. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. **Ecotoxicol Environ Saf.** 57(2):168-74, 2004.

SAAD, C. D.; LUQUE, J. L. Larval Anisakidae in musculature of *Pagrus pagrus* from the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 18, Suple 1, p. 71-73, 2009.

SANTANA, J. S. **Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal**. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília – DF.

SANTOS, A.B.; MELO, J.F.B.; LOPES, P.R.S.; MALGARIM, M.B. Composição química e rendimento do filé da traíra (*Hoplias malabaricus*). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana** 7/8 (1): 33-39, 2001.

SANTOS, D.R. **Uso de biomarcadores na avaliação da resposta de peixes à poluição aquática nos reservatórios do Iraí e Passaúna**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2013.

SARAIVA, A.; COSTA, J.; SERRÃO, J.; CRUZ, C.; EIRAS, J. C. A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, 448 (4): 375-381, 2015.

SARPAL, R.S.; TANEJA, N.; SHERGILL, N.K.; RAVINDRA, S.V. Biomonitoring of Buccal Mucosa Cells in Chronic Smokers and Nonsmokers. **World Journal of Dentistry**, 7:189- 194, 2016.

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

SCHAUMBURG, L.G.; POLETTA, SIROSKI, P.A.; MUDRY, M.D. 2012. Baseline values of Micronuclei and Comet Assay in the lizard *Tupinambis merianae* (Teiidae, Squamata). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 84: 99-103, 2012.

SHIBATA, T.; SOLO-GABRIELE, H. M.; FLEMING L. E.; ELMIR, S. Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment. **Water Research**, v. 38, p. 3119-3131, 2004.

SIDDALL, R.; KOSKIVAARA, M.; VALTONEN, E. T. Dactylogyrus (Monogenea) infections on the gills of roach (*Rutilus rutilus* L.) experimentally exposed to pulp and paper mill effluent. **Parasitology**, v.114, p.439-46, 1997.

SILVA, A. C; MOURA, E. G. Atributos e especificidades de solos de baixada no Trópico Úmido. In MOURA, E. G. (org.). **Agroambientes de Transição entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil**. São Luís: UEMA, 2004.

SILVA-SOUZA, A. T.; SHIBATTA, O. A.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; TUNDISI, J.G.; DUPAS, F. A. Parasitas de peixes como indicadores de estresse ambiental e eutrofização. In: TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; GALLI, P. (Org.) **Eutrofização na América do Sul: causas, consequências e tecnologias para gerenciamento e controle**. São Carlos: Instituto Internacional de Ecologia, 1 ed, 2006. p.373-386.

SOUSA, R. G. C.; PIÑEYRO, J. I. G.; CARDOSO, N. A.; ANDRADE, J. E.; DA SILVA, J. G.; BARBOSA, H. T. B. Stocking density and its effects to the zootechnical development of young tambaqui in an intensive production system. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 1, p. 80-92, 2016.

SPERLING, E. V. Considerações sobre a saúde de ambientes aquáticos. **Bio**, v. 2, n. 3, p. 53-56, 1993.

STEGEMAN, J. J.; BROUWER, M.; DI GIULIO, R. T.; FÖRLIN, L.; FOWLER, B. A.; SANDERS, B.M.; VAN VELD, P. A. Molecular Responses to Environmental Contamination: Enzyme and Protein Systems as Indicators of Chemical Exposure and Effect. In: HUGGETT, R.J., KIMERLY, R.A., MEHRLE JR., P.M., BERGMAN, H.L. (Eds.) **Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress**, Lewis Publishers., p. 235-335, 1992.

STRIEDER, M. N.; RONCHI, L. H.; STENERT, C.; SCHERER, R. T.; NEISS, U. G. Medidas biológicas e índices de qualidade de água de uma microbacia com poluição urbana e de curtumes no sul do Brasil. **Acta Biológica Leopondensia**, v. 28, n. 1, p. 17-24, 2006.

SUDEMA. Superintendência do Desenvolvimento do Maranhão. Novo Zoneamento do Estado do Maranhão. São Luís, 1970.

SURES, B. Environmental parasitology: Interactions between parasites and pollutants in the aquatic environment. **Parasite**, 15, 434–438, 2008.

SURES, B.; TARASCHEWSKI, H.; JACKWERTH, E. Comparative study of lead accumulation in different organs of perch (*Perca fluviatilis*) and its intestinal parasite *Acanthocephalus lucii*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.52, p.269–273. 1994.

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

TAKEMOTO, R.M et al. Parasitos de Peixes de Águas Continentais. In: RANZANI – PAIVA, M. J. T; TAKEMOTO, R. M; LIZAMA, M. (Org) de Los. **A sanidade de Organismos Aquáticos**. Editora São Paulo. p.177-198. 2004.

TAKEMOTO, R. T.; LUQUE, J. L.; BELLAY, S.; LONGHINI, C. E.; GRACA, R. J. (2013) Monogenea. pp. 273–279 in Pavanelli, G.C., Takemoto, R.M. & Eiras, J.C. (Eds) **Parasitologia, Peixes de água doce do Brasil**. Maringá, Eduem.

TEH, S. J.; ADAMS, S. M.; HINTON, D. E. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. **Aquatic Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 51–70, 1997.

THATCHER, V. E. **Aquatic Biodiversity in Latin America: Amazon Fish Parasites**. Bulgaria: Pensoft, 2^a ed., p. 509, 2006.

THOMAS, P.; HOLLAND, N.; BOLOGNESI, C.; KIRSCH-VOLDERS, M. BONASSI, S. ZEIGER, E. KNASMUELLER, S. FENECH, M. Buccal micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**. 4: 825–837, 2009.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAN, E. S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARIKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**, v. 121, p. 307-320. 2003.

TCHOBANOGLOUS, G.; SCHROEDER, E. D. **Water quality - characteristics, modelling, modification**. Addison-Wesley Publ. Co. EUA, 1985.

VAMPRÉ, T. M.; FUCCILLO, R.; ANDRÉA, M. M. Oligoqueta *Eisenia andrei* como bioindicador de contaminação de solo por hexaclorobenzeno. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2010.

VANZELLA, T. P.; MARTINEZ, C. B.; CÓLUS, I. M. Genotoxic and mutagenic effects of diesel oil water soluble fraction on a neotropical fish species, **Mutat Res.** 631(1):36-43, 2007.

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. (eds.) **Principles of Ecotoxicology**. Londres: Taylor & Francis, 1996.

WANG, D.; SINGHASEMANON, N.; GOH, K. S. A statistical assessment of pesticide pollution in surfasse Waters using environmental monitoring data: chlorpyritosin Central Valley, California. **Science of the Total Environment**, v. 571: p. 332 – 341, 2016.

WESTER, P. W.; CANTON, J. H. The usefulness of histopathology in aquatic toxicity studies. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 115-117, 1991.

WOO, P. T. K. Diplomonadida (Phylum Parabasalia) and Kinetoplastea (Phylum Euglenozoa). In: _____. **Fish diseases and disorders: protozoan and metazoan infections**. 2. ed. [S.l.]: CAB International, v. 1, p. 46-115, 2006.

WOO, P. T. K. **Fish Diseases and Disorders –Protozoan and Metazoan Infections**. Cambrigde: CAB International. v. 1, 808p. 1995.

WHITFIELD, J. Vital signs. **Nature**, v. 411, n. 28, p. 989 -990, 2001.

WILLIAMS, H. H.; MACKENZIE; K.; MACCARTHY, A. M. Parasites as biological indicators of the population biology, migration, diet and phylogenetics of fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.2, p.144–176,1992.

WRIGHT, J. F. Development and use of a system for predicting macroinvertebrates in flowing waters. **Australian Journal of Ecology**. v 20, p. 181-197, 1995.