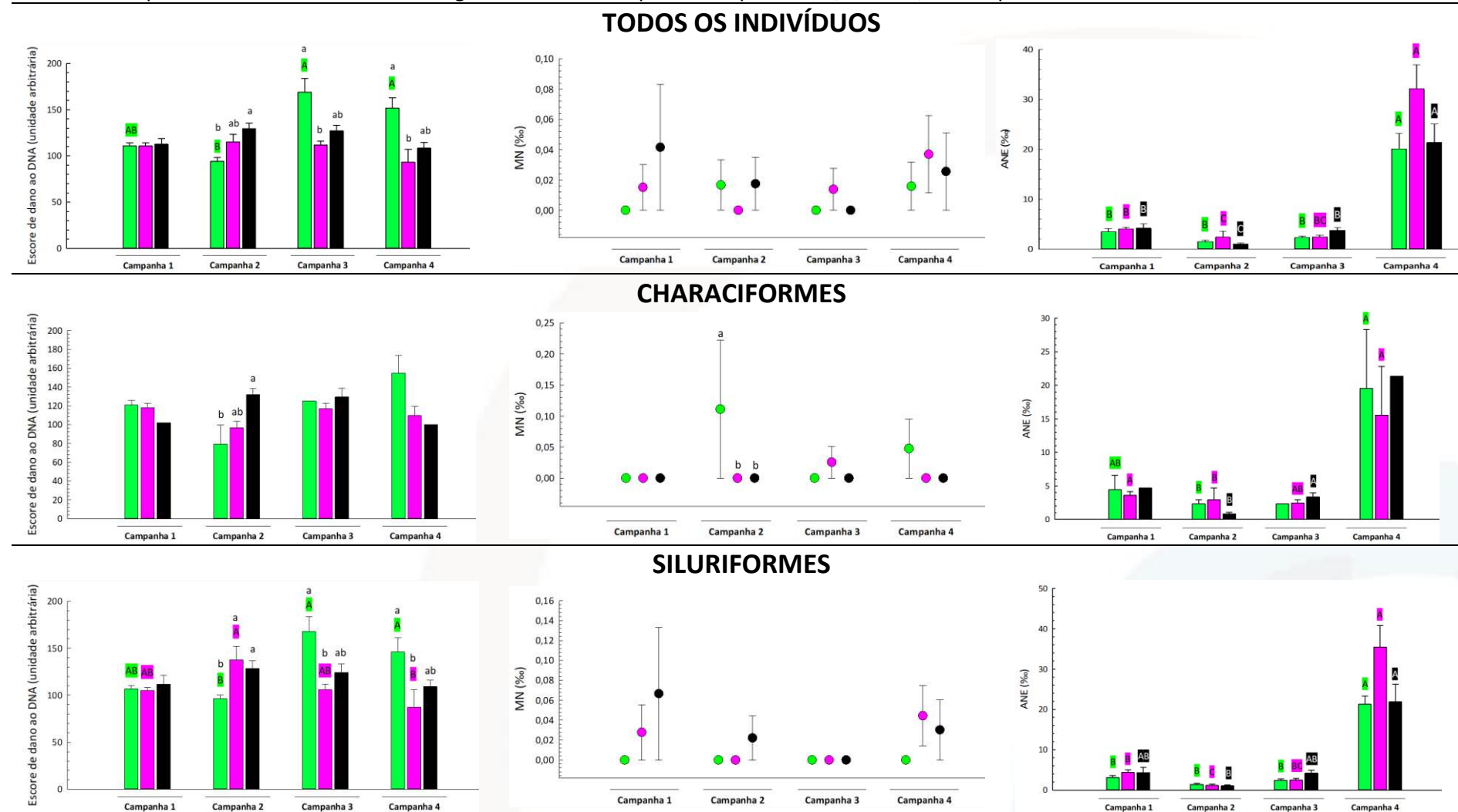
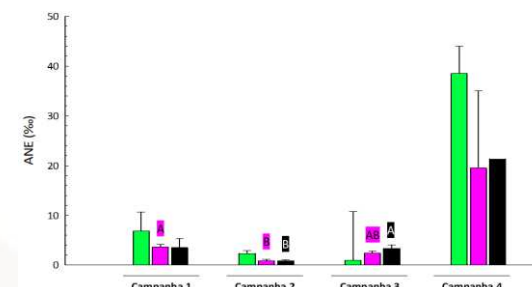
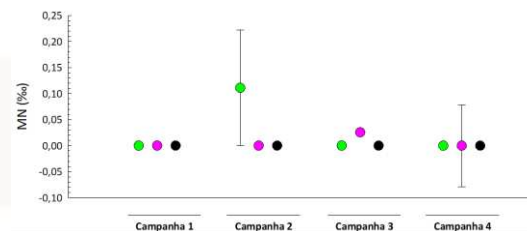
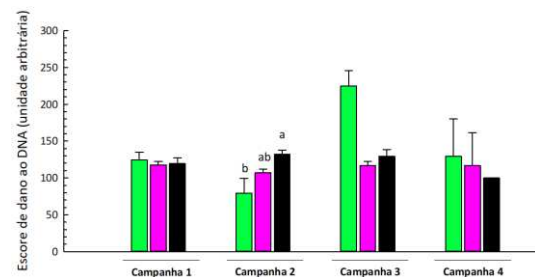


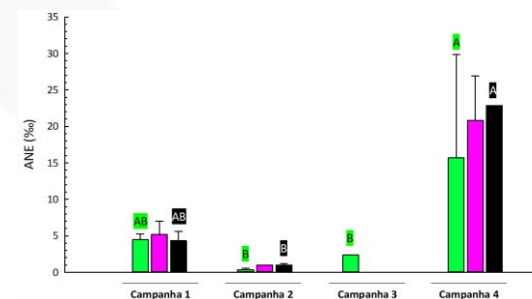
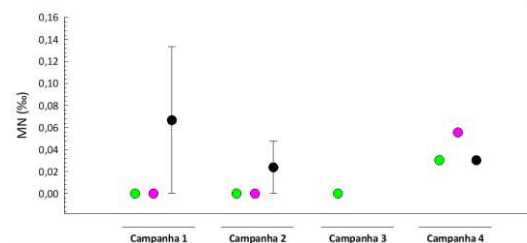
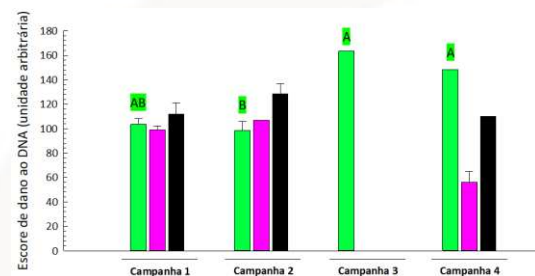
Tabela 69. Respostas dos biomarcadores de citogenotoxicidade nos peixes dos pontos CN, CP e DA, do compartimento 3.



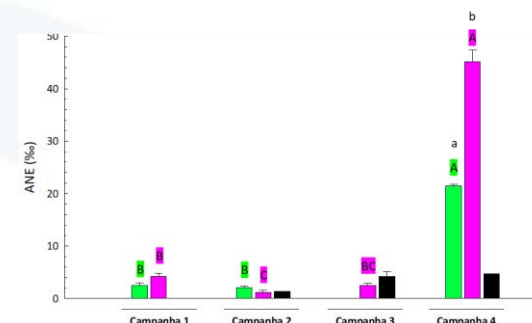
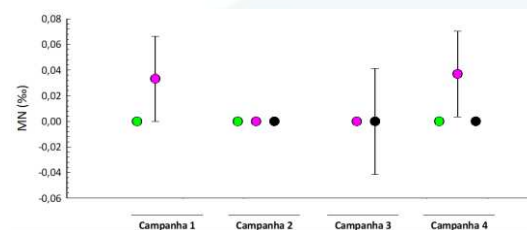
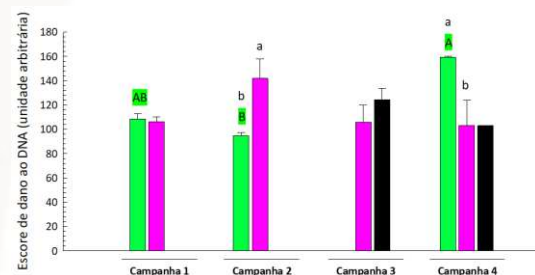
ICTIÓFAGOS



INVERTÍVOROS BENTÔNICOS



DETRITÍVOROS



CN: Barras ou círculos verdes; CP: barras ou círculos violeta; DA: barras ou círculos pretos. Letras minúsculas (abc) diferentes indicam diferença estatística entre os pontos amostrais em cada uma das campanhas. Letras maiúsculas (ABC) diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para cada um dos pontos amostrais: verde – CN, violeta – CP e preto – DA. As letras abc ou ABC representam também um gradiente de grandeza, sendo $a > b > c$ e $A > B > C$. Escore de dano em DNA= ensaio cometa no tecido sanguíneo. MN= frequência de micronúcleos em eritrócitos. ANE= frequência de alterações nucleares eritrocitárias. Dados estão representados como média $\pm$ erro padrão da média. Significância considerada quando $p < 0,05$.

3.1.1.6. BIOACUMULAÇÃO DE EPTS

Dados faltantes, representados por espaços em branco no mapa de calor, representam grupos cujo n amostral foi insuficiente para a análise estatística dos dados ou grupos que não foram amostrados naquele ponto amostral e/ou campanha. Ainda, destaca-se que todos os EPTs foram detectados nos peixes de todos os pontos amostrais, tanto no tecido muscular quanto no tecido hepático.

MÚSCULO

Comparação entre pontos

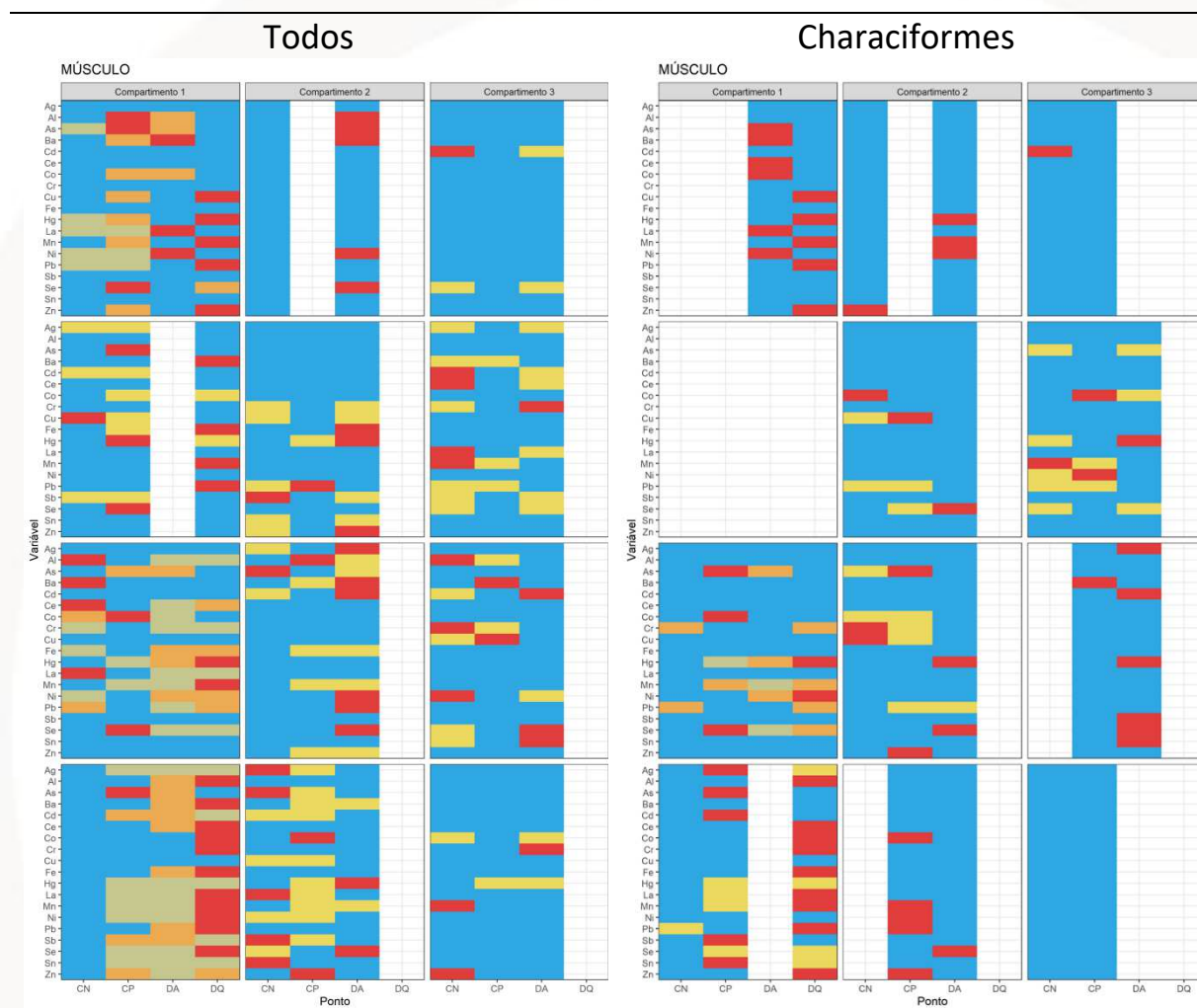
Considerando todos os peixes amostrados no compartimento 3 observa-se que no geral os peixes capturados no ponto DA apresentaram maiores concentrações de alguns EPTs do que os peixes do ponto CP, porém CN também apresentou diversos EPTs em concentrações mais elevadas que os demais pontos amostrais (Tabela 70). Destaca-se os EPTs Cr, na 2ª e na 4ª campanha, e Cd, Se e Sn, na 3ª campanha, que estiveram em maiores concentrações nos peixes do ponto DA do que nos demais pontos amostrais. Ao agruparmos os peixes de acordo com sua ordem nota-se que os peixes Characiformes não foram amostrados em todos os pontos e campanhas para este compartimento. Sendo assim, apenas na 2ª campanha foi possível comparar a bioacumulação apresentada nos Characiformes nos três pontos amostrais (CN, CP e DA), e neste caso nota-se que de maneira geral os três pontos apresentaram bioacumulação mais elevada do que nos demais pontos para uma quantidade semelhante de EPTs, estando o Mn mais elevado em CN, o Co e o Ni em CP e o Fe em DA.

Os peixes da ordem Siluriformes, por sua vez, foram amostrados em todos os pontos e campanhas no compartimento 3 (Tabela 70). Neste agrupamento observa-se que na 1ª campanha a bioacumulação foi semelhante entre os peixes dos pontos CN, CP e DA. Na 2ª campanha CN e DA apresentaram mais EPTs em concentrações superiores ao ponto CP. Na 3ª campanha DA e CP apresentaram maior quantidade de EPTs em concentrações superiores às de CN. Por fim, na 4ª campanha CN apresentou mais EPTs em concentrações elevadas em relação aos demais pontos.

Nos agrupamentos de peixes de acordo com seus hábitos alimentares, nota-se que os peixes detritívoros foram avaliados em todos os pontos amostrais (CN, CP e DA) no compartimento 3 apenas na 3ª campanha. Neste caso, o ponto CN apresentou as maiores concentrações de Ni, o ponto CP de Cu e Fe e o ponto DA de As e Zn. Quanto aos peixes de hábito alimentar ictiófago, estes foram apenas avaliados em todos os pontos amostrais na 2ª campanha e de maneira geral os peixes do ponto CN foram os que apresentaram a maior quantidade de EPTs em concentrações maiores que as dos peixes dos demais pontos amostrais. Por fim, o último hábito alimentar avaliado no compartimento 3 foi o dos peixes invertívoros bentônicos, os quais foram amostrados em todos os pontos apenas na 4ª

campanha e apresentaram maiores concentrações de EPTs nos pontos CN e DA em relação ao ponto CP, com destaque ao Mn e Zn que apresentaram maior bioacumulação em CN e Co e Fe que apresentaram maior bioacumulação nos peixes do ponto DA (Tabela 70).

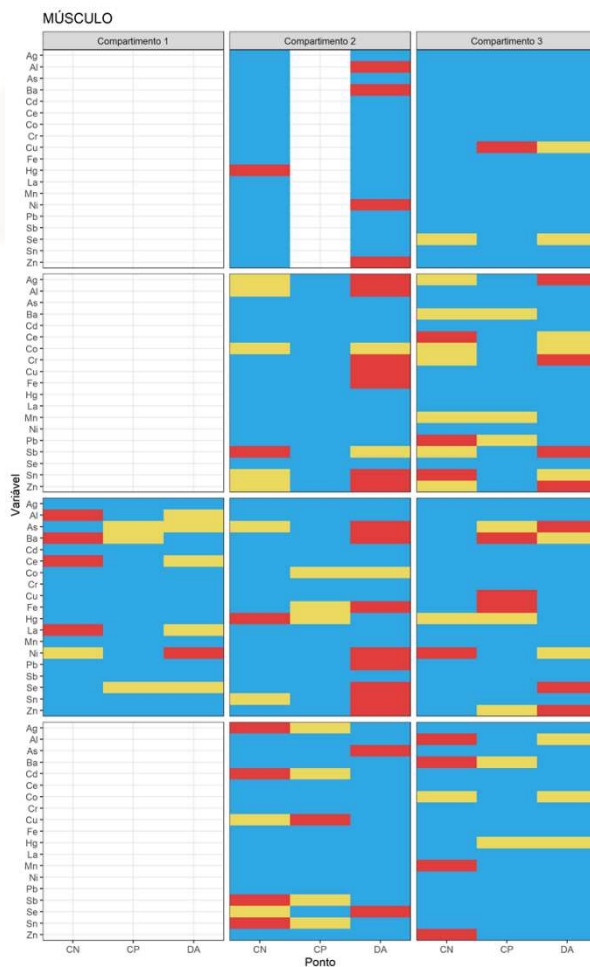
Tabela 70. Perfil da bioacumulação de 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular dos peixes capturados nos compartimentos 1, 2 e 3. Comparação entre os pontos CN, CP, DA e DQ em cada uma das campanhas amostradas.



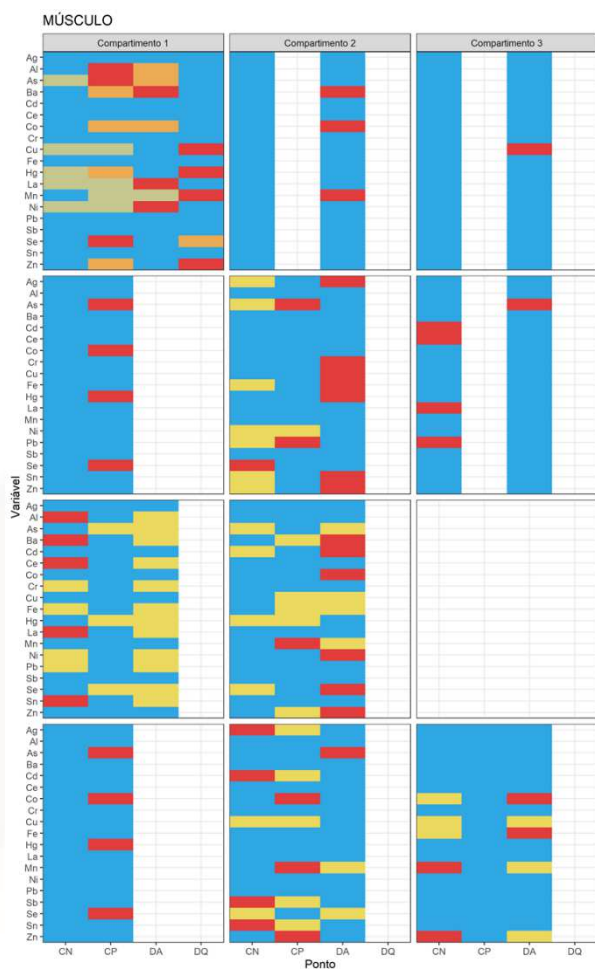
Cichliformes



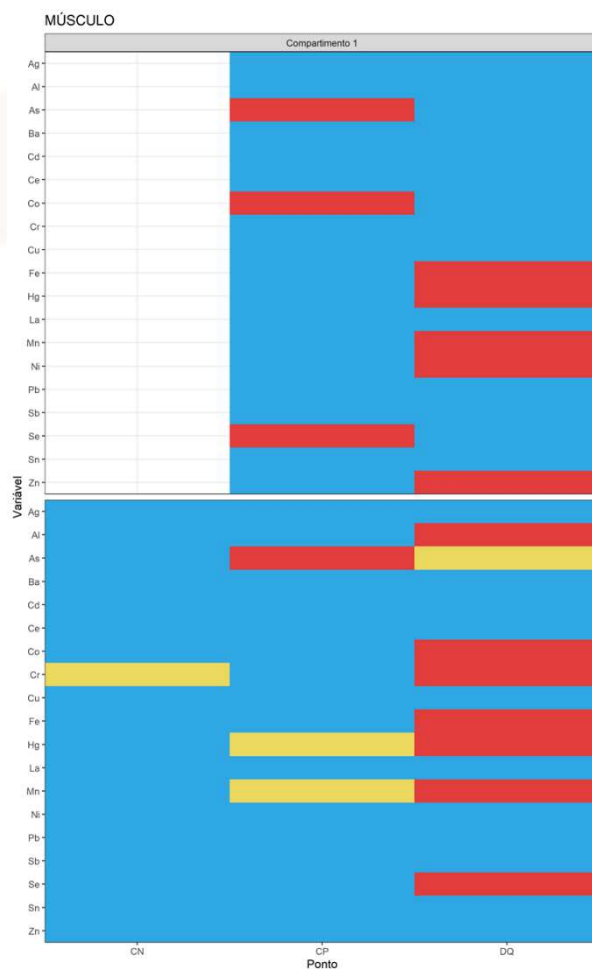
Siluriformes



Invertívoros bentônicos



Omnívoros



A metodologia aplicada para a elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APÊNDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura acima, sendo as cores representativas das diferenças nas concentrações dos EPTs.

Comparação entre campanhas

No tecido muscular dos peixes do compartimento 3, avaliando a bioacumulação de EPTs ao longo das quatro campanhas, nota-se que tanto no ponto CN, quanto em CP e DA os peixes coletados na 2ª campanha foram os que apresentaram a maior bioacumulação da maior parte dos EPTs avaliados. Destaca-se ainda que no ponto CN nenhum EPTs apresentou níveis similares ao longo das quatro campanhas, enquanto em CP o Pb apresentou concentrações similares nos peixes das diferentes campanhas e em DA As, Ba, Ni, Pb e Se se apresentaram similares (Tabela 71).

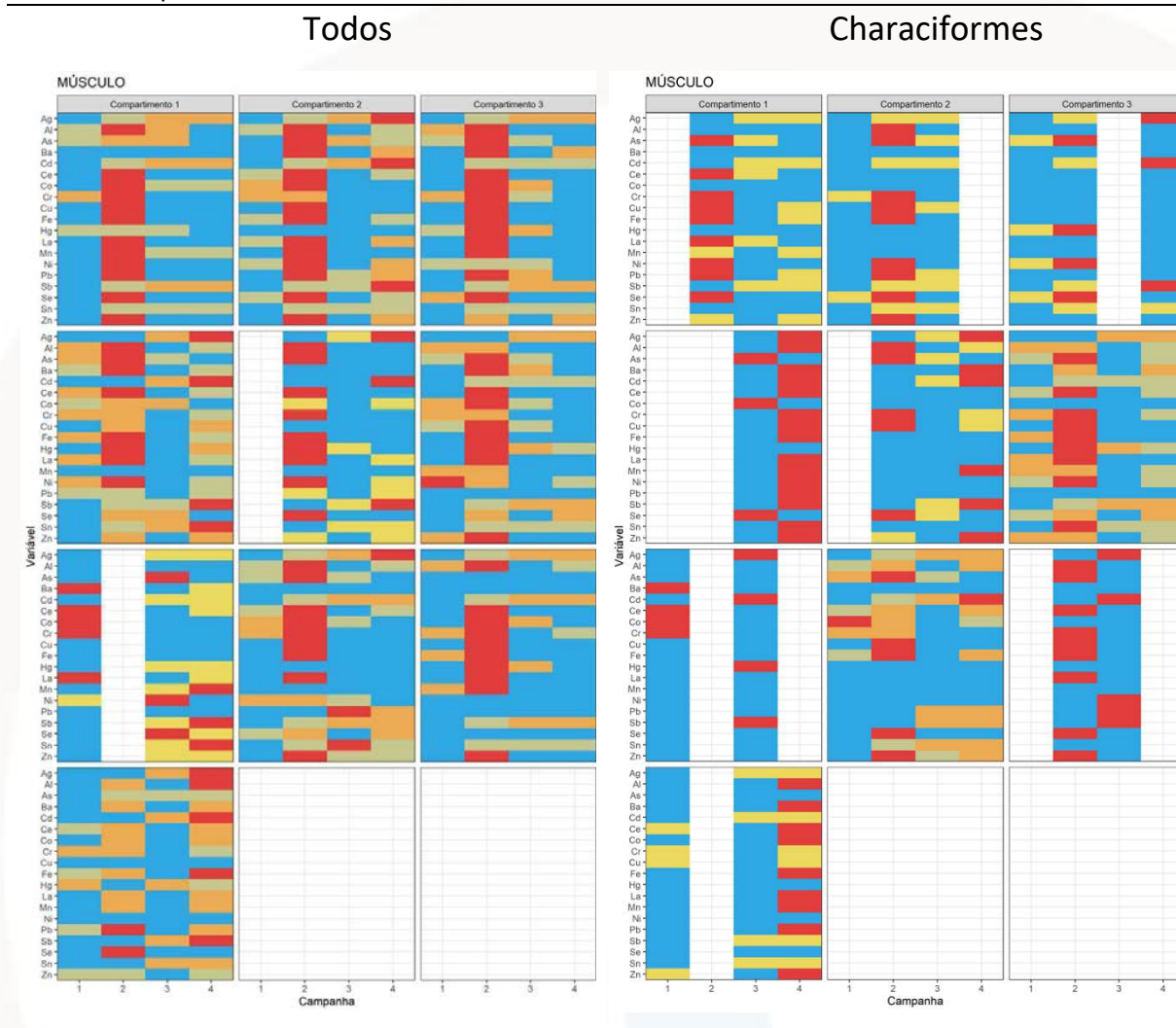
Nos peixes da ordem Characiformes nota-se que no ponto CN, no qual foram avaliados peixes das campanhas 1, 2 e 4, aqueles da 2ª campanha apresentaram maior bioacumulação de As, Hg, Ni e Se, enquanto os da 4ª campanha apresentaram maior bioacumulação de Ag, Cd e Sb. No ponto CP claramente observa-se que os Characiformes da 2ª campanha apresentaram maior bioacumulação da maioria dos EPTs. No ponto DA, por sua vez, avaliou-se apenas os peixes da 2ª e 3ª campanha, e nestes nota-se que aqueles capturados na 2ª campanha apresentaram nove EPT em concentrações maiores, enquanto os da 3ª campanha apresentaram maior concentração de cinco EPTs (Tabela 71).

Quanto aos peixes da ordem Siluriformes, nota-se que os peixes coletados na 2ª campanha apresentaram maior bioacumulação da maior parte dos EPTs tanto no ponto CN, quanto no CP e no DA. Em CN destaca-se que o As esteve em concentrações similares nos peixes das quatro campanhas, enquanto em CP isto ocorreu com o Ni e no ponto DA com o Ni, o Pb e o Se (Tabela 71).

Em relação aos diferentes hábitos alimentares observa-se que aqueles de hábito detritívoro, amostrados apenas nos pontos CN e CP, apresentaram maior bioacumulação de 11 e seis EPTs, respectivamente, na 2ª campanha, sendo esta a campanha que no geral os peixes apresentaram maior bioacumulação de EPTs. Os peixes de hábito alimentar ictiófago, embora presentes em todos os pontos amostrais no compartimento 3, não foram avaliados em todas as campanhas em nenhum destes pontos. Assim, em CN os ictiófagos da 2ª campanha apresentaram maior bioacumulação de 10 EPTs em relação aos peixes de mesmo hábito coletados na 4ª campanha. No ponto CN também se observou maior quantidade de EPTs em concentrações superiores nos ictiófagos coletados na 2ª campanha em relação àqueles coletados na 1ª e na 3ª. Por fim, em DA os peixes da 2ª campanha apresentaram maior concentração de nove EPTs em relação aos da 3ª campanha, enquanto estes apresentaram maior concentração de cinco EPTs em relação aos da 2ª campanha (Tabela 71).

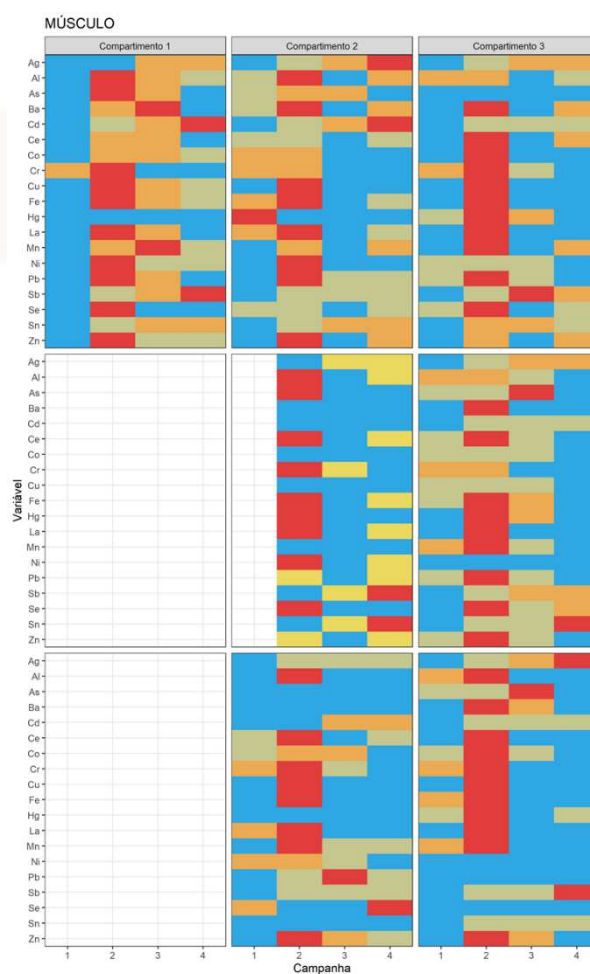
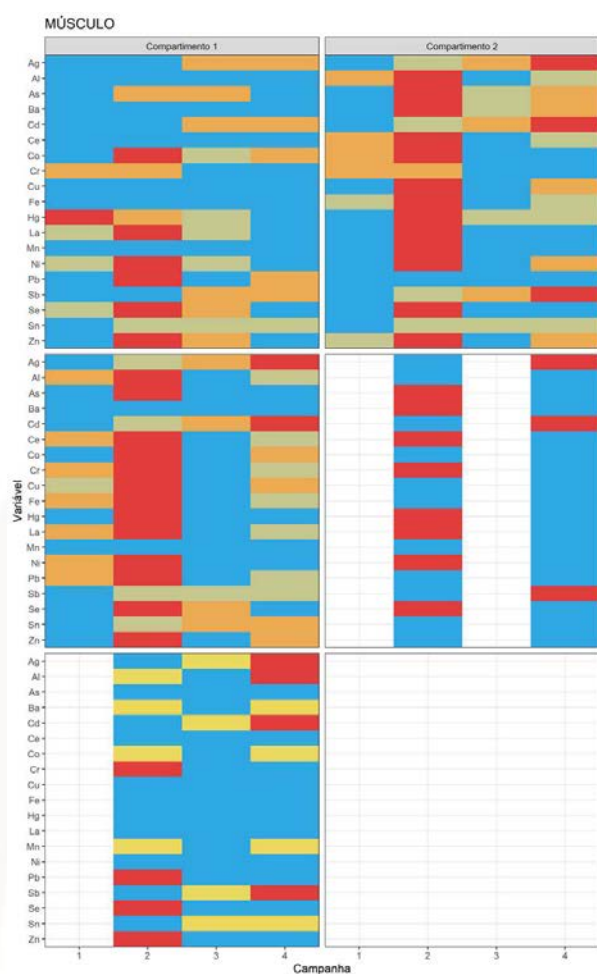
O último agrupamento avaliado no compartimento 3 foi o dos peixes de hábito alimentar invertívoro bentônico, os quais não foram amostrados no ponto CP e na 3ª campanha no ponto DA. Nestes nota-se que tanto em CN quanto em DA os peixes coletados na 2ª campanha foram os que apresentaram a maior quantidade de EPTs em concentrações superiores às observadas nos peixes das demais campanhas avaliadas em cada um dos pontos (Tabela 71).

Tabela 71. Perfil da bioacumulação de 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular dos peixes capturados nos compartimentos 1, 2 e 3. Comparação entre as campanhas amostradas em cada um dos pontos amostrais



Cichliformes

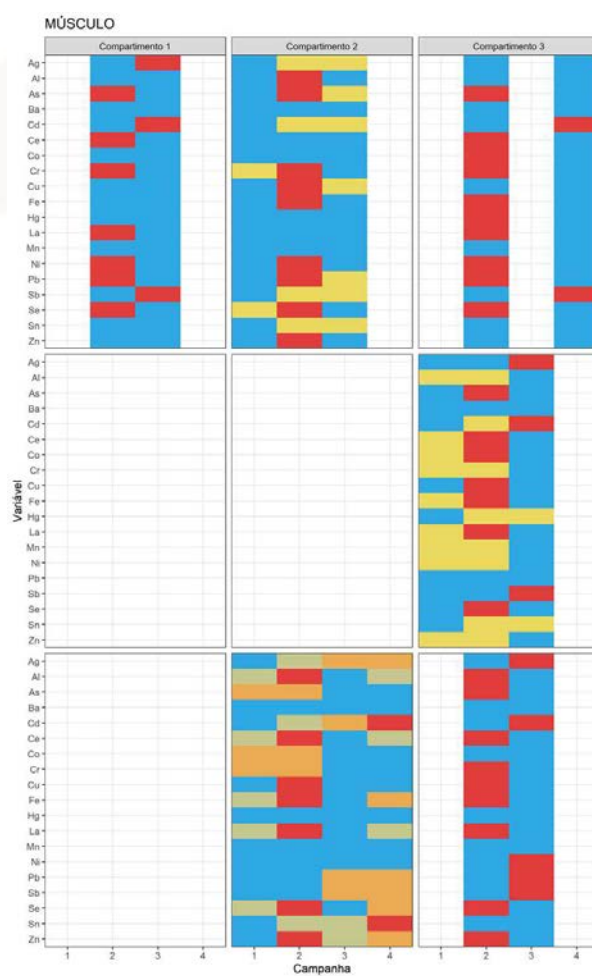
Siluriformes



Detritívoros

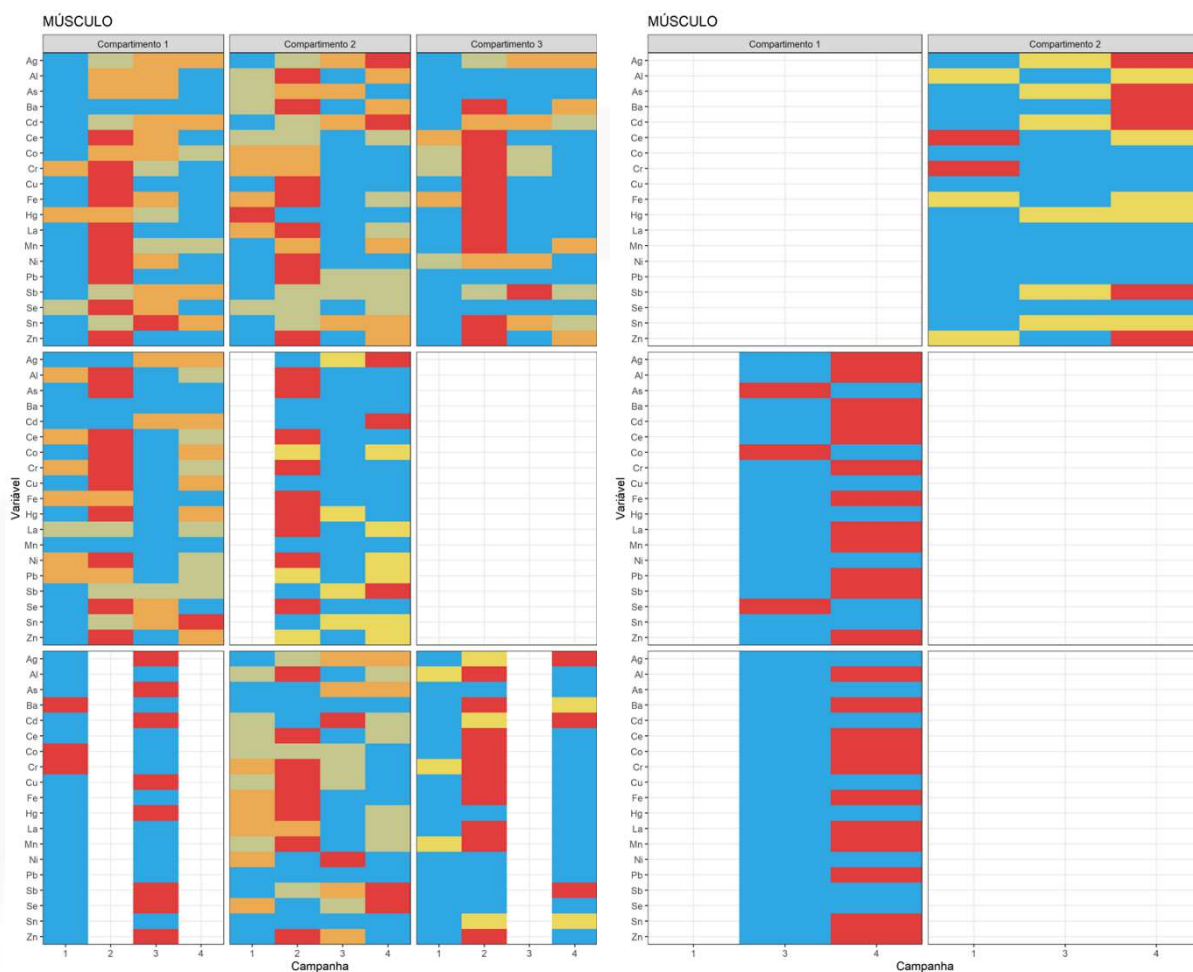


Ictiófagos



Invertívoros bentônicos

Omnívoros



A metodologia aplicada para a elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APÊNDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura acima, sendo as cores representativas das diferenças nas concentrações dos EPTs.

FÍGADO

Comparação entre pontos

No compartimento 3, avaliando a bioacumulação no tecido hepático do conjunto de todos os peixes amostrados, observou-se que na 1ª campanha os peixes dos três pontos amostrais apresentaram bioacumulação semelhante para a maioria dos 19 EPTs avaliados (Tabela 72). Destaca-se que nesta campanha os peixes do ponto CN apresentaram maior bioacumulação dos EPTs Ag e Ni, e o ponto CP dos EPTs Cu e Zn. Na 2ª campanha, no entanto, os peixes do ponto DA apresentaram maior concentração de sete EPTs do que os peixes dos demais pontos amostrais, sendo eles Ce, Co, Cr, Hg, La, Sb e Sn, enquanto os peixes do ponto CN apresentaram a maior concentração de Mn e os peixes de CP de Ba e Zn. Na 3ª campanha, os peixes do ponto CP foram os que apresentaram o maior número de EPTs em concentrações superiores aos demais pontos, sendo estes Ba, Ce, Cu, Fe, La, Pb e Zn, ainda, nesta mesma campanha os peixes do ponto DA apresentaram maior bioacumulação de Co do que os peixes dos demais pontos amostrais. Por fim, na 4ª campanha, nota-se que os peixes dos pontos CP e DA apresentaram bioacumulação semelhante para sete EPTs, sendo estas maiores do que a bioacumulação observada nos peixes do ponto DA. Destaca-se que nesta campanha os peixes de CP apresentaram as maiores concentrações de Cu e Se, enquanto os peixes de DA apresentaram a maior concentração de Al.

Agrupando os peixes de acordo com sua ordem observa-se que os Characiformes foram apenas avaliados nos pontos CN e CP na 1ª e na 4ª campanha e nos pontos CP e DA na 3ª campanha, sendo que apenas na 2ª campanha os peixes desta ordem foram avaliados nos três pontos amostrais (Tabela 72). Assim, na 2ª campanha nota-se que os Characiformes do ponto CN foram os que apresentaram a maior quantidade de EPTs em concentrações superiores às observadas nos demais pontos amostrais. Os Siluriformes por sua vez foram apenas amostrados nos pontos CN e CP na 1ª campanha, ao passo que nas demais campanhas eles foram avaliados em todos os pontos amostrais. Assim, na 2ª campanha observou-se que os peixes Siluriformes do ponto CP apresentaram a maior bioacumulação para os EPTs Ba e Cu, enquanto os peixes do ponto DA apresentaram a maior bioacumulação de Al, Co, Cr, Sb e Zn. Na 3ª campanha nota-se que os Siluriformes do ponto CP foram os que apresentaram o maior número de EPTs em concentrações superiores aos demais pontos, sendo eles Ba, Ce, Fe, La, Pb, Sb e Zn. Ainda, nesta mesma campanha, os peixes de CN apresentaram a maior bioacumulação de Hg e os peixes de DA apresentaram maior bioacumulação de Ag e Co. Por fim, na 4ª campanha em CP observou-se as maiores concentrações de Ce, Cu, La e Se, enquanto em DA os EPTs Co e Pb estiveram com maior concentração que nos peixes dos demais pontos amostrais.

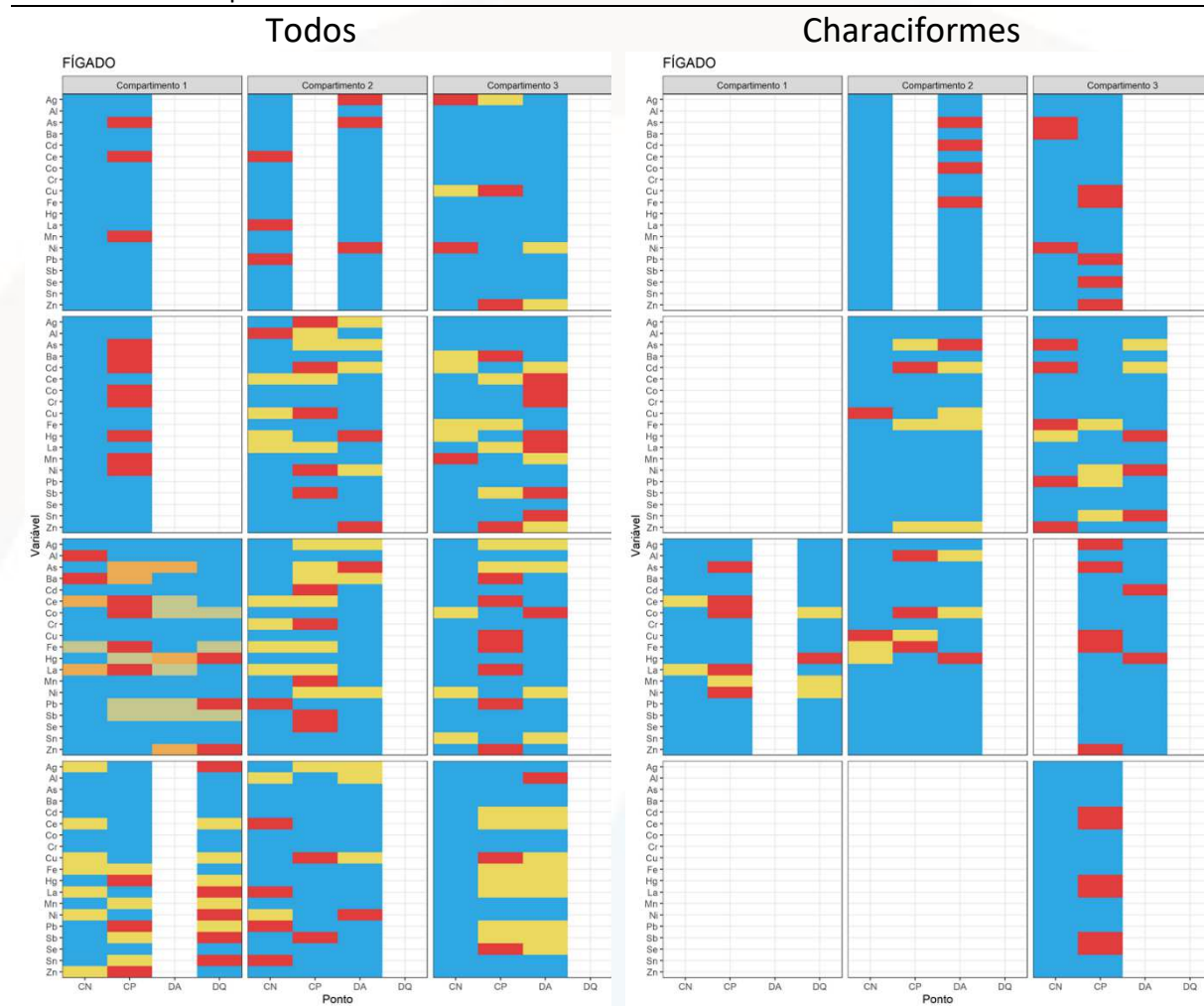
Quanto aos agrupamentos por hábito alimentar observa-se que os peixes detritívoros foram avaliados no compartimento 3 apenas nos pontos CN e CP na 1ª, 2ª e 4ª campanha, enquanto na 3ª campanha apenas CP e DA foram avaliados. Nesta campanha, observou-se que os detritívoros de CP

apresentaram maior bioacumulação de oito EPTs, enquanto DA apresentou maior bioacumulação de cinco EPTs (Tabela 72).

Os peixes de hábito alimentar ictiófago, por sua vez, não foram avaliados na 1ª e na 4ª campanha, na 3ª campanha foram amostrados apenas nos pontos CP e DA, e apenas na 2ª campanha foram avaliados nos três pontos amostrais (CN, CP e DA). Desta forma, na 2ª campanha nota-se os ictiófagos do ponto CN apresentaram as maiores concentrações dos EPTs As, Cd, Fe, Pb e Zn, enquanto aqueles do ponto DA apresentaram as maiores concentrações de Hg, Ni e Sn. Na 3ª campanha observa-se que os peixes de CP apresentaram maior bioacumulação de Ag, As, Cu, Fe e Zn, enquanto os de DA apresentaram maior bioacumulação de Cd e Hg, estando os demais EPTs em concentrações semelhantes entre os peixes destes pontos amostrais (Tabela 72).

Por fim, os peixes invertívoros bentônicos foram avaliados no compartimento 3 apenas na 2ª e na 4ª campanha, sendo que na 2ª os mesmos foram apenas contemplados nos pontos CN e DA (Tabela 72). Assim, nota-se que os peixes do ponto DA na 2ª campanha apresentaram elevados níveis de oito EPTs em comparação aos níveis encontrados nos peixes do ponto CN, sendo estes EPTs o Al, o As, o Ce, o Cr, o Cu, o La, o Sb e o Sn. Na 4ª campanha, os peixes de DA apresentaram a maior bioacumulação de cinco EPTs (Al, Fe, La, Pb e Sb) em relação aos peixes dos demais pontos amostrais (CN e CP), ao passo que os peixes de CP apresentaram a maior bioacumulação de Ba e Ni.

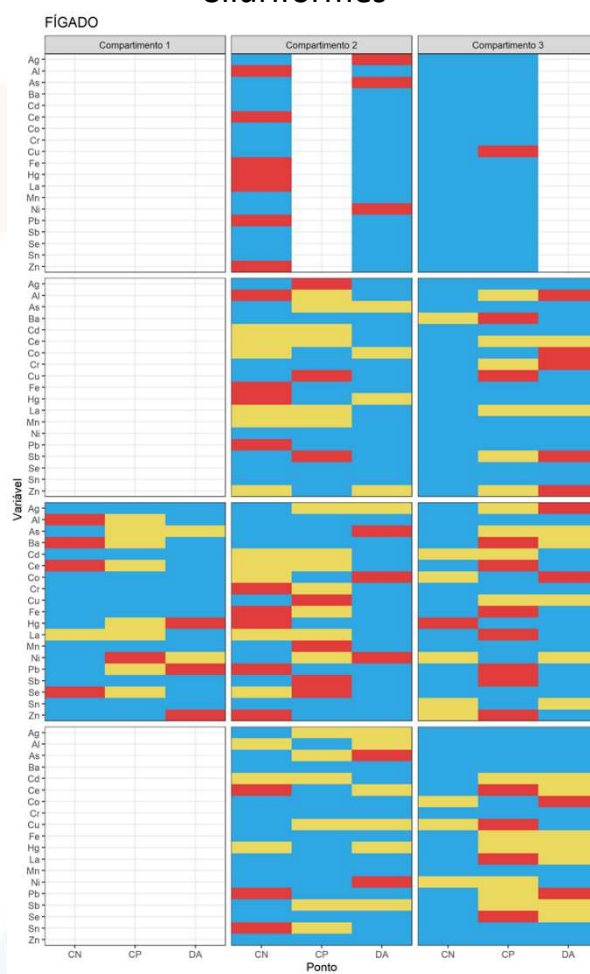
Tabela 72. Perfil da bioacumulação de 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido hepático dos peixes capturados nos compartimentos 1, 2 e 3. Comparação entre os pontos CN, CP, DA e DQ em cada uma das campanhas amostradas.



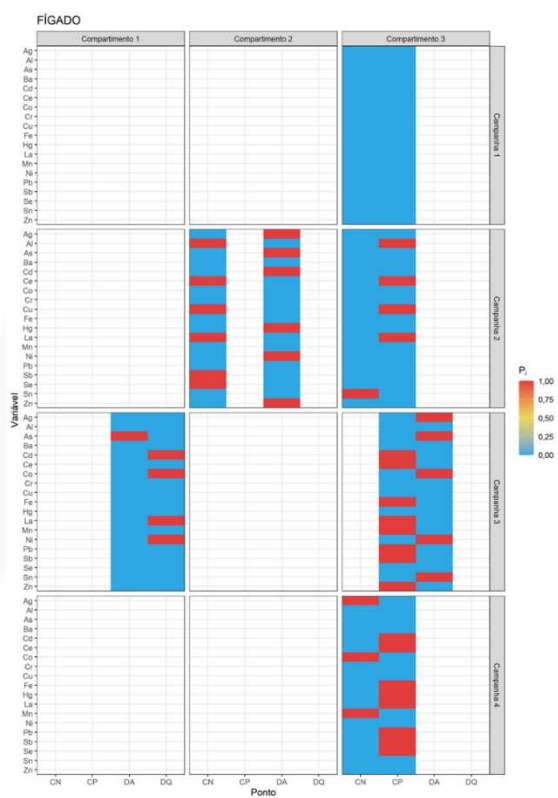
Cichliformes



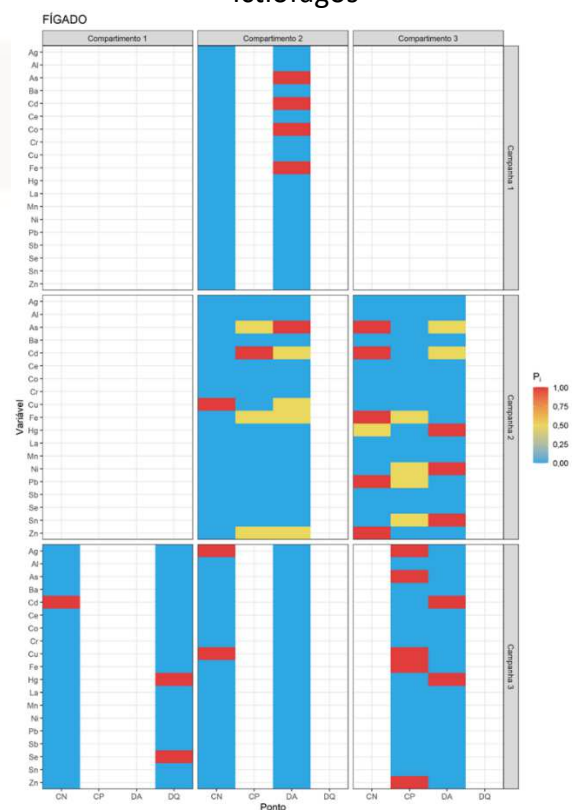
Siluriformes



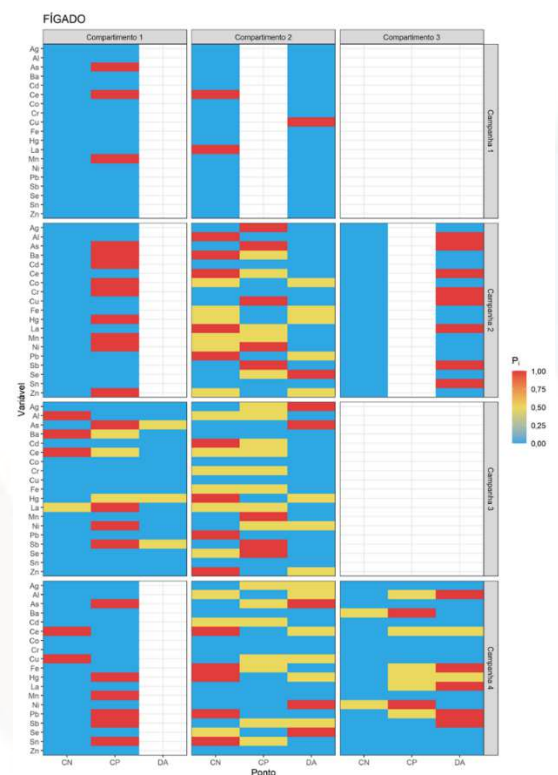
Detritívoros



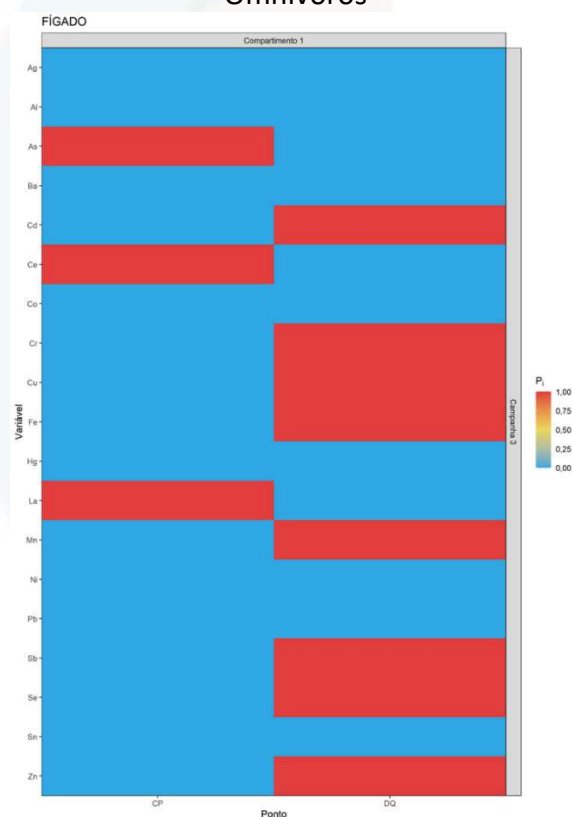
Ictiófagos



Invertívoros bentônicos



Omnívoros



A metodologia aplicada para a elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APÊNDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura acima, sendo as cores representativas das diferenças nas concentrações dos EPTs.

Comparação entre campanhas

No tecido hepático dos peixes do compartimento 3 nota-se que no ponto CN as concentrações dos diferentes EPTs apresentaram grande variação ao longo das quatro campanhas, exceto para os EPTs Al, Ba, Co, La, Sb, Se e Sn que estiveram em concentrações semelhantes nos peixes das quatro campanhas. No ponto CP está evidente que os peixes coletados na 4ª campanha foram os que apresentaram maior quantidade de EPTs em concentrações superiores às dos peixes das demais campanhas, enquanto os peixes capturados na 1ª campanha foram os que apresentaram as menores concentrações da maioria dos EPTs. Similarmente, no ponto DA também observa-se que os peixes da 4ª campanha foram os que apresentaram a maior quantidade de EPT em concentrações superiores à das demais campanhas, mas neste ponto ainda destaca-se que os peixes capturados na 3ª campanha foram os que apresentaram as menores concentrações para a maioria dos EPTs (Tabela 73).

Nos peixes da ordem Characiformes nota-se que em CN estes foram apenas capturados nas campanhas 1, 2 e 4, senão na campanha 2 observada a maior bioacumulação de Cu, La, Pb, Se e Zn. Em CP foram amostrados peixes desta ordem em todas as campanhas, neste ponto destaca-se que os peixes da 3ª e da 4ª campanha foram os que apresentaram, no geral, a maior bioacumulação de EPTs. Por fim, em DA apenas foram avaliados Characiformes na 2ª e 3ª campanhas, e neste ponto, à exceção dos EPTs As, Cu e Sb, e do EPT Cr que estiveram em maior concentração nos peixes da 2ª e da 3ª campanha, respectivamente, os demais EPT foram encontrados em concentrações semelhantes no tecido hepático dos peixes desta ordem (Tabela 73).

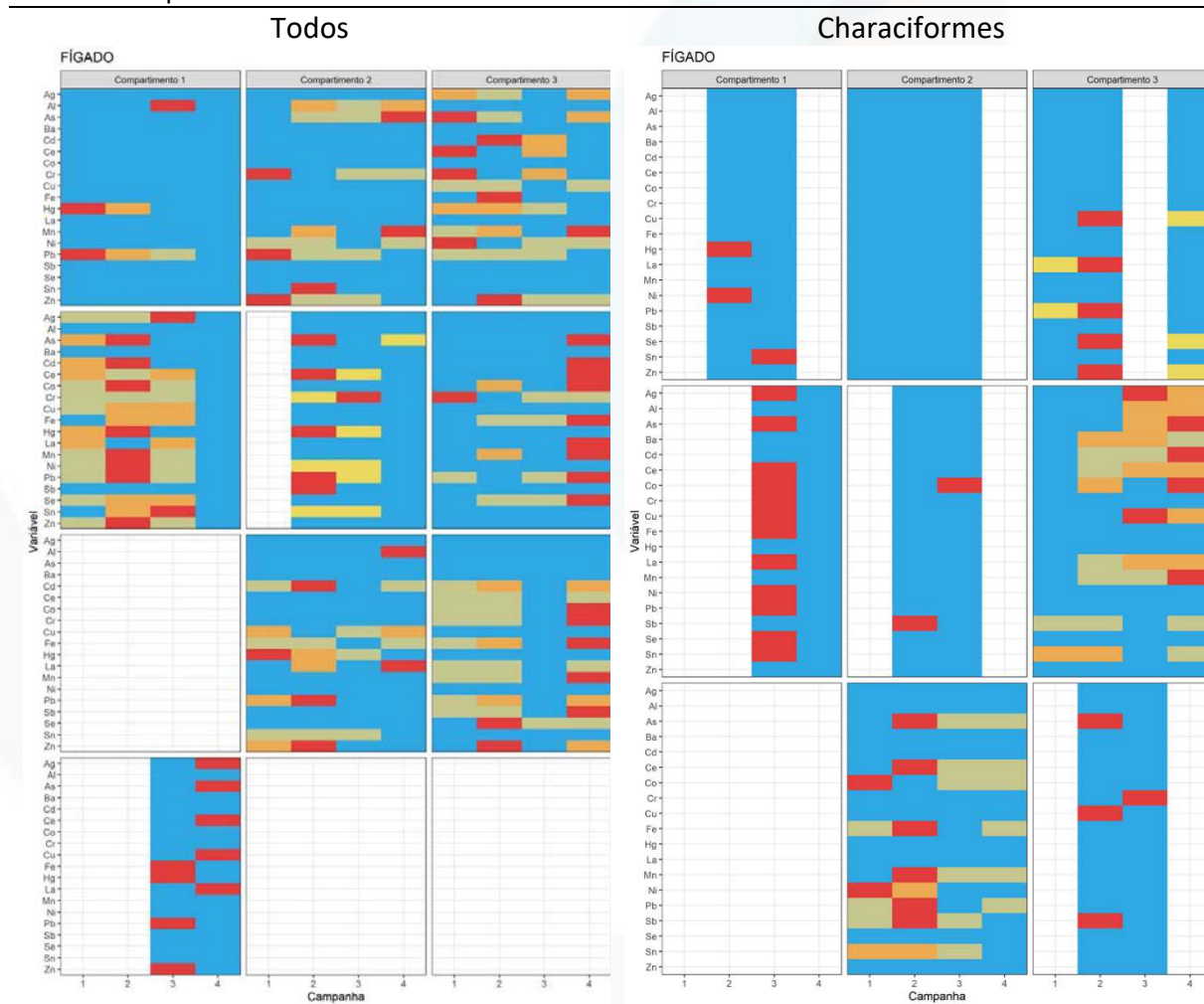
Os peixes da ordem Siluriformes, por sua vez, apresentaram grande variação nas concentrações de EPTs no tecido hepático dos peixes do ponto CN, com destaque aos EPTs Al, Co, La, Sb, Se, Sn e Zn que apresentaram níveis similares entre os peixes das quatro campanhas. No ponto CP, 13 dos 19 EPTs estiveram em concentrações similares no tecido hepáticos dos Siluriformes capturados nas quatro campanhas. Em DA, por sua vez, peixes Siluriformes foram avaliados apenas nas campanhas 2, 3 e 4, e nestas, de maneira geral, os peixes da 2ª e da 4ª campanha apresentaram as maiores concentrações da maior parte dos EPTs (Tabela 73).

No que se trata dos agrupamentos de acordo com os hábitos alimentares, nota-se que aqueles de hábito alimentar detritívoros foram avaliados apenas nos pontos CN e CP. Em CN não foram avaliados peixes detritívoros na 3ª campanha e nas demais campanhas nota-se semelhança na quantidade de EPTs que apresentaram concentrações superiores às observadas nas demais campanhas. Similarmente, no ponto CP não foi evidenciado destaque na bioacumulação nos peixes de uma campanha específica, embora na 4ª campanha tenham sido observados maiores níveis de Fe, Pb e Se do que nos peixes das demais campanhas (Tabela 73).

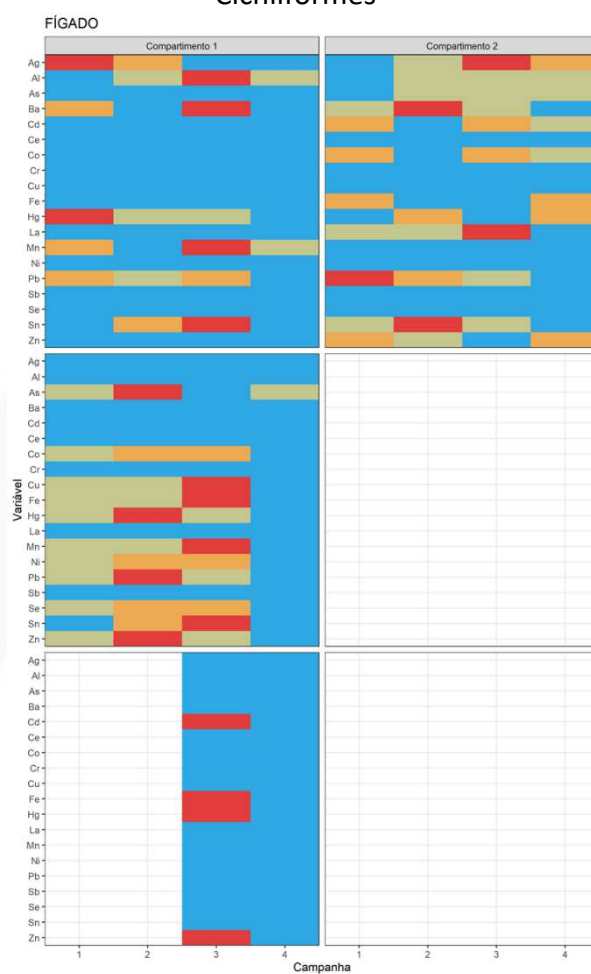
Os peixes de hábito alimentar ictiófago foram avaliados quanto à concentração de EPTs no tecido hepático apenas nos peixes das três primeiras campanhas no ponto CP e na 2ª e 3ª campanha no ponto DA. Assim, nota-se que em CP os ictiófagos capturados na 3ª campanha foram os que apresentaram a maior quantidade de EPTs em concentrações maiores que os peixes das demais campanhas, ao passo que em DA, no geral, os níveis de EPTs foram similares entre os ictiófagos das duas campanhas avaliadas (Tabela 73).

Por fim, peixes de hábito alimentar invertívor bentônico foram avaliados em todas as campanhas no ponto CN e na 2ª e 4ª campanha no ponto DA. Em CN 11 dos 19 EPTs apresentaram níveis similares nos peixes das quatro campanhas, enquanto a Ag esteve em maior concentração nos peixes da 1ª campanha, o Cd, o Fe, o Hg e o Se nos peixes da 2ª campanha e o Mn nos peixes da 4ª campanha. Em DA, por sua vez, os peixes da 2ª campanha apresentaram maior bioacumulação de Ni em relação aos peixes da 4ª campanha, enquanto estes apresentaram maior bioacumulação de Ag, Al, Co, Fe e Sb do que os peixes invertívoros bentônicos da 2ª campanha (Tabela 73).

Tabela 73. Perfil da bioacumulação de 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido hepático dos peixes capturados nos compartimentos 1, 2 e 3. Comparação entre as campanhas amostradas em cada um dos pontos amostrais



Cichliformes



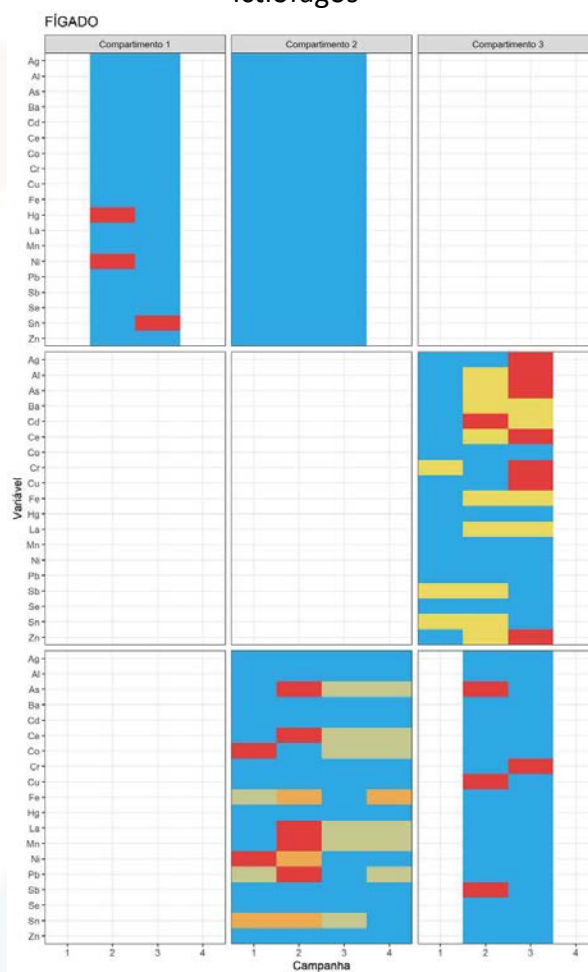
Siluriformes

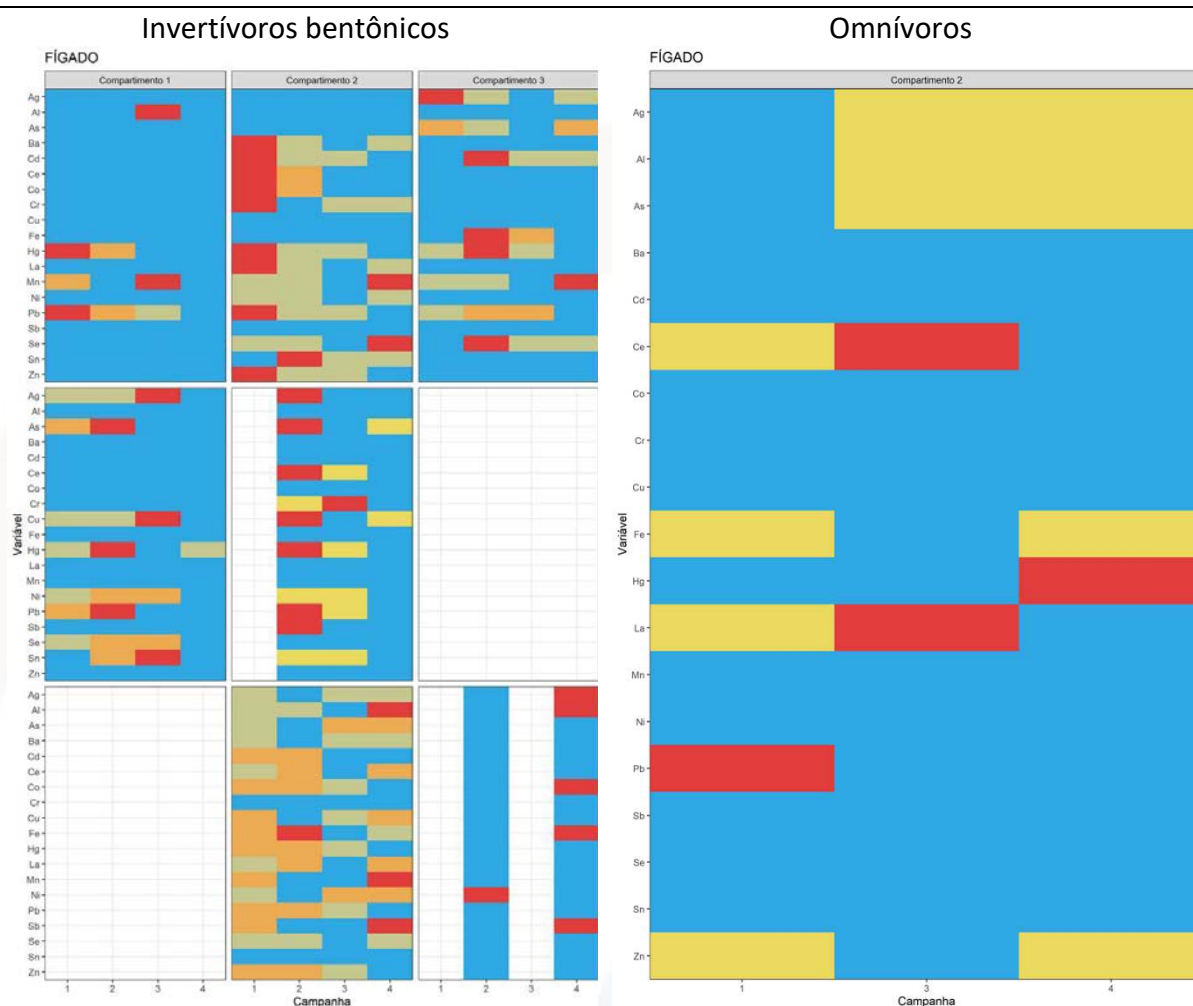


Detritívoros



Ictiófagos





A metodologia aplicada para a elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APÊNDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura acima, sendo as cores representativas das diferenças nas concentrações dos EPTs.

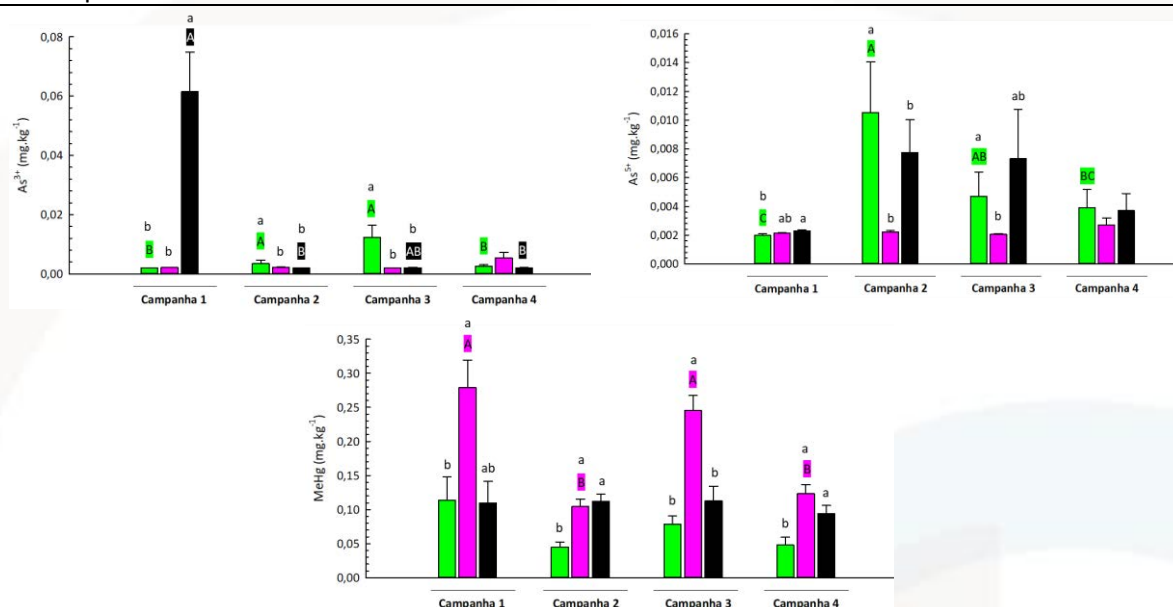
ESPECIAÇÃO

A avaliação das espécies metálicas nos peixes do compartimento 3 demonstrou que o As(III) esteve em maior concentração nos peixes do ponto DA, na 1ª campanha, e nos peixes de CN na 2ª e 3ª campanhas, similar ao observado também para as concentrações de As(V). Avaliando ao longo das campanhas amostrais, as concentrações de As(III) estiveram maiores nos peixes de CN da 2ª e 3ª campanha, em relação aos peixes das demais campanhas e nos peixes de DA da 1ª campanha em relação aos da 2ª e 4ª campanhas. Já o As(V) se apresentou em concentrações maiores nos peixes de CN capturados na 2ª campanha em relação àqueles da 1ª e 4ª campanhas.

Em relação ao MeHg, este esteve em concentrações maiores nos peixes de CP em relação aos de CN, na 2ª campanha, e em relação aos de CN e DA na 3ª campanha, e em CP e DA em relação aos peixes de CN na 2ª e na 4ª campanha. Ainda, ao longo das quatro campanhas nota-se que em CP os

peixes capturados na 1ª e na 3ª campanha apresentaram concentrações superiores às dos peixes capturados nas demais campanhas.

Tabela 74. Bioacumulação das espécies metálicas As(III), As(V) e MeHg no tecido muscular dos peixes do compartimento 3.



CN: barras verdes, CP: barras violetas; DA: barras pretas e DQ: barras vermelhas. Letras minúsculas (abc) diferentes indicam diferença estatística entre os pontos amostrais em cada uma das campanhas. Letras maiúsculas (ABC) diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para cada um dos pontos amostrais: verde – CN, violeta – CP e preto – DA. As letras abc ou ABC representam também um gradiente de grandeza, sendo $a > b > c$ e $A > B > C$. Dados estão apresentados como média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

Discussão

Sabe-se que rompimento da barragem de Fundão, ocorrido em novembro de 2015, culminou no derramamento de aproximadamente 44 hm³ de rejeito de mineração (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020b) no córrego Santarém e posteriormente nos rios Gualaxo do Norte, Carmo e rio Doce Doce, além de também atingir uma vasta área de ambiente terrestre adjacente a estes. Desta forma, é notável que o ambiente, tanto aquático quanto terrestre, localizado no compartimento 1 sofreu, e ainda sofre, prejuízos físicos e químicos severos em decorrência do desastre, embora o ambiente aquático dulcícola dos compartimentos 2 e 3 também estejam ainda sob influência do rejeito de mineração proveniente do desastre.

A influência do desastre sobre os animais é notória, haja vista as diversas alterações branquiais apresentadas por todos os animais capturados, independentemente do compartimento e campanha. A comparação dos resultados obtidos no presente relatório com estudos pré-desastre realizados na porção média (compartimento 2) da bacia do rio Doce (ANDRADE, 2003; MORAIS, 2009) revelam maior comprometimento morfofuncional aos peixes capturados ao longo de toda a extensão acometida pela passagem da onda de lama, provavelmente, em decorrência da sinergia existente entre os

contaminantes provenientes das atividades antrópicas que já existiam (e ainda existem) na região e os contaminantes que foram disponibilizados pela onda de lama. Ainda, é importante mencionar que o material extravasado possui características granulométricas que favorecem a agredação do mesmo ao tecido branquial de peixes. Assim, os resultados aqui apresentados indicam que a quantidade e tipos de lesões identificados levarão à prejuízos em processos vitais de balanço hidromineral, trocas gasosas, equilíbrio ácido-básico e excreção de produtos nitrogenados (EVANS, 1987; WENDELAAR BONGA, 1997; RANDALL et al., 1999; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; EVANS et al., 2005; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; CAMARGO; MARTINEZ, 2007; FONTAÍNHAS-FERNANDES, et al., 2008), muitos dos quais já puderam ser detectados (vide resultados) e que se não contornados poderão levar os animais ao óbito (THOPHON et al., 2003).

No compartimento 1 destaca-se que os peixes dos pontos amostrais DA e DQ apresentaram maiores valores de IBRv2 para a maioria dos agrupamentos de biomarcadores, além de diferenças significativas em relação aos peixes dos pontos CN e/ou CP no caso de biomarcadores que não tiveram suas respostas integradas pelo índice. Entre estes biomarcadores destacam-se os fisiológicos relacionados aos sistemas de osmorregulação e equilíbrio ácido-base que apresentaram grandes alterações em relação às respostas observadas nos peixes do ponto CN, nas quatro campanhas amostrais, nos peixes do ponto DA e na 3ª campanha, nos peixes do ponto DQ. Tais sistemas fisiológicos, em peixes teleósteos, representam um grande aparato de mecanismos necessários para a manutenção da homeostase iônica e osmótica nos fluidos corporais e consequentemente para a manutenção do correto funcionamento dos demais sistemas biológicos (HWANG; LEE; LIN, 2019), ressaltando que por viverem em contato direto com o ambiente aquático, as diferenças de salinidade deste ambiente refletem diretamente no funcionamento destes sistemas fisiológicos nos peixes.

Um dos biomarcadores de grande importância para a manutenção do equilíbrio ácido-base é a enzima anidrase carbônica (AC) uma vez que esta, resumidamente, é responsável pela formação de bicarbonato a partir da hidratação do dióxido de carbono, sendo esta uma reação reversível (HWANG; LEE; LIN, 2019; LIONETTO et al., 2012, 2016). Além disso, a AC é uma metaloenzima, o que implica que sua atividade é dependente de metais e estes por sua vez são capazes de atuar como cofator enzimático ou ainda modular a atividade da mesma (LIONETTO et al., 2016). Desta forma, as respostas obtidas tanto da atividade da AC branquial, quanto da AC renal nos peixes capturados em DA e DQ, no compartimento 1, as quais no geral se apresentaram maiores e em algumas situações menores do que as atividades mensuradas nos peixes do ponto CN neste mesmo compartimento, associadas à grande quantidade de elementos metálicos (EPTs) presentes na água dos pontos localizados dentro da APDL (DA e DQ) e, consequentemente, nos tecidos dos peixes, indicam que os EPTs presentes no meio estão promovendo prejuízos à atividade da AC, tanto no tecido branquial quanto no tecido renal. Além da AC, a Na⁺/K⁺-ATPase e a H⁺-ATPase também apresentaram alterações em suas atividades nos peixes

de DA e DQ, assim como foram observadas mudanças nas concentrações de íons plasmáticos, da osmolalidade e do teor de umidade nestes animais.

Como observado nos peixes de DA e DQ, diversos estudos já relataram a influência da exposição a EPTs nos sistemas fisiológicos de osmorregulação e equilíbrio ácido-base em peixes de água doce. Com exemplos, Camargo et al. (2009) relataram que a presença de Al, mesmo na concentração permitida pela legislação ambiental brasileira (CONAMA 357, 2005) é capaz de desencadear sérios efeitos na osmorregulação de peixes da espécie *Prochilodus lineatus*, evidenciados por alterações na osmolalidade, nas concentrações de íons plasmáticos e na atividade de enzimas como a Na^+/K^+ -ATPase; Bakshi & Panigrahi (2018), em sua revisão, apontam que entre outros tantos prejuízos, o Cr, mais especificamente em sua forma trivalente, é capaz de afetar a osmorregulação dos peixes por meio de seus efeitos sobre a atividade da enzima Na^+/K^+ -ATPase; McGeer et al. (2000) apontaram que a exposição ao Cu afetou a atividade da Na^+/K^+ -ATPase em peixes da espécie *Oncorhynchus mykiss*; Martini et al. (2014) demonstraram que o Pb promoveu alterações na atividade da Na^+/K^+ -ATPase e nas concentrações plasmáticas de íons em peixes da espécie *P. lineatus*.

Outro agrupamento de biomarcadores que se mostrou bastante alterado nos peixes dos pontos localizados dentro da APDL, no compartimento 1, foram os relacionados ao metabolismo energético, a saber, concentração de glicose e lactato plasmáticos e de glicogênio muscular. A integração destes biomarcadores mostrou que os mesmos apresentaram maiores alterações nos peixes capturados no ponto DQ nas campanhas 1, 2 e 3 e nos peixes de DA na campanha 4. Sabendo que a glicose é a principal fonte de energia utilizada diante do aumento de demanda energética em decorrência de situações de estresse ambiental ou de deficiência alimentar, o que consequentemente afeta as reservas energéticas em forma de glicogênio, é natural afirmar que tais biomarcadores são afetados pela presença e absorção de contaminantes como os EPTs (JAVED; USMANI, 2014). Ainda, nota-se que a resposta comumente observada em peixes expostos a contaminantes metálicos é a redução das concentrações tanto de glicose plasmática, quanto de glicogênio muscular (JAVED; USMANI, 2014), embora também seja apontado que durante a fase aguda de estresse os níveis de glicose e lactato plasmáticos podem estar aumentados uma vez que a quebra do glicogênio é aumentada para fornecer a energia demandada (SMET; BLUST, 2001). Corroborando os efeitos de EPTs sobre o metabolismo energético, no compartimento 1 notou-se que tanto os peixes de DA, quanto de DQ, apresentaram, no geral, menores concentrações de glicogênio muscular e maiores de lactato e/ou glicose plasmáticas comparadas às concentrações observadas nos peixes do ponto CN, indicando que a condição ambiental representa estresse para estes peixes e assim os mesmos estão com demanda energética aumentada.

Além dos efeitos previamente citados, diversos contaminantes metálicos, tais quais os EPTs, estão intimamente relacionados com a manutenção do estado redox celular uma vez que os metais

redox ativos, como o Fe, Cu, Co e Cr são capazes de interferir nas reações que envolvem transferências de elétrons, culminando assim no aumento da formação de espécies reativas e radicais livres, aumentando o risco das mesmas interagirem com macromoléculas celulares, como o DNA, os lipídeos e as proteínas, causando danos às mesmas (JOMOVA; VALKO, 2011). No entanto, organismos vivos contam com um complexo sistema antioxidante formado por enzimas e outras moléculas que atua de maneira a evitar o desbalanço entre a produção e a eliminação destas espécies reativas, sendo, portanto, os componentes deste sistema vastamente aplicados como biomarcadores de efeitos de EPTs. Assim, e somando-se ao fato de além de outros EPTs, aqueles que são redox ativos também foram detectados tanto no tecido muscular, quanto no tecido hepático dos peixes capturados no compartimento 1, já era esperado que o sistema antioxidante, assim como seus marcadores associados, como a atividade da GST, concentração de MT e níveis de LPO e PCO se encontrassem alterados nestes indivíduos. Ainda assim, destaca-se que os peixes capturados nos pontos DA e DQ apresentaram alterações destes biomarcadores superiores às observadas nos peixes dos pontos CN e/ou CP, como é o caso da PCO que esteve aumentada nos peixes de DA capturados na 1ª campanha, dos biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação do tecido hepático que apresentaram maiores alterações nos peixes de DA e DQ na 1ª e 3ª campanhas, e do tecido branquial que apresentaram maior alteração nos peixes de DA, na 2ª campanha e de DQ, na 3ª campanha, ou ainda dos biomarcadores não enzimáticos (GSH, LPO e MT) que apresentaram maior alteração no tecido branquial dos peixes de DA na 2ª e 3ª campanhas, e nos peixes de DQ na 4ª campanha, assim como no tecido hepático dos peixes de DQ na 2ª e 4ª campanhas e de DA na 3ª campanha.

Ainda no que se trata dos biomarcadores avaliados nos peixes do compartimento 1, nota-se que os peixes coletados no ponto DA, na 2ª e na 3ª campanha, apresentaram maiores alterações nos biomarcadores de neurotoxicidade, o que pode ser notado pela maior atividade da AChE cerebral em ambas as campanhas e pela maior atividade da AChE muscular, na 2ª campanha e menor na 3ª campanha. A atividade desta enzima é reconhecidamente um biomarcador de neurotoxicidade, sendo a sua atividade responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina, culminando na finalização do impulso nervoso do sistema colinérgico. Assim, sabe-se que a resposta mais comumente observada após a exposição a contaminantes neurotóxicos é a inibição da atividade da AChE, o que reflete em graves prejuízos motores, por exemplo no movimento natatório dos peixes, em decorrência da hiperestimulação nas terminações nervosas colinérgicas (PRETTO et al., 2010). No entanto, no que se trata especificamente da exposição a metais, nota-se que estes apresentam variados efeitos sobre a atividade da AChE, desde inibição e estímulo, até a ausência de efeito (DE LA TORRE; SALIBIÁN; FERRARI, 2000; MELA et al., 2013; PRETTO et al., 2010), similar ao observado nos peixes capturados no compartimento 1.

Por fim, no compartimento 1 ainda pode ser destacado que nos peixes dos pontos DA e DQ apresentaram uma série de EPTs em concentrações mais elevadas do que as concentrações observadas nos peixes dos pontos CN e CP. No tecido muscular especial atenção deve ser dada aos peixes do ponto DQ, na 4ª campanha, os quais apresentaram 11 EPTs em concentrações superiores às observadas nos peixes dos demais pontos amostrais, sendo eles As, Ba, Ce, Co, Cr, Fe, La, Mn, Ni, Pb e Se. Vale ressaltar que embora alguns destes EPTs sejam metais essenciais, como o Fe, ou seja, que apresentam função biológica conhecida, outros tantos são metais não essenciais de reconhecida toxicidade mesmo em baixas concentrações, como o Pb. Ainda, é importante mencionar que embora estes EPTs tenham se apresentado em concentrações maiores que nos peixes dos demais pontos amostrais, todos os 19 EPTs foram detectados nos peixes do compartimento 1, indicando a bioacumulação dos mesmos no tecido hepático e muscular. Além dos EPTs bioacumulados no tecido muscular dos peixes de DQ, na 4ª campanha, notou-se ainda que os peixes de DA apresentaram, no tecido muscular, maior bioacumulação, em relação aos peixes de CN e CP, de Ba, La e Ni, na 1ª campanha, de Fe, Hg e Ni, na 3ª campanha e de Al, Ba, Ce, Fe e Pb, na 4ª campanha, enquanto os peixes de DQ apresentaram, também no tecido muscular, maiores concentrações de Cu, Hg e Mn, na 1ª campanha, Ba, Fe, Mn e Pb, na 2ª campanha e de Hg, Mn, Fe e Ni, na 3ª campanha. Em relação à bioacumulação no tecido hepático, esta não foi avaliada nos peixes de DA e DQ nas campanhas 1 e 2, e nos peixes de DA na 4ª campanha, porém nota-se que na campanha 3 os peixes de DA apresentaram maiores concentrações de Hg e Zn, enquanto os de DQ apresentaram maior bioacumulação de Hg, Pb e Zn, já na 4ª campanha, os peixes de DQ apresentaram maiores concentrações hepáticas de La, Ni, Sb e Sn.

No compartimento 2, similarmente ao observado nos peixes dos pontos localizados dentro da APDL no compartimento 1, grande parte dos IBRV2 se mostraram superiores nos peixes do ponto DA, indicando que estes apresentaram maiores alterações do que os peixes do ponto CP em relação aos peixes do ponto CN. Dentre estas alterações, deve ser dada especial atenção aos biomarcadores fisiológicos, uma vez que estes apresentaram as maiores alterações nos peixes de DA nas campanhas 2, 3 e 4. Nas quatro campanhas tais alterações incluem menor concentração dos íons plasmáticos e menor osmolalidade e maior atividade da AC branquial, além destas alterações que foram iguais nas quatro campanhas, os demais biomarcadores fisiológicos também se apresentaram alterados, porém com diferentes respostas ao longo das diferentes campanhas, como é o caso do teor de umidade que esteve menor nos peixes de DA capturados na 1ª e na 2ª campanha e maior nos peixes capturados na 3ª e na 4ª campanha. Novamente, é importante ressaltar que os sistemas fisiológicos de osmorregulação e equilíbrio ácido-base são responsáveis pela manutenção da homeostase nos fluidos corporais, estando intimamente relacionados à manutenção do funcionamento dos demais sistemas dentro de um organismo (HWANG; LEE; LIN, 2019). Sendo assim, a notável influência do ambiente

nestes biomarcadores representa prejuízo severo à saúde dos peixes do ponto DA, do compartimento 2.

Além das alterações nos biomarcadores fisiológicos os peixes de DA apresentaram também alterações em outros biomarcadores, como pode ser denotado pelo maior valor de IBRV2 em DA no que se trata de diversos agrupamentos de biomarcadores. Neste sentido, destaca-se que na 3ª campanha diversos IBRV2 se apresentaram maiores nos peixes de DA em relação aos de CP. Entre as integrações de biomarcadores que apresentaram maiores alterações nesta campanha estão os sistemas antioxidante e de biotransformação braquial e hepático, que no geral apresentaram atividades enzimáticas reduzidas, além dos biomarcadores não enzimáticos no tecido branquial que também apresentaram menores níveis que os peixes de CN. Em conjunto, tais alterações indicam grave prejuízo ao organismo uma vez que o sistema antioxidante atua na eliminação das EROs, prevenindo assim que as mesmas interajam com macromoléculas e causem danos às mesmas, e neste caso, os peixes de DA, do compartimento 2, estão com este sistema de defesa potencialmente reduzido. Além de atuar diretamente no aumento da produção de EROs, alguns EPTs, como o Cd e o Pb, por exemplo, são capazes de interagir diretamente com os grupamentos sulfidríla (-SH) presentes em diversas enzimas e outras moléculas celulares, afetando assim suas funções biológicas (MATOVIĆ et al., 2015), sendo este o possível mecanismo de ação de toxicidade que estes peixes estão sofrendo, tanto no tecido branquial, quanto no hepático. Além disso, outros estudos relatam a redução de atividade de enzimas como a CAT, a SOD, a GPx, a GST e a GR em decorrência da exposição a diferentes EPTs, como o Al (RAMÍREZ-DUARTE; KUROBE; TEH, 2017), o Cd (CANLI, 2010; QU et al., 2014), o Cu (CANLI, 2010; GOPI et al., 2019), o Cr, o Fe e o Zn (CANLI, 2010), entre outros, indicando que este mecanismo é recorrente.

Quanto à bioacumulação nos peixes do compartimento 2, novamente verificou-se que todos os 19 EPT foram detectados tanto no tecido hepático quanto no tecido muscular dos peixes avaliados. Destaca-se que os peixes coletados no ponto DA apresentaram maiores concentrações de Al, As, Ba, Ni e Se no tecido muscular e de Ag, As e Ni no tecido hepático, na 1ª campanha, de Fe, Hg e Zn no músculo e Hg e Zn no fígado, na 2ª campanha, de Ag, Ba, Cd, Ni, Pb e Se no tecido muscular e As no tecido hepático na 3ª campanha e de Hg e Se no tecido muscular e Ni no tecido hepático, na 4ª campanha. Dentre estes EPTs que estiveram em maiores concentrações nos peixes de DA é importante mencionar que o As, Cd, Hg e Pb são considerados elementos de elevada toxicidade para peixes e outros vertebrados mesmo quando em baixas concentrações, sendo os mesmos relacionados inclusive a ocorrência de diversas patologias de importância para a população humana (COSTA, 2019; FLORA et al., 2007; ISMAIL; YUSOF, 2011; KASPER et al., 2007; LEE et al., 2019; MATOVIĆ et al., 2015), além disso, estes EPTs são uns dos poucos que apresentam limites máximos legislados quanto à sua presença em alimentos destinados à consumo humano (ANVISA, RDC nº 42/2013). No compartimento 3, similar ao

observado nos demais compartimentos do ambiente aquático continental, os peixes dos pontos CP e DA apresentaram uma série de alterações em relação aos peixes do ponto CN, porém, destaca-se que em diversas campanhas e agrupamentos de biomarcadores os peixes do ponto DA apresentaram alterações mais expressivas do que as apresentadas pelos peixes do ponto CP.

Em todas as campanhas os peixes capturados no ponto DA apresentaram maiores alterações nos biomarcadores fisiológicos do que os peixes dos pontos CP, em relação às respostas observadas nos peixes do ponto CN. Como resposta comum a todas as campanhas, os peixes do ponto DA apresentaram menor atividade da AC branquial, ao passo que os demais biomarcadores fisiológicos relacionados à osmorregulação e equilíbrio ácido-base se apresentaram variações em suas respostas ao longo das campanhas amostrais. Tais alterações indicam que o meio exerceu diferentes tipos e níveis de estresse sobre estes organismos, uma vez que a atuação destes sistemas está diretamente relacionada ao gradiente osmótico e iônico apresentado pelo ambiente em que os peixes estão inseridos (HWANG; LEE; LIN, 2019).

Além das alterações nos biomarcadores fisiológicos nota-se que os peixes capturados no ponto DA, no compartimento 3, apresentaram outros biomarcadores com alterações mais expressivas que as observadas nos peixes de CP, embora em cada campanha diferentes sistemas tenham apresentado estas alterações. Nos peixes capturados na campanha 1, além do elevado valor de IBRv2 para os biomarcadores fisiológicos observou-se também expressivas alterações nos biomarcadores de metabolismo energético e dos sistemas antioxidante e de biotransformação. No que se trata do metabolismo, todos os biomarcadores (glicose e lactato plasmáticos e glicogênio muscular) estiveram menores nos peixes de DA, indicando que os mesmos estão em um quadro de deficiência energética, com potencial prejuízo à saúde dos mesmos, uma vez que a queda na concentração destas moléculas reflete diretamente na redução do conteúdo de ATP disponível para as demais funções fisiológicas do organismo (HALLARE et al., 2005; JAVED; USMANI, 2014; POLAKOF; MOMMSEN; SOENGAS, 2011). Quanto aos sistemas antioxidante e de biotransformação, nesta campanha ambos estiveram alterados tanto no tecido hepático quanto no tecido branquial, embora em nenhum destes tecidos tenha sido observado maior nível de LPO, indicando que os sistemas estão sendo afetados, porém o aumento do dano oxidativo ainda está sendo eficientemente prevenido.

A 2ª campanha, por sua vez, foi o período em que os peixes de DA do compartimento 3 apresentaram, no geral, alterações em menores proporções do que as observadas nos peixes de CP, embora nesta tenha sido observada a maior quantidade de EPTs no tecido hepático em concentrações superiores às dos peixes dos pontos CN e CP, sendo eles Ce, Co, Cr, Hg, La, Sb e Sn. Assim, nos peixes de DA desta campanha notou-se que, além das alterações previamente descritas no sistema fisiológicos de osmorregulação e equilíbrio ácido-base, os mesmos estão sofrendo efeitos neurotóxicos, com menor atividade da AChE no tecido muscular e maior atividade desta enzima no

tecido cerebral. Novamente, é importante mencionar que embora a redução da atividade da AChE seja a resposta comumente relacionada à ocorrência de neurotoxica, contaminantes metálicos como os EPTs tem se mostrado afetar a atividade desta enzima de distintas maneiras, inclusive com a promoção do aumento da atividade da mesma em diversos tecidos (DE LA TORRE; SALIBIÁN; FERRARI, 2000; MELA et al., 2013; PRETTO et al., 2010).

Nas campanhas 3 e 4, os peixes capturados no ponto DA do compartimento 3 apresentaram as alterações mais expressivas que os peixes de CP, no geral, nos mesmos agrupamentos de biomarcadores, sendo eles os biomarcadores fisiológicos, previamente citados, os enzimáticos dos sistemas antioxidante e de biotransformação hepáticos e os não enzimáticos tanto do tecido branquial quando do hepático. No entanto, apenas alguns dos biomarcadores destes agrupamentos apresentaram respostas similares nos peixes capturados nestas duas campanhas, como é o caso da atividade da GPx hepática que apresentou menor atividade nestas duas campanhas, assim como dos níveis de MT hepática e branquial e de GSH branquial que estiveram maiores em quase todas as campanhas (exceção: MT branquial na 1ª campanha). Desta foram, nota-se que o sistema antioxidante e o sistema de biotransformação estão sendo ativados nos peixes de DA, possivelmente em decorrência do aumento da concentração de EROs, o que pode ser inclusive observado pela maior atividade da SOD no tecido hepático dos peixes deste ponto amostral. No entanto, a eficiência destes sistemas em evitar danos em macromoléculas não é observada nos peixes da 3ª campanha, uma vez que nestes pode ser notado um maior nível de LPO, tanto no tecido hepático quando no tecido branquial, em relação ao observado nos peixes do ponto CN. Mais uma vez, é preciso recordar que a presença de EPTs no ambiente, e consequentemente bioacumulados nos tecidos dos peixes do compartimento 3, juntamente com as respostas dos biomarcadores avaliados, justifica a ocorrência de prejuízos à saúde destes organismos uma vez que o mecanismo de ação de muitos dos EPTs avaliados se dá por meio da interferência em reação celulares, promovendo o aumento da produção de EROs e radicais livres ou ainda por meio da ação direta na modulação das funções de enzimas e proteínas, especialmente aquelas ricas em grupamentos SH (JOMOVA; VALKO, 2011; MATOVIĆ et al., 2015). Além disso, a presença de concentrações tóxicas de EPTs no tecido branquial e hepático é corroborada pela maior concentração de MT encontrada nestes tecidos nos peixes de DA, pois sabe-se que estas proteínas atuam especialmente na manutenção da homeostase de metais essenciais, como o Cu e o Zn, mas que devido à sua afinidade por metais atua também de maneira eficaz na desintoxicação ou quelatção de metais não essenciais, o que de maneira simplificada auxilia evitando com que estes metais interajam com outras moléculas celulares, vindo assim a causar danos às mesmas (BAYKAN; ATLI; CANLI, 2007; GUINOT et al., 2012; HOGSTRAND; GALVEZ; WOOD, 1996; LINDE; GARCIA-VAZQUEZ, 2006).

Por fim, nos peixes do compartimento 3, assim como observado nos demais compartimento, todos os EPTs avaliados foram detectados, tanto no tecido hepático quanto no tecido muscular. Destaca-se que os peixes do ponto DA não apresentaram nenhum EPT em concentração superior às concentrações encontradas nos peixes dos demais pontos amostrais na 1ª campanha, no entanto, na 2ª campanha estes apresentaram maior bioacumulação de Cr no tecido muscular, e de Ce, Co, Cr, Hg, La, Sb e Sn, no tecido hepático, na 3ª campanha observou-se maior concentração de Cd, Se e Sn, no tecido muscular e de Co no tecido hepático, enquanto na 4ª campanha novamente o Cr foi o EPT com maior bioacumulação no tecido muscular, ao passo que no tecido hepático isto ocorreu com o Al. Vale ressaltar que a bioacumulação por si só já representa uma importante ferramenta na avaliação ecotoxicológica uma vez que ela indica as condições de contaminação do meio em que os organismos estão inseridos, estando inclusive relacionada diretamente às alterações nas respostas observadas nestes organismos (DEFOREST; BRIX; ADAMS, 2007; LEE et al., 2019; WANG; TAN, 2019).

Apesar das alterações nos diferentes biomarcadores e do acúmulo de elevadas concentrações de EPTs, os peixes capturados nos compartimentos 1, 2 e 3 não apresentaram alterações em suas estruturas reprodutivas (gônadas), bem como nas células das linhagens germinativas (ovogênese e espermatogênese). A reprodução é fundamental para a manutenção da riqueza de espécies, dos estoques pesqueiros e para o equilíbrio do ecossistema. Desse modo, como EPTs são reconhecidos por afetar negativamente a reprodução em peixes (SFAKIANAKIS et al., 2015; MERÇON et al., 2021) e, como a condição de saúde dos animais apresenta-se debilitada, é razoável supor que, independentemente do compartimento, esses animais passem a apresentar prejuízos na reprodução. É importante mencionar que a ausência de alterações nas gônadas dos indivíduos capturados não é indicativo de ausência de risco de comprometimento das funções reprodutivas e, consequentemente, de manutenção das espécies, mas talvez, reflitam aumento no investimento reprodutivo, que é utilizado como uma tática diante de pressões ambientais, como a contaminação, por exemplo. Nestas condições, os peixes investem energia de modo a garantir o sucesso reprodutivo e, consequentemente, a geração da prole, a sobrevivência da espécie e equilíbrio da população (VAZZOLER, 1996). Sugere-se, nesse quesito, especial atenção aos itens 1.3.1.3 (Análise das relações entre as métricas ecotoxicológicas e a Abundância e a Riqueza de espécies de peixes continentais) e 1.3.1.4. (Análise de toxicidade com amostras de águas e sedimentos da porção continental em embriões de *Danio rerio* (zebrafish)) do presente relatório, os quais, a despeito da ausência de danos histopatológicos nas gônadas dos animais capturados nos compartimentos continentais, já indicam comprometimento no fitness e na sobrevivência dos animais e de seus ovos e larvas, respectivamente, à água e sedimento das regiões acometidas pela passagem da onda de lama.

Em resumo, os resultados obtidos, especialmente por meio da abordagem de avaliação de múltiplos biomarcadores, indicam que os peixes capturados nos pontos amostrais localizados dentro

da APDL, nos compartimentos 1, 2 e 3, ou seja, pontos DA e DQ, estão ainda sendo prejudicados pela presença de contaminantes no meio. Ainda, nota-se também que os peixes capturados nos pontos CP também apresentaram prejuízos, embora, no geral, estes tenham sido de menor intensidade do que os observados nos peixes dos pontos localizados dentro da APDL.

Com base nos resultados apresentados, os danos aos peixes capturados nos compartimentos 1, 2 e 3 foram classificados quanto a gravidade, reversibilidade e tendência. No entanto, como o padrão de resposta foi, especialmente no que diz respeito a biacumulação, diferente entre os compartimentos, dentro de cada item de classificação foram incluídos subtópicos para os danos relacionados à condição de saúde e à bioacumulação.

a) Gravidade:

Prejuízos às condições de saúde

Para os peixes capturados nos Compartimentos 1, 2 e 3 ficou evidente o comprometimento de diversos sistemas biológicos, conforme demonstrado pelas alterações identificadas nos biomarcadores avaliados, especialmente nos peixes capturados nos pontos DA (e/ou DQ, no caso do compartimento 1) em relação aos peixes capturados nos pontos CN. É importante mencionar que nos compartimentos 2 e 3, alguns biomarcadores foram mais afetados nos peixes capturados nos pontos CP que nos animais capturados nos pontos DA. No entanto, uma vez que os biomarcadores afetados estão relacionados a diversos sistemas essenciais para a manutenção da homeostase dos organismos, como os sistemas fisiológicos de osmorregulação, equilíbrio ácido-base, de metabolismo energético, antioxidante, de biotransformação e colinérgico, pode-se afirmar que o dano à saúde dos peixes provenientes dos três compartimentos, é considerado **gravíssimo**.

Bioacumulação

Foi detectada a presença dos 19 EPTs, tanto no tecido muscular quanto no tecido hepático, dos peixes capturados nos três compartimentos. No compartimento 1, diversos EPTs foram encontrados em maiores concentrações nos peixes capturados nos pontos DA e DQ que nos peixes capturados nos pontos CN e CP, assim como os danos à saúde também foram superiores nos animais capturados no DA e, como os riscos à sobrevivência desses organismos é demasiadamente grande nesse compartimento, visto que o mesmo foi o mais degradado pela passagem de lama e ainda apresenta grande quantidade de rejeito em sua extensão, o dano de bioacumulação foi considerado **gravíssimo**.

Para os compartimentos 2 e 3, apesar de todos os elementos também terem sido determinados tanto no tecido muscular quanto hepáticos de todos os animais capturados, apenas para

alguns elementos as concentrações observadas nos animais capturados no ponto DA foram superiores às observadas para os animais capturados nos pontos CP e CN. No entanto, como o mecanismo de bioacumulação de EPTs se dá tanto pelo contato do animal com o ambiente quanto através do recurso alimentar e, ao longo do tempo, o dano de bioacumulação nesses compartimentos foi considerado **grave**.

É importante mencionar que não há diretrizes que determinem quais os níveis destes EPTs que são considerados seguros para a saúde do animal.

b) Reversibilidade:

Prejuízos às condições de saúde

Considerando que, no compartimento 1, a maioria das alterações nos biomarcadores foram observadas nas quatro campanhas amostrais e, diante das condições em que se encontra esse compartimento, os danos observados à saúde dos peixes de DA e DQ foram considerados **irreversíveis**.

No compartimento 2, devido os peixes não apresentarem uma padrão de resposta claro ao longo das quatro campanhas amostrais e, pelo compartimento 2 ser considerado um dos mais impactados previamente ao desastre, uma vez que contém dois dos corpos d'água mais contaminados da bacia do rio doce (o rio Piracicada e rio Piranga), além deste compartimento estar associado à presença do vale do aço, o qual aporta grande quantidade de contaminantes pra os leitos dos rios, esse **compartimento não foi classificado quanto a reversibilidade**.

Embora alguns biomarcadores não tenham apresentado padrão de resposta claro ao longo das quatro campanhas os animais capturados no ponto DA apresentaram alterações nos marcadores fisiológicos relacionados à osmorregulação e equilíbrio ácido-base em todas as campanhas amostrais. Sendo esses essenciais à manutenção da vida, os danos nesse compartimento foram considerados **irreversíveis**.

Bioacumulação

O mecanismo de bioacumulação de EPTs se dá, de maneira resumida, pelo desbalanço entre o processo de absorção dos EPTs e a capacidade de excreção/eliminação que cada organismo apresenta. Esse mecanismo ocorre ao longo do tempo e é dependente do nível de exposição dos animais aos contaminantes. Como peixes encontram-se imersos no meio onde grande parte desse material ficou retido e, alimentam-se de outros organismos que também estão em contato com o rejeito, independentemente do compartimento, o dano foi considerado **irreversível**.

c) Tendência:

Prejuízos às condições de saúde

No compartimento 1, uma vez que alterações nos biomarcadores avaliados foram bastante claras a tendência é de aumento, visto que alterações como as identificadas podem culminar em prejuízos à reprodução e/ou promover morte dos indivíduos o que, a longo prazo pode resultar no declínio populacional e até mesmo à perda da biodiversidade.

Para os compartimentos 2 e 3, em decorrência dos aspectos já pontuados no item gravidade e, no caso do compartimento 2 no item reversibilidade, os danos apresentados nesses compartimentos não foram classificados quanto a tendência. No entanto, é importante mencionar que diversos estudos, avaliando os efeitos destes contaminantes no ambiente, demonstram que concentrações destes EPTs na ordem de nano ou micrograma são suficientes para promover prejuízos à saúde dos organismos avaliados. Não obstante, estudos apontam que a associação entre vários elementos em misturas complexas, bem como a interação desses com fatores abióticos amplificam os efeitos sobre os peixes, sugere-se, desse modo, o monitoramento para melhor acompanhamento e avaliação da tendência dos danos nesses compartimentos.

Bioacumulação

Embora as concentrações de EPTs possam variar no tempo e no espaço, a disponibilidade destes, mesmo que em menores concentrações, não vão deixar de ocorrer, especialmente, porque esses elementos continuam disponíveis no ambiente. Ainda, dada a persistência desses elementos no meio e a dependência desses organismos ao ambiente aquático a **tendência dos danos é aumentar**.

3.1.2. AMBIENTE COSTEIRO

Compartimento 4 (estuário)

3.1.2.1. ALTERAÇÕES NAS CONDIÇÕES CORPORAIS E/OU NA SAÚDE DA ICTIOFAUNA

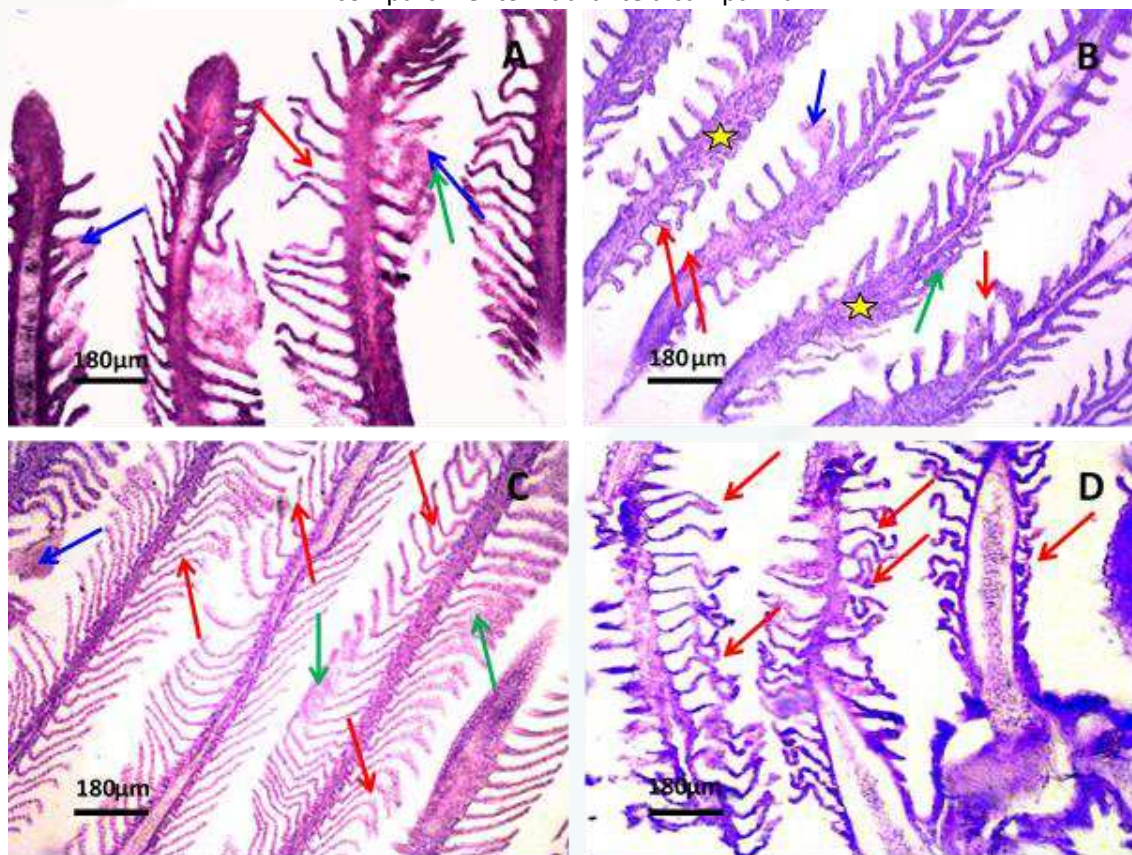
3.1.2.1.1. Prejuízos à estrutura e função das brânquias (biomarcador: histopatologia de brânquias)

Todos os peixes capturados no compartimento 4 apresentaram inúmeras alterações na estrutura das brânquias. Dentre as alterações morfológicas identificadas nas brânquias dos peixes capturados na foz do rio Doce (FRD) destacam-se: desestruturação do filamento branquial, fusão parcial e/ou total das lamelas primárias, fusão total ou parcial das lamelas secundárias, aneurisma (de leve a severo), proliferação celular, deslocamento epitelial, hipertrofia, hiperplasia e atrofia (e.g., Figura 58, Figura 59, Figura 60, Figura 61). Os peixes capturados no ponto da foz do Piraquê-Açú (P. Açú ou PA), por sua vez, apresentaram: desestruturação do filamento branquial, aneurisma (leve ou

moderado), proliferação celular, fusão parcial e/ou total das lamelas primárias, hiperplasia, hipertrofia, fusão parcial das lamelas secundárias (e.g., Figura 62, Figura 63, Figura 64).

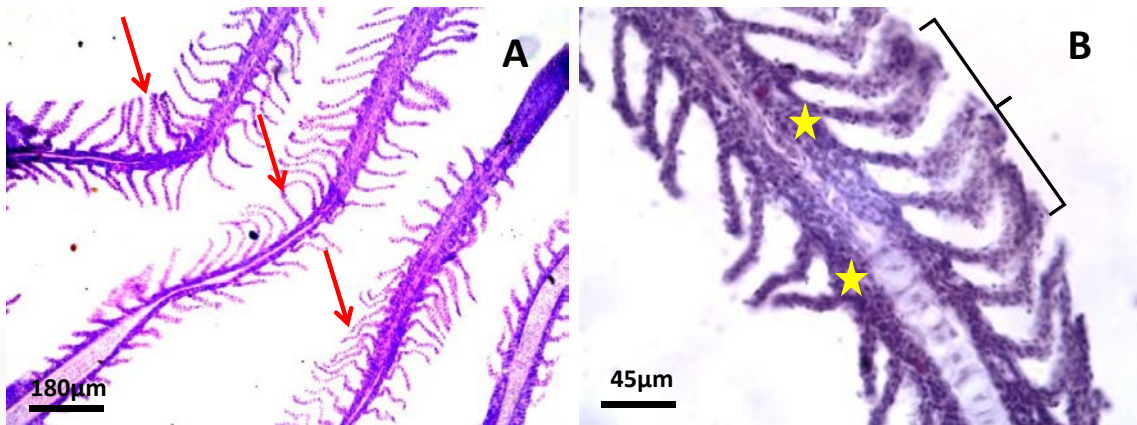
Embora com danos à estrutura branquial bastante similares, a aplicação do índice de Bernet demonstrou que, tanto para todos os indivíduos capturados quanto para o agrupamento por ordens, o ponto cujos peixes apresentaram o maior comprometimento à morfologia do tecido branquial foi o ponto FRD (Tabela 75 e Tabela 76, respectivamente).

Figura 58. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto foz do rio Doce, compartimento 4 durante a campanha 1



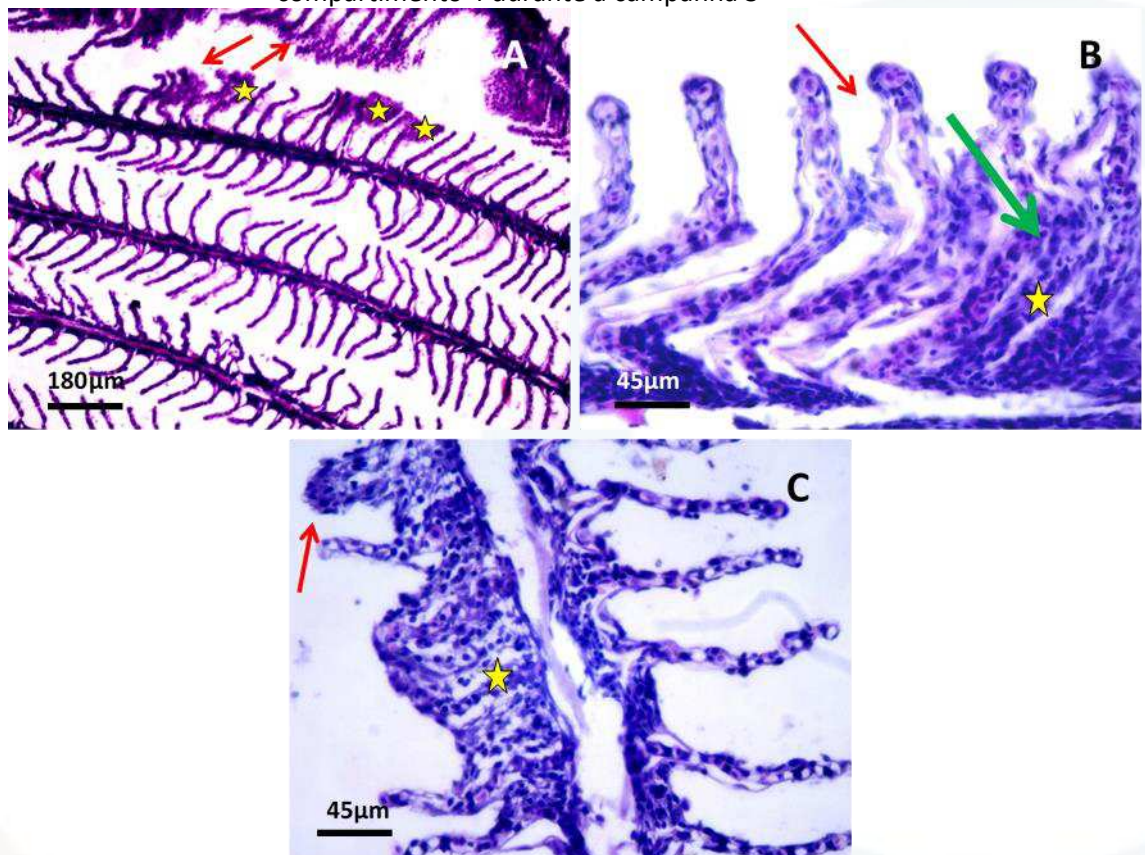
Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta vermelha = desestruturação do filamento branquial, seta verde = fusão de lamelas, seta azul = aneurisma, estrela amarela = proliferação celular. Fonte: LACTEC

Figura 59. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto foz do rio Doce, compartimento 4 durante a campanha 2



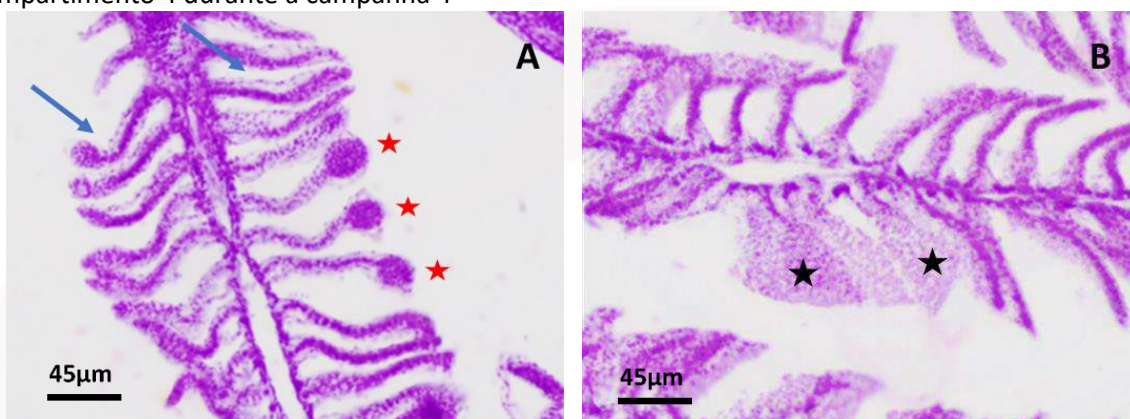
Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta vermelha = desestruturação do filamento branquial, estrela amarela = proliferação celular, área demarcada por colchete = local de aneurisma e fusão de lamelas. Fonte: LACTEC

Figura 60. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto foz do rio Doce, compartimento 4 durante a campanha 3



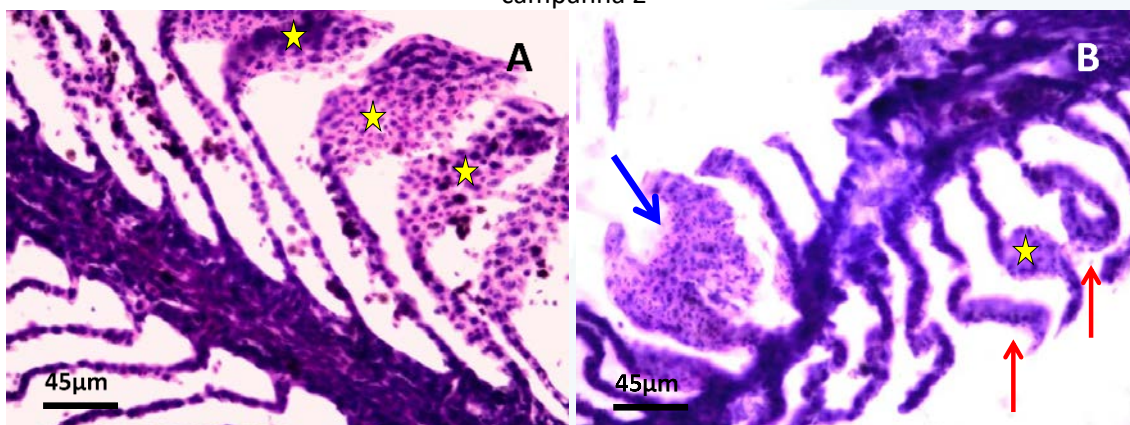
Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta vermelha = desestruturação do filamento branquial, seta verde = fusão de lamelas, estrela amarela = proliferação celular. Fonte: LACTEC

Figura 61. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto foz do rio Doce, compartimento 4 durante a campanha 4



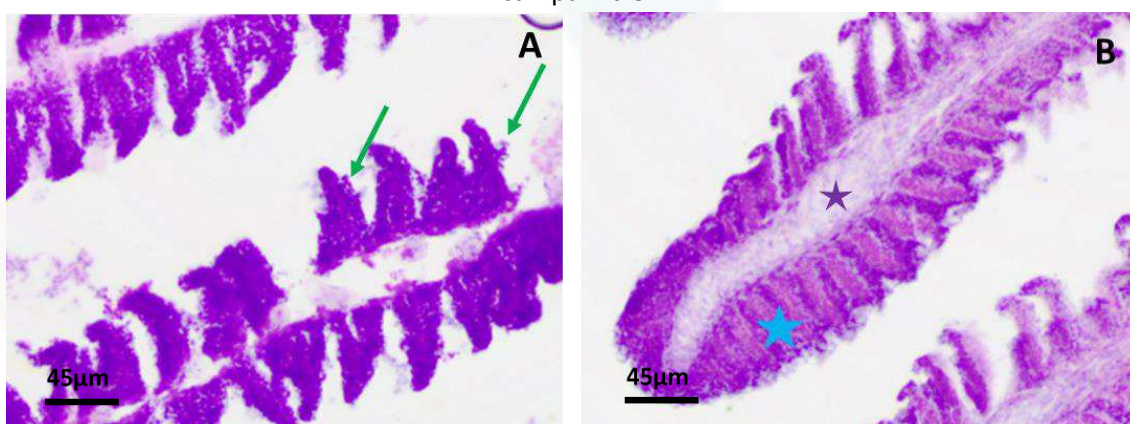
Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta azul = deslocamento de epitélio, estrela preta = hipertrofia, estrela vermelha = aneurisma moderado. Fonte: LACTEC

Figura 62. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto P. Açú durante a campanha 2



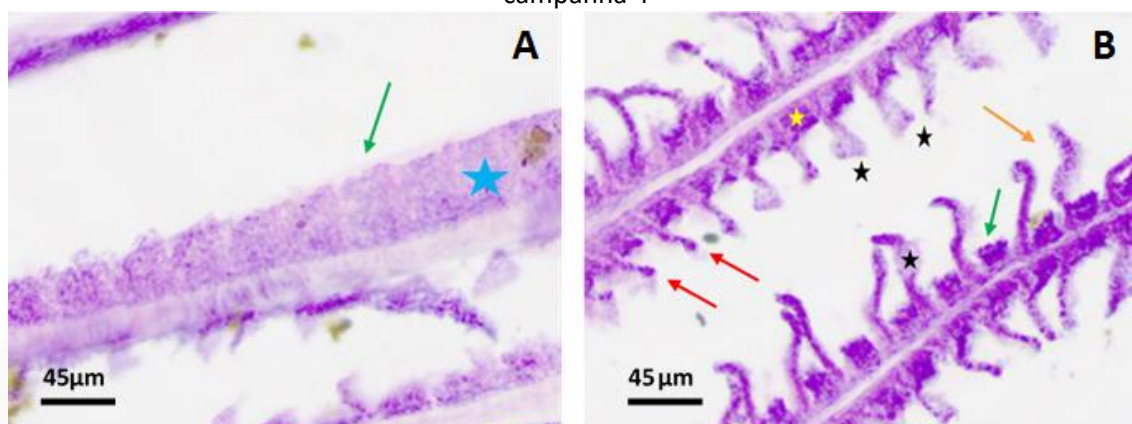
Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta vermelha = desestruturação do filamento branquial, seta azul = aneurisma, estrela amarela = proliferação celular. Fonte: LACTEC

Figura 63. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto P. Açú durante a campanha 3



Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta verde = hiperplasia, estrela azul = Fusão total das lamelas, estrela roxa = proliferação celular. Fonte: LACTEC

Figura 64. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto P. Açú durante a campanha 4



Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta verde = hiperplasia, estrela azul = Fusão total das lamelas, estrela preta = hipertrofia, estrela amarela = fusão parcial de lamelas secundárias, seta vermelha = aneurisma leve, seta laranja = desestruturação do filamento branquial. Fonte: LACTEC

Tabela 75. Determinação dos valores médios do Índice de Bernet (IB) em cada ponto de cada uma das campanhas ao longo do período amostral

Ponto	Campanha 1	Campanha 2	Campanha 3	Campanha 4	Média IB
P. AÇÚ	-	21,0	33,6	32,0	28,9
FRD	39,6	35,7	27,0	39,5	35,5

A coloração das células indica o gradiente entre as médias do índice de Bernet (IB) determinadas para cada um dos pontos. A célula vermelha corresponde ao ponto com a presença de maiores danos no tecido branquial e a célula verde com os menores danos no tecido branquial.

Tabela 76. Determinação dos valores médios do Índice de Bernet (IB) para as ordens mais representativas em cada ponto ao final do período amostral

	P. AÇÚ	FRD
Cichliiformes	25,0	-
Gobiiformes	24,0	46,0
Mugiliformes	-	-
Perciformes	27,5	42,0
Pleuronectiformes	30,0	-
Siluriformes	31,4	35,2

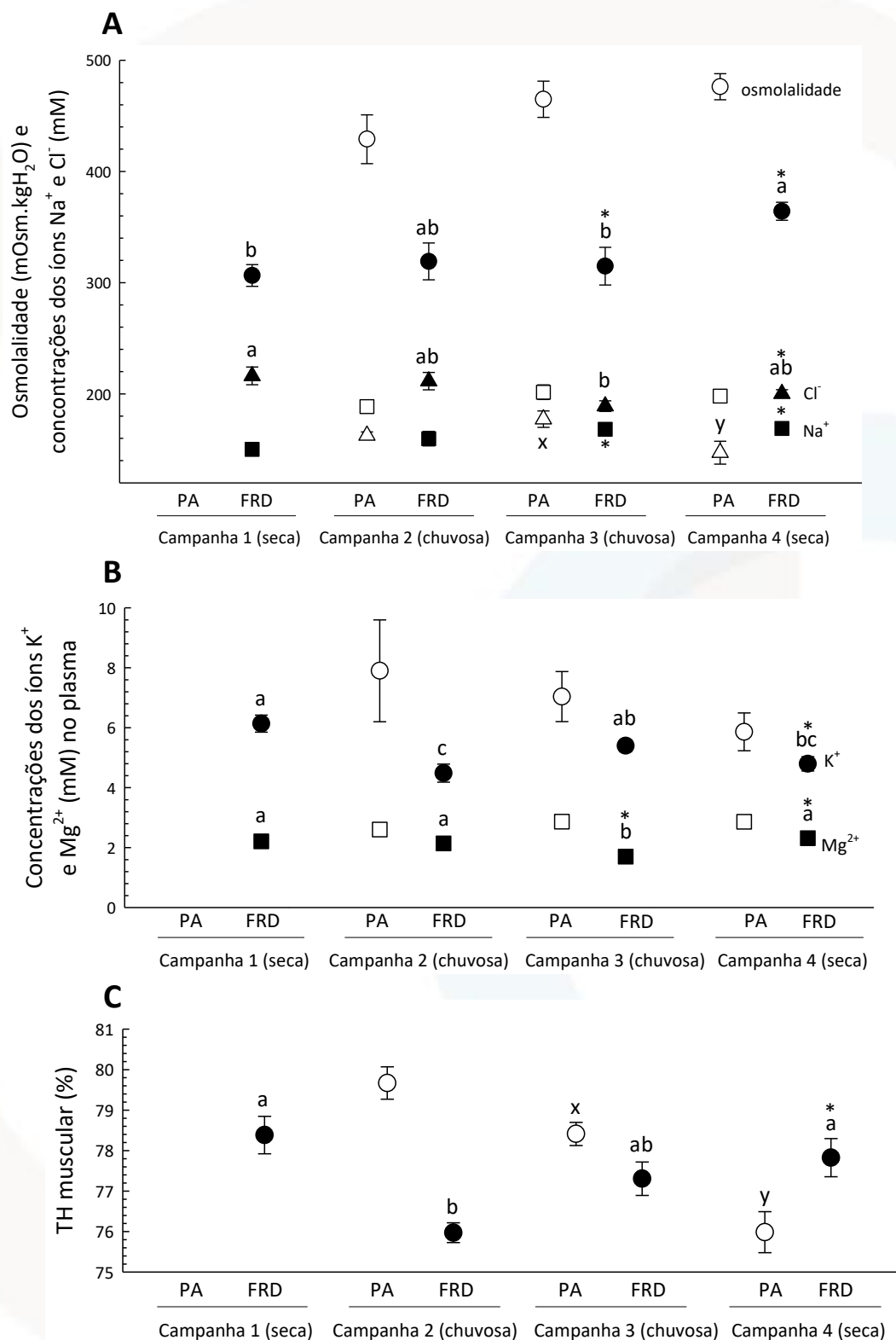
A coloração das células indica o gradiente entre os valores médios do IB para cada uma das ordens mais representativas em cada um dos pontos. A célula vermelha corresponde ao ponto cuja determinada ordem apresentou maiores danos no tecido branquial e a a célula verde corresponde ao ponto onde determinadas ordens apresentaram os menores danos no tecido branquial. Traço corresponde a ordens não coletas em determinado ponto.

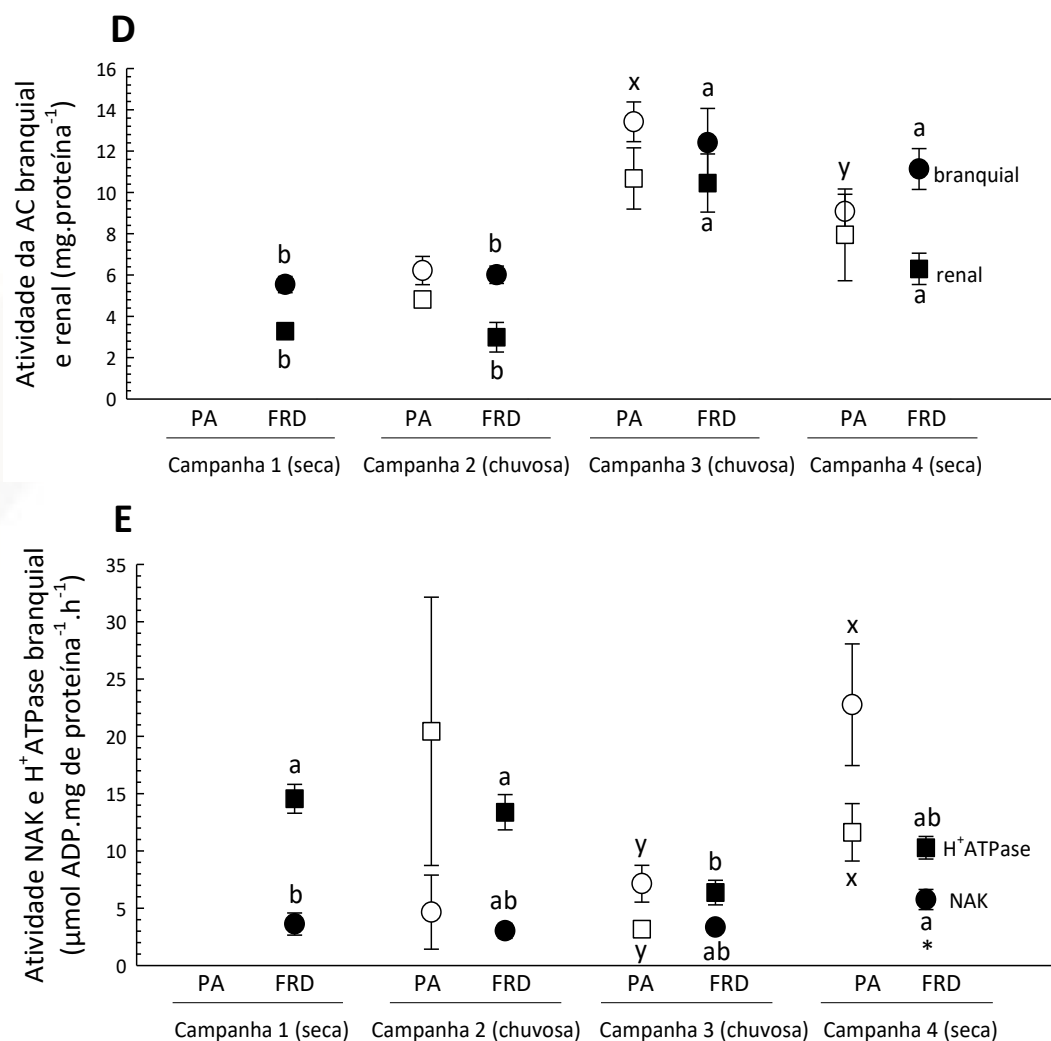
3.1.2.1.2. Prejuízos às funções fisiológicas de osmorregulação, respiração, excreção e equilíbrio ácido-base (biomarcadores: osmolalidade, íons, teor hídrico, atividade específica das enzimas AC, NAK e H^+ -ATPase).

Em virtude do baixo número amostral de peixes capturados no ponto PA durante as campanhas 1 e 2, a comparação entre as respostas fisiológicas apresentadas pelos peixes capturados nesse ponto em relação aos peixes capturados no ponto FRD foi realizada apenas entre as campanhas 3 e 4. Através desta comparação identificou-se que durante as 3ª e 4ª campanhas os peixes capturados no ponto FRD apresentaram menor osmolalidade e menor concentração dos íons plasmáticos Na^+ e Mg^{2+} que os peixes capturados no ponto PA. Além dessas alterações, durante a 4ª campanha os peixes capturados no ponto FRD apresentaram, também, maior concentração plasmática do íon Cl^- e menor concentração do íon K^+ , maior teor de umidade muscular e menor atividade da enzima Na^+/K^+ -ATPase no tecido branquial, em relação ao observados nos peixes capturados no ponto PA (Figura 65 A a E).

A comparação entre as respostas apresentadas pelos peixes capturados em cada um dos pontos (PA ou FRD) ao longo das campanhas demonstrou que, os peixes capturados no ponto PA apresentaram menor concentração de Cl^- , menor teor de umidade muscular, menor atividade da enzima AC branquial e maior atividade das enzimas NAK e H^+ -ATPase durante a 4ª campanha em comparação aos peixes capturados nesse mesmo ponto durante a 3ª campanha. Os peixes capturados no ponto FRD, quando comparados ao longo das quatro campanhas realizadas, apresentaram: maior osmolalidade durante a 4ª campanha em comparação aos peixes capturados durante as campanhas 1 e 3; menor concentração de Cl^- plasmático durante a 3ª campanha em comparação aos peixes capturados na 1ª campanha; maior concentração de K^+ durante a 1ª campanha em comparação aos peixes capturados durante as 2ª e 4ª campanhas; menor concentração de Mg^{2+} durante a 3ª campanha em comparação aos peixes capturados durante as 1ª e 4ª campanhas; menor teor de umidade muscular durante a 2ª campanha em comparação aos peixes capturados durante as campanhas 1 e 4; maior atividade da AC branquial e renal durante as campanhas 3 e 4 em relação aos peixes capturados nas campanhas 1 e 2; menor atividade da enzima H^+ -ATPase durante a 3ª campanha em comparação aos peixes capturados durante as campanhas 1 e 2 e, por fim, menor atividade da enzima NAK branquial durante a 1ª campanha em comparação aos peixes capturados durante a 4ª campanha (Figura 65 A a E). Chama-se atenção de que os peixes capturados no ponto FRD apresentaram, independentemente da campanha, concentrações plasmáticas do íon Cl^- superiores as concentrações plasmáticas de Na^+ (Figura 65 A).

Figura 65. Biomarcadores fisiológicos determinados em todos os peixes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Osmolalidade (OSM) (círculo), Cl^- (triângulo), Na^+ (quadrado); B – K^+ (círculo), Mg^{2+} (quadrado); C – Teor hídrico (TH) (círculo); D – Anidrase carbônica (AC) branquial (círculo) e renal (quadrado); E – Na^+/K^+ -ATPase (NAK) (círculo) e H^+ -ATPase (quadrado) branquial.

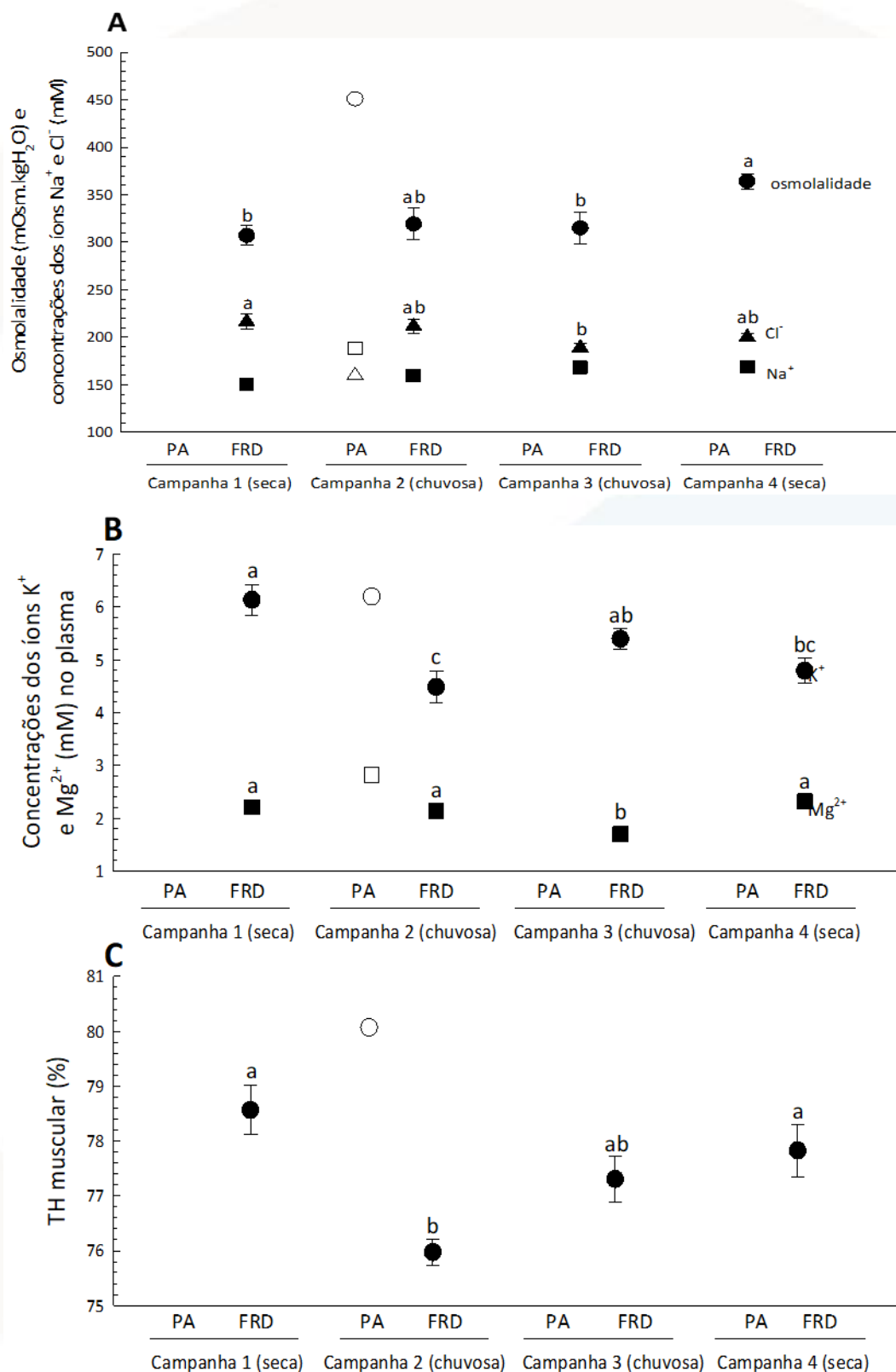


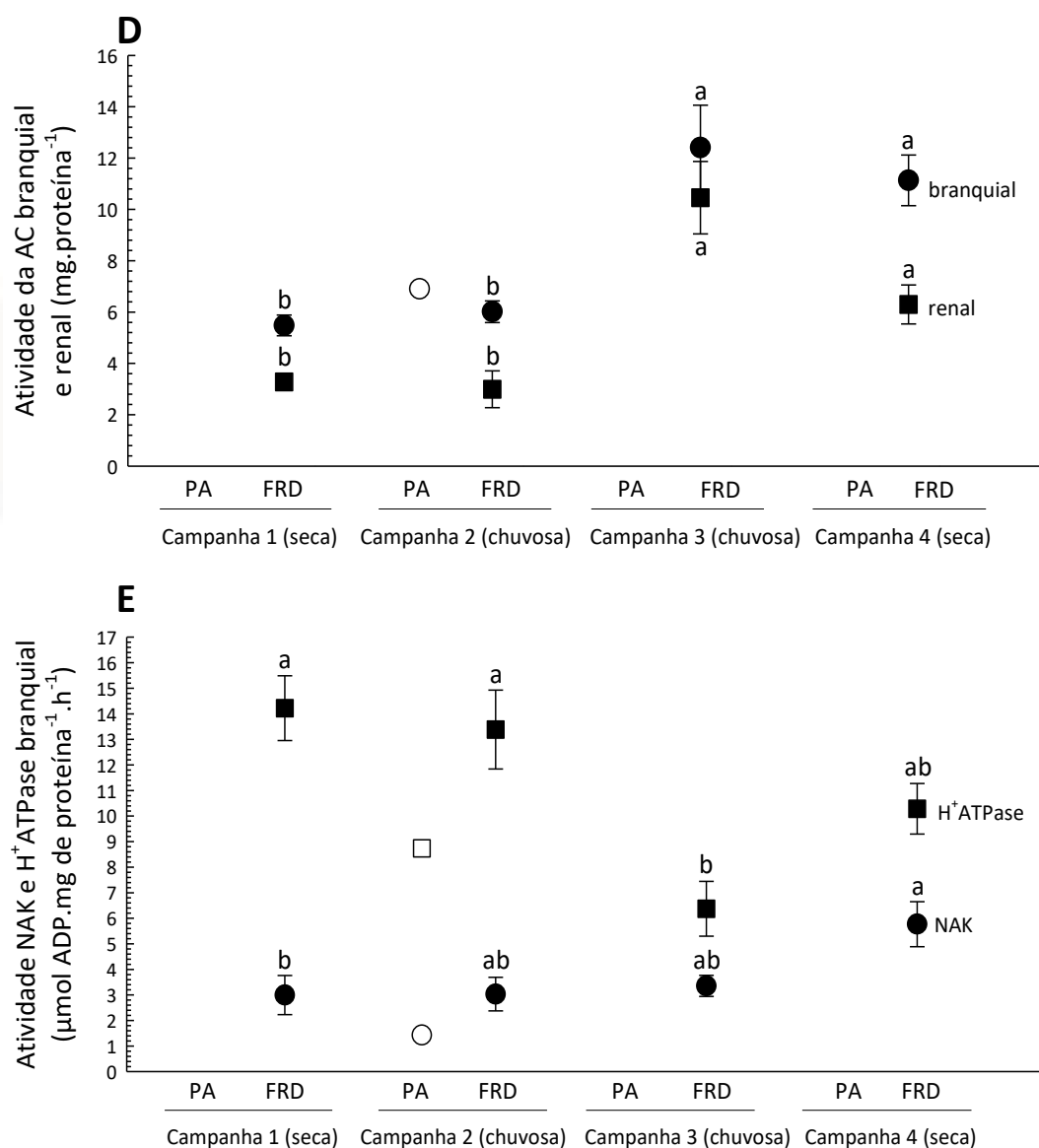


Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

A análise das respostas dos peixes, de acordo com o agrupamento pela ordem Siluriformes ou pelos hábitos alimentares invertívoro bentônico e zoobentívoro, demonstrou que, no geral, as respostas foram muito semelhantes as previamente descritas para o conjunto de todos os peixes amostrados em cada um dos pontos (Figura 66, Figura 67 e Figura 68, respectivamente).

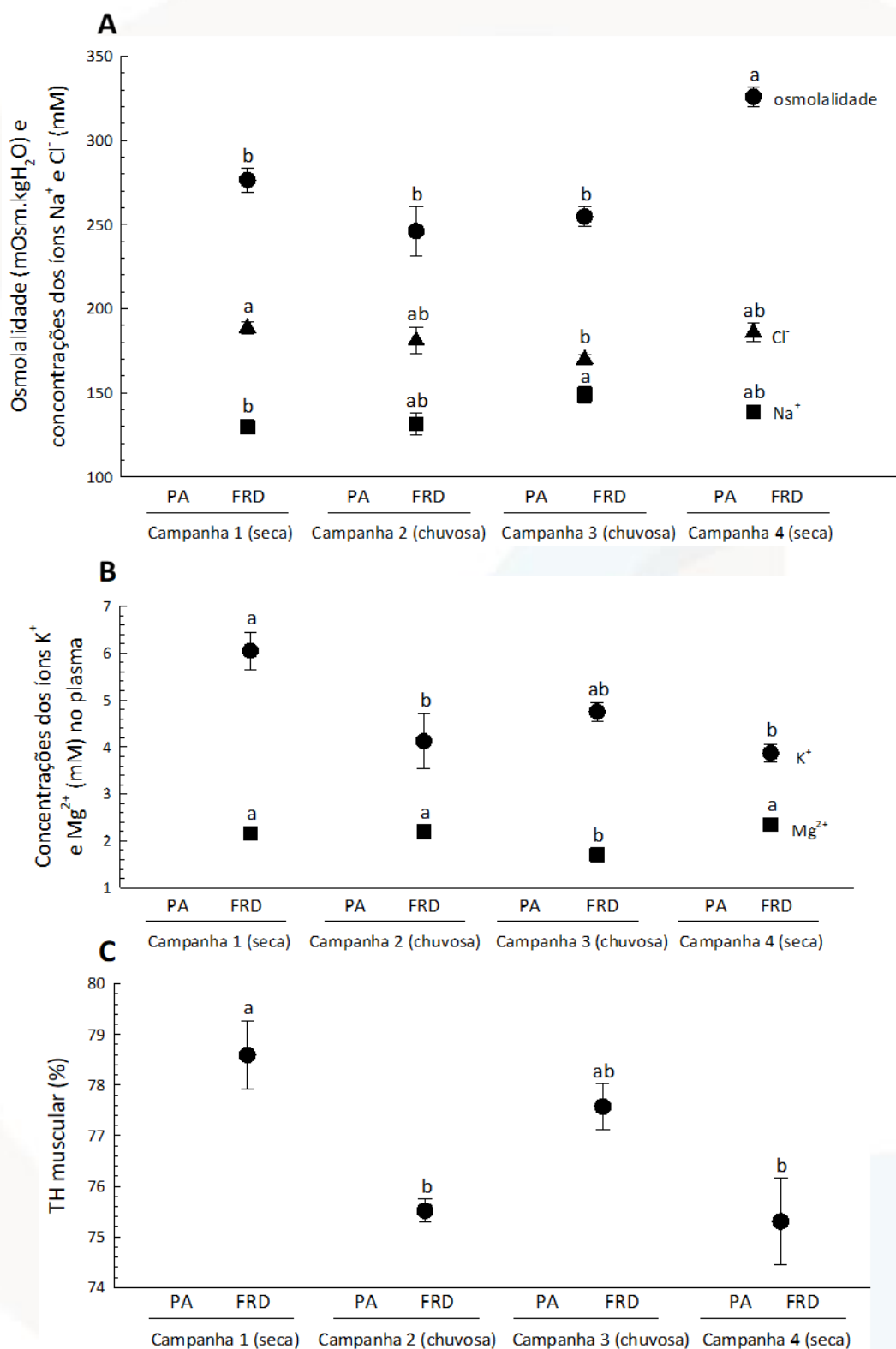
Figura 66. Biomarcadores fisiológicos determinados em peixes, da ordem Siluriformes, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Osmolalidade (OSM) (círculo), Cl^- (triângulo), Na^+ (quadrado); B – K^+ (círculo), Mg^{2+} (quadrado); C – Teor hídrico (TH) (círculo); D – Anidrase carbônica (AC) branquial (círculo) e renal (quadrado); E – Na^+/K^+ -ATPase (NAK) (círculo) e H^+ -ATPase (quadrado) branquial.

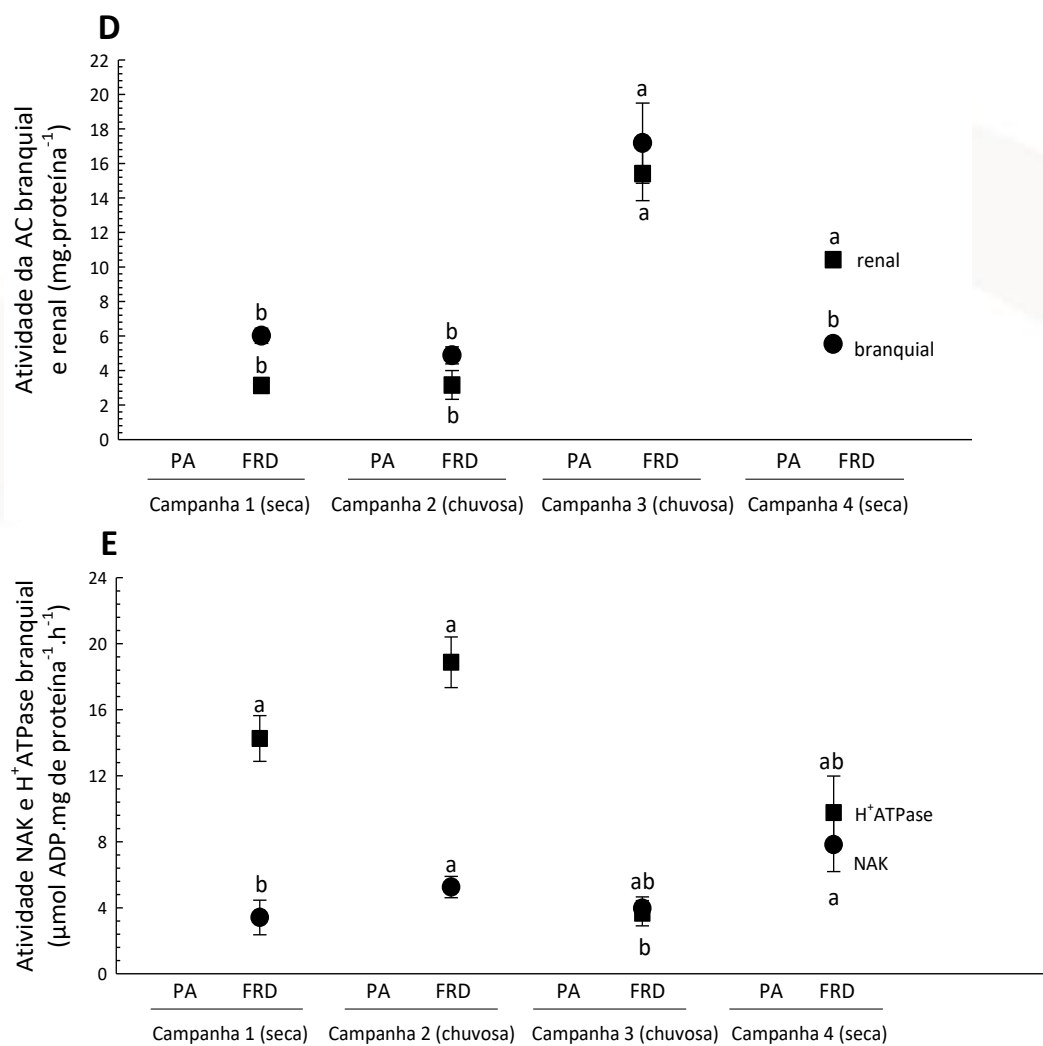




Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

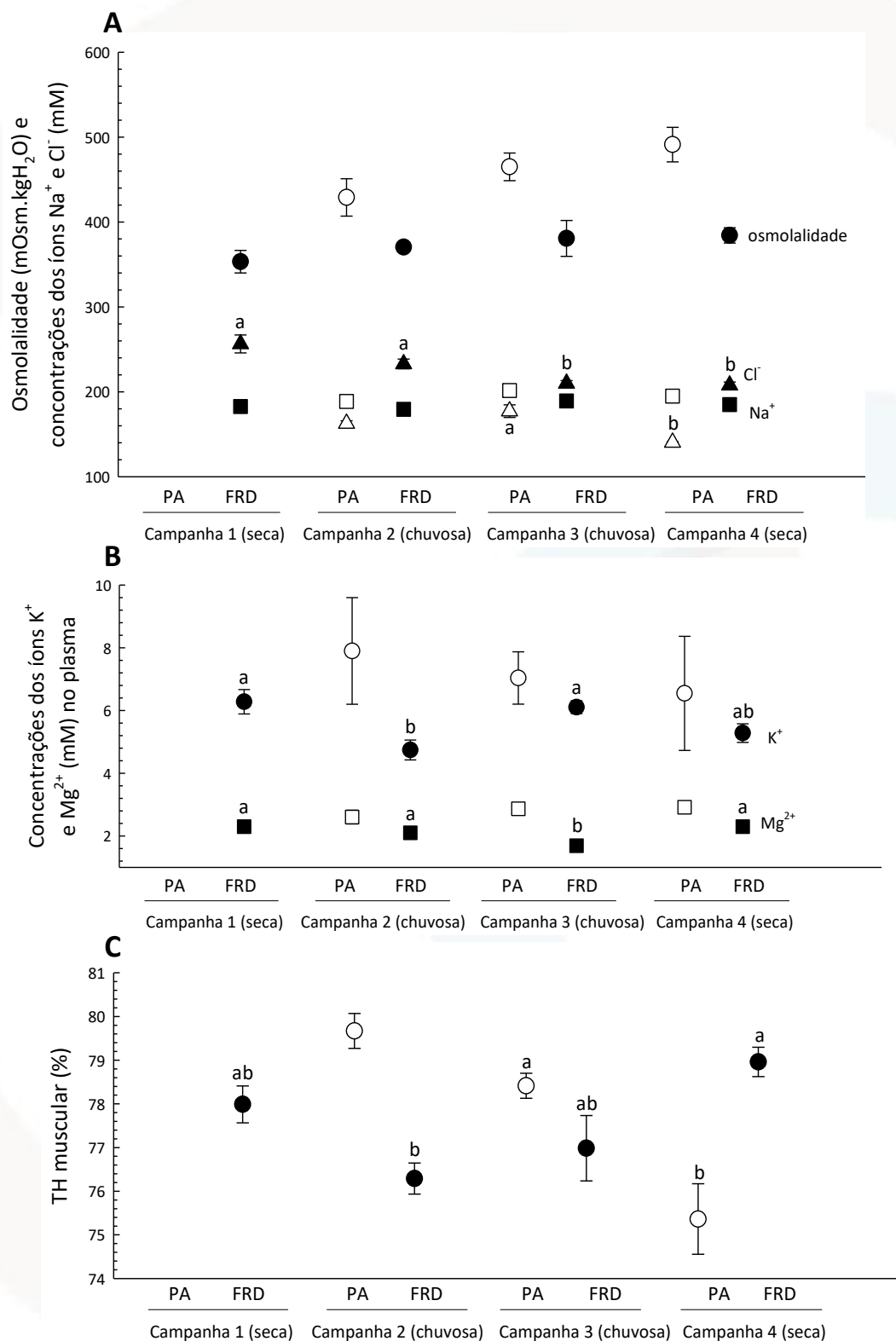
Figura 67. Biomarcadores fisiológicos determinados em peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Osmolalidade (OSM) (círculo), Cl^- (triângulo), Na^+ (quadrado); B – K^+ (círculo), Mg^{2+} (quadrado); C – Teor hídrico (TH) (círculo); D – Anidrase carbônica (AC) branquial (círculo) e renal (quadrado); E – Na^+/K^+ -ATPase (NAK) (círculo) e H^+ -ATPase (quadrado) branquial.

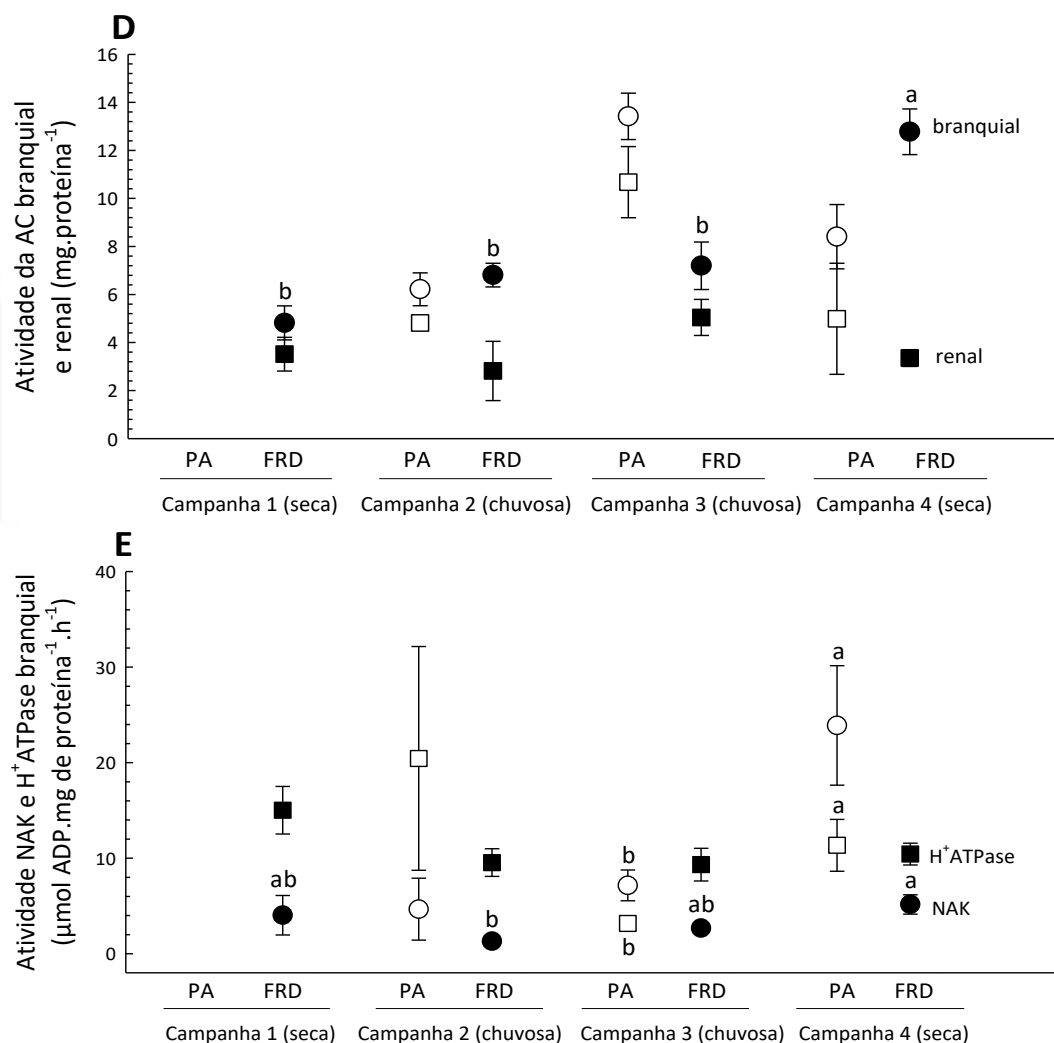




Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

Figura 68. Biomarcadores fisiológicos determinados em peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Osmolalidade (OSM) (círculo), Cl^- (triângulo), Na^+ (quadrado); B – K^+ (círculo), Mg^{2+} (quadrado); C – Teor hídrico (TH) (círculo); D – Anidrase carbônica (AC) branquial (círculo) e renal (quadrado); E – Na^+/K^+ -ATPase (NAK) (círculo) e H^+ -ATPase (quadrado) branquial.





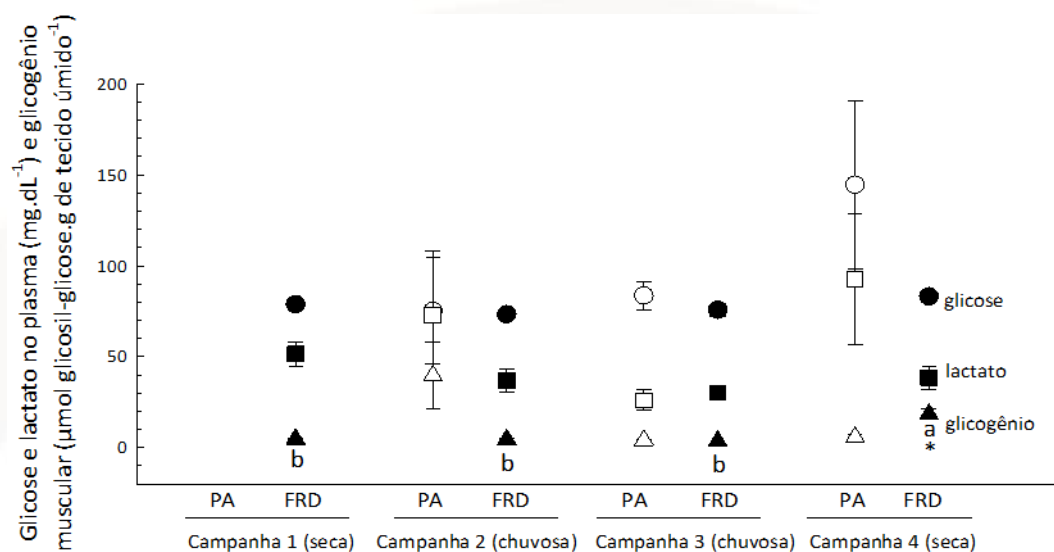
Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

3.1.2.1.3. Prejuízos ao metabolismo energético (biomarcadores: glicose, glicogênio e lactato)

A comparação entre as respostas relacionadas ao metabolismo energético apresentadas pelos peixes capturados nos pontos PA e FRD demonstrou que apenas a concentração de glicogênio muscular diferiu entre os pontos e, apenas, na 4ª campanha, sendo a concentração de glicogênio muscular dos peixes capturados em FRD superior a concentração determinada nos peixes capturados no ponto PA (Figura 69).

A comparação entre as quatro campanhas amostrais para cada um dos pontos (PA ou FRD) demonstrou que apenas para os peixes capturados no ponto FRD, na 4ª campanha, houve aumento na concentração de glicogênio muscular (Figura 69).

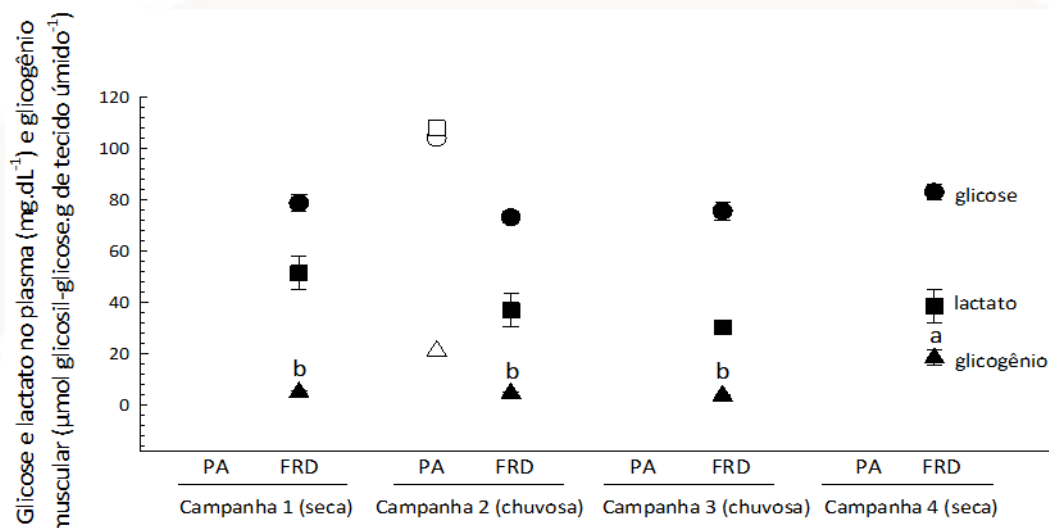
Figura 69. Biomarcadores relacionados ao metabolismo energético determinados em todos os peixes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Glicose (círculo) e lactato (quadrado) plasmáticos e glicogênio muscular (triângulo).



Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

A avaliação das respostas dos biomarcadores de metabolismo energético nos peixes capturados em cada um dos pontos e agrupados na ordem Siluriformes também demonstrou que apenas para os peixes capturados no ponto FRD, na 4ª campanha, houve aumento na concentração de glicogênio muscular (Figura 70).

Figura 70. Biomarcadores relacionados ao metabolismo energético determinados em peixes da ordem Siluriformes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Glicose (círculo) e lactato (quadrado) plasmáticos e glicogênio muscular (triângulo).



Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

A avaliação das respostas dos biomarcadores de metabolismo energético nos peixes capturados em cada um dos pontos e agrupados pelo hábito alimentar invertívoro bentônico não indicou nenhuma diferença significativa (Figura 71). No entanto, para os peixes agrupados pelo hábito alimentar zoobentívoro, além do aumento na concentração de glicogênio muscular para os peixes capturados no ponto FRD na 4ª campanha em relação as demais campanhas, observou-se que houve redução da concentração plasmática de glicose durante a campanha 3 em relação as demais e, aumento na concentração de lactato plasmático durante a campanha 1 em comparação com as campanhas 3 e 4 (Figura 72).

Figura 71. Biomarcadores relacionados ao metabolismo energético determinados em peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Glicose (círculo) e lactato (quadrado) plasmáticos e glicogênio muscular (triângulo).

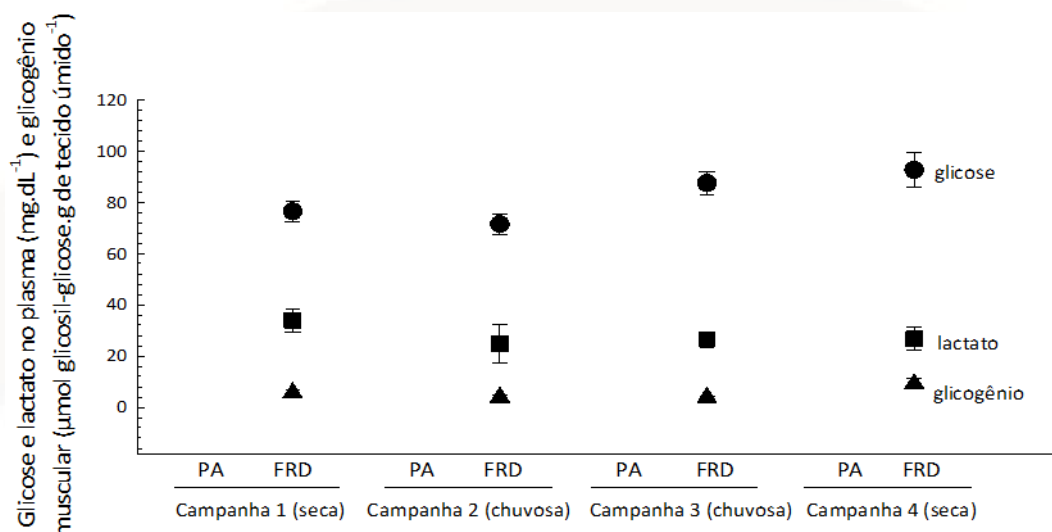
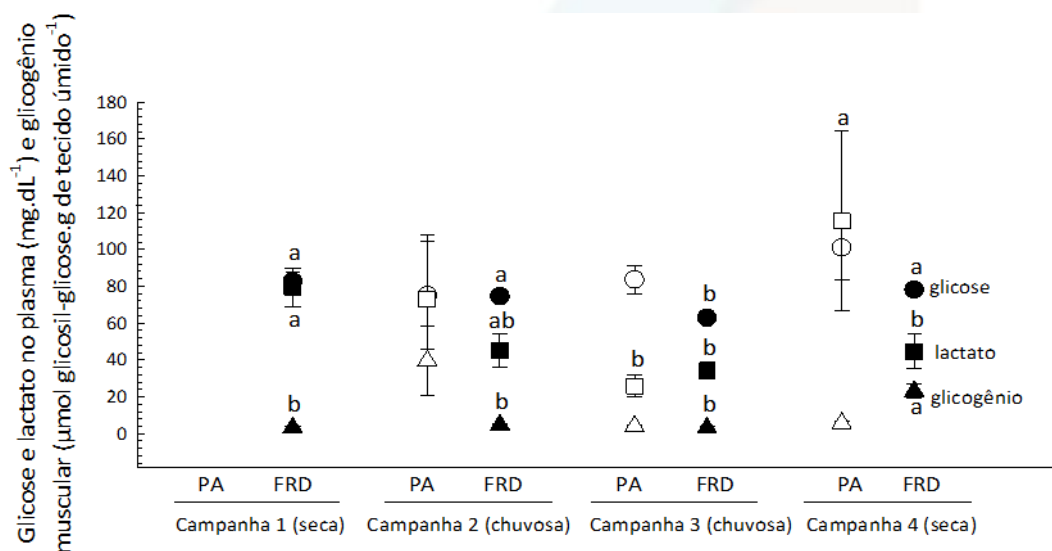


Figura 72. Biomarcadores relacionados ao metabolismo energético determinados em peixes, de hábito alimentar zoobetnívoro, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Glicose (círculo) e lactato (quadrado) plasmáticos e glicogênio muscular (triângulo).



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

3.1.2.1.4. Prejuízos à estrutura e função reprodutiva (biomarcador: histopatologia de gônadas)

Não foram identificadas alterações morfológicas nas gônadas e nas células das linhagens germinativas (ovogênese e espermatogênese) dos peixes capturados nos pontos PA ou FRD,

independentemente da campanha. Algumas espécies, inclusive, apresentaram-se em atividade reprodutiva. Pranchas com as imagens das gônadas analisadas, em cada um dos pontos ao longo das campanhas, encontram-se apresentadas no ANEXO 4 do presente relatório.

3.1.2.1.5. Alterações nos sistemas antioxidante e de biotransformação dos tecidos branquial e hepático (biomarcadores: CAT, SOD, GPx, GST e GR)

Brânquias

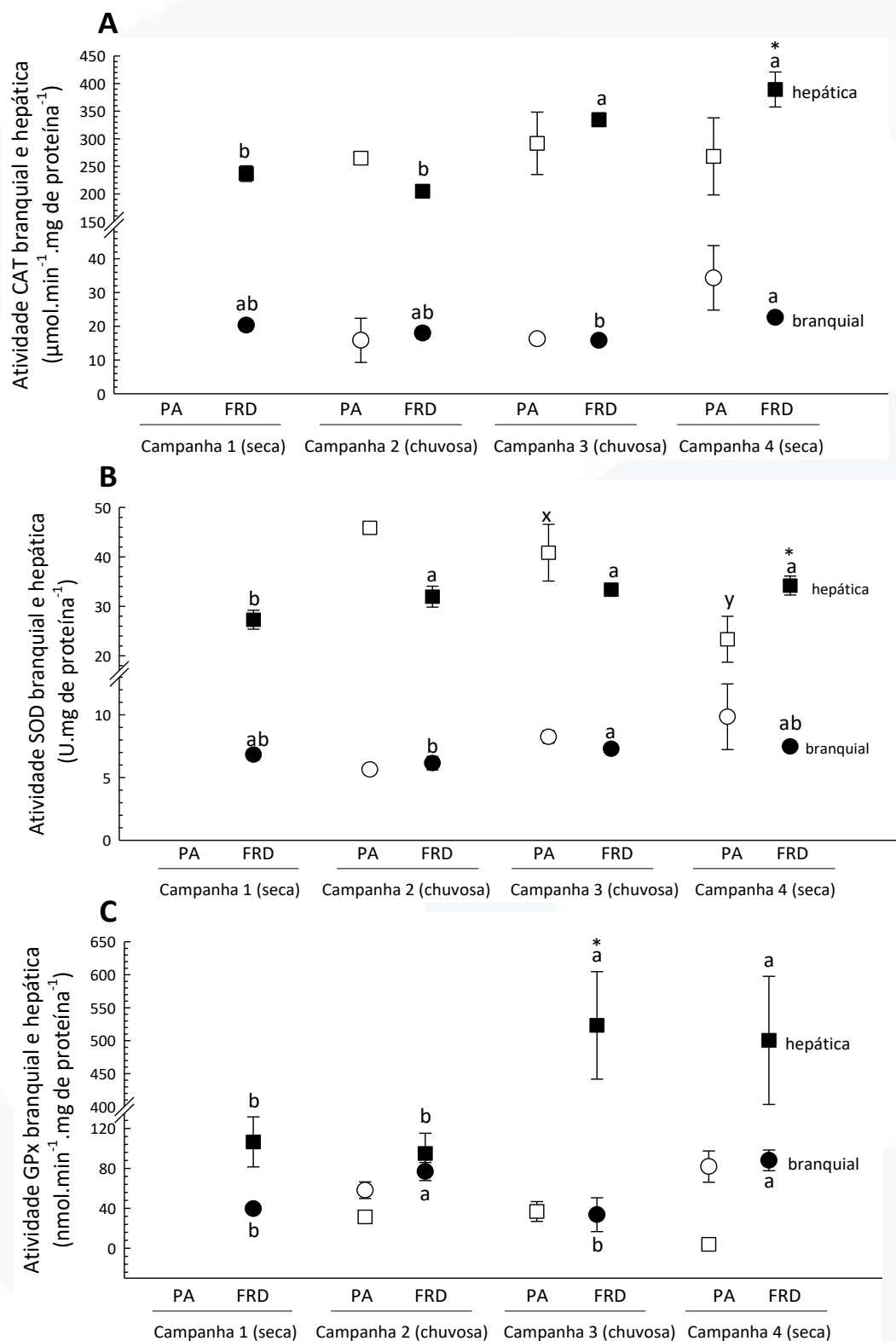
A comparação entre as respostas antioxidante e de biotransformação apresentadas pelos peixes capturados no ponto PA em relação aos peixes capturados no ponto FRD demonstra que os peixes capturados no ponto FRD apresentaram menores atividades da GR e GST durante a campanha 3 e, menor atividade da GR durante a campanha 4 que os peixes capturados no ponto PA (Figura 73 A a E).

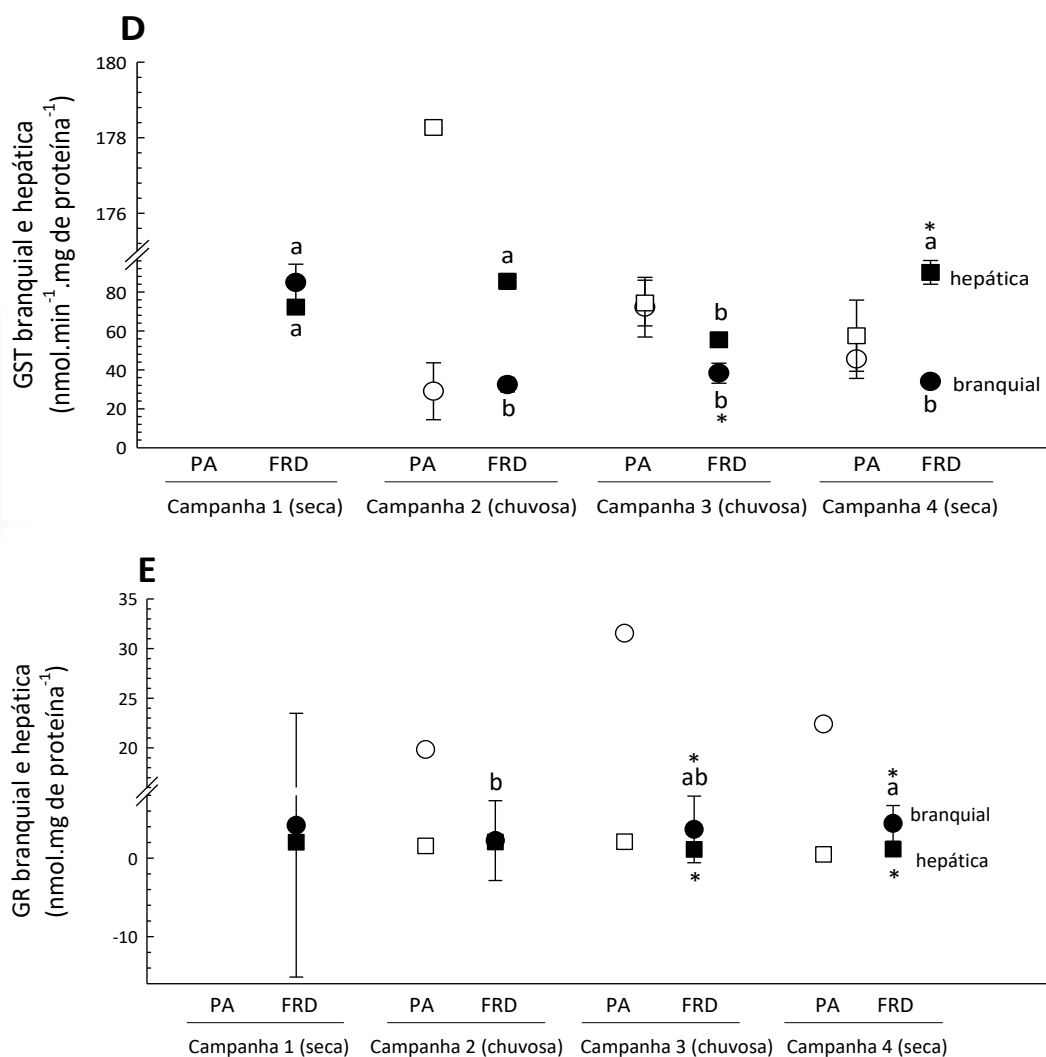
A análise das respostas apresentadas pelos peixes capturados em cada um dos pontos (PA e FRD) ao longo das campanhas demonstrou ausência de diferença para os peixes capturados no ponto PA, enquanto os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maior atividade da SOD na 3ª campanha em relação à 2ª; maior atividade da CAT na 4ª campanha em relação à 3ª; maior atividade da GPx nas 2ª e 4ª campanhas em relação as 1ª e 3ª campanhas; expressiva redução da atividade da GST nas 2ª, 3ª e 4ª campanhas em relação a 1ª campanha e, maior atividade da GR na 4ª campanha em relação a 2ª (Figura 73 A a E).

As repostas dos biomarcadores hepáticos, dos sistemas antioxidante e de biotransformação, determinados nos peixes capturados no ponto PA em comparação aos determinados nos peixes capturados no ponto FRD indicaram maiores atividades da CAT, SOD e GST e menor GR nos peixes capturados no ponto FRD durante as campanhas 3 e 4 que nos peixes capturados no ponto PA. A atividade da GPx, por sua vez, foi superior nos peixes capturados no ponto FRD em comparação aos peixes capturados no ponto PA, porém, apenas na 3ª campanha (Figura 73 A a E).

Com relação ao padrão de resposta apresentado pelos peixes capturados em cada um dos pontos na comparação entre as campanhas amostrais, foi possível identificar que os peixes capturados no ponto PA apresentaram maior atividade da SOD na 3ª campanha em relação aos peixes capturados durante a 4ª campanha. Os peixes capturados no ponto FRD apresentaram menor atividade da SOD durante a 1ª campanha em relação as demais; menores atividades da CAT e da GPx durante as 1ª e 2ª campanhas em relação as 3ª e 4ª campanhas e, menor atividade da GST durante a 3ª campanha em relação as demais (Figura 73 A a E).

Figura 73. Biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação determinados em todos os peixes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Catalase (CAT); B – Superóxido dismutase (SOD); C – Glutathiona peroxidase (GPx); D – Glutathiona S-transferase (GST) e E – Glutathiona redutase (GR) branquial (círculo) e hepática (quadrado).

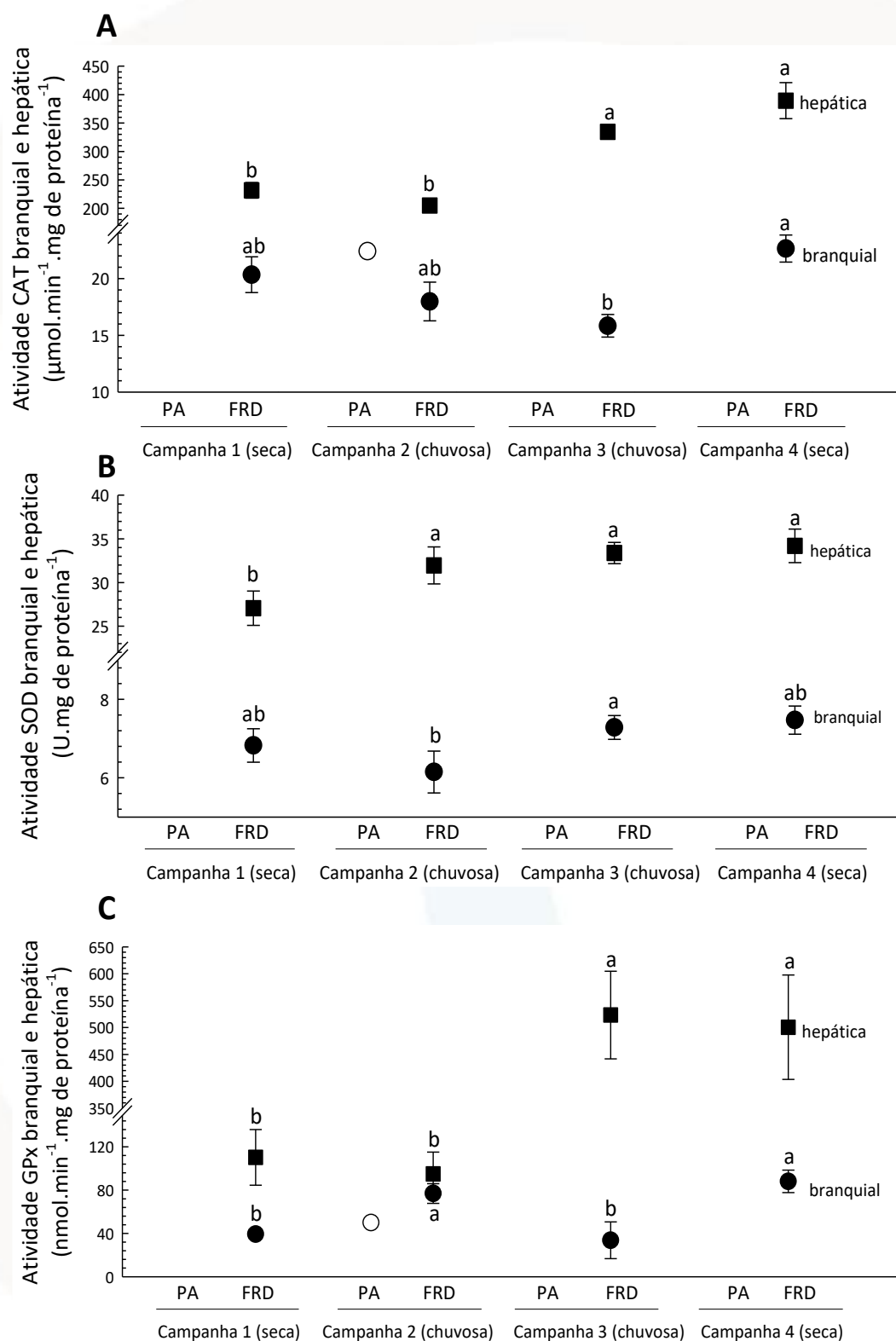


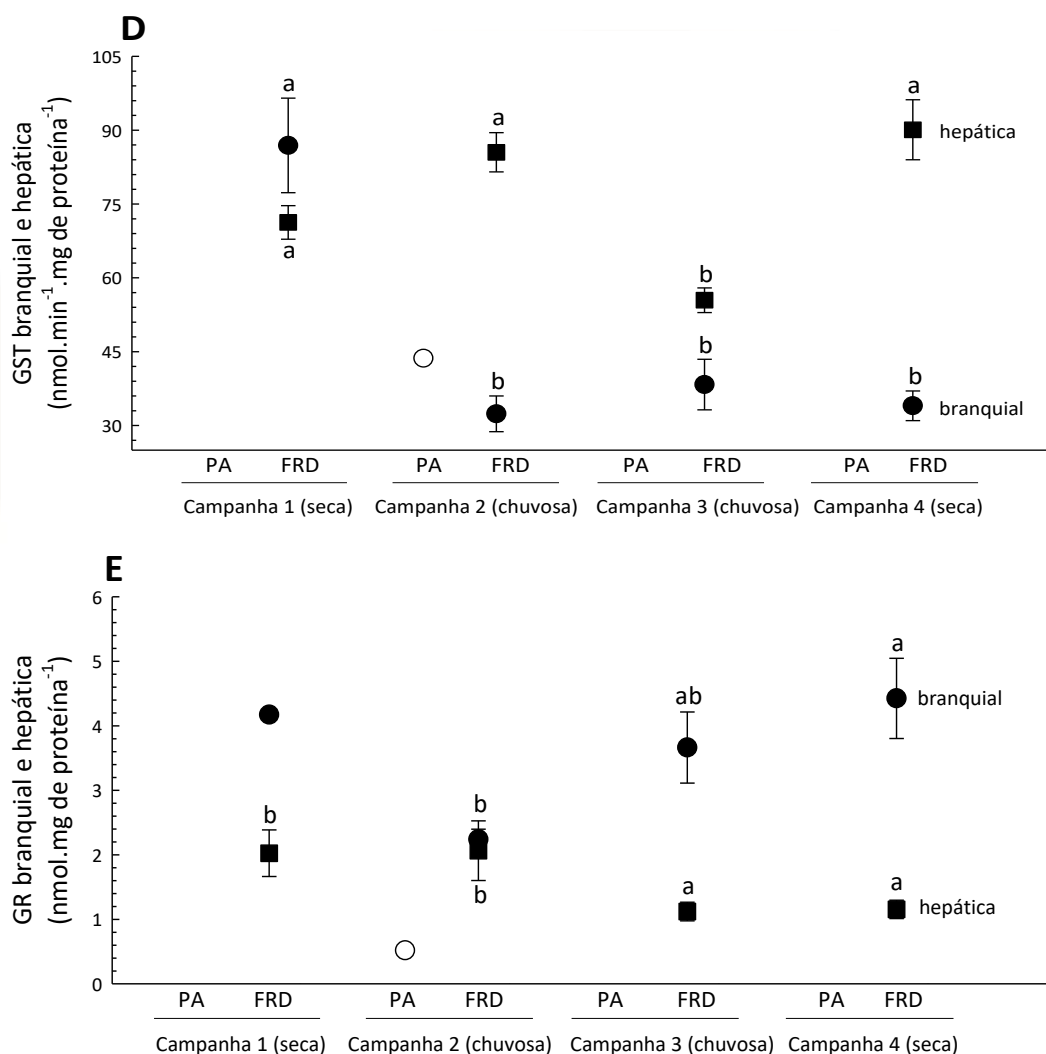


Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

O agrupamento dos peixes capturados em cada um dos pontos e pertencentes a ordem Siluriformes foi possível, em todas as campanhas, apenas para o ponto FRD uma vez que neste ponto todos os peixes capturados pertencem a esta ordem. Deste modo, as respostas apresentadas seguiram o mesmo padrão encontrado e descrito para todos os peixes capturados nesse ponto, independentemente do tecido (branquial e hepático) analisado (Figura 74).

Figura 74. Biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação determinados em peixes da ordem Siluriformes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Catalase (CAT); B – Superóxido dismutase (SOD); C – Glutathione peroxidase (GPx); D – Glutathione S-transferase (GST) e E – Glutathione redutase (GR) branquial (círculo) e hepática (quadrado).





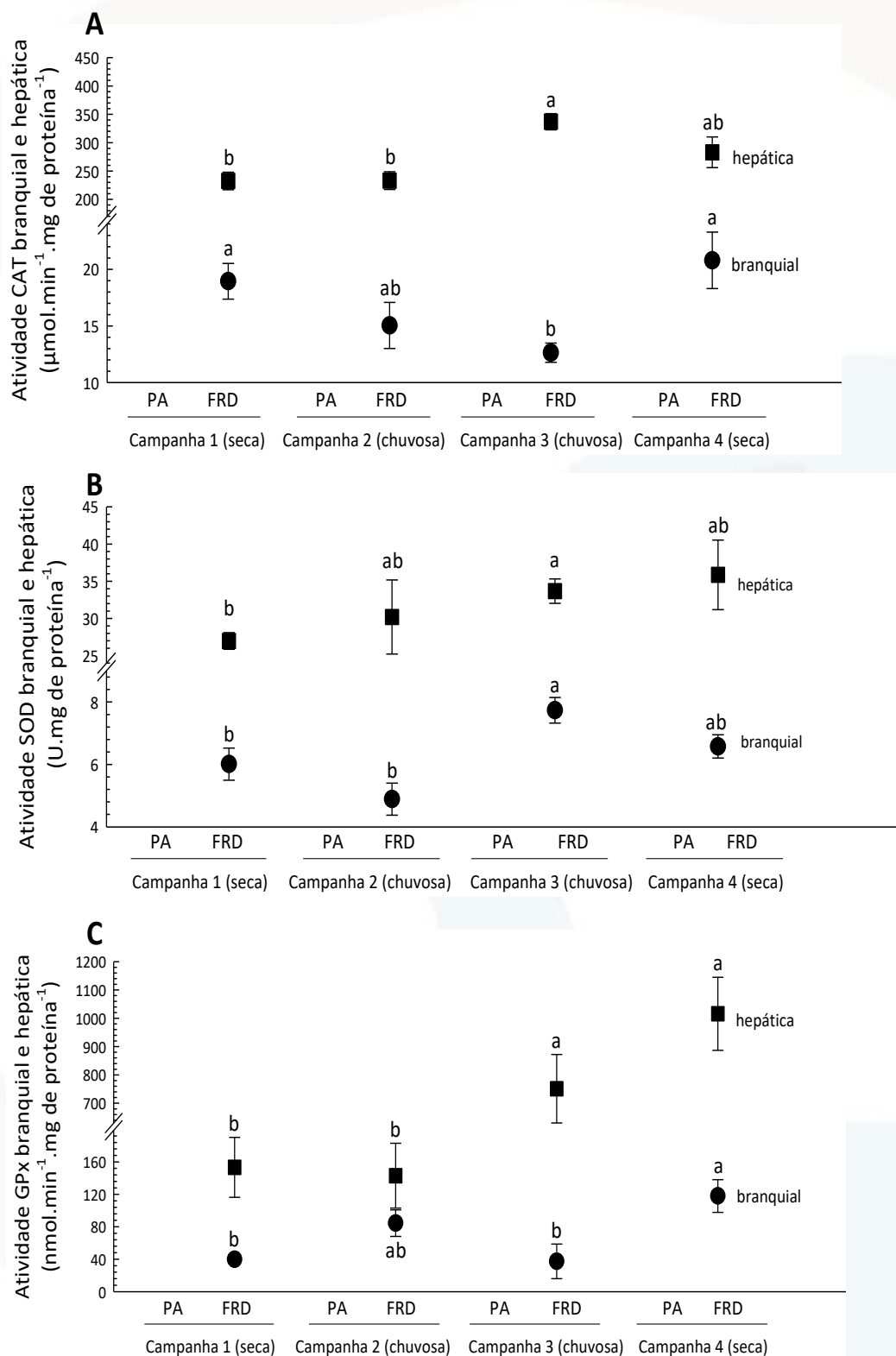
Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

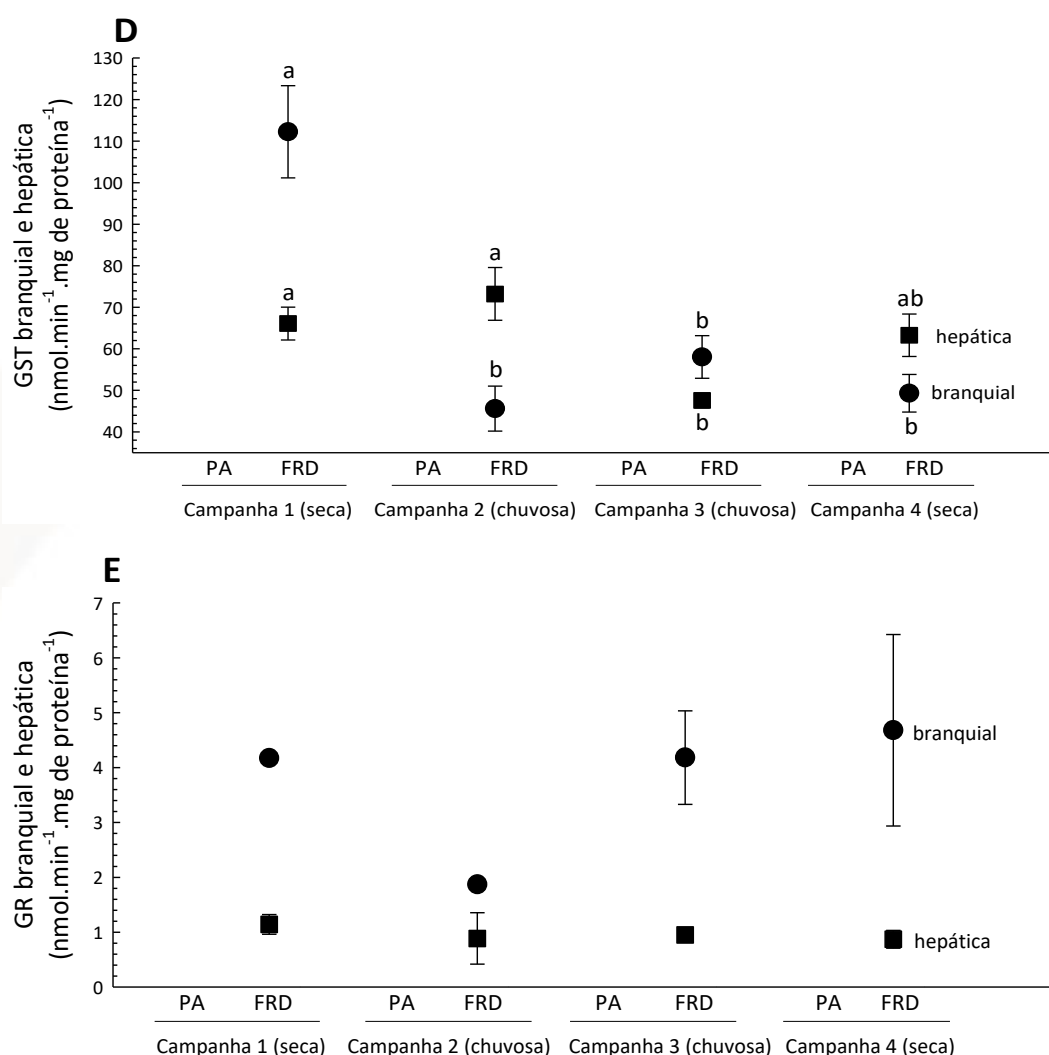
Peixes de hábito alimentar invertívoro bentônico não foram amostrados no ponto PA, deste modo, a avaliação das respostas apresentadas por peixes desse hábito foi realizada apenas entre as campanhas amostrais para o ponto FRD. Essa comparação demonstrou que os peixes apresentaram maior atividade da CAT branquial durante as campanhas 1 e 4 em comparação a atividade determinada nos peixes capturados durante a campanha 3; a atividade da SOD foi superior nos peixes capturados durante a 3ª campanha em relação aos capturados nas 1ª e na 2ª campanhas; a GPx foi superior nos peixes capturados na 4ª campanha em comparação aos capturados nas 1ª e 3ª campanhas; a atividade da GST foi superior nos peixes capturados na 1ª campanha em comparação aos peixes capturados nas demais, enquanto a GR não apresentou nenhuma diferença (Figura 75 A a E).

A comparação das respostas dos biomarcadores hepáticos para os peixes capturados no ponto FRD indicou maior atividade da CAT durante a campanha 3 em comparação aos peixes capturados

durante as 1ª e 2ª campanhas; maior atividade da SOD nos peixes capturados na 3ª campanha em comparação aos capturados na 1ª campanha; maior atividade da GPx nos peixes capturados durante as 3ª e 4ª campanhas em relação aos capturados nas 1ª e 2ª campanha e, maior atividade da GST nos peixes capturados nas 1ª e 2ª campanhas em comparação aos capturados na 3ª campanha, enquanto a GR não apresentou nenhuma diferença (Figura 75 A a E).

Figura 75. Biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação determinados em peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Catalase (CAT); B – Superóxido dismutase (SOD); C – Glutaciona peroxidase (GPx) e D – Glutaciona S-transferase (GST) branquial (círculo) e hepática (quadrado).





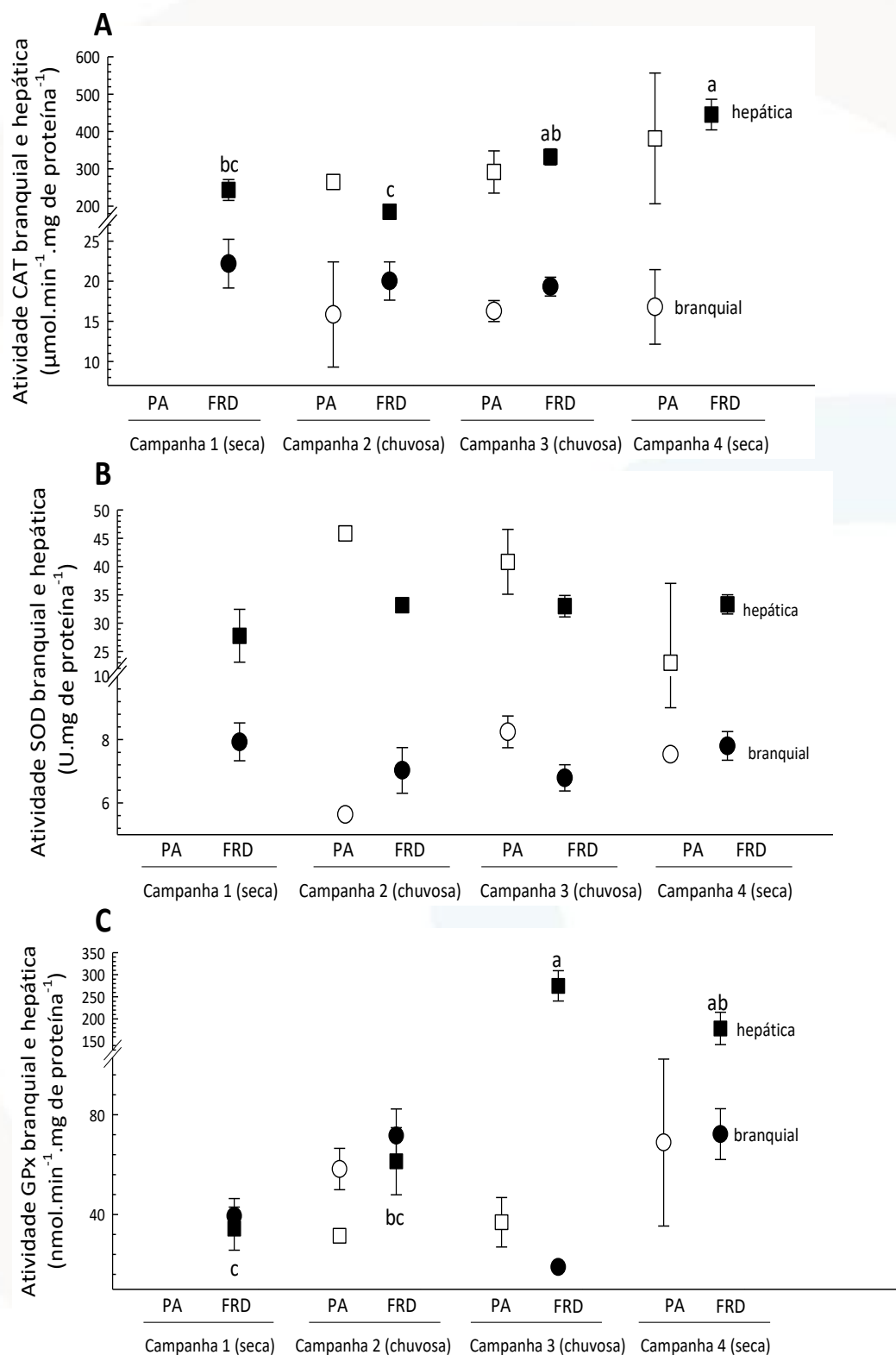
Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

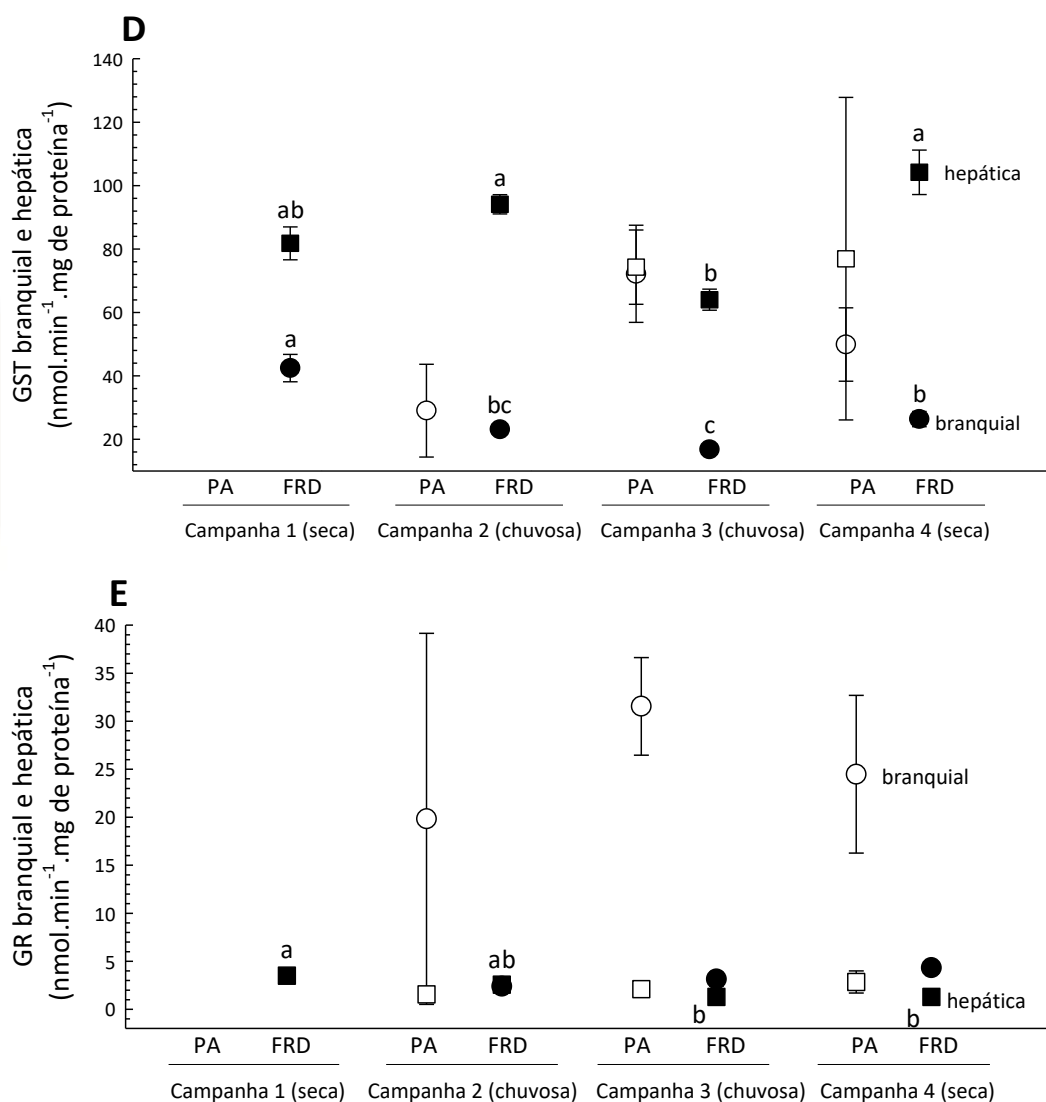
Os peixes pertencentes ao hábito alimentar zoobentívoro e capturados no ponto FRD apresentaram menor atividade branquial da SOD durante a 3ª campanha e, da GR e GST durante as 3ª e 4ª campanhas quando comparados aos peixes capturados no ponto PA. Ainda, a comparação das respostas apresentadas pelos peixes deste hábito alimentar que foram capturados no ponto FRD ao longo das campanhas demonstrou, apenas, maior atividade da GST branquial durante a 1ª campanha em relação aos demais e, também, na 4ª campanha em relação à 3ª campanha (Figura 76 A a E).

A avaliação das respostas hepáticas dos peixes desse hábito alimentar revelou que os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maior atividade da GPx em comparação aos peixes capturados no ponto PA apenas na 3ª campanha. Além disso, os peixes capturados no ponto FRD apresentaram, ao longo das campanhas, maior atividade da CAT nas 1ª e 3ª campanhas em comparação com a 2ª e, na 4ª campanha em comparação a atividade mensurada nos peixes capturados durante as 1ª e 2ª campanhas. A atividade da GPx apresentou aumento ao longo das três primeiras campanhas,

enquanto a GR foi maior na 1ª campanha em comparação com as 3ª e 4ª campanhas e, a GST foi maior durante as 2ª e 4ª campanhas em comparação à 3ª campanha (Figura 76 A a E).

Figura 76. Biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação determinados em peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Catalase (CAT); B – Superóxido dismutase (SOD); C – Glutaciona peroxidase (GPx) e D – Glutaciona S-transferase (GST) branquial (círculo) e hepática (quadrado).





Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

3.1.2.1.6. Alterações em sistemas não enzimáticos branquial, hepático e muscular (biomarcadores: GSH, MT, LPO e PCO)

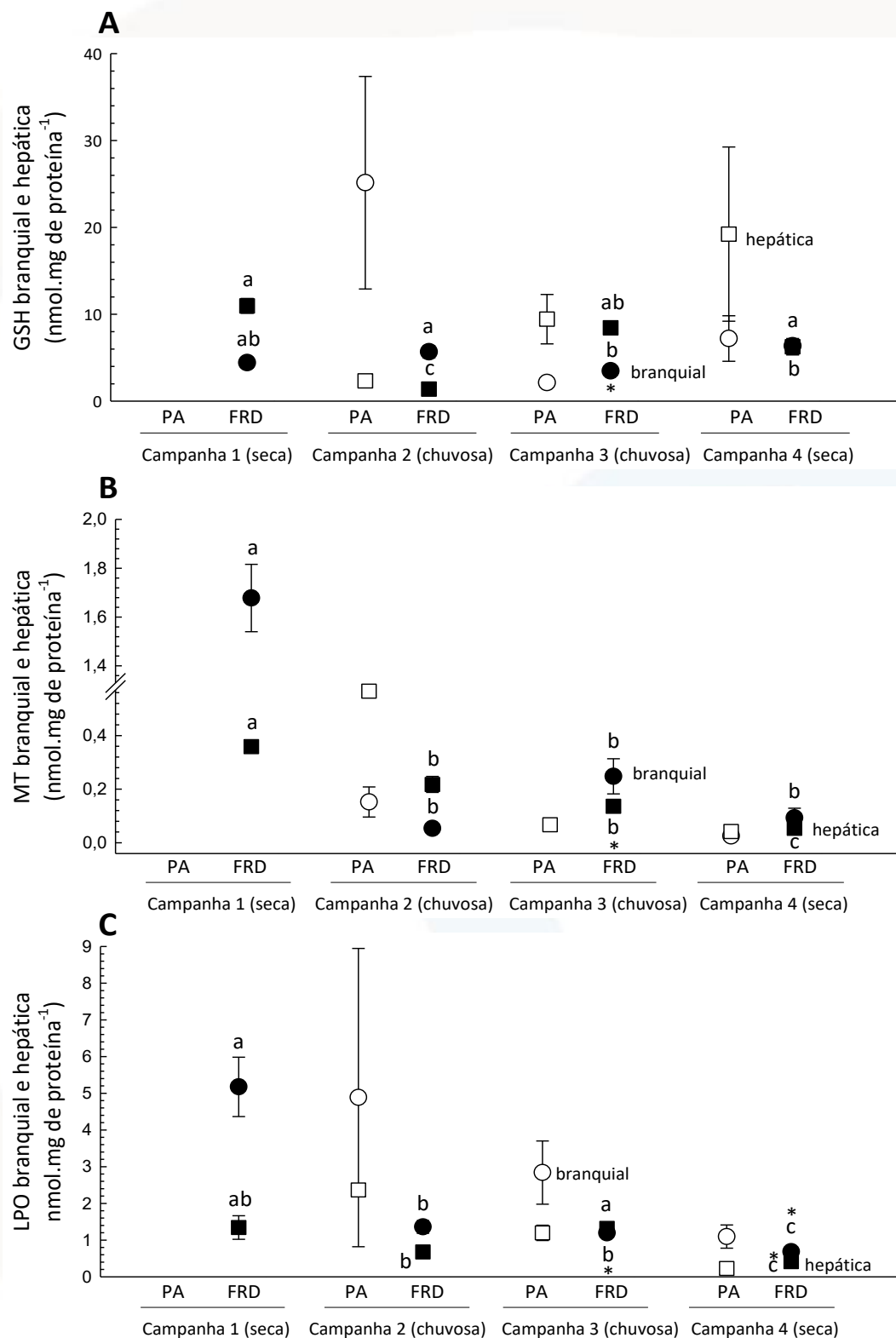
A comparação entre as respostas branquiais apresentadas pelos peixes capturados nos pontos PA em relação aos capturados no ponto FRD revelaram maior nível de GSH e menor LPO nos peixes capturados no ponto FRD na 3ª campanha em relação aos capturados no ponto PA (Figura 77 A a C). A análise das respostas branquiais apresentadas pelos peixes capturados no ponto PA ao longo das campanhas revelou maior concentração de GSH e menor LPO durante a 4ª campanha em comparação as concentrações determinadas nos peixes capturados durante a 3ª campanha (Figura 77 A e C). Os peixes capturados no ponto FRD, por sua vez, apresentaram maior concentração de GSH durante as campanhas 2 e 4 em comparação com as concentrações determinadas durante as campanhas 1 e 3. A

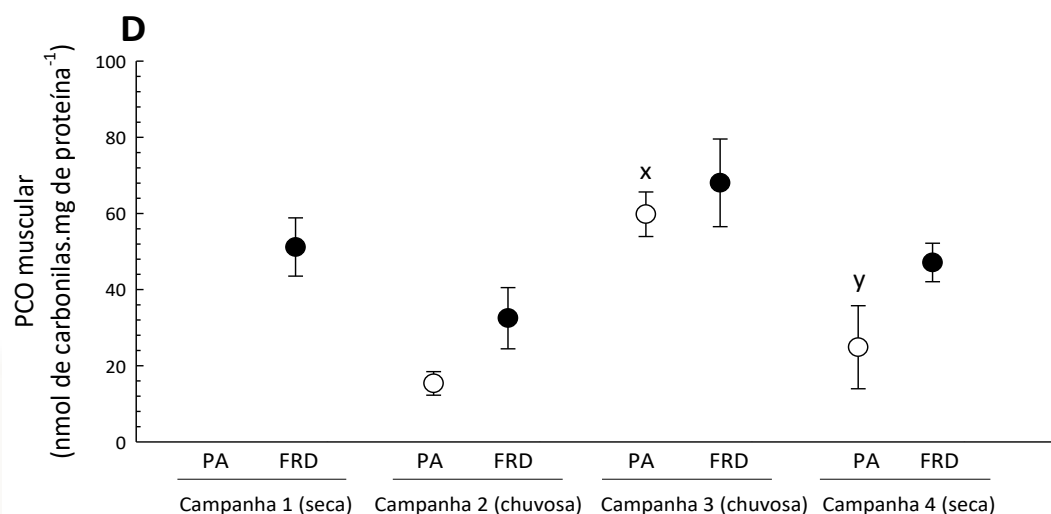
concentração de MT e LPO foram superiores na 1ª campanha em comparação com as demais. A LPO decaiu ao longo das campanhas atingindo o menor nível durante a 4ª campanha (Figura 77 A a C).

A avaliação dos biomarcadores não-enzimáticos determinados no tecido hepático revelou que as concentrações de GSH e LPO foram semelhantes nos peixes capturados nos pontos PA e FRD, porém, a MT foi superior nos peixes capturados no ponto FRD em comparação aos peixes capturados no ponto PA durante a 3ª campanha. Na 4ª campanha, as concentrações de GSH e MT foram semelhantes entre os dois pontos, porém, a LPO foi maior nos peixes capturados no ponto FRD em comparação aos capturados no ponto PA (Figura 77 A a C). A análise das respostas não enzimáticas do tecido hepático dos peixes capturados no ponto PA ao longo das campanhas revelaram maior LPO nos peixes capturados durante a 3ª campanha em comparação aos peixes capturados na 4ª campanha. Os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maior GSH durante a 1ª campanha em comparação às concentrações determinadas nos peixes capturados durante as 2ª e 4ª campanhas. Ressalta-se que na 2ª campanha foi observada a menor concentração de GSH nestes peixes. A MT apresentou redução ao longo do tempo, com a maior concentração sendo observada na 1ª campanha e o menor na 4ª campanha, enquanto a menor concentração de LPO foi determinada nos peixes capturados durante a 4ª campanha (Figura 77 A a C).

A PCO não apresentou diferenças entre os pontos PA e FRD. Os peixes capturados no ponto PA apresentaram maior dano em proteínas (PCO) durante a 3ª campanha em comparação com a 4ª campanha, enquanto os peixes capturados no ponto FRD apresentaram níveis semelhantes de PCO ao longo das quatro campanhas (Figura 77 D).

Figura 77. Biomarcadores dos sistemas não enzimáticos determinados em todos os peixes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Glutathiona reduzida (GSH); B – Metalotioneínas (MT); C – Peroxidação lipídica (LPO) branquial (círculo) e hepática (quadrado) e D - Proteínas carboniladas (PCO) muscular (círculos)

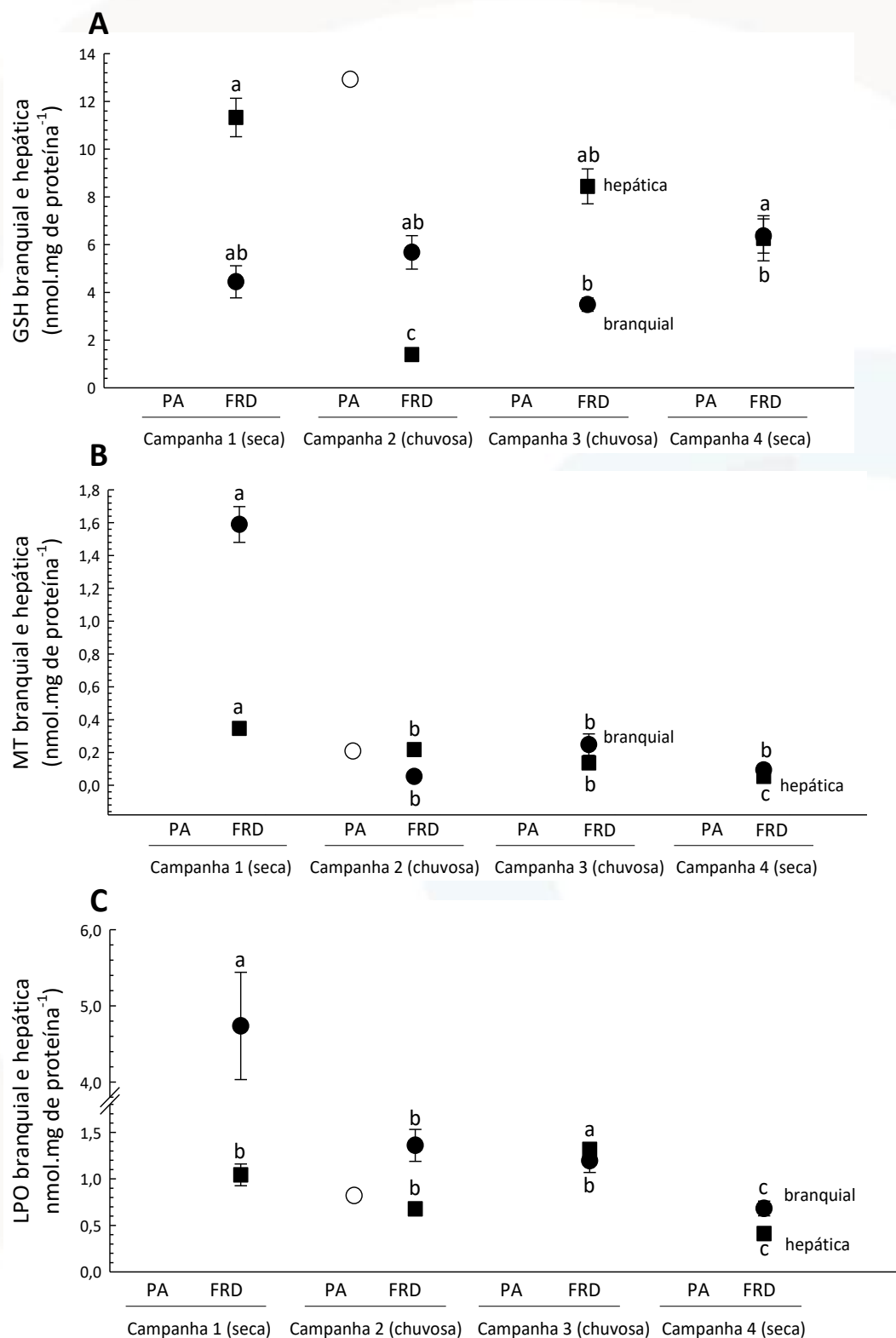


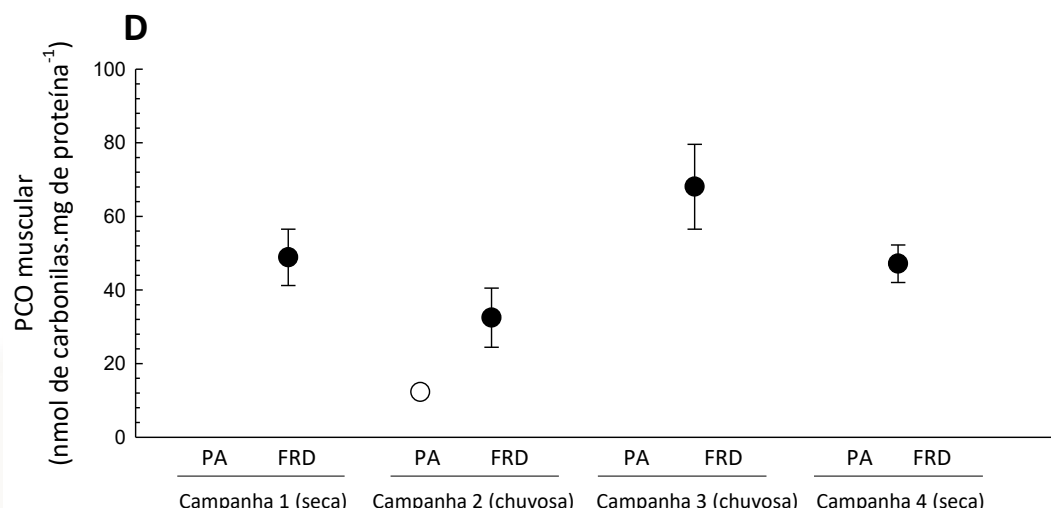


Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

A análise dos biomarcadores não enzimáticos nos peixes agrupados na ordem Siluriformes foi realizada apenas ao longo das campanhas e para os peixes capturados no ponto FRD. Nessa comparação a GSH branquial foi maior nos animais capturados na 4ª campanha em comparação a 3ª campanha, enquanto a MT e a LPO foram maiores na 1ª campanha em comparação às demais campanhas e, ainda, a LPO foi maior nas campanhas 2 e 3 em comparação à campanha 4 (Figura 78 A a C). A GSH hepática foi maior na 1ª campanha em comparação às concentrações determinadas durante as 2ª e 4ª campanhas e, ainda, maior na 4ª em relação à 2ª campanha. A MT foi maior na 1ª campanha em comparação às demais campanhas e, ainda, maior nas campanhas 2 e 3 em comparação à campanha 4. A LPO foi maior na 3ª campanha em comparação às demais campanhas e, ainda, maior nas campanhas 1 e 2 em comparação à campanha 4 (Figura 78 A a C). A PCO muscular não apresentou diferença ao longo das campanhas (Figura 78 D).

Figura 78. Biomarcadores dos sistemas não enzimáticos determinados em peixes da ordem Siluriformes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Glutathiona reduzida (GSH); B – Metalotioneínas (MT); C – Peroxidação lipídica (LPO) branquial (círculo) e hepática (quadrado) e D - Proteínas carboniladas (PCO) muscular (círculos)

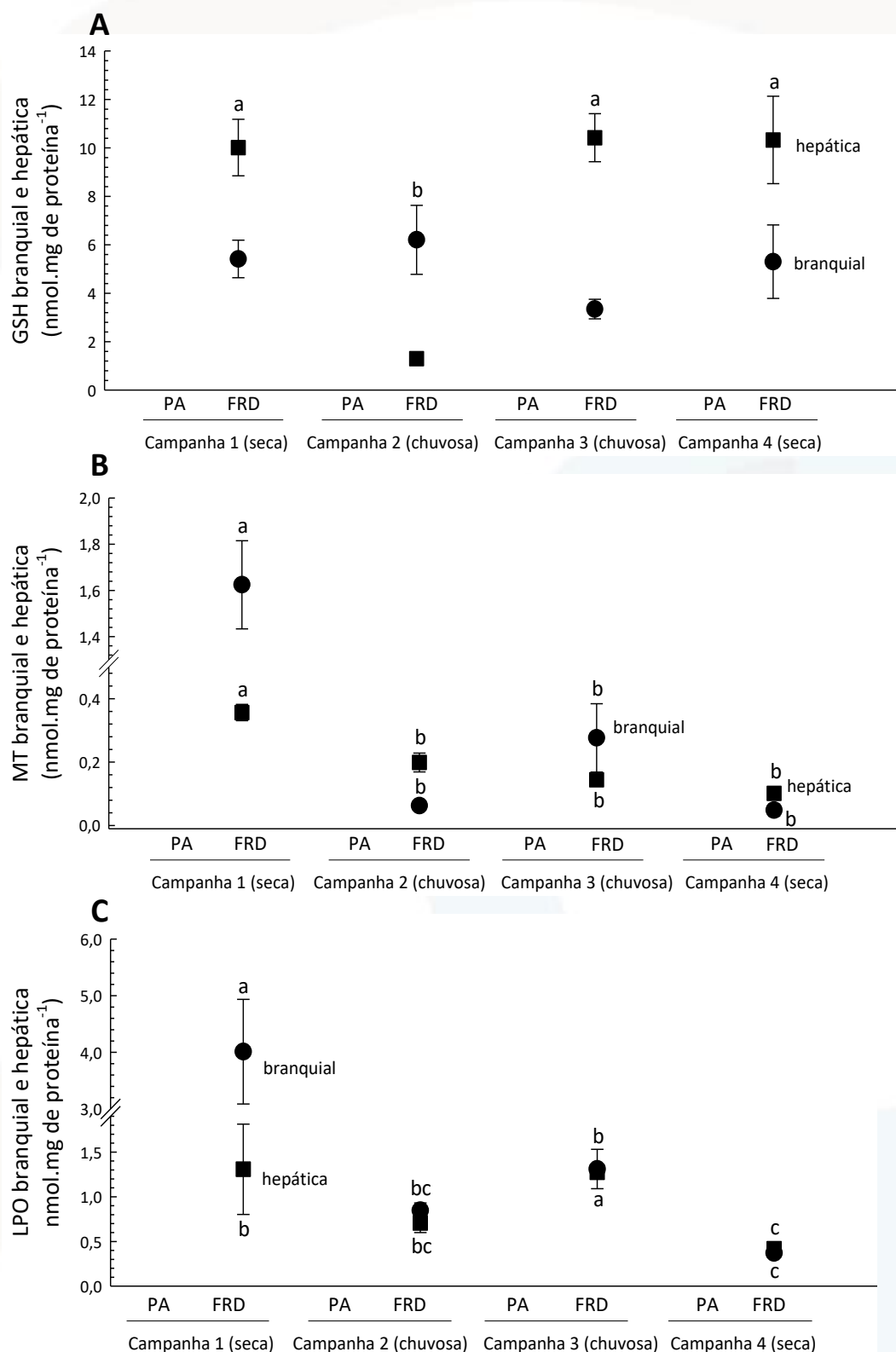


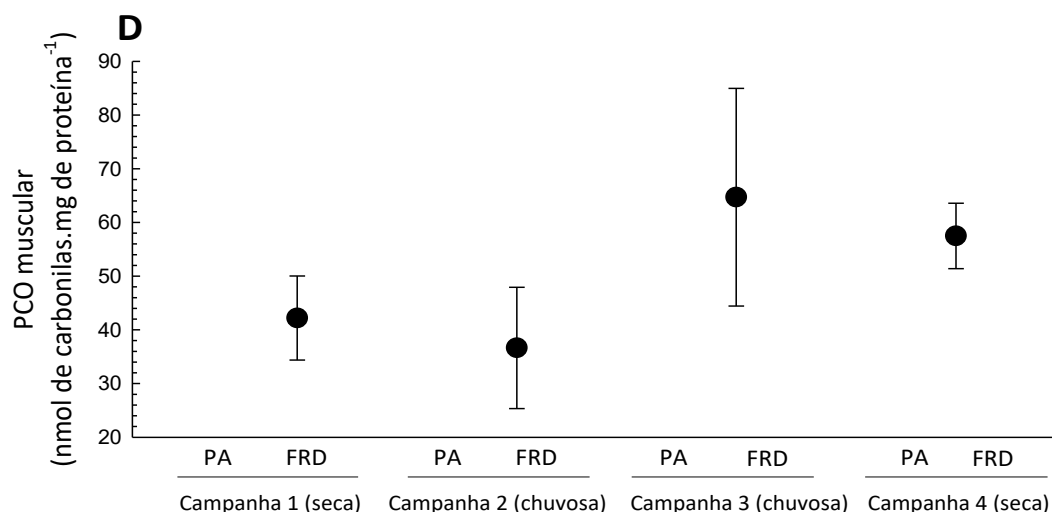


Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

A análise das respostas dos biomarcadores não enzimáticos dos peixes de hábito alimentar invertívoro bentônico foi possível apenas para o ponto FRD. Nesta condição, não foi observada diferença na concentração de GSH branquial ao longo das quatro campanhas amostrais, no entanto, tanto a concentração de MT quanto de LPO foram maiores na 1ª campanha em relação às demais, a LPO foi, ainda, maior na 3ª em relação à 4ª campanha. A GSH hepática desses animais foi menor na 2ª campanha em relação às demais, enquanto a MT hepática foi maior nos peixes capturados na 1ª campanha em relação às demais campanhas e a LPO hepática foi superior nos peixes capturados durante a 3ª campanha em relação às demais, assim como durante a 1ª campanha em comparação à 4ª campanha. A PCO muscular, por sua vez, não apresentou diferença ao longo das campanhas (Figura 79 A a D).

Figura 79. Biomarcadores dos sistemas não enzimáticos determinados em peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Glutathiona reduzida (GSH); B – Metalotioneínas (MT); C – Peroxidação lipídica (LPO) branquial (círculo) e hepática (quadrado) e D - Proteínas carboniladas (PCO) muscular (círculos)





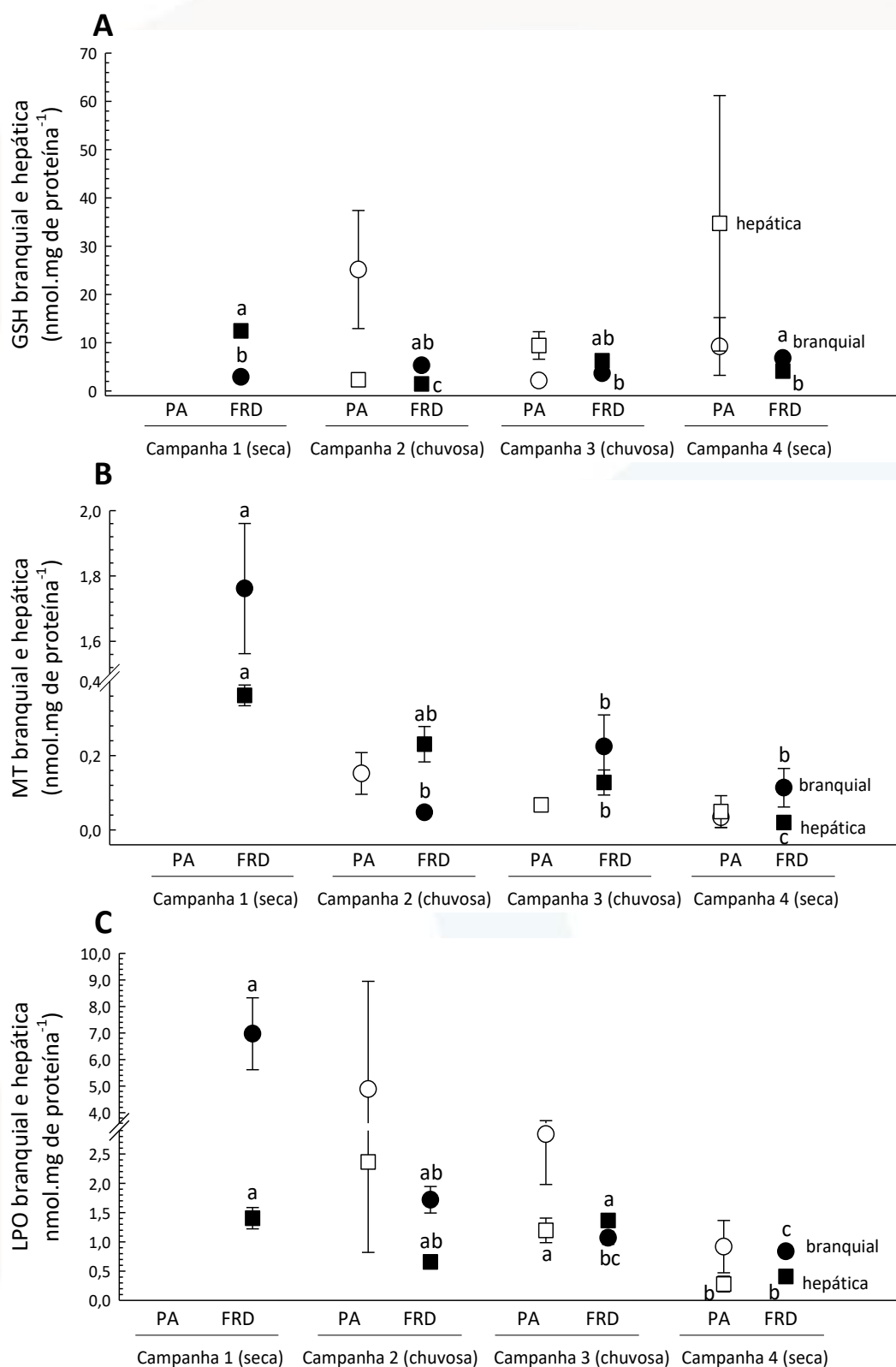
Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$.

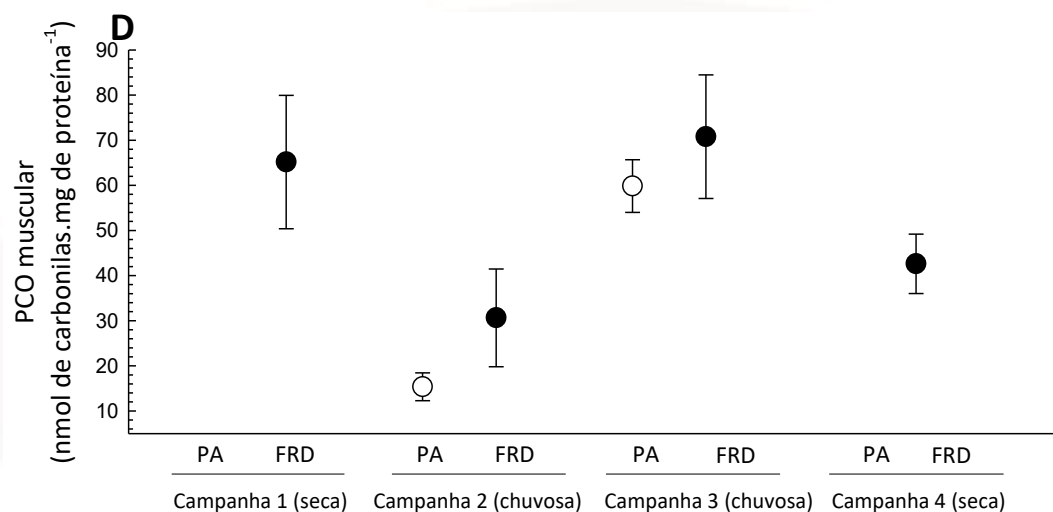
Para os peixes de hábito alimentar zoobentívoro, a comparação entre as respostas branquiais apresentadas pelos peixes do ponto PA e FRD indicou maior concentração de GSH e menor LPO nos peixes capturados no ponto FRD que nos peixes capturados no ponto PA. A comparação entre as campanhas não apresentou diferenças nos biomarcadores branquiais para os peixes capturados no ponto PA. Os peixes capturados no ponto FRD, no entanto, apresentaram maior GSH na 4ª campanha em relação aos peixes capturados nas 1ª e 3ª campanhas; maior MT durante a 1ª campanha em relação aos peixes capturados nas demais campanhas e, maior LPO durante a 1ª campanha em relação aos peixes capturados nas 3ª e 4ª campanhas, bem como nos peixes capturados durante a 2ª campanha em comparação aos peixes capturados durante a 4ª campanha (Figura 80 A a C).

Com relação a comparação entre as respostas hepáticas apresentadas pelos peixes de hábito alimentar zoobentívoro capturados no ponto PA e FRD identificou-se, apenas, maior GSH durante nos peixes capturados no ponto PA que nos capturados no ponto FRD na 4ª campanha. A comparação das respostas hepáticas dos peixes capturados no ponto PA ao longo das campanhas revelou maior LPO nos peixes capturados durante a 3ª campanha em relação aos capturados na 4ª campanha. Os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maior GSH durante a 1ª campanha em comparação as concentrações determinadas nas 2ª e 4ª campanhas, bem como na 4ª campanha em relação às concentrações determinadas na 2ª campanha. A MT foi maior nos peixes capturados durante a 1ª campanha em comparação às concentrações determinadas nos peixes capturados nas 3ª e 4ª campanhas, assim como na 3ª campanha em comparação as concentrações determinadas nos peixes capturados durante a 4ª campanha. Por fim, a LPO foi maior nos peixes capturados nas 1ª e 3ª

campanhas em comparação com as concentrações determinadas nos peixes capturados na 4ª campanha (Figura 80 A a C). A PCO muscular não apresentou diferença ao longo das campanhas independentemente do ponto avaliado (Figura 80 D).

Figura 80. Biomarcadores dos sistemas não enzimáticos determinados em peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). A – Glutathiona reduzida (GSH); B – Metalotioneínas (MT); C – Peroxidação lipídica (LPO) branquial (círculo) e hepática (quadrado) e D - Proteínas carboniladas (PCO) muscular (círculos)



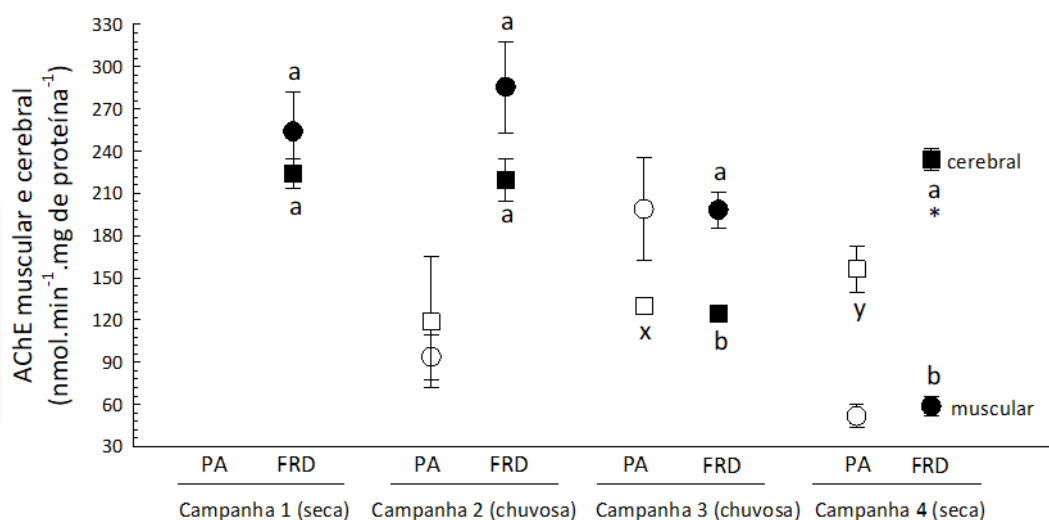


Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

3.1.2.1.7. Neurotoxicidade (biomarcador: AChE cerebral e muscular)

A comparação da atividade da enzima AChE entre os peixes capturados no ponto PA e FRD indicou maior atividade da AChE cerebral nos peixes capturados no ponto FRD que nos peixes capturados no ponto PA durante a 4ª campanha. A comparação entre as campanhas para o ponto PA revelou maior atividade da AChE cerebral nos peixes capturados na 4ª campanha em relação aos capturados na 3ª campanha. Os peixes capturados no ponto FRD, por sua vez, apresentaram menor atividade da AChE cerebral na 3ª campanha e, da AChE muscular na 4ª campanha, em relação à atividade observada nos peixes coletados nas demais campanhas (Figura 81).

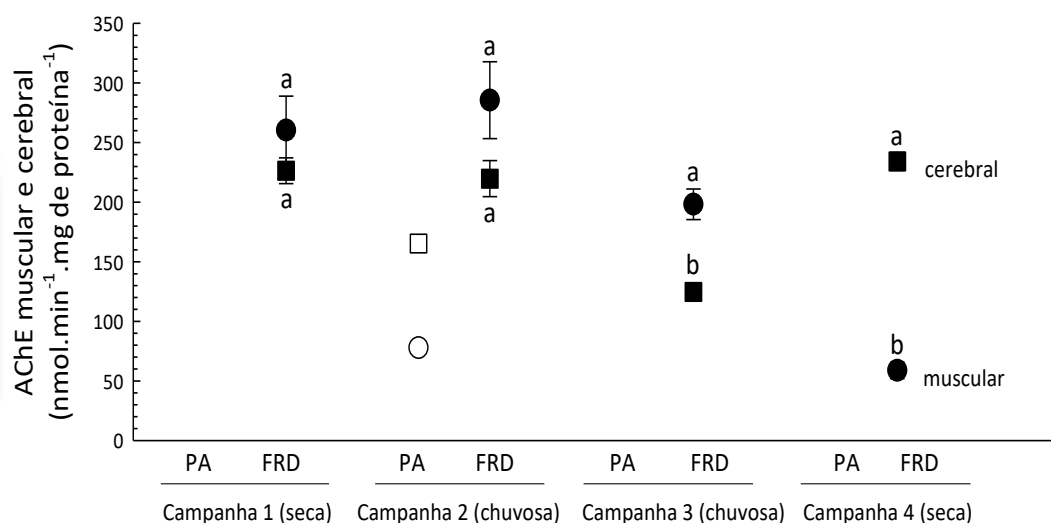
Figura 81. Biomarcadores de neurotoxicidade determinados em músculo (círculo) e cérebro (quadrado) de peixes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário).



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

A análise da resposta desses biomarcadores em peixes da ordem Siluriformes foi possível apenas para os capturados no ponto FRD e, ao longo das campanhas, nas quais a atividade da AChE cerebral foi a única que diferiu, sendo menor nos peixes capturados durante a campanha 3 em aos peixes capturados nas demais campanhas (Figura 82).

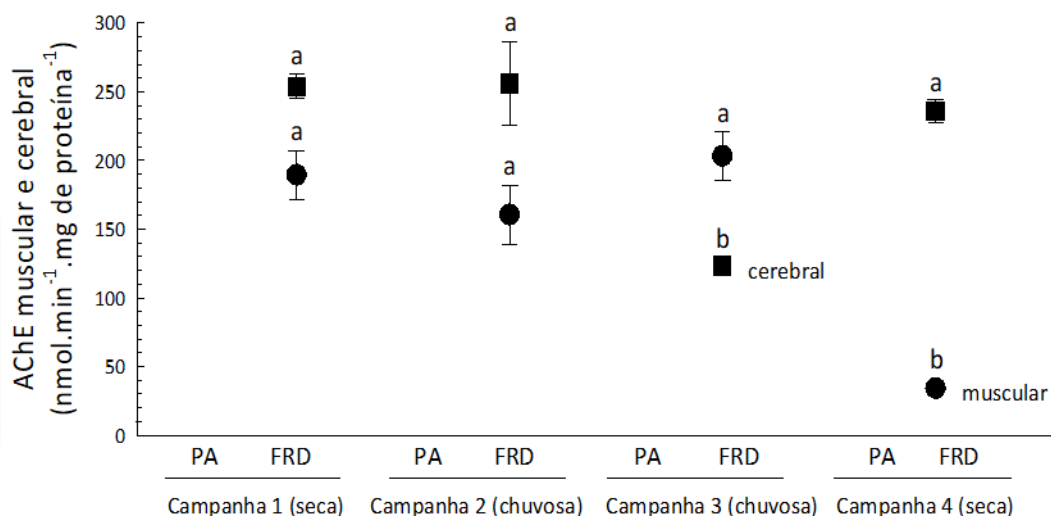
Figura 82. Biomarcadores de neurotoxicidade determinados em músculo (círculo) e cérebro (quadrado) de peixes da ordem Siluriformes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário).



Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

A análise desse biomarcador nos tecidos muscular e cerebral de peixes de hábito alimentar invertívoro bentônico também só foi possível para aqueles capturados no ponto FRD e, ao longo das campanhas. O padrão de atividade da AChE cerebral e muscular nesses peixes foi o mesmo observado e descrito para o conjunto de todos os peixes amostrados neste ponto, ou seja, menor atividade da AChE cerebral na 3ª campanha e, da AChE muscular na 4ª campanha, em relação à atividade observada nos peixes coletados nas demais campanhas (Figura 83).

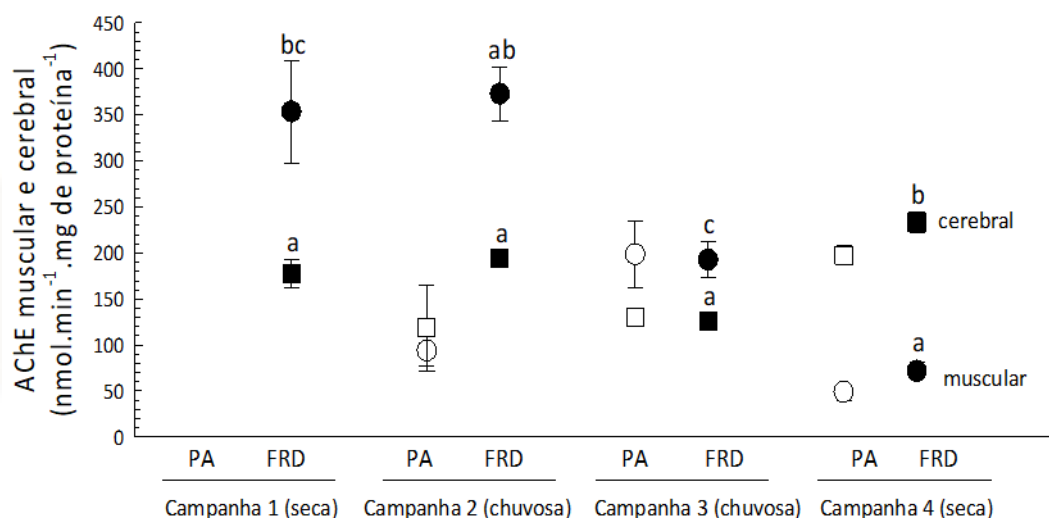
Figura 83. Biomarcadores de neurotoxicidade determinados em músculo (círculo) e cérebro (quadrado) de peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário).



Asterisco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

A análise da atividade da AChE muscular e cerebral dos peixes de hábito alimentar zoobentívoro demonstrou não haver diferença na atividade desta enzima, tanto no músculo quanto no cérebro, entre os peixes capturados nos pontos PA e FRD. A comparação entre as campanhas para os peixes zoobentívoros capturados no ponto PA indicou maior atividade da AChE muscular e menor da AChE cerebral nos peixes capturados durante a 3ª campanha em relação aos capturados na 4ª campanha. Para os peixes capturados no ponto FRD observou-se menor atividade da AChE muscular nos peixes capturados na 4ª campanha em relação aos capturados nas demais campanhas e, menor atividade da AChE cerebral nos peixes capturados durante a 1ª campanha em relação aos capturados na 4ª campanha e, maior nos peixes capturados durante a 2ª campanha em relação a atividade determinada nos peixes capturados na 3ª campanha.

Figura 84. Biomarcadores de neurotoxicidade determinados em músculo (círculo) e cérebro (quadrado) de peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário).

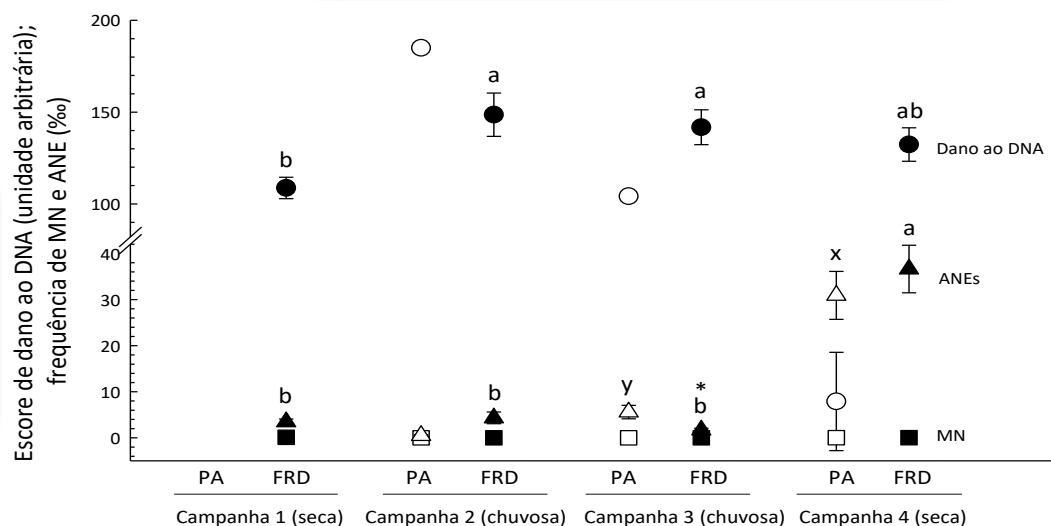


Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

3.1.2.1.8. Citogenotoxicidade (biomarcadores: ensaio cometa, MN e ANEs)

A análise das respostas dos biomarcadores de citogenotoxicidade entre os peixes capturados nos pontos PA e FRD indicou maior dano ao DNA (avaliado por meio do ensaio cometa) nos peixes capturados no ponto FRD durante as 2ª e 3ª campanhas em relação aos peixes capturados durante a 1ª campanha. Não houve diferença na determinação do MN entre os pontos PA e FRD, enquanto as ANEs foram menores nos peixes capturados no ponto FRD que nos capturados no ponto PA durante a 3ª campanha. A análise ao longo das campanhas para cada um dos pontos indicou ausência de diferença na determinação do MN para ambos os pontos avaliados, porém, houve maior ANEs nos peixes capturados no ponto PA durante a 4ª campanha em relação aos capturados durante a 3ª campanha e nos peixes capturados no ponto FRD durante a 4ª campanha em relação aos capturados nas demais campanhas (Figura 85).

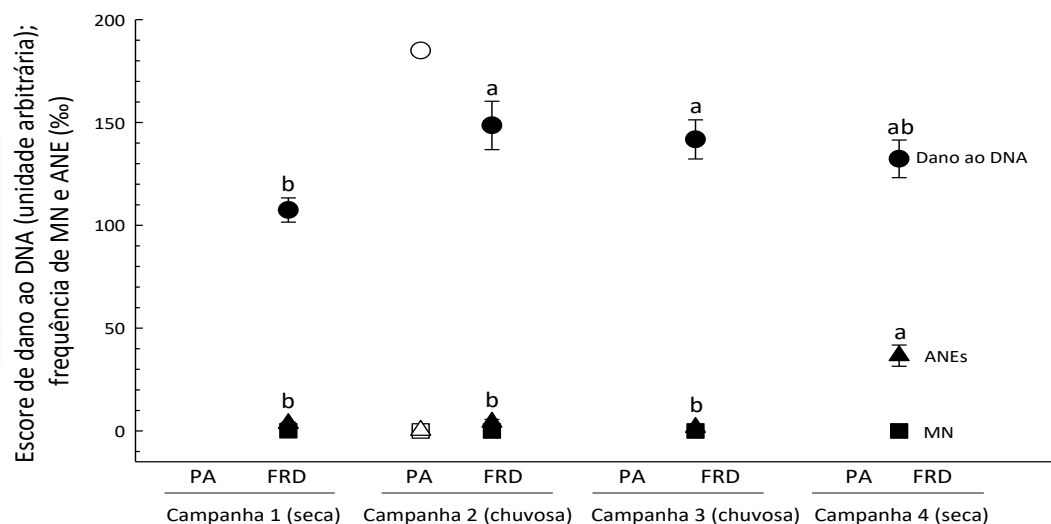
Figura 85. Biomarcadores de citogenotoxicidade determinados em sangue de peixes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Escore de dano ao DNA, avaliado pelo ensaio cometa (círculos); Micronúcleos (MN) (quadrados) e alterações nucleares eritrocitárias (ANEs) (triângulos)



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

A análise da resposta dos biomarcadores de citogenotoxicidade em peixes da ordem Siluriformes foi possível apenas para os capturados no ponto FRD e, ao longo das campanhas, nas quais identificou-se maior dano ao DNA nos peixes capturados durante as campanhas 3 e 4 em relação aos capturados durante a campanha 1 e, maiores ANEs nos peixes capturados durante a campanha 4 em comparação aos peixes capturados nas demais campanhas (Figura 86).

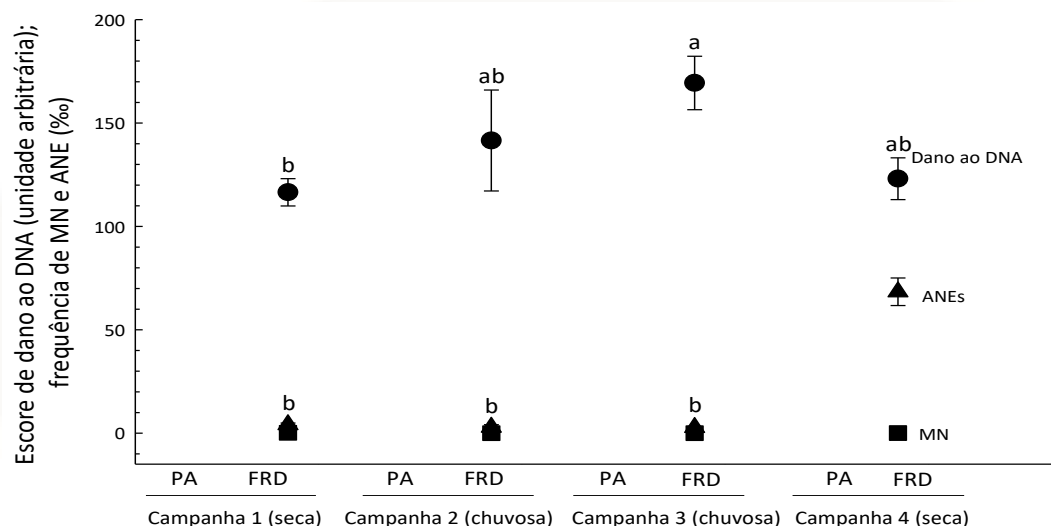
Figura 86. Biomarcadores de citogenotoxicidade determinados em sangue de peixes da ordem Siluriformes capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Escore de dano ao DNA, avaliado pelo ensaio cometa (círculos); Micronúcleos (MN) (quadrados) e alterações nucleares eritrocitárias (ANEs) (triângulos)



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

A análise desses biomarcadores para os peixes de hábito alimentar invertívoro bentônico, também só foi possível para os peixes capturados no ponto FRD e, ao longo das campanhas. Esses peixes apresentaram maior dano no DNA durante a campanha 3 em comparação à campanha 1 e, maiores ANEs durante a 4ª campanha em relação às demais (Figura 87).

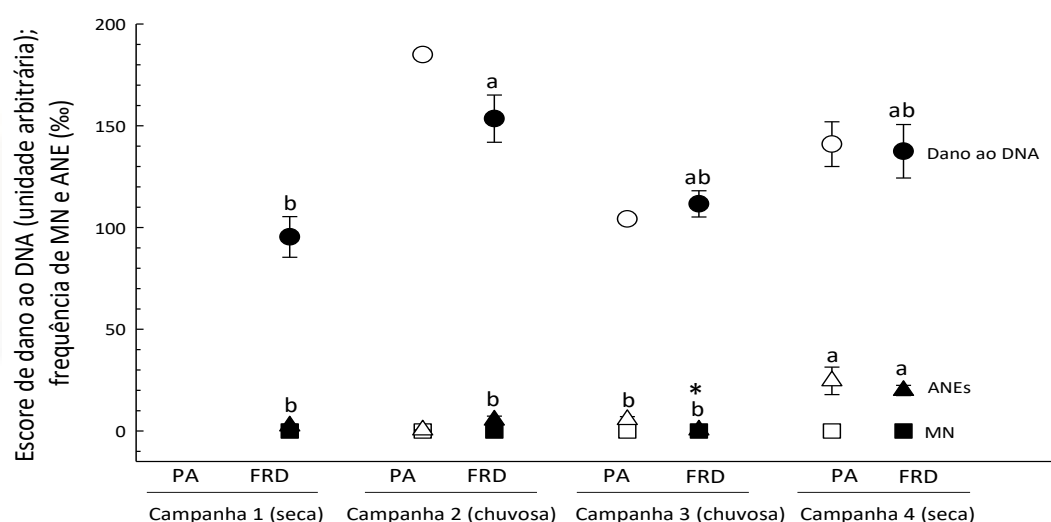
Figura 87. Biomarcadores de citogenotoxicidade determinados em sangue de peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Escore de dano ao DNA, avaliado pelo ensaio cometa (círculos); Micronúcleos (MN) (quadrados) e alterações nucleares eritrocitárias (ANEs) (triângulos)



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

Por fim, a análise dos biomarcadores de citogenotoxicidade em peixes de hábito alimentar zoobentívoro entre os pontos PA e FRD indicou que apenas a frequência de ANEs foi maior nos peixes capturados em PA que nos capturados em FRD durante 3ª campanha. A comparação entre as campanhas para os peixes capturados no ponto PA indicou maior frequência de ANEs nos peixes capturados durante a 4ª campanha em relação aos capturados na 3ª campanha. Para os peixes capturados no ponto FRD houve maior escore de dano ao DNA nos peixes capturados durante a 2ª campanha em relação àqueles capturados na 1ª campanha e, maior frequência de ANEs nos peixes capturados durante a 4ª campanha em relação aos peixes capturados nas demais campanhas (Figura 88).

Figura 88. Biomarcadores de citogenotoxicidade determinados em sangue de peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos PA (símbolos brancos) e FRD (símbolos pretos) do compartimento 4 (estuário). Escore de dano ao DNA, avaliado pelo ensaio cometa (círculos); Micronúcleos (MN) (quadrados) e alterações nucleares eritrocitárias (ANEs) (triângulos)



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

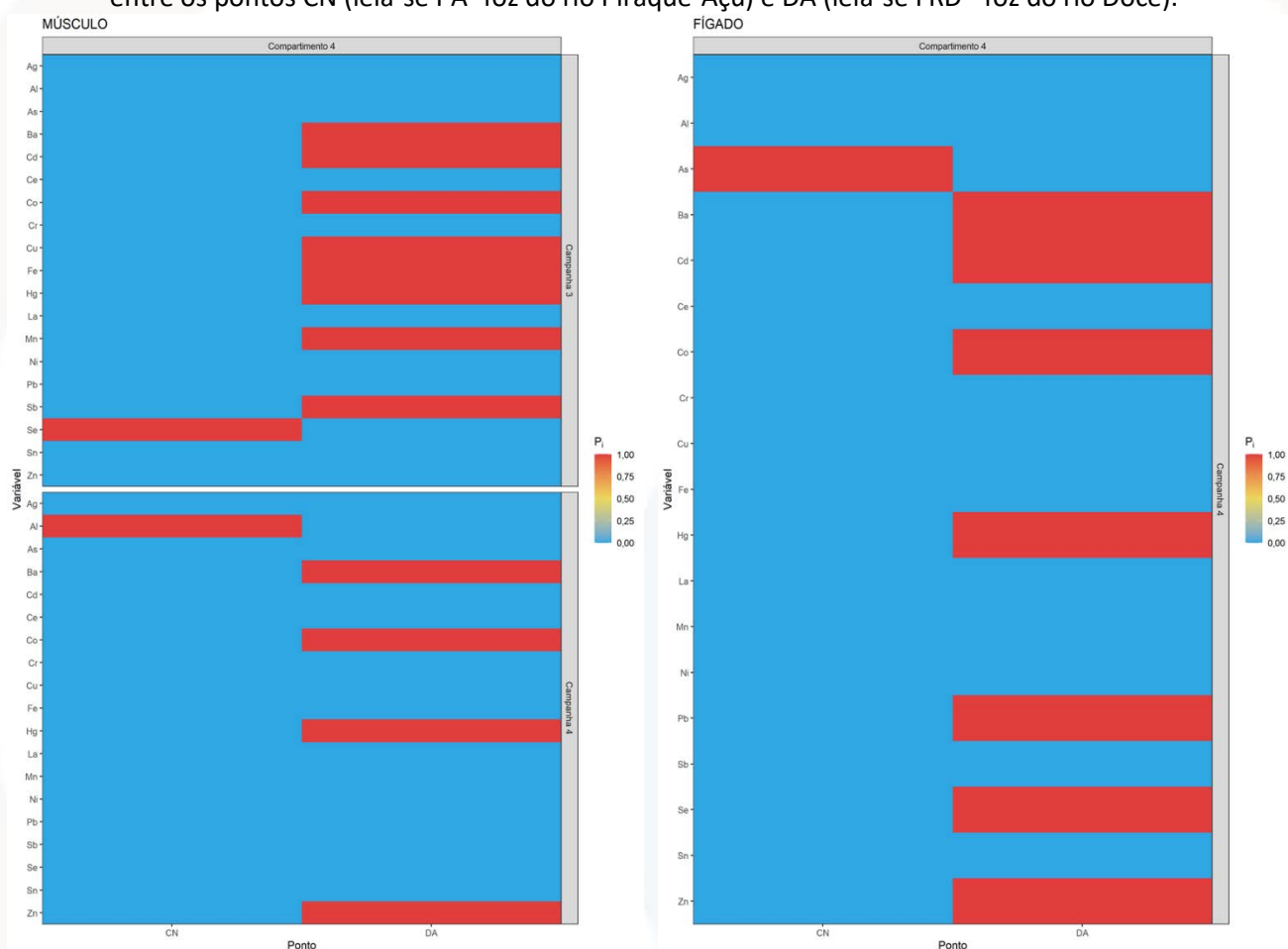
3.1.2.2. ALTERAÇÕES NA CONCENTRAÇÃO DE EPTS (BIOACUMULAÇÃO) EM TECIDOS MUSCULAR E HEPÁTICO (ELEMENTOS AVALIADOS: Ag, Al, As, Ba, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, La, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, Sn e Zn)

A concentração dos 19 EPTs presentes nos tecidos muscular e hepático dos peixes dos pontos PA e FRD foi comparada estatisticamente para os agrupamentos de todos os peixes amostrados e para aqueles de hábito alimentar zoobentívoro. Ainda, para as concentrações determinadas em tecido muscular essa comparação ocorreu apenas entre as 3ª e 4ª campanhas, enquanto, para o tecido hepático apenas para a 4ª campanha, uma vez que nos demais agrupamentos e campanhas não houve número de amostras suficiente no ponto PA que permitisse a comparação estatística. Apesar disso, destaca-se que tanto para os agrupamentos (todos e zoobentívoros), quanto para as campanhas (3ª e/ou 4ª) e tecidos avaliados (músculo e fígado), os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maior bioacumulação em relação àqueles capturados no ponto PA (Figura 89, Figura 90, Figura 91, Figura 92, Figura 93 e Figura 94).

Ao avaliarmos o tecido muscular de todos os peixes amostrados em cada um dos pontos durante as 3ª e 4ª campanhas foi possível verificar que os peixes capturados no ponto FRD apresentaram oito (Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn e Sb) e quatro elementos (Ba, Co, Hg e Zn), respectivamente, em concentrações superiores às determinadas no ponto PA, enquanto os peixes

capturados no ponto PA apresentaram apenas o Se e o Al, respectivamente, em concentrações superiores às determinadas nos peixes capturados no ponto FRD. A análise do tecido hepático, durante a 4ª campanha revelou padrão similar ao observado no tecido muscular, ou seja, maior concentração de sete elementos (Ba, Cd, Co, Hg, Pb, Se e Zn) nos animais capturados no ponto FRD em relação aos capturados no ponto PA e de apenas um elemento (As) no ponto PA em relação aos animais capturados no ponto FRD (Figura 89).

Figura 89. Perfil da bioacumulação dos 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular e hepático dos peixes capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário). Comparação entre os pontos CN (leia-se PA- foz do rio Piraquê-Açu) e DA (leia-se FRD - foz do rio Doce).



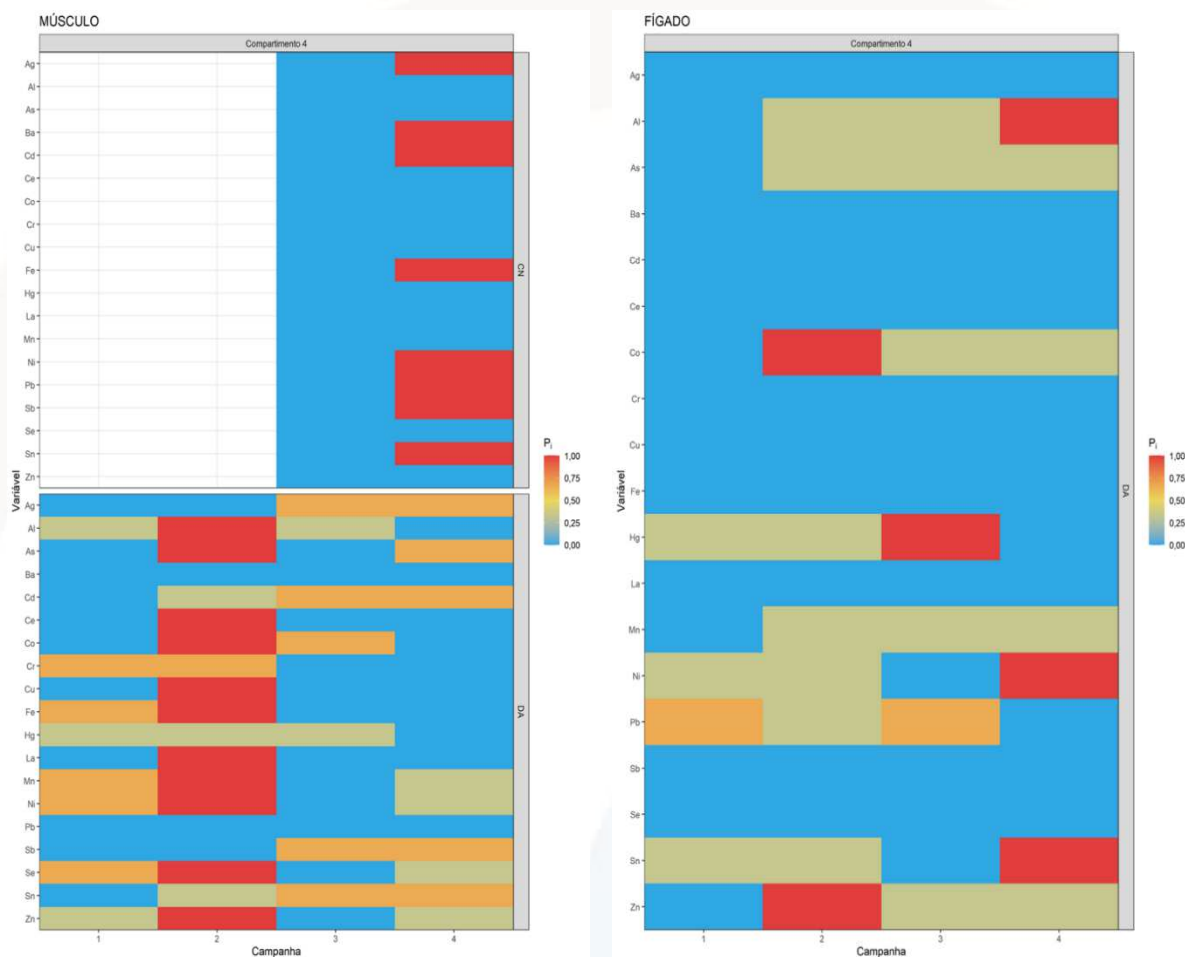
A metodologia aplicada para elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APENDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura, onde as cores representam as diferenças nas concentrações dos EPTs. Quadrantes em vermelho representam as maiores concentrações; em amarelo concentrações intermediárias e, em azul as menores concentrações.

A análise da bioacumulação de EPTs, apenas durante as 3ª e 4ª campanhas e para o tecido muscular, revelou que os peixes capturados no ponto PA apresentaram maior bioacumulação de EPTs na 4ª campanha, onde oito elementos (Ag, Ba, Cd, Fe, Ni, Pb, Sb e Sn) apresentaram-se em concentrações superiores às determinadas nos peixes capturados durante a 3ª campanha. Na análise

da bioacumulação muscular, dos peixes capturados no ponto FRD ao longo das quatro campanhas, foi possível identificar que a 2ª campanha foi a com maior bioacumulação, uma vez que onze elementos (Al, As, Ce, Co, Cu, Fe, La, Mn, Ni, Se e Zn) foram determinados em maiores concentrações nessa campanha em comparação às demais. Além disso, foi possível perceber que a concentração de Cr foi similar nos peixes capturados durante as 1ª e 2ª campanhas e estas superiores as concentrações de Cr determinadas nos peixes capturados durante as 3ª e 4ª campanhas. Ainda, as concentrações dos elementos Ag, Cd, Sb e Sn foram similares entre os peixes capturados durante as 3ª e 4ª campanhas e, estas superiores as concentrações determinadas nos peixes capturados durante as 1ª e 2ª campanhas (Figura 90). A análise de bioacumulação de EPTs no tecido hepático foi realizada apenas para os peixes capturados no ponto FRD, os quais apresentaram os elementos Ag, Ba, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Sb e Se em concentrações semelhantes ao longo das quatro campanhas; os elementos Al, Ni e Sn em maiores concentrações na 4ª campanha; o Hg em maiores concentrações na 3ª campanha e, os elementos Co e Zn em maiores concentrações durante a 2ª campanha (Figura 90).

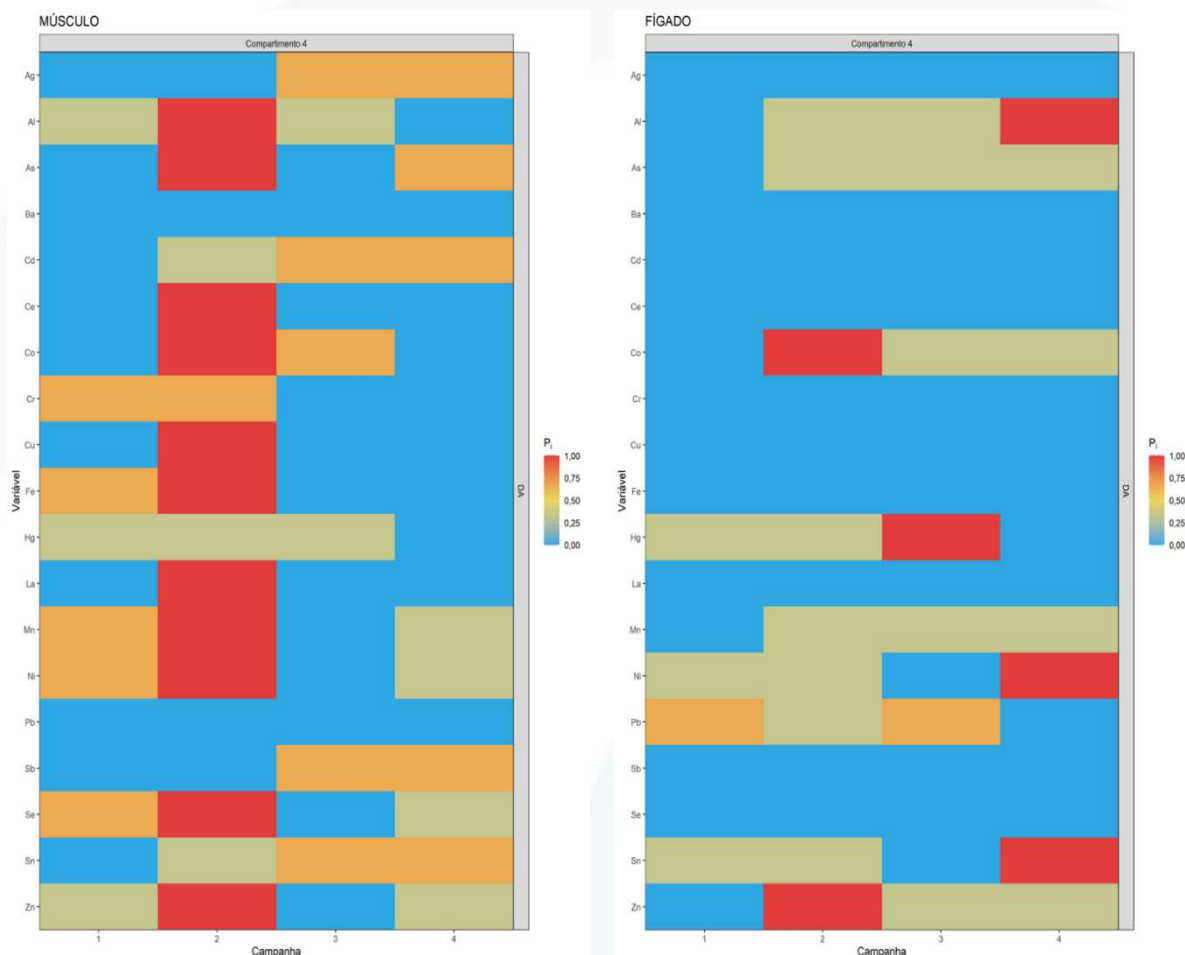
Para o agrupamento da ordem Siluriformes a análise foi realizada apenas para os peixes capturados no ponto FRD e ao longo das campanhas, porém, tanto para o tecido muscular quanto para o hepático. A avaliação dos resultados para o tecido muscular demonstrou que, assim como observado para todos os peixes capturados nesse ponto, a 2ª campanha foi a de maior bioacumulação, uma vez que onze elementos (Al, As, Ce, Co, Cu, Fe, La, Mn, Ni, Se e Zn) apresentaram-se em concentrações mais elevadas durante essa campanha em relação às demais. Além disso, foi possível perceber que a concentração de Cr foi similar nos peixes capturados durante as 1ª e 2ª campanhas e estas superiores as concentrações de Cr determinadas nos peixes capturados durante as 3ª e 4ª campanhas. Ainda, as concentrações dos elementos Ag, Cd, Sb e Sn foram similares entre os peixes capturados durante as 3ª e 4ª campanhas e, estas superiores as concentrações determinadas nos peixes capturados durante as 1ª e 2ª campanhas (Figura 91). A avaliação dos resultados obtidos com o tecido hepático indicou que os elementos Ag, Ba, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Sb e Se apresentaram concentrações similares ao longo das quatro campanhas, porém, os elementos Al, Ni e Sn apresentaram-se em maiores concentrações nos peixes capturados durante a 4ª campanha, o elemento Hg nos peixes capturados durante a 3ª campanha e, os elementos Co e Zn nos peixes capturados durante a 2ª campanha (Figura 91).

Figura 90. Perfil da bioacumulação dos 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular e hepático dos peixes capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário). Comparação entre as campanhas para um mesmo ponto CN (leia-se PA- foz do rio Piraquê-Açu) ou DA (leia-se FRD - foz do rio Doce).



A metodologia aplicada para elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APENDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura, onde as cores representam as diferenças nas concentrações dos EPTs. Quadrantes em vermelho representam as maiores concentrações; em amarelo concentrações intermediárias e, em azul as menores concentrações.

Figura 91. Perfil da bioacumulação dos 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular e hepático dos peixes da ordem Siluriformes capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário). Comparação entre as campanhas para um mesmo ponto CN (leia-se PA- foz do rio Piraquê-Açu) ou DA (leia-se FRD - foz do rio Doce).

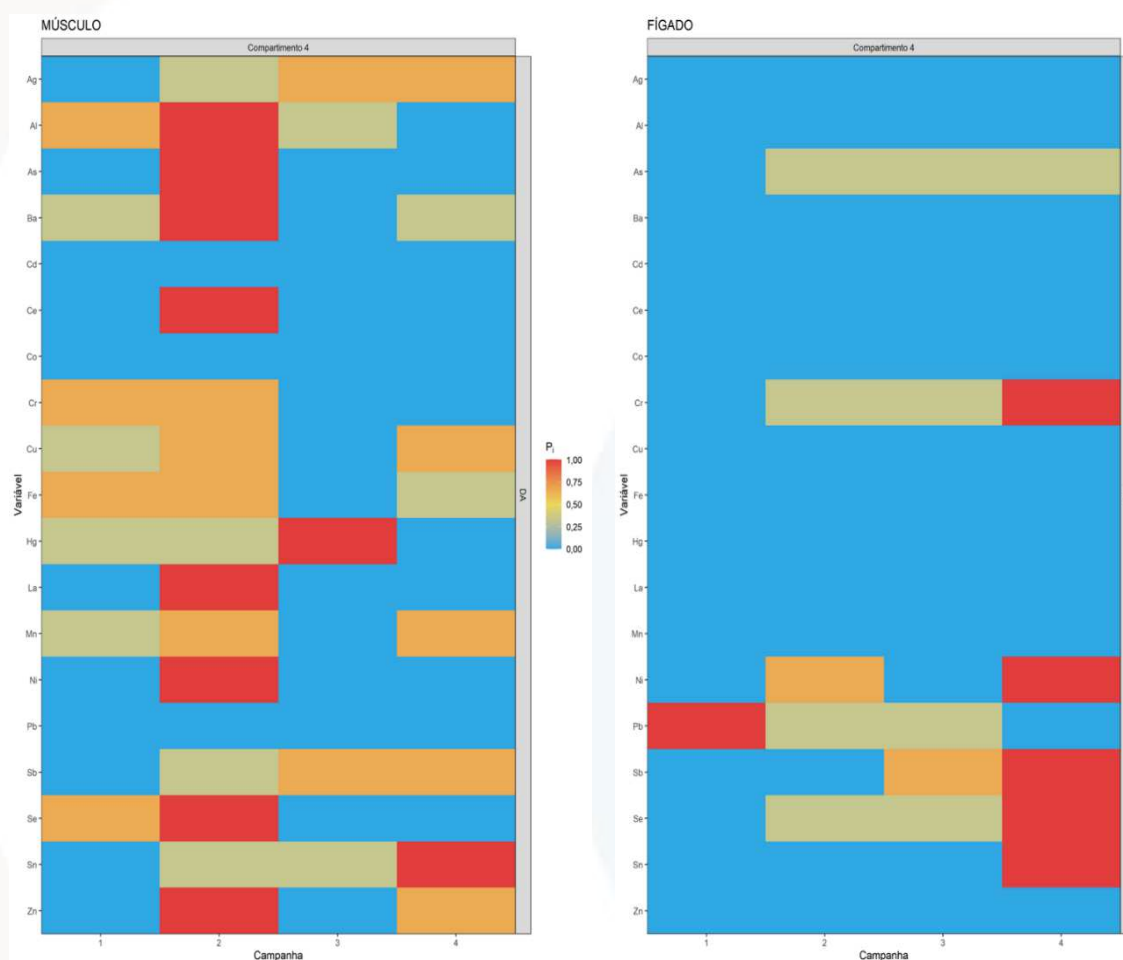


A metodologia aplicada para elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APENDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura, onde as cores representam as diferenças nas concentrações dos EPTs. Quadrantes em vermelho representam as maiores concentrações; em amarelo concentrações intermediárias e, em azul as menores concentrações.

A análise dos peixes agrupados pelo hábito alimentar invertívoro bentônico foi realizada apenas para os peixes capturados no ponto FRD e ao longo das campanhas, porém, tanto para o tecido muscular quanto para o hepático. A avaliação dos resultados para o tecido muscular demonstrou que os elementos Al, As, Ba, Ce, La, Ni, Se e Zn foram determinados em maiores concentrações durante a 2ª campanha, o elemento Hg durante a 3ª campanha e, o elemento Sn durante a 4ª campanha. Além disso, os elementos Cr e Fe foram determinados em maiores concentrações durante as 1ª e 2ª campanha; os elementos Ag e Sb em maiores concentrações durante as 3ª e 4ª campanhas e, os elementos Cu e Mn em maiores concentrações durante as 2ª e 4ª campanhas (Figura 92). A avaliação dos resultados obtidos com a análise do tecido hepático demonstrou que os elementos Ag, Al, Ba, Cd,

Ce, Co, Cu, Fe, Hg, La, Mn e Zn apresentaram-se em concentrações similares ao longo das campanhas, os elementos Cr, Ni, Sb, Se e Sn foram determinados em maiores concentrações nos peixes capturados durante a 4ª campanha e, o elemento Pb foi determinado em maior concentração nos peixes capturados durante a 1ª campanha. Além disso, destaca-se que o elemento As apresentou concentrações mais altas durante as 2ª, 3ª e 4ª campanhas quando comparada à concentração determinada durante a 1ª campanha (Figura 92).

Figura 92. Perfil da bioacumulação dos 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular e hepático dos peixes, de hábito alimentar invertívoro bentônico, capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário). Comparação entre as campanhas para um mesmo ponto CN (leia-se PA- foz do rio Piraquê-Açu) ou DA (leia-se FRD - foz do rio Doce).

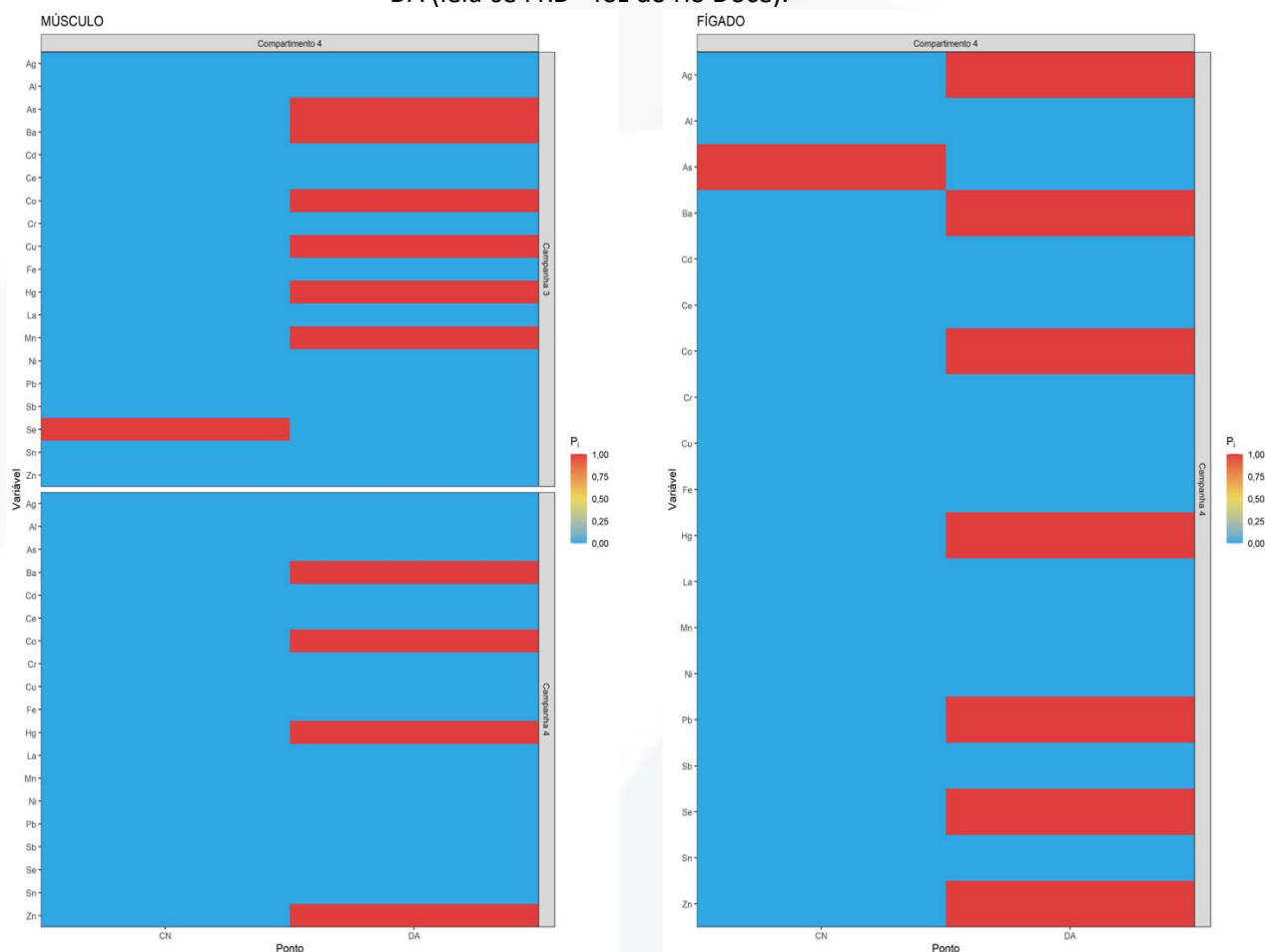


A metodologia aplicada para elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APENDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura, onde as cores representam as diferenças nas concentrações dos EPTs. Quadrantes em vermelho representam as maiores concentrações; em amarelo concentrações intermediárias e, em azul as menores concentrações.

A análise dos resultados das concentrações de EPTs dos peixes de hábito alimentar zoobentívoro, entre os pontos PA e FRD, foi realizada nas 3ª e 4ª campanhas, para o tecido muscular

e, na 4ª campanha para o tecido hepático. No tecido muscular os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maiores concentrações de As, Ba, Co, Cu, Hg e Mn durante a 3ª campanha em comparação ao apresentado pelos animais capturados no ponto PA, enquanto os peixes capturados no ponto PA apresentaram, nessa mesma campanha, apenas o elemento Se em concentrações superiores as determinadas nos peixes capturados no ponto FRD. Durante a 4ª campanha os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maiores concentrações de Ba, Co, Hg e Zn em comparação aos peixes capturados no ponto PA. No tecido hepático, os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maiores concentrações de Ag, Ba, Co, Hg, Pb, Se e Zn que os peixes capturados no ponto PA, enquanto os peixes capturados no ponto PA apresentaram maior concentração de As que os capturados no ponto FRD (Figura 93).

Figura 93. Perfil da bioacumulação dos 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular e hepático dos peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário). Comparação entre os pontos CN (leia-se PA- foz do rio Piraquê-Açu) ou DA (leia-se FRD - foz do rio Doce).



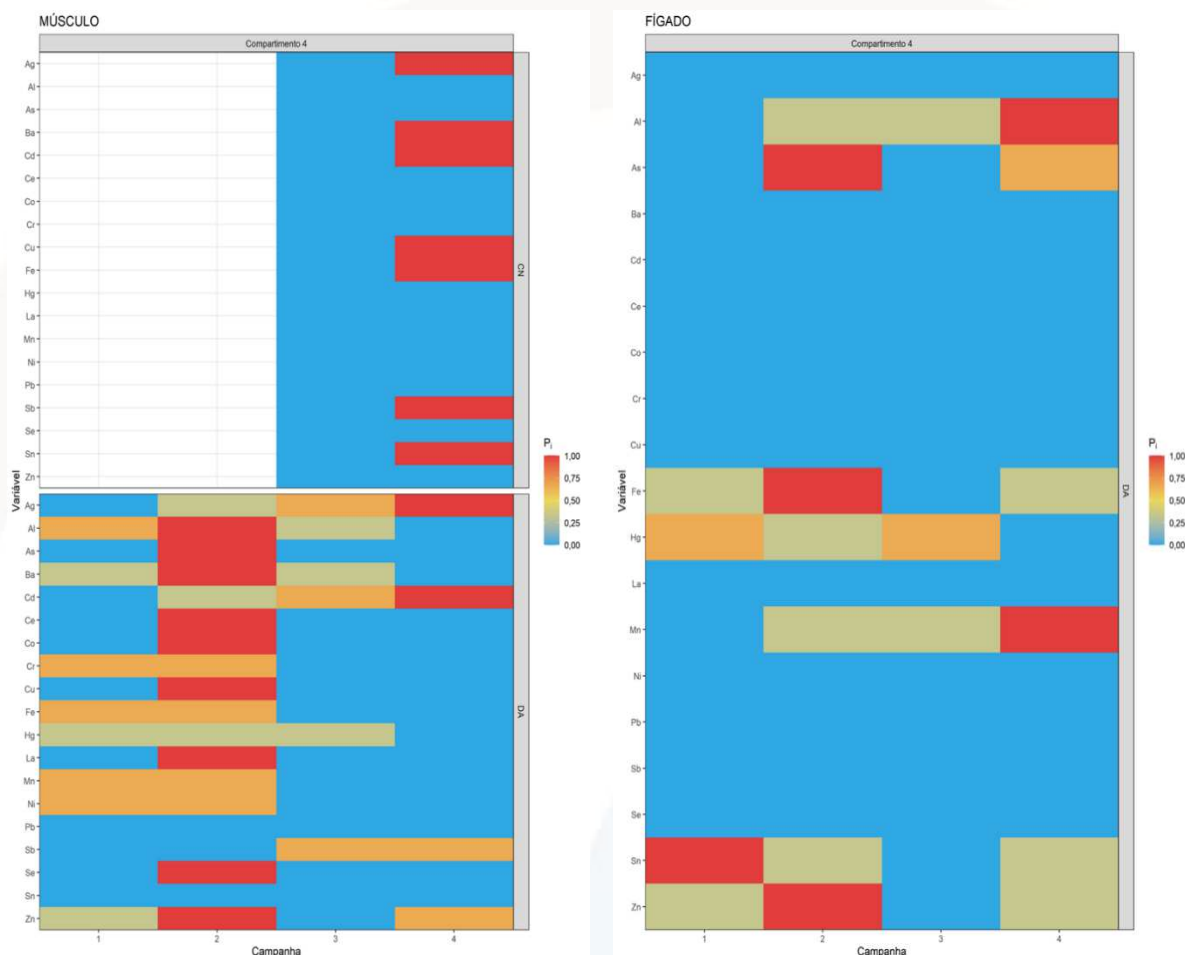
A metodologia aplicada para elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APENDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura, onde as cores representam as diferenças nas concentrações dos EPTs. Quadrantes em vermelho representam as maiores concentrações; em amarelo concentrações intermediárias e, em azul as menores concentrações.

A comparação das concentrações de EPTs determinadas em músculo para cada um dos pontos (PA e FRD) demonstrou que os peixes capturados no ponto PA apresentaram, durante a campanha 4, maior concentração de Ag, Ba, Cd, Cu, Fe, Sb e Sn. Os animais capturados no ponto FRD apresentaram as maiores concentrações de EPTs no tecido muscular durante a 2ª campanha, na qual 9 elementos Al, As, Ba, Ce, Co, Cu, La, Se e Zn apresentaram-se em maiores concentrações. Ainda, os elementos Ag e Cd apresentaram-se em maiores concentrações durante a 4ª campanha; os elementos Cr, Fe, Mn e Ni durante as 1ª e 2ª campanhas e, o elemento Sb durante as 3ª e 4ª campanhas, enquanto os elementos Pb e Sn apresentaram concentrações semelhantes ao longo de todo o período amostral (Figura 94).

Em relação à bioacumulação de EPTs no tecido hepático, como previamente citado, a avaliação temporal foi realizada apenas para os peixes do ponto FRD. Diferentemente do tecido muscular, o

tecido hepático apresenta grande atividade metabólica, o que o torna um tecido alvo para uma série de elementos metálicos, assim como acontece com as brânquias e os rins. Assim, nota-se que no tecido hepático a bioacumulação apresentada pelos peixes coletados no ponto FRD nas diferentes campanhas amostrais apresentou menor variação do que aquela constatada para o tecido muscular. Neste sentido, considerando todos os peixes amostrados no ponto FRD destaca-se que os EPTs Ag, Ba, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Sb e Se apresentaram concentrações semelhantes no tecido hepático ao longo das quatro campanhas. Os EPTs Al, Ni e Sn por sua vez estiveram em maior concentração nos peixes coletados na 4ª campanha, o Hg nos peixes da 3ª campanha e o Co e o Zn nos peixes da 2ª campanha (Figura 94).

Figura 94. Perfil da bioacumulação dos 19 elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no tecido muscular e hepático dos peixes, de hábito alimentar zoobentívoro, capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário). Comparação entre as campanhas para cada um dos pontos CN (leia-se PA- foz do rio Piraquê-Açu) ou DA (leia-se FRD - foz do rio Doce).



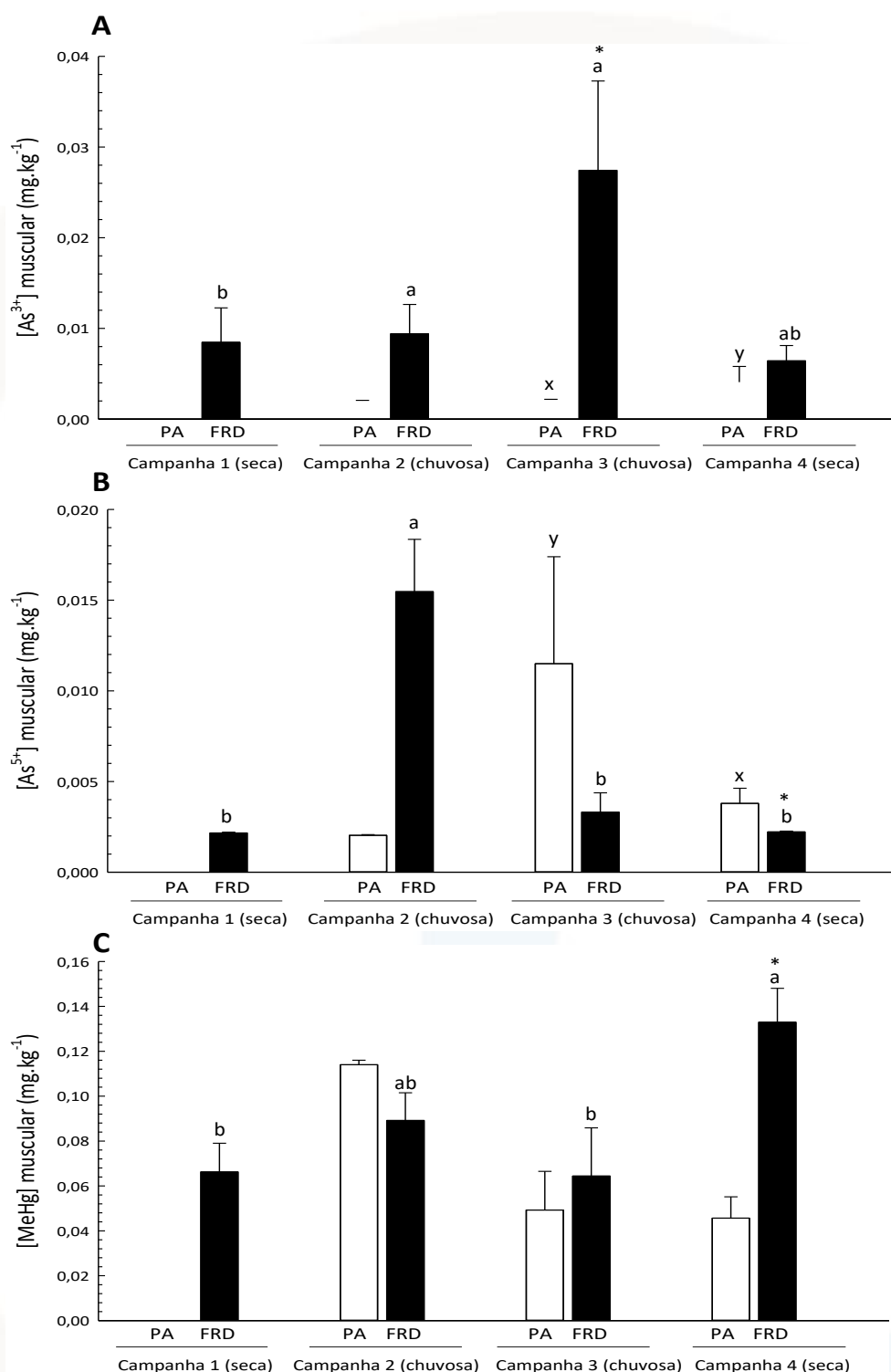
A metodologia aplicada para elaboração do mapa de calor (do inglês *Heatmap*) se encontra descrita no APENDICE A. Resumidamente, considerando os resultados estatísticos obtidos por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (com p-valor corrigido pelo método de Holm-Bonferroni), foi estabelecido um índice que está representado na figura, onde as cores representam as diferenças nas concentrações dos EPTs. Quadrantes em vermelho representam as maiores concentrações; em amarelo concentrações intermediárias e, em azul as menores concentrações.

3.1.2.3. Análise da bioacumulação As^{3+} e As^{5+} e de MeHg em tecido muscular

A análise da concentração das espécies de As e Hg nos peixes capturados nos pontos PA e FRD demonstrou que os peixes capturados no ponto FRD apresentaram maior concentração de As^{3+} que os peixes capturados no ponto PA na 3ª campanha, no entanto, os peixes capturados no ponto PA apresentaram maior concentração de As^{5+} que os peixes capturados no ponto FRD na 4ª campanha (Figura 95 A e B). Os peixes capturados no ponto PA apresentaram maior concentração de As^{3+} na 4ª campanha em comparação com os peixes capturados na 3ª campanha, enquanto as concentrações de As^{5+} apresentaram padrão inverso. Os peixes capturados no ponto FRD durante as 2ª e 3ª campanhas

apresentaram maiores concentrações de As^{3+} que os peixes capturados nesse mesmo ponto na 1ª campanha. Além disso, os peixes capturados no ponto FRD durante a 2ª campanha apresentaram maior concentração de As^{5+} em comparação aos peixes capturados nas demais campanhas (Figura 95 A e B). Com relação as concentrações de MeHg, os peixes capturados no ponto FRD apresentaram concentração superior, na 4ª campanha, que as determinadas nos peixes capturados no ponto PA. A comparação entre as campanhas para os peixes capturados no ponto PA não apresentou diferença, no entanto, para os peixes capturados no ponto FRD a concentração de MeHg foi maior nos peixes capturados durante a 4ª campanha em comparação às concentrações determinadas nos peixes capturados durante as 1ª e 3ª campanhas (Figura 95 C).

Figura 95. Bioacumulação das espécies orgânicas de As (As^{3+} e As^{5+}) e da inorgânica de Hg (MeHg) no tecido muscular de peixes capturados nos pontos do compartimento 4 (estuário)



Asterísco representa diferença estatística entre os pontos PA e FRD em cada uma das campanhas amostrais; letras diferentes indicam diferença estatística entre as campanhas para um mesmo ponto PA (xyz) ou FRD (abc). $p < 0,05$

Compartimento 5 (mar)

No compartimento 5, por ausência ou insuficiência amostral, nem todos os biomarcadores e/ou concentrações de EPTs foram avaliados em todos os pontos e campanhas. Embora tenham sido amostrados indivíduos das ordens Gobiesociformes, Perciformes, Percomorpharia e Siluriformes, apenas os peixes da ordem Siluriformes foram representativos para a análise dos biomarcadores (2ª, 3ª e 4ª campanhas) e das concentrações de EPTs (todas as campanhas), deste modo, apenas os resultados desta ordem serão descritos. Com relação aos hábitos alimentares, apenas 4 indivíduos, ao longo das quatro campanhas e dos seis pontos amostrais, apresentaram hábito alimentar diferente de zoobentívoro, sendo assim, os resultados apresentados por peixes desse hábito alimentar são os mesmos apresentados por todos os peixes capturados em cada um dos pontos desse compartimento. Deste modo, os resultados obtidos para agrupamento dos peixes de hábito alimentar zoobentívoro não serão descritos/apresentados.

3.1.2.4. ALTERAÇÕES NAS CONDIÇÕES CORPORAIS E/OU NA SAÚDE DA ICTIOFAUNA

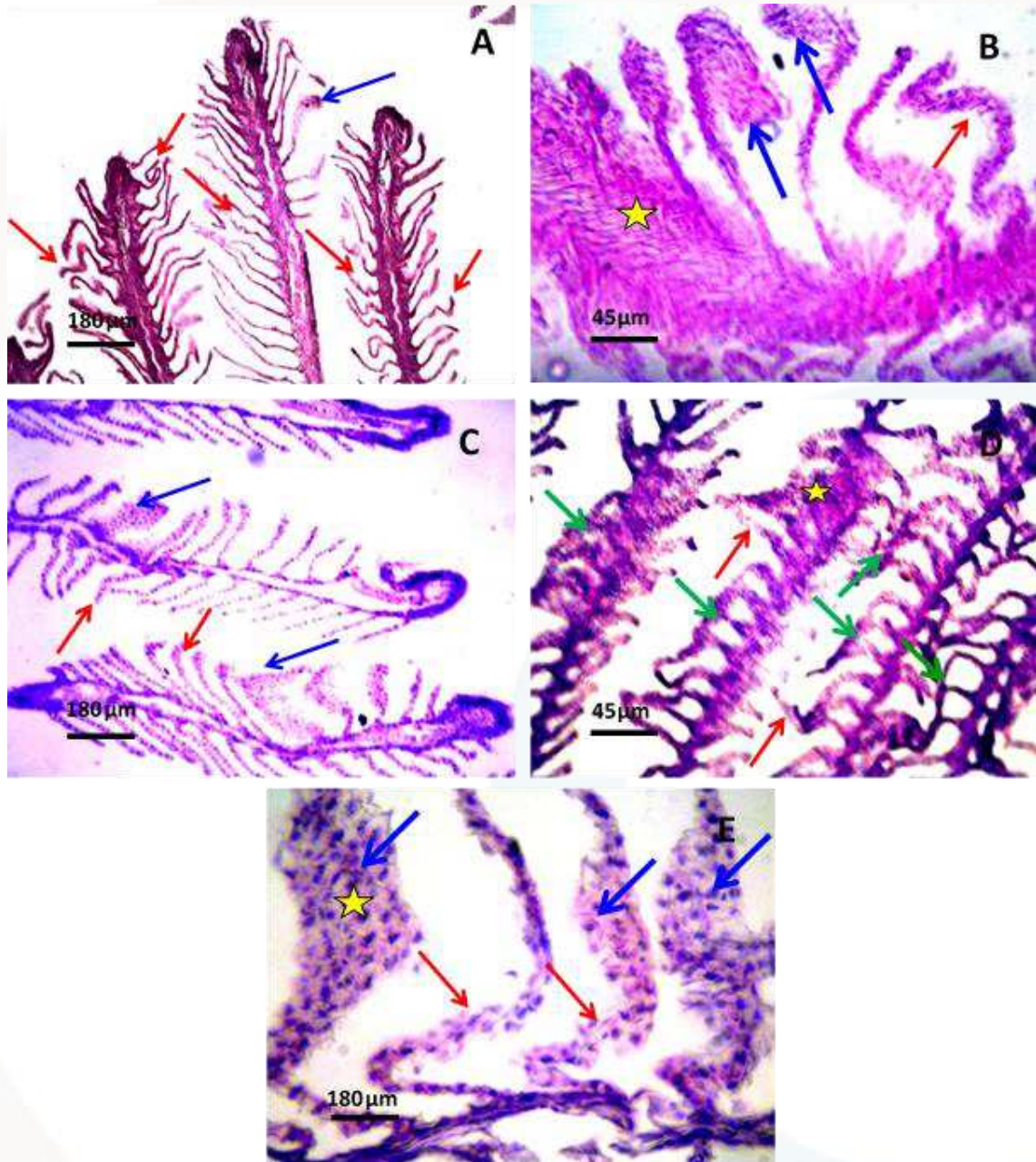
3.1.2.4.1. Prejuízos à estrutura e função das brânquias (biomarcador: histopatologia de brânquias)

Os peixes capturados no compartimento 5, independentemente do agrupamento realizado, apresentaram inúmeras alterações na estrutura das brânquias. Dentre as alterações morfológicas identificadas nas brânquias dos peixes capturados nos pontos próximos da costa (5km – pontos 1, 3 e 5) destacam-se: desestruturação do filamento branquial, fusão parcial e/ou total das lamelas primárias, fusão total ou parcial das lamelas secundárias, aneurisma (de leve a severo), proliferação celular, deslocamento epitelial, hipertrofia, hiperplasia e atrofia (e.g., Figura 96, Figura 97, Figura 98 e Figura 99). Os peixes capturados nos pontos mais afastados da costa (20 km – pontos 2, 4 e 6) apresentaram: desestruturação do filamento branquial, aneurisma (leve ou moderado), proliferação celular, fusão parcial e/ou total das lamelas primárias, hiperplasia, hipertrofia, fusão parcial das lamelas secundárias, descolamento epitelial (e.g., Figura 100, Figura 101, Figura 102 e Figura 103).

Apesar dos peixes capturados no compartimento 5 apresentarem danos similares na estrutura branquial, independentemente da distância da costa, com a aplicação do índice de Bernet para todos os animais capturados identificou-se que os pontos cujos peixes apresentaram o maior comprometimento da estrutura branquial foram os pontos 3 (foz do rio Doce; 5km da costa) e 6 (ao norte do rio Doce, 20km da costa) (Tabela 77). A avaliação do IB para os peixes agrupados de acordo com as ordens indicou que os representantes das ordens Gobiesociformes e Perciformes capturados no ponto 1, os representantes da ordem Pleuronectiformes capturados no ponto 3 e, os representantes da ordem Siluriformes capturados no ponto 2 foram os que apresentaram maior

comprometimento branquial quando considerado todo o período amostral (quatro campanhas) (Tabela 78).

Figura 96. Cortes histológicos de brânquias de espécies capturadas no ponto 5 do compartimento 5 (mar), 5 km da costa, durante a campanha 1



Coloração Hematoxilina-Eosina. Seta vermelha = desestruturação do filamento branquial, seta verde = fusão de lamelas, seta azul = aneurisma, estrela amarela = proliferação celular. Fonte: LACTEC