

Karina Fernandes Oliveira Rezende

Alterações morfológicas de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)  
(Linnaeus, 1758) expostas às águas da Represa Billings

Dissertação apresentada ao Departamento de  
Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto  
de Ciências Biomédicas da Universidade de São  
Paulo, para obtenção do Título de Mestre em  
Ciências.

Área de Concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado Cunha  
da Silva.

Versão Original

São Paulo  
2011

## RESUMO

REZENDE, K. F. O. **Alterações morfológicas de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) expostas às águas da Represa Billings**. 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2011.

A Represa Billings apresenta águas eutrofizadas em decorrência da grande quantidade de esgoto proveniente da área urbana próxima, e como consequência, os peixes podem representar um problema de saúde pública por apresentarem diversos tipos de contaminações. As brânquias e o fígado tornam-se órgãos alvo para a ação dos poluentes existentes no meio aquático podendo se manifestar em vários níveis de organização biológica, incluindo disfunções fisiológicas e alterações estruturais. Estas respostas biológicas ao estresse provocado pelos poluentes podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais de danos aos peixes e podem ser denominadas biomarcadores. Desse modo, o presente projeto teve como objetivo a análise histológica de brânquias e fígado de Tilápias do Nilo para a verificação de alterações morfológicas causadas pelo meio, por meio de mensurações, Índice de Alterações Histológicas (I.A.H.) e Valor Médio de Avaliação (V.M.A.); também foi realizada a análise da frequência de micronúcleo para a observação da resposta entre a atividade genotóxica e a eficiência de mecanismos fisiológicos de defesa do animal. Verificou-se que as Tilápias do Nilo apresentam alterações histológicas das brânquias e do fígado classificadas como moderada a grave, além da presença de micronúcleo. Os resultados permitem um melhor monitoramento ambiental e o controle da qualidade dessa espécie.

**Palavras- chave:** Peixes. Biomarcadores. Alterações Histológicas. Micronúcleo.

## ABSTRACT

REZENDE, K. F. O. **Morphologic alterations of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) exposed to waters of Billings dam.** 2011. 60 p. Masters thesis (Cell Biology and Tissue) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2011.

The Billings dam shows eutrophic waters due to the large amount of sewage from urban occupation nearby, and consequently, the fish can be a public health problem by presenting various types of contamination. The gills and liver become target organs for the action of pollutants in the aquatic environment and may present several levels of biological organization, including structural changes and physiological dysfunctions. These biological responses to stress caused by pollutants can be used to identify early signs of damage to fish and can be called biomarkers. Thus, this project aimed to analyze the histological gills and liver of Nile tilapia to verify morphological changes caused by environment, by means of measurements, Histological Alterations Index (H.A.I.) and Assessment Medium Value (A.M.V.); the frequency of micronuclei was done, to observe the response to genotoxic activity and the efficiency of animal's defense physiological mechanism. We observed histological alterations in gills and livers of Nile Tilapia classified as mild to severe, and the presence of micronucleus. The results enable better environmental monitoring and quality control of this species.

**Keywords:** Fish. Biomarkers. Histological changes. Micronuclei.

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Represa Billings

A construção de reservatórios para diversos fins é uma das mais antigas e importantes intervenções humanas nos sistemas naturais. Isso porque o aumento populacional e a distribuição irregular entre habitação humana e recursos hídricos aumentam as pressões para o armazenamento de água em muitas partes do planeta (TUNDISI et al., 1993).

No Brasil, a construção de grandes reservatórios de água, principalmente para fins de geração elétrica e abastecimento público, atingiu seu máximo desenvolvimento nas décadas de 60 e 70 (TUNDISI et al., 1993), sendo que o Estado de São Paulo possui aproximadamente 100 reservatórios como, por exemplo, a Represa Billings, que ocupa uma área de 582,8 km<sup>2</sup>, sendo limitada, a oeste, pela bacia hidrográfica da Represa Guarapiranga e, ao sul, pela Serra do Mar.

Esse reservatório é atualmente o maior da Região Metropolitana do Estado de São Paulo, com espelho d'água de 108 km<sup>2</sup>, correspondendo a 18% da área total de sua bacia hidrográfica. O nível d'água é bastante variável, de acordo com o Consórcio Hidroplan (1995), em função do bombeamento das águas dos rios Tietê e Pinheiros (CAPOBIANCO e WHATELY, 2002).

A Represa Billings foi idealizada pelo engenheiro americano Asa Billings, em 1927, com a finalidade de alimentar a Usina Hidrelétrica Henry Borden no município de Cubatão, que tem capacidade de gerar cerca de 880 MW. Para que isso fosse possível, foi necessária a construção de um sistema de obras hidráulicas de maneira a permitir que as águas do Alto Tietê atingissem o reservatório (CAPOBIANCO e WHATELY, 2002).

A partir da década de 50 a represa Billings passou a receber toda água disponível no Alto Tietê com a reversão por meio do canal do rio Pinheiros, duplicando a potência instalada em Cubatão, contendo as cheias, além do abastecimento público, da prática da pesca e atividade de lazer, com isso a represa passou a ter sinais de deterioração causados por alta carga de poluentes e contaminantes de origem doméstica e industrial (SENDACZ et al., 1999).

Esta reversão continua a ser utilizada até os dias de hoje apenas nas épocas de chuvas, com máximas nos meses de verão (dezembro a março) como alternativa de controle de cheias das bacias dos rios Tietê e Pinheiros em períodos de chuvas intensas de acordo com a Resolução Conjunta SMA/SES nº 03 de 1992. Estas operações, apesar de esporádicas, contribuem consideravelmente para o comprometimento da qualidade das águas do reservatório, dificultando a sua desejada recuperação (CAPOBIANCO e WHATELY, 2002), além disso, existe uma grande quantidade de esgoto proveniente da ocupação de suas sub-bacias formadoras. Em consequência disso, suas águas apresentam eutrofização; toxicidade pela presença de metais pesados como cobre, mercúrio e zinco, e; presença de microorganismos patogênicos e algas potencialmente tóxicas; prejudicando o equilíbrio ambiental do reservatório (CAPOBIANCO e WHATELY, 2002; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

Verifica-se, ainda, que os peixes da Represa Billings constituem problema de saúde pública por apresentarem contaminação por chumbo, cromo, mercúrio e zinco, tanto nas vísceras como na musculatura, com teores que ultrapassam os limites máximos permissíveis, estabelecidos pela legislação brasileira e internacional. Também as concentrações de surfactantes estão em desacordo com a legislação e, além dos problemas estéticos e sanitários, conferem gosto à carne dos peixes (ROCHA; PEREIRA; PÁDUA, 1985).

## **1.2 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

As tilápias pertencem a família *Cichlidae*, são de origem do leste e oeste da África e são peixes de água doce amplamente cultivados pelo mundo inteiro nos dias de hoje (POPMA e LOVSHIN, 1996; DEY e GRUPTA, 2000; MC ANDREW, 2000; APPELYARD; RENWICK; MATHER, 2001).

Embora a tilápia já fosse conhecida pelos egípcios 2.000 anos a.C., a sua criação teve início no Quênia, somente em 1927, de modo muito rudimentar e como uma espécie não determinada, expandindo-se pelo Congo em 1937. Depois desse período, soldados japoneses introduziram a *Oreochromis mossambicus* na ilha de Java

e, dessa forma, a tilápia se popularizou na Indonésia e Filipinas, alcançando grande projeção de cultivo e desenvolvimento em águas tropicais após a Segunda Guerra Mundial (GALLI e TORLONI, 1999).

Embora cerca de 70 espécies recebam a denominação Tilápia, somente *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis aureus*, *Tilapia rendalli* e seus híbridos apresentam importância para aquicultura mundial (STICKNEY, 1997).

A Tilápia do Nilo ou nilótica, *Oreochromis niloticus*, possui duas linhagens de grande importância no Brasil: Bouaké e Chitralada. A primeira é originária da Costa do Marfim e foi introduzida no Brasil em 1971 em açudes do Nordeste, e difundiu-se para todo o país (POPMA e LOVSHIN, 1996) desde a bacia do Rio Amazonas até o Rio Grande do Sul. A segunda teve origem no Egito, foi para o Japão e daí exportada para Tailândia, lugar onde foi domesticada e introduzida no Brasil em 1996. Entre essas linhagens não há diferenças morfológicas mensuráveis (POVH et al., 2005).

Sua introdução na aquicultura nacional apresenta-se bastante promissora, pois, a Tilápia do Nilo com aproximadamente 37% de porção comestível é, atualmente, a espécie de maior volume de produção da piscicultura, tanto em sistemas extensivos como em sistemas intensivos. A espécie exibe vantagens que a torna um grupo de peixes de interesse mundial, alimentando-se da base da cadeia trófica e aceitando variedade de alimentos. Têm requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, tais como a carne branca de textura firme e sabor delicado, fácil filetagem, ausência de espinhas em “Y”, sendo considerado “o novo pescado branco”; além de características produtivas, como a resistência ao manuseio e transporte, baixa susceptibilidade a doenças parasitárias, arraçoamento fácil e econômico, crescimento rápido podendo atingir 5 quilos ou mais e alto teor de domesticidade (GALLI e TORLONI, 1999; JORY; ALCESTE; CABRERA, 2000).

A Tilápia do Nilo é um peixe de águas paradas, sobrevivendo em águas com menos de 1mg/litro de oxigênio dissolvido. Fora d'água e protegida do sol, ela pode sobreviver por mais de uma hora. Preferem águas quentes, com temperatura entre 15 a 35°C, embora já estejam se adaptando em regiões onde a temperatura da água atinge 8°C no inverno. Naturalmente é micrófaga, isto é, alimenta-se de microorganismos que

compõem o plâncton, porém, em presença de excesso de alimento comporta-se como uma espécie onívora (GALLI e TORLONI, 1999).

De coloração cinza- azulada (GALLI e TORLONI, 1999), a espécie possui corpo alto e curto, cabeça e cauda pequenas, facilmente reconhecidas pelas listras verticais presentes na nadadeira caudal (HEPHER e PRUGININ, 1981).

A tilápia é criada em diversos sistemas, apresentando excelente desempenho. Apesar das vantagens, a proliferação desordenada é considerada o principal problema para o seu cultivo, provocando super lotação e diminuição de tamanho médio do indivíduo, além do crescimento relativamente lento (POPMA e LOVSHIN, 1996).

### **1.3 Biomarcadores**

Um biomarcador é uma resposta fisiológica individual ou um padrão morfológico alterado num organismo e, em ambos os casos, é a consequência (efeito) da exposição (causa) do organismo a um agente exógeno, este doravante denominado xenobiótico. Portanto, os biomarcadores integram sistemas biológicos operacionais indicando processos de contaminação ou intoxicação, em diferentes níveis de organização biológica (OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

A utilização de biomarcadores apresenta várias vantagens, pois permite detectar precocemente a existência de contaminação por substâncias tóxicas biologicamente significativas, identificar espécies ou populações em risco de contaminação, avaliar a magnitude da contaminação e determinar o grau de severidade dos efeitos causados pelos contaminantes (STEGEMAN et al., 1992).

Os peixes constituem um grupo de grande importância nas avaliações de toxicidade ambiental, pois além de estarem presentes em vários ambientes e apresentarem ampla distribuição geográfica, participam, ainda, de diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar, sendo considerados excelentes modelos biológicos de estudo (JESUS e CARVALHO, 2008).

### **1.3.1 Análise Histológica**

O exame histopatológico é reconhecido cada vez mais como uma ferramenta valiosa para a avaliação do campo do impacto de poluentes ambientais em peixes (TEH; ADAMS; HINTON, 1997), além de um método rápido para detecção de irritantes (BERNET et al., 1999), possui algumas vantagens práticas sobre outros tipos de biomarcadores, como a facilidade de colher e armazenar amostras, a viabilidade de avaliar vários sistemas e tipos celulares de um peixe e a oportunidade de investigar peixes muito pequenos que individualmente resultariam em material insuficiente para uma avaliação bioquímica. Além dessas vantagens, nenhuma outra técnica permite a identificação do local específico do comprometimento celular. Características histopatológicas de órgãos alvos específicos podem expressar condições ambientais e representar o tempo de exposições aos quais estão submetidos os organismos (SCHMALZ et al., 2002).

As brânquias, por apresentarem uma grande área de exposição, são as principais portas de entrada para a grande maioria dos poluentes (BERNET et al., 1999), atuando como uma interface seletiva entre o ambiente interno e o meio externo. Uma vez exposta a condições adversas do meio, espera-se que haja vários tipos celulares no epitélio, que se adaptem, se modifiquem e se especializem, para responder às variações ambientais de forma satisfatória ao organismo (LICHTENFELS, 1996).

Esses órgãos são estruturas vitais para a saúde dos peixes, pois, além de serem o principal local de trocas gasosas, também estão envolvidos nos processos de osmorregulação, equilíbrio ácido básico e excreção de compostos nitrogenados. Estes desempenham ainda a função de órgão sensorial da gustação (MACHADO e FANTA, 2003). Portanto, qualquer alteração nessa estruturas certamente comprometeria a sobrevivência dos peixes (MORGAN e TOWELL, 1973).

O fígado é um órgão desintoxicador essencial para o metabolismo e para a excreção de substâncias tóxicas de dentro do corpo. É um órgão com potencial de biotransformação, bioativação e excreção de xenobiontes sendo, portanto, um dos principais órgãos alvos que podem refletir a exposição aos contaminantes (BERNET et



al., 1999). Os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998).

Bruslé; González e Anadon (1996) afirmam que estudos com histologia de fígados de peixes poderiam servir como modelos para estudar as interações entre fatores ambientais e estruturas hepáticas e suas funções. O efeito prejudicial da poluição do metal pesado na histologia do fígado de peixes pode, entretanto, depender da duração da exposição (crônica ou aguda) e nível de concentração do metal específico.

Estudos de campo são componentes importantes para a avaliação e compreensão dos efeitos biológicos e/ou ecológicos de agentes químicos sob condições naturais. As principais vantagens de tais estudos refere-se a incorporação de exposições realistas, que vão determinar diretamente os efeitos observados, e a utilização de ambientes naturais, que evitam a necessidade de extrapolação dos resultados para o ecossistema. Apesar disto, ainda são poucos os estudos de campo que avaliam as respostas biológicas de espécies aos contaminantes eventualmente presentes no seu habitat (ORLANDO et al., 1999).

Embora os peixes sejam menos sensíveis que os invertebrados à maioria dos agentes tóxicos, as normas que tratam dos testes de toxicidade recomendam a utilização de organismos de todos os níveis tróficos. Além disso, os peixes são importantes fontes de alimento; são quase sempre visíveis, de maneira que a mortandade causa espanto e preocupação nas pessoas, mesmo naquelas que não são sensíveis às causas ambientais. Entre os organismos essencialmente aquáticos, os peixes ocupam níveis tróficos elevados na cadeia alimentar e, por isso, são passíveis de acumular altos teores de substâncias por biomagnificação; seus sistemas orgânicos são muito mais próximos histológica e fisiologicamente dos sistemas humanos (e de outros vertebrados) que dos invertebrados, permitindo extrapolações mais confiáveis (MELETTI et al., 2003).

Assim, torna-se necessário avaliar aspectos histopatológicos de peixes para o monitoramento de contaminação ambiental decorrente das atividades humanas, diagnosticar doenças que podem acometer os peixes, bem como fornecer informações

importantes sobre o estado de higidez destes, impedindo que doenças sejam transmitidas ao homem e aos organismos envolvidos na cadeia alimentar aquática, e dissipar contaminantes ambientais (MELETTI et al., 2003).

### **1.3.2 Teste de Micronúcleo**

Por volta dos anos 50 e 60 a Ecologia e a Genética se uniram e, a partir daí, foram desenvolvidos os primeiros testes rápidos e eficientes que são empregados em estudos de genotoxicidade. Dentre os principais testes, podemos citar a medição da frequência de micronúcleo (BOMBAIL et al., 2001). Esse tipo de teste tem sido recomendado para estudos de biomonitoramento ambiental, principalmente por sua capacidade de detectar agentes clastogênicos (quebra de cromossomos), e de agentes aneugênicos (segregação cromossômica anormal) requerendo, no entanto, proliferação celular para a observação do biomarcador de efeito (FENECH, 2000).

Os micronúcleos são conceituados como sendo corpúsculos extranucleares formados durante o processo da mitose, os quais são o resultado de fragmentos cromossômicos acêntricos ou de cromossomos inteiros que não ficaram incluídos em nenhum dos núcleos filhos, originados no processo de divisão celular (PALHARES e GRISOLIA, 2002; ÇAVAS e ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b). Do mesmo modo, podem ocorrer anomalias celulares, formadas quando determinada quantidade de material fica levemente atrasada na mitose fazendo com que o núcleo resultante não seja oval, mas apresente uma saliência de cromatina (BOMBAIL et al., 2001). Essa presença em células é um reflexo da estrutura e/ou numérica aberração cromossomal surgido durante mitose (ÇAVAS e ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b).

O princípio do teste baseia-se no fato de que, durante o processo de divisão celular, principalmente na anáfase, as cromátides e os fragmentos cromossômicos acêntricos não são transportados pelas fibras do fuso para os pólos opostos, enquanto que os fragmentos com centrômero o são. Após a telófase, os cromossomos sem dano são incluídos no núcleo de cada uma das células filhas. No entanto, alguns elementos, normalmente muito pequenos, não são incluídos nos núcleos formados e permanecem

no citoplasma, constituindo as estruturas caracterizadas como micronúcleos (SCHMID, 1975).

Desta maneira, os efeitos de substâncias que provoquem quebras cromossômicas, ou ainda afetem os componentes do fuso ou da região centromérica, podem ser detectados a partir da presença de micronúcleos. Deve-se ressaltar que nem todos os produtos genotóxicos são clastogênicos, muitos induzem a formação dos micronúcleos por sua capacidade de afetarem o fuso (HEDDLE et al., 1991).

Hooftman e De Raat (1982), tomando por base o teste do micronúcleo originalmente desenvolvido por Schmid (1975) para células da medula óssea de camundongos, introduziram-no nos de células sanguíneas de peixes mantidos em laboratório. Esta modificação do teste original passou a ser conhecida como *Piscine Micronucleus Test*.

Assim, uma vez que os peixes apresentam eritrócitos nucleados, a presença de micronúcleos nestas células pode ser considerada uma resposta complexa entre a atividade genotóxica e a eficiência do mecanismo fisiológico de defesa do organismo teste (MATSUMOTO et al., 2006), sendo assim outro importante biomarcador utilizado para avaliar o grau de contaminação ao meio ambiente (FENECH, 1985).

O teste de micronúcleo é uma técnica vantajosa, pois pode ser usada em qualquer tipo de população celular em proliferação, sem que seja necessário o conhecimento prévio do cariótipo do animal. Devido aos peixes terem um grande número de cromossomos, e muitas vezes de pequeno tamanho, as análises das metáfases para a avaliação das aberrações cromossômicas são dificultadas, enquanto que o estudo de micronúcleos é fácil e possível de ser realizado em eritrócitos, devido ao fato destes serem nucleados (HAYASHI et al., 1998).

A avaliação das alterações nucleares e os micronúcleos têm sido utilizados para estimar o nível de exposição aos contaminantes em muitas pesquisas, principalmente na investigação de efeitos genotóxicos de poluentes ambientais, desde os anos 80. Esse teste mede o dano cromossômico estrutural ou numérico e tem sido usado para avaliar genotoxicidade, sendo um indicador recomendado para estudos ambientais tanto em condições laboratoriais como no campo (AL-SABTI, 1986).

Existem vários ensaios de mutagenicidade e o teste do micronúcleo tem sido aplicado com sucesso por se tratar de um ensaio simples, seguro e sensível, e por não depender da característica cariotípica do animal em estudo. Por estas razões, o teste do micronúcleo em eritrócitos de peixes tem se mostrado uma técnica promissora em investigações de mutagênese com causas ambientais (PALHARES e GRISOLIA, 2002; ÇAVAS e ERGENE-GÖZÜKARA, 2005a; MATSUMOTO et al., 2006).

Diversos estudos têm demonstrado uma alta incidência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de peixes expostos em diferentes poluentes (ÇAVAS e ERGENE-GÖZÜKARA, 2005a; MATSUMOTO et al., 2006).

Anormalidades nucleares são frequentemente observadas em eritrócitos de peixes, como consequência da exposição destes animais à contaminantes químicos tóxicos, genotóxicos, mutagênicos ou carcinogênicos no meio ambiente (PALHARES e GRISOLIA, 2002; MATSUMOTO et al., 2006). Souza e Fontanelli (2006) descreveram a formação de alterações morfológicas no envelope nuclear como núcleo que apresenta uma pequena evaginação do envelope nuclear, o qual contém eucromatina ("blebbed"), núcleo apresentando evaginação maiores que o núcleo blebbed ("lobed) e o núcleo apresenta um corte notável no conteúdo do material nuclear ("notched").

## 6 CONCLUSÃO

- Avaliação histopatológica de brânquias e fígado, assim como a frequência de micronúcleo, de *Oreochromis niloticus*, da Represa Billings, permite concluir que as alterações encontradas estão relacionadas à ação de substâncias genotóxicas ou xenobióticos presentes na água da represa;
- As alterações observadas no tecido branquial e no tecido hepático indicam comprometimento das funções desses órgãos;
- Frequências de micronúcleo bem como as alterações histológicas de brânquias e fígado foram importantes instrumentos utilizados para avaliar a qualidade da Represa Billings;
- A espécie Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) demonstrou ser uma ótima bioindicadora de contaminação ambiental;
- Este estudo indica que o consumo humano de *O. niloticus* da Represa Billings pode gerar problemas de saúde pública.

## REFERÊNCIAS\*<sup>1</sup>

AL-SABTI, K. Clastogenic effects of live carcinogenic-mutagenic chemicals on the cells of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 85C, p. 5-9, 1986.

AL-SABTI, K. Chlorotriazine Reactive Azo Red 120 Textile DyeInduces Micronuclei in Fish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 47, p. 149-155, 2000.

ANDERSON, D. P.; ZEEMAN, M. G. Immunotoxicology in Fish. In: RAND, G. M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology Effects:** environmental fate and risk assessment. 2nd ed. Delaware: Taylor & Francis, 1995. p. 345-369.

APPLEYARD, S. A.; RENWICK, J. M.; MATHER, P. B. Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 287-296, 2001.

ARANA, L. V. **Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura:** uma revisão para peixes e camarões. 2. ed. Santa Catarina: UFSC, 2004. p. 65-69.

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

BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. **Theory and practice in of histological technicians.** 2nd ed. London: Chruchill, 1982. 662 p.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada.** 2. ed. São Paulo: Manole, 1991.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25-34, 1999.

---

\* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BOMBAIL, V.; AW, D.; GORDON, E.; BATTY, J. Application of the comet and micronucleus assays to butterfish (*Pholis gunnellus*) erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland. **Chemosphere**, v. 44, p. 383-392, 2001.

BRUSLÉ, J.; GONZÁLEZ, G.; ANADON, G. G. The structure and function of fish liver. In: MUNSHI, J. S. D.; DUTTA, H. M. **Fish Morphology Horizon of New Research**. Lebanon: Science Publishers Inc., 1996. p. 77-93.

BÜCKER, A.; CARVALHO, W.; ALVES-GOMES, J. A. Avaliação da mutogênese e genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. **Acta Amazônica**, v. 36, p. 357-364, 2006.

CAPOBIANCO, J. P. R.; WHATELY, M. **Billings 2000**: Ameaças e perspectivas para o maior reservatório de água da região metropolitana de São Paulo. São Paulo: Instituto Socioambiental, 2002.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Genotoxicity evaluation of metronidazole using the piscine micronucleus test by acridine Orange fluorescent staining. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 19, p. 107-111, 2005a.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. **Aquatic Toxicology**, v. 74, p. 264-271, 2005b.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo 2008**. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo, 2009. 540 p.

CONSÓRCIO HIDROPLAN. Plano integrado de aproveitamento e controle dos recursos hídricos das bacias Alto Tietê, Piracicaba e Baixada Santista. **Hidroplan**, v. 6, p. 43, 1995.

DEY, M. M.; GUPTA, M. V. Socioeconomics of disseminating genetically improved Nile tilapia in Asia: an introduction. **Aquaculture Economics Management**, v. 4, p. 5-11, 2000.

FANTA, E.; RIOS, F. S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A. C. C.; FREIBERGER, S. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of

organophosphorus in water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 119-130, 2003.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, p. 81-95, 2000.

FENECH, M.; MORLEY, A. A. Measuremet of micronuclei in lymphocytes. **Mutation Research**, v. 147, p. 29-36, 1985.

GALLI, L. F.; TORLONI C. E. C. **Criação de peixes**. São Paulo: Nobel, 1999.

GRISOLIA, C. K.; STARLING, F. L. R. M. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. **Mutation Research**, v. 491, p. 39-44, 2001.

HAYASHI, M. et al. Development of genotoxicity assays systems that use aquatic organisms. **Mutation Research**, v. 399, p. 125-133, 1998.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1987.

HEDDLE, J. A. A rapid in vivo test for chromosomal damage. **Mutation Research**, v. 18, p. 187-190, 1973.

HEDDLE, J. A. et al. Micronuclei as a index of Cytogenetic Damage: past, present and future. **Environment Molecular Mutagenicity**, v. 18, p. 277-291, 1991.

HEPHER, B.; PRUGININ, Y. **Commercial fish farming**. New York: Wiley, 1981.

HEUVEL, M. R.; POWER, M.; RICHARDS, J.; MACKINNON, M.; DIXON, D. G. Disease and gill lesions in Yellon Pech (*Perca flavescens*) exposed to oil sands mining-Associated waters. **Ecotoxocology and Environmental Safety**, v. 46, p. 334-341, 2000.

HINTON, D. E. et al. Histopathologic biomarkers. In: HUGGET, R. J. et al. **Biomarkers. Biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. p.155-209.



HOOFTMAN, R. N.; RAAT, W. K. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmea* by ethyl methanesulphonate. **Mutation Research**, v. 104, p. 147-152, 1982.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para a avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, p. 680-693, 2008.

JIRAUNGKOORSKUL, W. et al. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Environmental Toxicology**, v. 18, p. 260-267, 2003.

JORY, D. E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T. R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de norteamérica. **Panorama Acuicola**, v. 5, p. 50-53, 2000.

KARAN, V.; VITOROVIC, S.; TUTUNDZIC, V.; POLEKSIC, V. Functional enzymes activity and gill histology of carp after cooper sulfate exposure and recovery. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 40, p. 49-55, 1998.

KARNAKY JR., K. J. Osmotic and ionic regulation. In: EVANS, D. H. (Ed.) **The physiology of fishes**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 1998. Cap. 7, p. 157-176.

KUBITZA, F. Qualidade da água na produção de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 45, p. 35-41, 1998.

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

LICHTENFELS, A. J. E. C. et al. Effects of water pollution on the gill apparatus of fish. **Journal Comparative Pathology**, v. 115, p. 47-60, 1996.

MACHADO, M. R.; FANTA, E. Effects of the Organophosphorous Methyl Paraterion on the Branchias Epithelium of a Frescwater Fisch *Metynnis roosevelti*. **Brazilian Archives Biology Technology**, v. 46, p. 361-372, 2003.

MALLAT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Canadian Journal Fisheries Aquatic Science**, v. 42, p. 630, 1985.

MATSUMOTO, S. T. et al. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 148-158, 2006.

MC ANDREW, B. J. Evolution, phylogenetic relationship and biogeography. In: BEVERIDGE, M. C. M.; MC ANDREW, B. J. **Tilapias: Biology and Exploitation** Kluwer. Norwell: Academic Publishers, 2000. p. 1-3.

MCDOWELL, E. M.; TRUMP, B. F. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. **Archives Pathology Laboratory Medicine**, v. 100, p. 405-414, 1976.

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

MORGAN, M.; TOWELL, P. W. A. The structure of the gill of the *Salmo Gairdneri* (Richardson). **Zoology Zellforsch**, v. 142, p. 147-162, 1973.

NOWAK, B. Histological changes in gills induced by residues of endossulfan. **Aquatic Toxicology**, v. 23, p. 65-84, 1992.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens in surface waters: a review. **Mutation Research**, v. 567, p. 109-149, 2004.

OOST, R. V. D.; BEYER J.; VERMEULEN N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, p. 57-149, 2003.

ORLANDO, E. F. et al. A comparison of the reproductive physiology of the largemouth bass, *Micropterus salmoides*, collected from the Escambia and Blackwater rivers in Florida. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 199-204, 1999.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 331-347, 2002.

PALHARES, D.; GRISOLIA, C. K. Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, p. 281-284, 2002.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**. Rome: FAO, 1994. p. 339-352.

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. L. **Worldwide prospects for commercial production of tilapia**. Alabama: Internacional center for aquaculture and aquatic environments, 1996. 23 p.

POTEL, K. **Tratado de anatomia patologica general veterinaria**. Zaragoza: Acribia, 1974. 278 p.

POVH, J. A. et al. Estimativa da variabilidade genética em linhagens de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, p. 1-10, 2005.

ROCHA, A. A.; PEREIRA, D. N.; PÁDUA, H. B. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo (Brasil). **Revista Saúde Pública**, v. 19, p. 401-410, 1985.

ROSENFELD, G. Corante pancromico para hematologia e citologia clínica, nova combinação dos componentes do May-Grunwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias Instituto Butantan**, v. 20, p. 329-334, 1947.

SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FELIZARDO, N. N.; RODRIGUES, E. L. Análise histológica de fígado de Tilápias-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na Represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim Instituto Pesca**, v. 30, p. 141-145, 2004.

SCHMALZ, W. F.; HERNANDEZ, A. D.; WEIS, P. Hepatic histopathology in two populations of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. **Environmental Research**, v. 54, p. 539-542, 2002.

SCHMID, W. The micronucleus test for cytogenetics analysis. In: Principles and Methods for Their Detection. **Hollaender**, v. 4, p. 31-53, 1975.

SCHWAIGER, J. et al. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal Aquatic Ecosystem Stress Recovery**, v. 6, p. 75-86, 1997.

SENDACZ, S.; KUBO, E. Zooplâncton de reservatórios do Alto Tietê. In: HENRY, R. **Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. Botucatu: FAPESP; Fundibio, 1999. p. 509-530.

SOUZA, T. S.; FONTANELLI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluents. **Mutation Research**, v. 605, p. 87-93, 2006.

STEGEMAN, J. J. et al. Molecular responses to enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: HUGGET, R. J. et al. **Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological markers of Anthropogenic Stress**. Chelsea: SETAC/Lewis Publishers, 1992. p. 235-335.

STICKNEY, R. R. Tilapia update 1996. **World Aquaculture**, v. 28, p. 20-25, 1997.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **Fish histology - normal and pathological features**. Tokyo: Kodansha, 1995.

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

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

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA- TUNDISI, T.; CALIJURI, M. C. Limnology and management of reservoirs in Brazil. In: STRASKRABA, M.; TUNDISI, J. G.; DUCAN **Comparative reservoir limnology and water quality management**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 25-55.

ZELIKOFF, J. T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals?. **Toxicology**, v. 129, p. 63-71, 1998.