

Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro, consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP

(Evaluation of the environmental pollution in the Retiro and Consulta rivers Bebedouro - Brazil, by analyzing histopathological changes in the gills from tilapia)

Carolina Lupi¹; Natalia Ionara Nhacarini¹; Aurélia de Fátima Mazon²; Odila Rigolin de Sá³

¹Biólogas – Faculdades Integradas Fafibe- Bebedouro – SP

²Faculdades Integradas Fafibe - Bebedouro – SP

³Faculdades Integradas Fafibe, Bebedouro-SP; UEMG- Campus de Passos
odila@fafibe.br; afmazon@hotmail.com

Abstract. *The fish gills are directly and permanently exposed to the aquatic environment and thus to multiple physical, chemical and biological influences. It serves respiration, osmoregulation, nitrogen excretion and acid-base balance. We classified the morphological changes observed in tilapia (*Oreochromis niloticus*, n=5) collected at two points in the Bebedouro river, Bebedouro, SP and in specimens collected at the same points and maintained in laboratory for 30 days. The alteration index was 23.8 at point one and 27.4 at point two, what indicates moderate to severe changes in the gills. The specimens that were maintained under laboratory conditions (clean water) did not show histopathological changes, suggesting that the lesions observed in tilapia that were immediately sampled were reversible. This indicates that the gills are good biomarkers from environmental pollution.*

Keywords. *gills, biomarkers, environmental pollution*

Resumo. *O epitélio branquial tem importante papel na manutenção osmótica e iônica dos peixes e as células que o constitui respondem aos fatores ambientais e fisiológicos. Os objetivos foram: analisar, quantificar e classificar as alterações morfológicas das brânquias de exemplares de tilapia (*Oreochromis niloticus*, n=5) coletadas em dois pontos do córrego Bebedouro-SP e mantidos em condições laboratoriais. Os exemplares de cada ponto foram analisados histologicamente e cinco exemplares foram mantidos em água limpa com aeração constante durante 30 dias. O índice médio das alterações branquiais nos pontos 1 e 2 de coletas foram 23,78 e 27,39 respectivamente e os efeitos nas brânquias foram lesões moderada para severa e após transferências dos exemplares para água limpa as lesões foram reversíveis. As alterações morfológicas detectadas permitem caracterizar as brânquias como biomarcador da poluição ambiental.*

Palavras-chave. *brânquias, biomarcador, poluição ambiental.*

1. Introdução

Os peixes são extremamente sensíveis a muitos poluentes aquáticos e, em especial, àqueles que afetam a permeabilidade à água e íons. O epitélio branquial tem importante papel na manutenção osmótica e iônica dos peixes e as células que o constitui respondem, direta ou indiretamente aos fatores ambientais e a alterações internas do organismo.

Alterações morfológicas nas brânquias assim como outros órgãos como fígado e rim podem ser empregadas nas investigações da toxicidade de compostos químicos específicos e no monitoramento dos efeitos agudos e crônicos, em ambientes aquáticos poluídos ou contaminados. Alterações morfológicas, além de proporcionar indícios qualitativos de uma adaptação funcional ao ambiente externo, permitem avaliar as relações quantitativas entre a estrutura e os processos fisiológicos.

Segundo HINTON e LAURÉN (1990), o termo biomarcador de poluição ambiental refere-se a órgãos específicos que sofreram alterações morfológicas, estruturais nas células e/ou tecidos e funcionamento, como consequência da exposição a um contaminante. Evidentes sinais de toxicidade, como diminuição na tomada de alimento, perda do equilíbrio e da pigmentação e morte são precedidas por mudanças bioquímicas, fisiológicas e ou morfológicas do organismo. A avaliação qualitativa ou quantitativa dessas mudanças antes da morte do organismo fornece indicações antecipadas de toxicidade (MEYERS e HENDRICKS, 1985).

2. Objetivos

✓ Analisar, quantificar e estimar os índices de alterações histológicas das brânquias de tilápia (*Oreochromis niloticus*) coletadas em dois pontos do córrego Bebedouro, município de Bebedouro, SP e mantidas em água limpa no laboratório de manutenção da Fafibe por 30 dias;

3. Materiais e Método

As tilápias são peixes adaptados a ambientes lênticos. Geralmente é mais ativa com a temperatura da água acima de 17°C, originária da África, Jordânia e Israel, tendo sido introduzida no Brasil na década de 70. Pertencem à Família *Cichlidae*, apresentam os gêneros *Tilapia*, *Oreochromis* e *Sarotherodon*. O alimento natural destes peixes é composto de inúmeros organismos vegetais, fito e zooplâncton.

Foram utilizados exemplares de tilápia ($W = 70,74 \pm 13,35$ g; $Lt = 14,79 \pm 1,06$ cm) coletados em duas localidades do córrego Bebedouro, no município de Bebedouro, SP. O primeiro local de coleta foi imediatamente após a junção dos córregos Consulta e Retiro, os quais se unem para formar o córrego Bebedouro e a outra localidade foi no córrego Bebedouro após o mesmo ter recebido esgotos urbanos. Após a coleta os animais foram transportados para o laboratório de histologia das faculdades integradas FAFIBE onde foram sacrificados e as brânquias coletadas e processadas para análise em microscopia de luz. Cinco exemplares, coletados nesses mesmos pontos foram mantidos em laboratório, em água limpa por 30 dias para verificar a reversibilidade das lesões. Amostras de água foram coletadas nos mesmos pontos para a análise das características físicas, químicas e microbiológica. As variáveis físicas e químicas e os métodos utilizados para as determinações foram: Transparência da água - Disco de Secchi; pH - pHmetro DM 2 DIGIMED; Temperatura (°C)-

Termômetro de mercúrio; Oxigênio dissolvido (mg/L) - Golterman, Clymo e Ohnstad, 1978; Dureza (mg/L), Alcalinidade (mg/L), Condutividade ($\mu\text{s}/\text{cm}$), Nitrato e fosfato (mg/L), Silica (mg/L), Amônia (mg/L), Sulfeto- Kit Lamotte code 4824 e coliformes fecais foi feita através do kit para análise de coliformes totais e fecais 3M.

Amostras de brânquias foram analisadas por microscopia de luz, fixadas em Bouwin lavadas, desidratadas, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Após a trimagem foram realizadas secções microscópicas de $6\mu\text{m}$ e as secções foram coradas com Hematoxilina e Eosina e analisadas sob um microscópio Nikon (modelo eclipse E200) no laboratório de Biologia Celular e Histologia das Faculdades Integradas FAFIBE.

As imagens digitais foram obtidas através do microscópio Olympus Micronal acoplado a uma câmera digital no Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos.

A classificação das alterações histopatológicas nas brânquias foi segundo a classificação proposta por POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDZIC (1994), Apud RIGOLIN-SÁ (1998)

4. Resultados

Os resultados obtidos para as variáveis físicas e químicas da água nos diferentes pontos amostrados estão listados na tabela 1.

Foram observadas 63 colônias de coliformes fecais no ponto 1, incontáveis no ponto 2 e nenhuma na água do tanque de manutenção.

Os resultados da análise histopatológica revelou lesões nos grupos G1-G2 Não foram observadas alterações do grupo G3. No grupo G1 foram observadas as seguintes alterações: hiperplasia do epitélio do filamento (Fig. 1b), hiperplasia do epitélio da lamela, descolamento do epitélio do filamento, descolamento do epitélio da lamela (Fig. 1b), fusão incompleta de várias lamelas (Fig. 1b), fusão completa de várias lamelas, ruptura do epitélio do filamento e ruptura do epitélio da lamela. No grupo G2 foram observadas hipertrofia, hiperplasia de células cloreto e hemorragia com ruptura do epitélio e aneurisma (Fig. 1c). Foi também observado um grande número de Leucócitos na lamela secundária (Fig. 1d).

As lesões histopatológicas como Hipertrofia e hiperplasia do epitélio branquial, Hipertrofia e hiperplasia de células cloreto, Alterações os vasos sanguíneos nas brânquias de *O. niloticus* nos diferentes pontos de amostragem determinaram a classificação dos estágios. Os Índices das alterações e conseqüentes efeitos das alterações foram: Ponto 1 (G1) índice de 23,78 com efeito brânquias moderadamente a extensivamente danificadas e Ponto 2 (G2), índice 27,39 com efeitos de brânquias moderadamente a extensivamente danificadas e Ponto3 (G3), índice de 2,0 indicando brânquias com funcionamento normal.

Tabela 1. Valores obtidos para as variáveis físicas e químicas da água nos diferentes pontos de coleta, no córrego Bebedouro e na água de aclimação dos animais em laboratório.

Variáveis físicas e químicas	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Transparência da água (cm)	75,0 (total)	45,0	Total
pH	8,2	7,4	9,06
Temperatura (°C)	29,0	25,0	24,0
Oxigênio dissolvido (mg/L)	1,9	4,0	7,7
Dureza (mgCaCO ₃ /L)	40,0	15,0	20,0
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	73,7	82,0	140,0
Condutividade (µs/cm)	120,7	153,5	134,6
Nitrato (mg/L)	<0,2	<0,2	<0,2
Fosfato (mg/L)	<0,2	<0,2	<0,2
Silica (mg/L)	20,0	20,0	20,0
Amônia (mg/L)	<1,0	2,0	<1,0
Sulfeto	<0,2	<0,2	<0,2

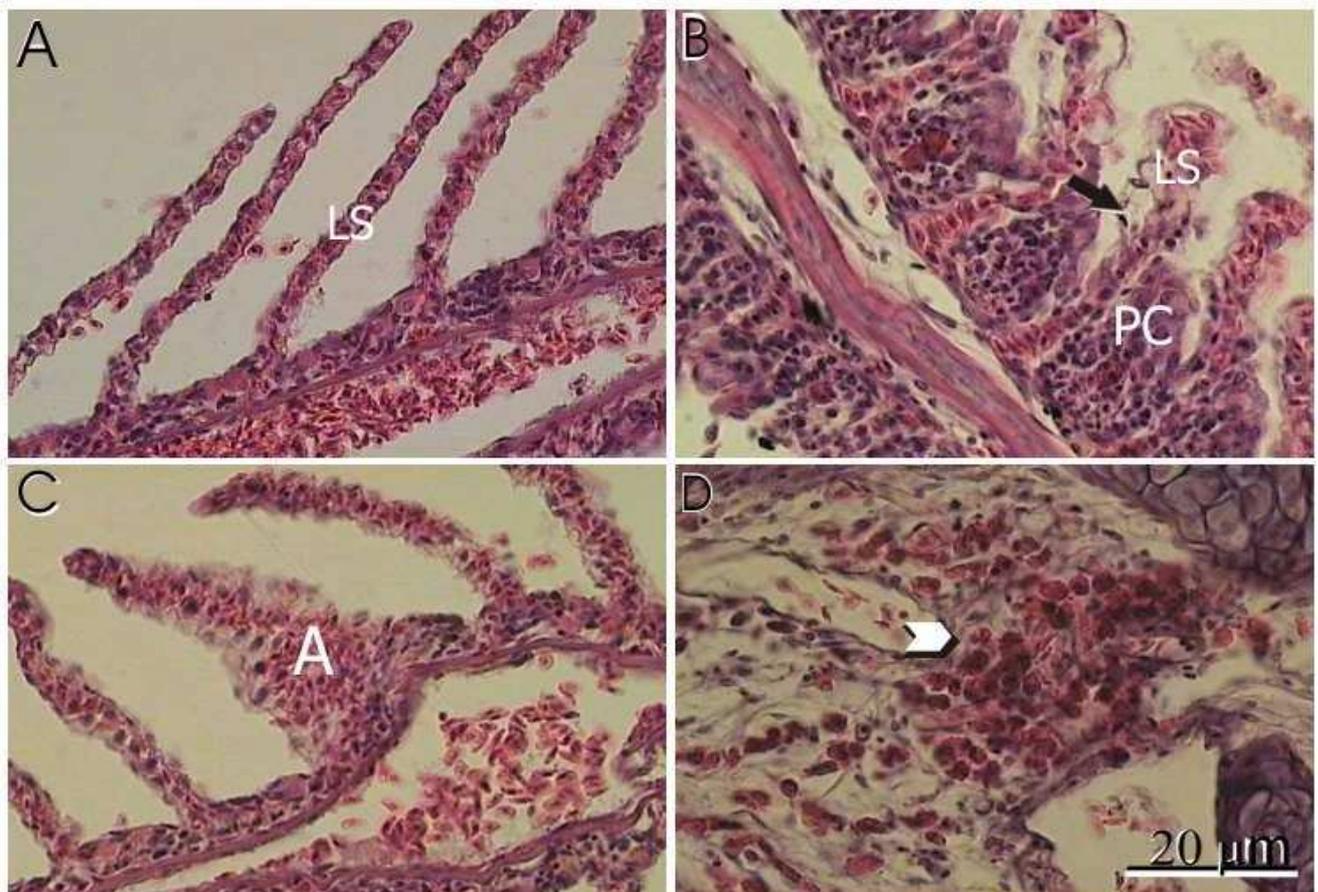


Figura 1. Secções representativas dos filamentos branquiais de *O. niloticus*. **A.** Exemplar coletado na junção entre os córregos Retiro e Consulta e transferido para o tanque de manutenção de água limpa, mostrando lamelas secundárias normais. **B.** Exemplar coletado na junção entre os córregos Retiro e Consulta (ponto 1) mostrando proliferação celular (PC) e descolamento do epitélio da lamela secundária (seta). **C e D.** Exemplar coletado no córrego bebedouro mostrando em **C** aneurisma (A) na lamela secundária e em **D** uma grande quantidade de leucócitos na base do filamento branquial (seta). LS=lamela secundária.

5. Discussão

O presente estudo demonstrou que as brânquias dos animais coletados nos dois pontos do córrego Bebedouro estão moderadamente a extensivamente modificadas, e ainda que essas alterações foram reversíveis, conforme observado após 30 dias em água limpa. É um fato conhecido que quando os animais são expostos a compostos químicos, mudanças patológicas podem ocorrer num curto espaço de tempo, as quais são reversíveis até certo ponto (RAND & PETROCELLI, 1985).

MALLATT (1985), em uma descrição mais detalhada das mudanças estruturais, propôs 15 classes de alterações induzidas por agentes tóxicos.

Uma nova classificação foi proposta por ROBERTS (1989) considerando: 1- edema lamelar; 2- hiperplasia lamelar e 3- fusão lamelar.

A mais recente classificação foi proposta por POLEKSIC e MITROVIC TUTUNDZIC (1994) Apud RIGOLIN-SÁ, baseados em estudos desenvolvidos com diferentes espécies de Ciprinídeos, submetidos a agrotóxicos e metais pesados. Distinguiram 26 tipos de lesões branquiais, classificadas de acordo com dois critérios, descritos na metodologia do presente trabalho.

Os 26 tipos de alterações branquiais foram considerados dentro de um processo progressivo, com diferentes graus de alterações:

- a) Hiperplasia é representada por diferentes lesões dependendo do mecanismo, da rapidez de ocorrência e da expansão sobre a estrutura da brânquia;
- b) Diferentes alterações histológicas podem aparecer simultaneamente ou separadamente como parte da reação inflamatória. Embora não reconhecido por MALLATT(1985), as lesões com proliferação do epitélio respiratório, infiltração de leucócitos, mudanças dos vasos sanguíneos e edema indicam efeitos agudos e o processo de cicatrização indica efeitos crônicos;
- c) Dilatação do vaso sanguíneo do filamento e da lamela secundária com congestão de células sanguíneas (MALLATT, 1985);
- d) Necrose e fibrose.

Segundo POLESKIC e MITROVIC-TUTUNDZIC (1994) In: Rigolin-Sá, os resultados mostram que as mudanças nas estruturas das brânquias de peixe podem ser usadas para monitorar os efeitos subletal e crônico de poluentes, particularmente naqueles casos onde outros métodos de avaliação não são satisfatórios. As mudanças nas estruturas branquiais em peixe podem ser usadas para investigar os efeitos de poluentes específicos e para previsão de futuros efeitos de comunidades de peixes em alguns rios cronicamente poluídos.

A proliferação celular observada nas lamelas secundárias e do filamento branquial de tilápia nos exemplares capturados nos pontos 1 e 2 contribuem para o aumento da distância de difusão água-sangue, dificultando as trocas gasosas. A proliferação no filamento branquial pode reduzir e até mesmo impedir a passagem da água entre as lamelas secundárias.

No presente estudo, as alterações estruturais nas brânquias não são específicas a um tipo de resíduo orgânico ou inorgânico, mas, dependem da concentração, principalmente de resíduos sólidos urbanos.

Na classificação dos sistemas foi usado o critério de reversibilidade como encontrados em testes de toxicidade e na literatura. As quatro categorias das lesões branquiais têm mostrado que pode ser usado como meio adicional de estimar o nível de poluição dos cursos de água.

As brânquias podem ser utilizadas como um biomarcador da contaminação ambiental e o critério de reversibilidade das alterações branquiais, no presente estudo, mostrou que a poluição e contaminação dependendo da intensidade são reversíveis.

6. Referências

- GOLTERMAN, H.L. et al. **Methods for physical and chemical of fresh waters**. Oxford: Blackwell Scientific, 1978, 214p (IBP Handbook.8)
- HAND, G.M., PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications**. Washington USA, Hemisphere Publishing, 1985, 666p
- HINTON, D.E., LAURÉN, D.J. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. In: ADAMS, S.M. (Ed) **Biological indicators of stress in fish**. Bethesda: American Fisheries Society Symposium 8', 1990. p. 51-66.
- MEYERS, T.R., HENDRICKS, J.D. Histopathology. In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (Eds.) **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. Washington; Hemisphere Pub. , 1985. p.283-331.
- MALLAT, J. **Fish gill structural changes induced by toxicants and others irritants: a statistical review**. *Can. J.Fish.Aquat.Sci.*, v. 42, p. 630-684, 1985.
- 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**. Cambodge: Blacwell Sci., 1994. P. 339-352. Apud RIGOLIN DE SÁ, O. Toxicidade do herbicida Roundup (Glifosato) e do acaricida Omite (Propargito) nas fases iniciais da ontogenia do Bagre, *Rhamdia hilarii* (VALENCIENNES, 1840) (Pimelodidae, Siluriformes). São Carlos. SP, 1998. 309p tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) Universidade Federal de São Carlos.

Apoio: FAPE (Fundo de apoio à pesquisa e extensão das Faculdades Integradas Fafibe)