

Utilização das brânquias de *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (Siluriformes; Pimelodidae) como biomarcador de poluição no reservatório da UHE Marechal Mascarenhas de Moraes, Minas Gerais, Brasil

Diego José Nogueira
Sumaya Cardoso de Castro
Roberta Cristina Amâncio Vieira
Odila Rigolin-Sá*

Fundação de Ensino Superior de Passos, Universidade do Estado de Minas Gerais
CEP 37900-000, Passos – MG, Brasil

*Autor para correspondência
odilarigolin@yahoo.com.br

Submetido em 30/11/2010
Aceito para publicação em 01/07/2011

Resumo

As brânquias dos peixes são biomarcadores da toxicidade ambiental que, frequentemente, são utilizados na avaliação dos impactos causados por xenobióticos. O presente estudo visa avaliar a contaminação do reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes, através da estimativa do índice de alterações morfológicas nas brânquias do *Pimelodus maculatus* causadas por agentes tóxicos. Os exemplares de *P. maculatus* foram coletados em três pontos do reservatório da UHE Marechal Mascarenhas de Moraes. No próprio local de coleta, imediatamente, as brânquias dos indivíduos coletados foram retiradas e fixadas em Bouin. Elas foram coradas com Hematoxilina-Eosina para análise em microscopia de luz. A quantificação das alterações foi realizada por estereologia, e os índices das alterações foram estimados, classificando-se as lesões de moderado a graves nos três pontos de estudo.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, Reservatórios, Toxicidade, Xenobióticos

Abstract

Use of the gills of *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (Siluriformes, Pimelodidae) as a biomarker of pollution in the reservoir of UHE Marechal Mascarenhas de Moraes, Minas Gerais, Brazil. The gills of fish are biomarkers of environmental toxicity which are often used to assess the impacts of xenobiotics. This study aims to evaluate the contamination of the reservoir Marechal Mascarenhas de Moraes, through the estimation of the rate of morphological changes in the gills of *Pimelodus maculatus* caused by toxic agents. The specimens of *P. maculatus* were collected from three points of the reservoir of UHE Marechal Mascarenhas de Moraes. In the local of collection, immediately, the gills of the collected individuals were removed and fixed in Bouin. They were stained with Hematoxylin-Eosin for light microscopic analysis. The quantification of changes was carried out through stereology and the indices of change were estimated, classifying the lesions from moderate to severe in the three points under study.

Key words: Ecotoxicology, Reservoirs, Toxicity, Xenobiotics

Introdução

Os indicadores fisiológicos e comportamentais são frequentemente utilizados na avaliação dos impactos causados pelos agentes tóxicos em organismos vivos. Uma grande variedade de danos causados pelos agentes tóxicos nas populações aquáticas pode ser observada, como, por exemplo, as alterações histológicas e morfológicas em órgãos como as brânquias (MELETTI et al., 2003).

Na superfície do arco branquial voltada para a cavidade opercular, inserem-se duas fileiras de filamentos branquiais (holobrânquias), cujas superfícies dão origem a uma série de dobras que constituem as lamelas, as quais são os sítios primários das trocas de gases na maioria dos peixes (SAKURAGUI, 2000). Como as brânquias desempenham papel fundamental para as trocas gasosas e regulação osmo-iônica, qualquer alteração histopatológica pode afetar diretamente os mecanismos de respiração e osmorregulação, além de prejudicar funções como a manutenção dos equilíbrios ácido-básico e osmótico (MEYERS; HENDRICKS, 1985).

Alterações morfológicas nas estruturas das brânquias podem ser empregadas na investigação da toxicidade de compostos químicos específicos e no monitoramento dos efeitos agudos, crônicos e crônicos parciais, em ambientes aquáticos poluídos ou contaminados, pois estas são órgãos-alvo dos peixes, sendo considerados biomarcadores ambientais. Essas alterações morfológicas podem ser usadas para monitorar os efeitos subletais dos poluentes, especialmente, naqueles casos nos quais/em que outros métodos de avaliação não são satisfatórios (RIGOLIN-SÁ, 1998).

Embora os peixes sejam menos sensíveis que os invertebrados à maioria dos agentes tóxicos, são utilizados para testes de toxicidade devido ao fato de serem importante fonte de alimento para diversos povos. Contudo, sua mortalidade é visível e pode despertar fatores sentimentais em populações humanas que dependem destes recursos. Além disso, são passíveis de acumular substâncias, e sua histologia e fisiologia são próximas a dos humanos e dos demais vertebrados existentes (MELETTI et al., 2003).

Um dos principais peixes, representante da família Pimelodidae, que se pode utilizar alguns de seus órgãos como biomarcador de contaminação ambiental, é a espécie *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (NOGUEIRA et al., 2008), conhecido popularmente como mandi-amarelo. É abundante e de grande importância na pesca comercial (LOLIS; ANDRIAN, 1996; AZEVEDO-SANTOS et al., 2010). Tem hábito alimentar onívoro com tendência à ictiofagia (MENIN; MIMURA 1991; HAHN et al., 1998; BASILE-MARTINS et al., 1986a; CALLISTO et al., 2002).

É uma espécie com uma ampla distribuição geográfica, em diversas bacias hidrográficas da América do Sul (FOWLER, 1954; BASILE-MARTINS et al., 1986b; ALMEIDA et al., 2003), podendo ser encontrada na Amazônia, Guianas, Venezuela, Peru, Bolívia, Paraguai, Argentina, Bacia do Paraná, do Prata, Rio Uruguai e Rio Iguazu (GODOY, 1987). Devido à grande faixa de sua ocupação zoogeográfica e, conseqüentemente, fácil captura, o *P. maculatus* e suas brânquias podem ser usados como marcadores de contaminação ambiental nos vários sistemas aquáticos da América do Sul.

No Rio Grande e seus afluentes, no Estado de Minas Gerais, esta é uma espécie comumente encontrada e capturada, principalmente, por pescadores artesanais (AZEVEDO-SANTOS et al., 2010), haja vista sua fácil captura neste rio, sua ampla distribuição geográfica e a comprovação de sua eficácia para avaliação da qualidade da água (NOGUEIRA et al., 2008). O presente estudo visa avaliar a contaminação ambiental do reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes, médio Rio Grande, Minas Gerais, Brasil, através da determinação do índice de alterações morfológicas nas brânquias de *P. maculatus*.

Material e Métodos

A primeira coleta de peixes para análise histopatológica foi realizada em junho/2008 (período seco); a segunda coleta foi realizada em setembro/2008 (período seco); e a terceira coleta foi realizada em dezembro/2008 (período chuvoso). Os peixes foram coletados em três pontos (sítios), escolhidos aleatoriamente na montante,

no centro, e na jusante, ao longo do reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes. Os sítios de coleta foram denominados como: s1: (20°33'13"S, 46°36'00"W); s2: (20°28'12"S, 46°50'45"W); s3: (20°17'32"S, 47°03'25"W) (Figura 1).

Os exemplares foram coletados com o auxílio de uma rede malha 3,5 (entre nós opostos). As redes foram esticadas no entardecer e recolhidas na manhã do dia seguinte. Os espécimes foram identificados como sendo *P. maculatus* (Figura 2) através da chave dicotômica presente em Britski et al. (2006).

Foram coletados vários exemplares da espécie, sendo que, por coleta, em cada mês, e para cada sítio,

apenas brânquias de cinco indivíduos foram utilizadas. As brânquias foram extraídas rapidamente, no próprio local de coleta e, imediatamente, fixadas em bouim.

Os indivíduos utilizados como grupo controle foram coletados em um tanque de piscicultura da Estação de piscicultura das Centrais Elétricas de Furnas.

As amostras de brânquias foram lavadas com solução salina 0,9%, fixadas em bouim, lavadas em álcool 70% e desidratadas em banhos sucessivos de álcool 70% e 100%, diafanizados com Xilol (PA). Foram incluídas em parafina. Após a polimerização da parafina, as brânquias foram cortadas em cortes seriados de 7-8µm efetuados em micrótomo manual

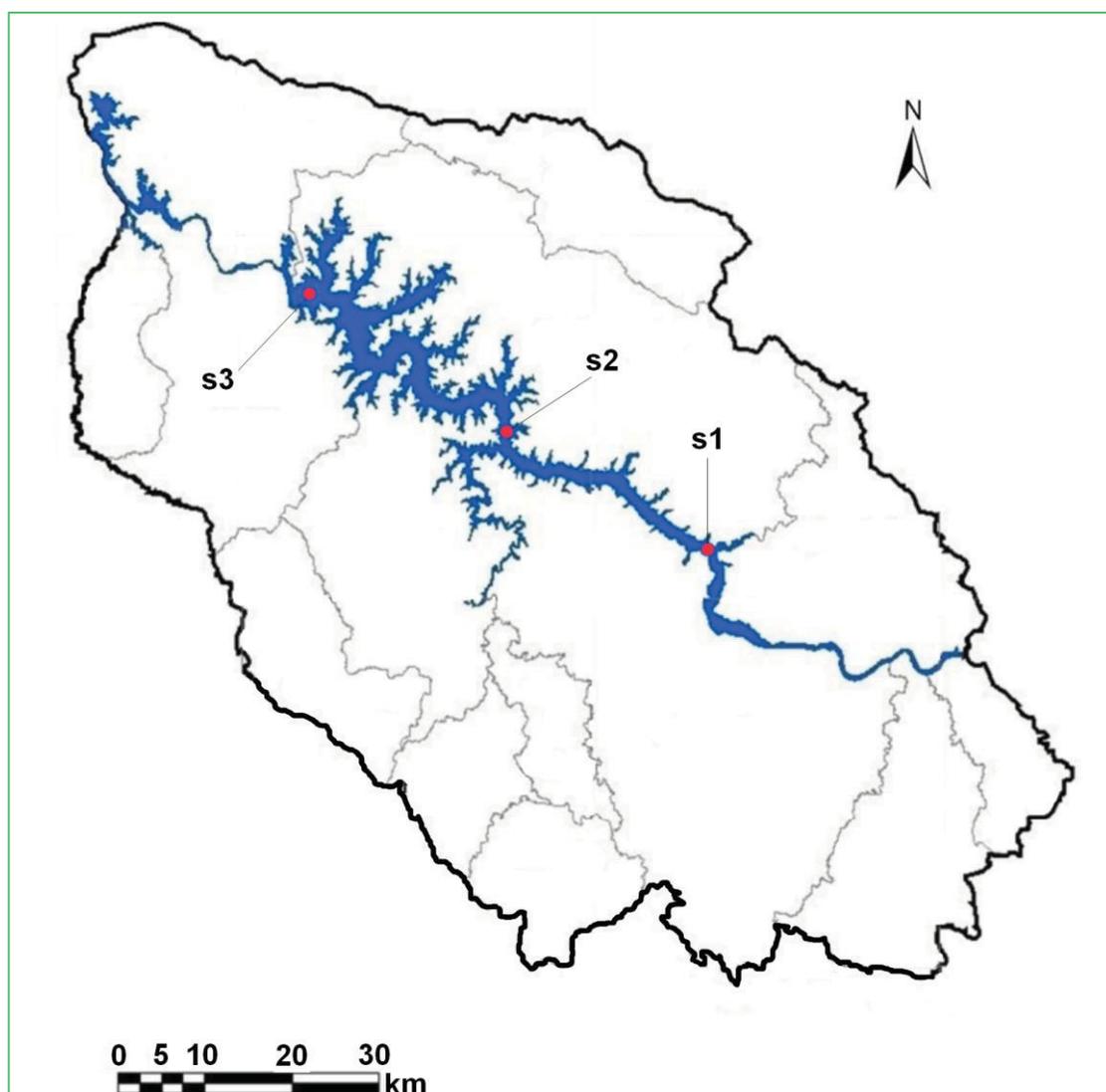


FIGURA 1: Localização dos sítios de coleta na UHE Marechal Mascarenhas de Moraes, Minas Gerais, Brasil.



FIGURA 2: Ilustração da espécie *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (Siluriformes; Pimelodidae). Fonte: Britski et al. (2006).

Spencer A0 820 – 301 com navalha de aço, corados com Hematoxilina-eosina (HE) e observados em microscópio de luz, para quantificação (WEIBEL, 1969; MAYHEW, 1972; HOWARD; REED, 1998).

Através da estereologia, foram quantificadas as alterações morfológicas do tecido branquial, seguindo-se um procedimento hierárquico, desde a preparação das peças até a seleção do corte para análise em microscopia de luz, com a finalidade de garantir a aleatoriedade amostral (HOWARD; REED, 1998).

A classificação das alterações histopatológicas nas brânquias foi realizada segundo a aquela proposta por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994) (Tabela 1)

TABELA 1: Valores dos índices das alterações com os efeitos nos órgãos.

Índices das alterações	Efeitos
0-10	Órgão com funcionamento normal
11-20	Órgão com alterações leves a moderadas
21-50	Órgão com alterações de moderadas a graves
>100	Órgão com danos irreversíveis

Resultado e Discussão

No tecido branquial dos indivíduos de *P. maculatus* coletados em junho, setembro e dezembro de 2008, observou-se alterações como: proliferação de células epiteliais entre lamelas secundárias, tendo, como consequência, a redução da área respiratória; fusão parcial no topo e ao longo das lamelas secundárias; proliferação de células nas lamelas secundárias e dilatação de capilares sanguíneos, provocando espessamento destas estruturas e difícil distinção das células pilares, assim como deslocamento de epitélio e hipertrofia. Com menos intensidade, também foram encontradas aneurismas e fusão total de lamelas (Figura 3).

As alterações foram mais severas nos indivíduos coletados em setembro e dezembro de 2008 do que naqueles coletados em junho de 2008, período no qual os indivíduos apresentaram alterações com intensidade menores, refletindo diferenças no Índice AH.

O índice estimado das alterações nos tecidos branquiais de *P. maculatus* foi classificado como de alteração moderada para grave (Tabela 2). Embora este resultado, moderado para grave, tenha sido constatado nos três pontos do estudo, pode-se observar que houve uma pequena diferença no mês de setembro (Figura 4).

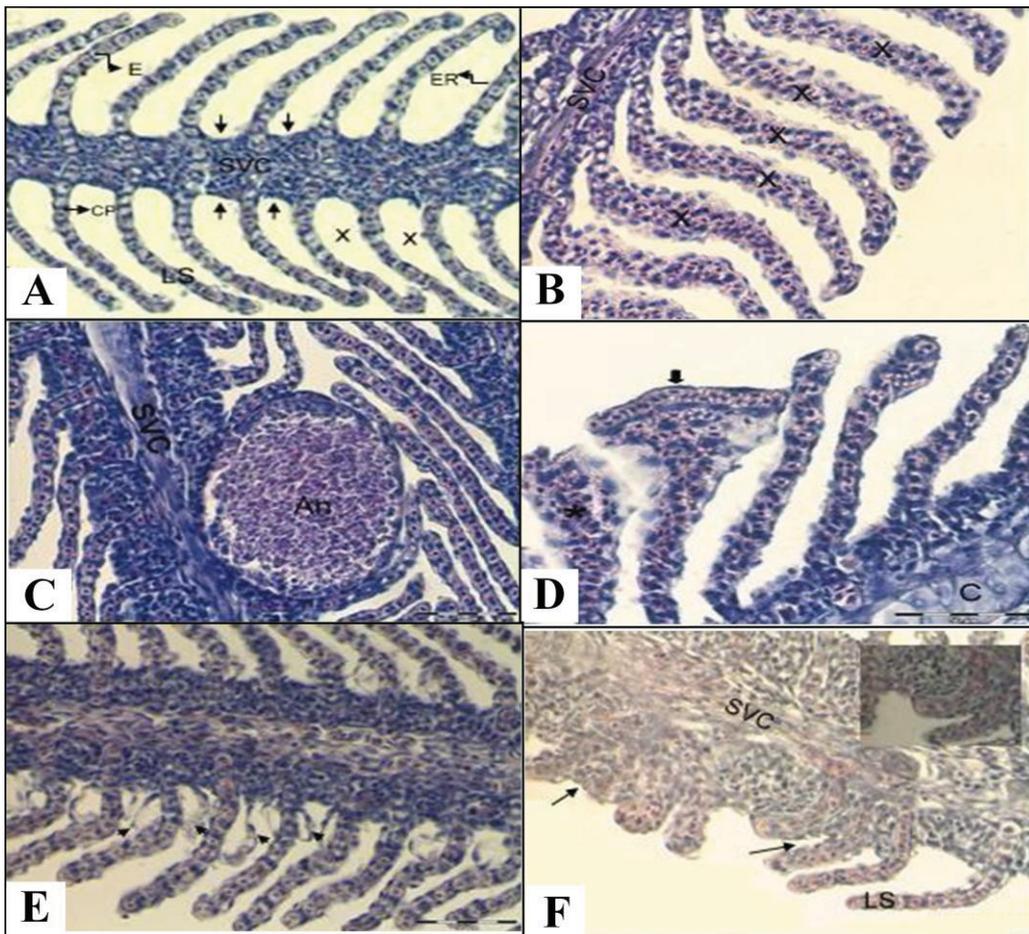


FIGURA 3: **A** – Brânquia de um organismo sem alteração morfológica. Notar os espaços interlamelares bem definidos (x) e o epitélio estratificado (setas); as lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e o epitélio respiratório justaposto nas lamelas secundárias (ER); Seio Venoso Central (SVC); Eritrócito (E) Célula pilar (CP). Coloração: HE. Escala: 100µm. **B** – Corte longitudinal ao filamento branquial. Observar dilatação de capilares sanguíneos causando espessamento das lamelas (x) e desarranjo de células pilares. Detalhe no Seio Venoso Central (SVC). Coloração: HE. Escala: 50µm. **C** – Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos coletados em Dezembro/08. Notar o aneurisma lamelas (An). Coloração: HE. Escala: 50µm. **D** – Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *Pimelodus maculatus* coletados no reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes em Setembro de 2008. Observar Hipertrofia celular (seta). *indica dilatação de capilares; Detalhe: Cartilagem (C); Coloração: HE. Escala: 50µm. **E** – Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *Pimelodus maculatus* coletados no reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes Junho/08. Notar o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas (setas). Coloração: HE. Escala: 50µm. **F** – Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos coletados em dezembro/08. Observar intensa proliferação de células epiteliais na região respiratória e fusão parcial e total de lamelas secundárias (setas). Detalhe: Seio Venoso Central (SVC). Coloração: HE. Escala: 50µm.

No tecido branquial, as alterações mais frequentes neste estudo foram: hiperplasia das células epiteliais na base das lamelas secundárias e ao longo das lamelas; fusão parcial das lamelas secundárias; dilatação de capilares sanguíneos e deslocamento de epitélio. Tais alterações, segundo Poleksic e Mitrovic-Tutundzic

(1994), caracterizam-se por lesões de primário estágio. No presente estudo, a presença de parasitas no tecido branquial também foi considerada como lesão de primeiro estágio. Já a fusão completa de lamelas e aneurismas, como de segundo grau.

TABELA 2: Índice das alterações histológicas nas brânquias da espécie *Pimelodus maculatus* coletados no reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes.

(IAH) Índice de alterações histológicas	
Coleta: Junho/2008	
Localidade	
s1	46,90
s2	26,02
s3	25,14
Coleta: Setembro/2008	
s1	59,60
s2	44,04
s3	64,28
Coleta: Dezembro/2008	
s1	53,32
s2	34,86
s3	30,48

FIGURA 4: Valores de IAH calculados a partir das alterações observadas nas brânquias de *Pimelodus maculatus*.

Segundo Rigolin-Sá (1998), a proliferação do epitélio respiratório, assim como a hiperplasia maciça e fusão lamelar, dentre outras mudanças, é um mecanismo típico de defesa das brânquias, que promovem o aumento da barreira água e sangue. A proliferação epitelial é uma resposta inicial do aparelho branquial. A hiperplasia é uma resposta inicial do aparelho branquial caracterizadas pelo aumento das funções das células e dos tecidos, provocados pela alteração das atividades fisiológicas destes (SMART, 1976). São mecanismos típicos de defesa das brânquias que promovem o aumento da barreira água-sangue reduzindo e, até mesmo, impedindo a passagem da água entre as lamelas secundárias caracterizados pela “fusão das lamelas secundárias”. Esta perda da superfície respiratória pode resultar em morte por anoxia (RAND; PETROCELLI, 1985).

Outra alteração epitelial importante foi o deslocamento epitelial da lamela secundária observado com maior intensidade nos indivíduos coletados em setembro de 2008, constituindo uma das primeiras alterações observadas nas brânquias dos peixes nos caso

de exposição aguda a agentes tóxicos (HEATH, 1987; MULLER; LLOYD 1994), como: óleos, detergentes, amônia, fenóis, ácidos; e metais como: mercúrio, níquel, cádmio, zinco e cobre. Tais alterações também foram observadas por Rigolin-Sá (1998) nas brânquias dos peixes expostos à toxicidade aguda com agrotóxicos.

Nos exemplares que ocorreram a dilatação dos capilares das lamelas secundárias, foi observada, com frequência, congestão vascular. Segundo Meletti et al. (2003), sendo caracterizada pela paralisação do sangue, em razão do pequeno diâmetro desses capilares, que raramente são observados em condições normais, ou seja, com mais de dois eritrócitos ocupando o lúmen.

No presente estudo, o índice estimado das alterações nos tecidos branquiais de *P. maculatus* foi classificado como moderado para grave, ocorrendo modificação branquial. Lupi et al. (2006) classificaram as lesões nas brânquias daqueles exemplares de *Oreochromis niloticus* coletados no córrego Bebedouro-SP em lesões moderadas para grave, sendo que, depois de ocorrida a transferência dos exemplares para água limpa, por 30 dias, as lesões foram reversíveis.

Diversos trabalhos têm demonstrado que as alterações em tecidos branquiais são ferramentas confiáveis e eficientes para detectar e monitorar ambientes que sofrem influência de atividades antrópicas (TRIEBSKORN, 1998; GERNHÖFER et al., 2001; FRACÁCIO et al., 2003), bem como para prever possíveis riscos ambientais (PEAKALL, 1994; ADAMS et al., 2000). Segundo Laurent e Perry (1991), as alterações morfológicas das brânquias, em resposta a mudanças ambientais, podem representar estratégias adaptativas para conservação de algumas funções fisiológicas.

Na avaliação ambiental do reservatório, na qual foram utilizados os tecidos branquiais de *P. maculatus* como biomarcador coletados em junho, setembro e dezembro de 2008, constatou-se apresentação de alterações mais severas nos indivíduos coletados em setembro e dezembro de 2008 em relação aqueles coletados em junho de 2008.

Assim, as lesões histopatológicas observadas indicam que os peixes do presente estudo estão

respondendo aos efeitos de xenobióticos não identificados, presentes na água e no sedimento do reservatório Marechal Mascarenhas de Moraes. Ademais, confirmam a eficácia do uso das brânquias da espécie *P. maculatus* como biomarcador de contaminação ambiental.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro concedido pela FAPEMIG. Além disso, agradecem também a empresa Furnas Centrais Elétricas pelo apoio logístico. Agradecemos, também, Valter Monteiro de Azevedo Santos, pelos comentários emitidos em uma versão anterior deste manuscrito e aos pareceristas anônimos pelas sugestões.

Referencias

- ADAMS, S. M.; GREELEY, M. S.; RYON, M. G. Evaluating effects of contaminants in fish health at multiple levels of biological organization: extrapolating from lower to higher levels. **Human and Ecological Risk Assessment**, Oxfordshire, v. 6, p. 15-27, 2000.
- ALMEIDA, F. S.; SODRÉ, D. E.; CONTEL, E. P. B. Population structure analysis of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Siluriformes) from the Tietê and Paranapanema rivers – Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, p. 301-305, 2003.
- AZEVEDO-SANTOS, V. M.; COSTA-NETO, E. M.; LIMA-STRIPARI, N. Concepção dos pescadores artesanais que utilizam o reservatório de Furnas, Estado de Minas Gerais, acerca dos recursos pesqueiros: um estudo etnoictológico. **Biotemas**, Florianópolis, v. 23, p. 135-145, 2010.
- BASILE-MARTINS, M. A.; CIPÓLLI, M. N.; GODINHO, H. M. Alimentação do mandi, *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Osteichthyes, Pimelodidae), de trechos dos rios Jaguari e Piracicaba, São Paulo-Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 13, p. 17-29, 1986a.
- BASILE-MARTINS, M. A.; GODINHO, H. M.; NARAHARA, M. Y.; FENERICHVERANI, N.; CIPÓLLI, M. N. Estrutura da população e distribuição espacial do mandi, *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Osteichthyes, Pimelodidae), de trechos dos rios Jaguari e Piracicaba, São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 13, p. 169-184, 1986b.
- BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal**: manual de identificação. 2 ed. Brasília: Revista e Ampliada. Embrapa, v. 1, 2006. 230 p.
- CALLISTO, M.; VONO, V.; BARBOSA, F. A. R.; SANTEIRO, S. M. Chironomidae as a food resource for *Leporinus amblyrhynchus* (Teleostei: Characiformes) and *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Siluriformes) in a Brazilian reservoir. **Lundiana**, Belo Horizonte, v. 3, p. 67-73, 2002.
- FOWLER, H. W. Os peixes de água doce do Brasil. **Arquivos de Zoologia**, São Paulo, v. 2, p. 1-400, 1954.
- FRACÁCIO, R.; FENERICH-VERANI, N.; ESPÍNDOLA, E. G.; ROCHA, O.; RIGOLIN-SÁ, O.; ANDRADE, C. A. Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae) exposed to the toxic sediments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, p. 685-695, 2003.
- GODOY, M. P. D. E. **Peixes do Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1987. 572 p.
- GERNHÖFER, M.; PAWERT, M.; SCHRAMM, M.; MÜLLER, E.; TRIEBSKORN, R. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, Amsterdam, v. 8, p. 241-260, 2001.
- HAHN, N. S.; AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; BINI, L. M. Estrutura trófica da ictiofauna do reservatório de Itaipu Paraná-Brasil nos primeiros anos de sua formação. **Interciencia**, Caracas, v. 23, p. 299-305, 1998.
- HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1987. 230 p.
- HOWARD, C. V.; REED, M. G. **Unbiased sterology: three-dimensional measurement in microscopy**. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1998. 246 p.
- LAURENT, P.; PERRY, S. F. Environmental effects on fish gill morphology. **Physiological Zoology**, Chicago, v. 64, p. 4-25, 1991.
- LÓLIS, A. A.; ANDRIAN, I. F. Alimentação de *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, Pimelodidae) na planície de inundação do Alto Rio Paraná, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 23, p. 23-28, 1996.
- LUPI, C.; NHACARINI, N. I.; MAZON, A. F.; RIGOLIN-SÁ, O. Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Fafibe On Line**, Bebedouro, v. 3, p. 1-6, 2007.
- MENIN, E.; MIMURA, O. M. Anatomia da cavidade bucofaringeana de *Pimelodus* sp. (Siluriformes, Pimelodidae). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 38, p. 286-304, 1991.
- MELETTI, P. C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C. B. R. Avaliação da degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Eds). **Limnologia Fluvial**: um estudo no Rio Mogi-Guaçu. Editora RiMa, São Carlos, 2003. p. 149-180.
- MEYERS, T. R.; HENDRICKS, J. D. Histopathology. In: RAND G. M.; PETROCELLI, S. R. (Eds). **Fundamentals of aquatic toxicology**: methods and applications. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1985. p. 283-331.
- MAYHEW, M. T. A comparison of several methods for stereological determination of the number of organelles per unit volume of cytoplasm. **Journal of Microscopy**, Oxford, v. 96, p. 37-44, 1972.
- MULLER, R.; LLOYD, R. **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**. Oxford: Fishing News Books, 1994. 378 p.
- NOGUEIRA, D. J.; CASTRO, S. C.; RIGOLIN-SÁ, O. Avaliação da qualidade da água no reservatório UHE Furnas – MG, utilizando

- as brânquias de *Pimelodus maculatus* (LACÈPÈDE, 1803) como biomarcador de poluição ambiental. **Ciência et Praxis**, Passos, v. 1, p. 15-20, 2008.
- POLEKSIĆ, V.; MITROVIĆ-TUTUNDIZIC, V. Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**. Oxford: Fishing News Books, 1994. p. 339-352.
- PEAKALL, D. B. The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. **Ecotoxicology**, Knoxville, v. 3, p. 157-160, 1994.
- RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. New York: Ed. Washington, Mcgraw Hill, 1985. 666 p.
- RIGOLIN-SÁ, O. **Toxicidade do herbicida Roundup (glifosato) e do acaricida Omite (propargito) nas fases iniciais da ontogenia do bagre, *Rhandia hylarii* (Valenciennes, 1840) (Pimelodidae, Siluriformes)**. 1998. 307 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 1998.
- SAKURAGUI, M. M. **Respostas respiratórias e adaptações fisiológicas de traíra, *Hoplias malabaricus* (Telostei, Eyrhthrinidae) submetidos à hipóxia durante exposição à água deionizada**. 2000. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2000.
- SMART, G. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of Fish Biology**, Maiden, v. 8, p. 471-475, 1976.
- TRIEBSKORN, R.; KÖHLER, H. R.; HONNEM, W.; SCHRAMM, M.; ADAMS, S. M.; MÜLLER, E. F. Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure, and alterations in fish behavior: Are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, Amsterdam, v. 6, p. 57-73, 1998.
- WEIBEL, E. R. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. **International Review of Cytology**, Knoxville, v. 26, p. 235-302, 1969.