

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**TESE**

**Estudo do sistema digestório  
de duas espécies de peixes Siluriformes  
(*Hypostumus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*)  
no reservatório de Funil, RJ**

**Silvana Duarte**

**2007**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**Estudo do sistema digestório  
de duas espécies de peixes Siluriformes  
(*Hypostumus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*)  
no reservatório de Funil, RJ**

**Silvana Duarte**

Sob a Orientação do Professor

**Dr. Francisco Gerson Araújo**

Tese submetida como  
requisito parcial para a obtenção do  
grau de **Doutora em Ciências**. Área  
de Concentração em Biologia  
Animal.

Seropédica, Rio de Janeiro

**Agosto de 2007**

*Duarte, Silvana*

Estudo do sistema digestório de duas espécies de peixes Siluriformes  
(*Hypostumus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*) no reservatório  
de Funil - RJ

Seropédica, Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biológicas, 2007  
Tese de Doutorado.

Orientador:  
Prof. Dr. Francisco Gerson Araújo (IB-UFRRJ)

Instituição:  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (ICE-DQ)

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

*Silvana Duarte*

**Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências, área de Concentração em Biologia Animal, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciências.**

**TESE APROVADA EM .....**

---

**Prof. Dr. Francisco Gerson Araújo (UFRRJ)**  
**(Orientador e Presidente)**

---

**Prof. Dr. Jacques Robert Nicoli (UFMG)**

---

**Prof. Dr. José Dias Correa Junior (UFMG)**

---

**Prof. Dr. Gilmar Santos Bastos (PUC -MG)**

---

**Prof. Miliane Moreira Soares de Souza (UFRRJ)**

---

**Prof. Dr. Armando Sales ( UFRRJ)**

---

**Prof. Dr. Paulo Sherer ( UFRRJ)**

Aos meus pais, Eloi Silvio Duarte e Ana Fausta do Nascimento Duarte, pessoas muito especiais em minha vida. Seres exemplares que têm em seu testemunho de vida, uma formação integrada de fé e postura humanística.

## AGRADECIMENTOS

- ✓ À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade e acolhimento representada pelo Laboratório de Ecologia de Peixes – Instituto de Biologia e alojamento;
- ✓ A Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro pelo financiamento de minha bolsa de pesquisa;
- ✓ A Estação de Hidrologia e Piscicultura de Furnas Centrais Elétricas pelo financiamento das excursões de coleta e reagentes laboratoriais.
  
- ♥ Ao Professor Dr. Francisco Gerson Araújo pela orientação, amizade e ensinamentos indispensáveis em minha formação.
  
- ♥ Ao Sr. Dirceu Ribeiro Marzulo pela credibilidade a minha obstinação e pelo exemplo de integridade e sabedoria
  
- ♥ Ao Professor Dr. Armando Sales que esteve sempre disponível para me auxiliar no delineamento das diversas técnicas histológicas desenvolvidas.
  
- ♥ Ao Professor Dr. Olaf Malm pela afetuosidade em momentos de oscilação durante várias vias experimentais.
  
- ♥ Ao Professor Dr. Marcelo Porto Bemquerer pelo companheirismo a iniciação bioquímica – paciência e bom humor.
  
- ♥ Ao Professor Dr. Jacques Robert Nicoli também pela credibilidade à minha obstinação (2001) – perseverança e profissionalismo.
  
- ♥ Dr. Ricardo Motta Pinto Coelho por delinear os caminhos de financiamento e sugestões de disciplinas para o desenvolvimento do projeto.

↻ Pelo constante ato de amor e reciprocidade das amigas: Clarice Machado, Thatiana Paz Ribeiro e Tathiana Gregio , (IV/UFRRJ), Flávia Silva e Danielle Zouli (Microb/UFMG)

☺ Pelos momentos de fé, acolhimento, carinho e sugestões de pesquisa:

- os professores da UFRRJ: Dra Áurea Echevarria, Pe. Paulo Sérgio Coelho, Dr. Daniel Carvalho, Dr. Mauro Homem, Dr. Paulo Leles, Dr. Roberto Precci, Dra. Edna, Dra. Ana Lúcia, Dra. Nadja, Dr. Rosângela (Embrapa), Dr. Miliane Moreira Soares de Souza, Dr. Paulo Scherer,

- professores da UFMG: Dr. José Dias Corrêa Junior; Dr. Marcelo Marcos Santoro; Dr. Luis Simeão, Dra. Regina Cantini.

☺ Pelo planejamento e execução de coleta e testes laboratoriais, o companheirismo ímpar de: José de Paula – Decka/ Richard Santillan / Márcia Cristina Azevedo (UFRRJ); Paulo César Formagio, Marcos Antonio Evangelista (pai/filho), Maria da Neves, Toninho (pescador) – EHPFurnas; Ilza/Betinho (UFRRJ); Elizabete Pallermo e Ricardinho / Madalena (UFRJ); Jamil / Jaqueline; Gorete/Bernado (UFMG).

👤 Todos os colegas de laboratório, cuja disponibilidade me auxiliaram bastante (infelizmente não vou citar nomes - mais de vinte e cinco). Estas pessoas, retrataram no despojamento e respeitabilidade, um importante passo de seu laboratório à formação da cidadania científica.

👤 A todas (os) colegas do alojamento, especialmente as companheiras de quarto por 7 anos (mestrado/doutorado) convivendo e trabalhando em função da responsabilidade social: Ana Luci Caproni (MG); Aimê (Congo-África) Elzinha (SP), Sandra (PB), Maria Antonieta (Guatemala), Conceição (SP), Alessandra (SP), Celita (SP), Adailde (BA), Nilza (RJ). Atualmente Ana Luiza Carvalho (MG), Ariane (RJ), Cléa (RJ). Patrícia Maria Lima (Pi), Silvana Batista (Ma), Simone (Ma); Companheiras de República de Belo Horizonte - MG, Pollyana Amaral Viana (MG) Patrícia Maria d´Almeida Lima.



Às todas experiências de vida nas estações, rodoviárias, portos - os companheiros anônimos de viagem - que compartilharam suas metas com o intuito de beneficiar o maior número de pessoas possível, ou simplesmente, serem úteis.

Deus é o anfitrião da Mesa.

Num dado momento de sua passagem pela Terra Ele faz  
um breve comentário sobre a digestão...

*“...tudo que entra no homem não o pode tornar impuro,  
porque não lhe entra no coração, mas vai ao  
ventre e dali segue sua lei natural”*

(Discussão com os fariseus – **Mc 7, 18-19**)



## RESUMO

DUARTE, Silvana. **Estudo do sistema digestório de duas espécies de peixes Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*) no reservatório da UHE de Funil, RJ. 2007, f 220.** Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

O presente trabalho visa apresentar um estudo multidisciplinar, focado na conservação ambiental de reservatórios. Foram feitas coletas trimestrais sistemáticas de peixes entre 2003 e 2004 no reservatório da UHE Funil para captura de duas espécies de Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*), peixes adaptados ao fundo para estudos da ocorrência e correlação com fatores ambientais (espaciais e sazonais). Adicionalmente o sistema digestório das espécies foi descrito utilizando técnicas histológicas, foi determinada e quantificadas as análises de atividade enzimática e microbiota em várias partes do sistema digestório (fígado, estômago, intestino). Também foram feitas análises de metais pesados no músculo e no fígado das duas espécies. Estas abordagens visam comparar os peixes entre os ambientes do reservatório e do rio, bem como variações sazonais associadas a gradientes ambientais. Não foi encontrado um padrão definido que caracterizasse uma melhoria na qualidade ambiental a jusante do reservatório, portanto a hipótese de que Funil funciona com decantador de poluentes trazidos pelo rio Paraíba do Sul não foi confirmada através destas duas espécies de peixes estudadas.

## ABSTRACT

DUARTE, Silvana. 220 f. **Estudy of digestive trate of two Siluriformes in UHE of the Funil reservoir and Paraíba do Sul river (jusant´reservoir).** Thesis (Doctorate in Animal Biology, Biological Sciences) - Institute of Biology, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

The present work is a multidisciplinary study, focusing on the reservoir environmental conservation. Quarterly fish sampling were performed between 2003 and 2004 in Funil reservoir for collecting two fish species of Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* and *Pimelodus maculatus*), species bottom dwelling, for assessing occurrence and relationship with environmental variables (spatial and seasonal) Additionally, the digestive systems of the two species were described by histological techniques, and analyses of enzymatic activities and microbiota in sections of digestive tract (liver, stomach, intestine), were performed. Metal concentrations were determined in muscles and liver of the two species. Those approaches aim to compare fishes between the reservoir and the river (downstream the dam) and seasonal variation associated to environmental gradients. The hypothesis of “filter” of pollutants attributed to reservoirs was not corroborated for the Funil reservoir for the pollutants brought into by the Paraíba do Sul river.

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Introdução Geral.....</b>   | <b>18</b> |
| Figura 1. Bacia do rio Paraíba do Sul, com indicações dos reservatórios de Funil-RJ e Santa Branca-SP .....  | 20        |
| Figura 2. Reservatório de Funil, com indicação das quatro zonas estudadas: Z1 (FL20) = montante do reservatório; Z2 (FL30) =zonas intermediárias; Z3 (FL40) = zona baixa (remanso); Z4 (FL 40) = Trecho de rio à jusante da barragem.....          | 23        |
| Figura 3. Área de estudo – reservatório da UHE do Funil – RJ.....  | 24        |
| Figura 4. Variação mensal de 4 fatores ambientais do reservatório da UHE Funil em 2003/2004: a) nível da água; b) Pluviosidade .Fonte: SIMERJ; c) Temperatura do ar . Fonte: SIMERJ; d) Tempo de retenção da água do reservatório. Fonte: ANA..... | 26        |
| <b>Capítulo I. Ocorrência e distribuição de dois peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>32</b> |
| Figura 5. Média de temperatura da água do reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta no período 2003/2004. Barras representando +/- 1 erro padrão.....   | 41        |
| Figura 6. Média de transparência da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta no período 2003/2004.....   | 41        |
| Figura 7. Média do oxigênio dissolvido da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta no período 2003/2004. Barras representando +/- 1 erro padrão.....   | 42        |
| Figura 8. Média da Amônia e Nitrogênio Kjeldhal da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.....   | 43        |
| Figura 9. Média do Fósforo total e Ortofosfato da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.....  | 44        |
| Figura 10. Média do Nitrato e Nitrito da água no reservatório da UHE do Funil do por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.....  | 45        |

|   |    |
|---|----|
| Figura 11. Média do Silicato na água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004.....   | 46 |
| Figura 12. Média da condutividade e pH da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.....   | 47 |
| Figura 13. Média da Clorofila a da água do reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004.....  | 47 |
| Figura 14. Média dos sólidos inorgânico e orgânico em suspensão da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada Eufótica e Afótica, no período 2003/2004.....  | 48 |
| Figura 15. Média dos Sólidos totais em suspensão da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada Eufótica e Afótica, no período 2003/2004.....   | 49 |
| Figura 16. Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona eufótica, codificadas pelas estações do ano, no período de 2003/2004. (V – Verão, I – Inverno, O – Outono, P – Primavera)..... | 51 |
| Figura 17. Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona eufótica, codificadas pelas zonas de coleta, no período de 2003/2004. (Z1 – zona 1, Z2- Zona 2, Z3- Zona 3).....               | 51 |
| Figura 18. Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona afótica, codificadas pelo nível do reservatório, no período de 2003/2004.....  | 53 |
| Figura 19. Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona Afótica, codificadas pelas zonas de coleta, no período de 2000/2004.....   | 53 |
| Figura 20. Média do número e peso de <i>Hypostomus auroguttatus</i> no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004.....  | 55 |
| Figura 21. Média do número e peso de <i>Pimelodus maculatus</i> no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004.....  | 56 |
| Figura 22. Número de indivíduos por amostra de <i>Hypostomus auroguttatus</i> nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.....  | 57 |

|  |            |
|--|------------|
| Figura 23. Número de indivíduos por amostra de <i>Pimelodus maculatus</i> nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.....   | 57         |
| Figura 24. Peso de indivíduos por amostra de <i>Hypostomus auroguttatus</i> nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.....   | 58         |
| Figura 25. Peso de indivíduos por amostra de <i>Pimelodus maculatus</i> nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.....   | 58         |
| <b>Capítulo II. Histologia do sistema digestório de duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>66</b>  |
| Figura 26. Anatomia do sistema digestório de <i>Hypostomus auroguttatus</i> Kner, 1854.....  | 73         |
| Figura 27. Fotomicrografia do Esôfago, Estômago, Intestino de <i>Hypostomus auroguttatus</i> Kner, 1854.....   | 77         |
| Figura 28. Fotomicrografia do fígado e pâncreas de <i>Hypostomus auroguttatus</i> Kner, 1854.....  | 79         |
| Figura 29. Anatomia do sistema digestório <i>Pimelodus maculatus</i> Lacèpède, 1803....  | 82         |
| Figura 30. Fotomicrografia do esôfago, estômago e intestino de <i>Pimelodus maculatus</i> Lacèpède, 1803.....  | 85         |
| Figura 31. Fotomicrografia do fígado de <i>Pimelodus maculatus</i> La Cèpède, 1803.....  | 88         |
| Figura 32. Fotomicrografia do pâncreas compacto de <i>Pimelodus maculatus</i> La Cèpède, 1803.....   | 91         |
| <b>Capítulo III. Atividade enzimática em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório de Funil – RJ.....</b>   | <b>107</b> |
| Figura 33. Preparação das alíquotas de conteúdo orgânico referente a estômago, intestino e fígado de <i>Hypostomus auroguttatus</i> e <i>Pimelodus maculatus</i> do reservatório da UHE de Funil 2004.....                                   | 115        |
| Figura 34. Atividade enzimática de tripsina (A), quimotripsina (B) e glicosidase (C) no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) de <i>Hypostomus auroguttatus</i> no reservatório de Funil durante as estações do ano de 2004..... | 118        |
| Figura 35. Atividade enzimática de tripsina (A) quimotripsina (B) e glicosidase (C) no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) de <i>Pimelodus</i>   |            |

|                     |  |            |
|---------------------|--|------------|
|                     | <i>maculatus</i> no reservatório de Funil durante as estações do ano de 2004.....  | 121        |
| Figura 36.          | Atividade enzimática no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) em <i>Pimelodus maculatus</i> no reservatório da UHE Funil no Inverno 2006.....  | 124        |
| Figura 37.          | Atividade enzimática no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) de <i>Pimelodus maculatus</i> nos reservatórios da UHE de Santa Branca (não alterado) e do Funil (alterado) no Inverno 2006.....   | 125        |
| <b>Capítulo IV.</b> | <b>Influência do ambiente e do regime alimentar na microbiota indígena de duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>136</b> |
| Figura 38.          | Etapas da análise qualitativa e quantitativa da microbiota indígena: (a) plaqueamento das diluições em meios de cultura universais e seletivos; (b) incubação em aerobiose e anaerobiose; (c) enumeração; (d) obtenção de colônias isoladas e (e) isolamento (f) contagem de colônias e (g) identificação inicial com kit API..... | 145        |
| Figura 39.          | Fotomicrografia de colônias (seta hachurada) de bactérias gram negativas do tipo bastonete (↓) de <i>Pimelodus maculatus</i> (detalhe) .....   | 156        |
| Figura 40.          | Fotomicrografia de colônias (seta hachurada) de bactérias gram negativas do tipo bastonete (↓) e bacilo (seta branca) de <i>Hypostomus auroguttatus</i> (detalhe cima).....  | 157        |
| <b>Capítulo V.</b>  | <b>Análise de metais em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>168</b> |
| Figura 40.          | Análise de metais (cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco) em músculos de <i>Pimelodus maculatus</i> e <i>Hypostomus auroguttatus</i> na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil – RJ.....  | 177        |
| Figura 41.          | Análise de mercúrio em músculos de <i>Hypostomus auroguttatus</i> (A) e <i>Pimelodus maculatus</i> (B) na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil – RJ.....  | 180        |
| Figura 42.          | Análise de metais (cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel, zinco) em fígado de <i>Pimelodus maculatus</i> e <i>Hypostomus auroguttatus</i> na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil – RJ.....   | 183        |
| Figura 43.          | Análise de mercúrio em fígado de <i>Pimelodus maculatus</i> (A) e <i>Hypostomus auroguttatus</i> (B) e na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil – RJ.....  | 183        |

## ÍNDICE DE TABELAS

|   |            |
|---|------------|
| <b>Introdução Geral .....</b>   | <b>18</b>  |
| Tabela 1. Número de peixes examinados de cada espécie em cada uma das abordagens e respectivas etapas prévias às análises. Comprimento Total - CT = (máximo-mínimo).....  | 21         |
| Tabela 2. Informações físicas do reservatório da UHE de Funil – RJ.....   | 24         |
| <b>Capítulo I. Ocorrência e distribuição de dois peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>  | <b>32</b>  |
| Tabela 3. Resultado do teste não paramétrico Kruskal-Wallis (H) e teste “a posteriori” de Mann-Whitney (U) para comparação das variáveis ambientais entre as zonas e os períodos do ano no reservatório da UHE do Funil, no período de 2003/04. n.s. = não significativa; ** altamente significativa (p<0,01);* significativa (p<0,05). Zona eufótica (EU); zona afótica (AFO)..... | 40         |
| Tabela.4. Pesos dos Componentes principais das variáveis ambientais da zona Eufótica no reservatório da UHE do Funil nos 2 primeiros eixos, no período de 2003/2004. Valores altamente significantes em negrito.....  | 50         |
| Tabela 5. Pesos dos Componentes principais das variáveis ambientais da zona Afótica no reservatório da UHE do Funil nos 2 primeiros eixos, no período de 2003/2004. Valores altamente significantes em negrito. ....  | 52         |
| Tabela 6. Valor comparativo total e percentual (número/peso) da ictiofauna no reservatório da UHE do Funil em relação aos dois Siluriformes nas zonas de coleta.....  | 54         |
| Tabela 7. Resultado do teste não paramétrico Kruskal-Wallis (H) e teste “a posteriori” de Mann-Whitney (U) para comparação das duas espécies peixes entre as zonas e as estações do ano no reservatório da UHE do Funil, no período de 2003/04. n.s. = não significativa; ** altamente significativa (p<0,01); * significativa (p<0,05).....  | 53         |
| <b>Capítulo III Atividade enzimática em duas espécie de peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>107</b> |
| Tabela 8 Diferenças significativas entre três atividades enzimáticas – tripsina, quimotripsina e glicosidase – do sistema digestório de <i>Hypostomus auroguttatus</i> em relação às zonas e estações do ano em 2004 no reservatório da UHE do Funil, RJ.....   | 119        |

|                     |  |            |
|---------------------|--|------------|
| Tabela 9            | Diferenças significativas entre três atividades enzimáticas – tripsina, quimotripsina e glicosidase – do sistema digestório de <i>Pimelodus maculatus</i> em relação as zonas e estações do ano em 2004 no reservatório da UHE do Funil –RJ..... | 122        |
| Tabela 10.          | Diferenças significativas das três atividades enzimáticas – tripsina, quimotripsina e glicosidase – entre espécies e segmentos do sistema digestório dos dois Siluriformes em 2004 no reservatório da UHE do Funil – RJ.....                     | 123        |
| Tabela 11.          | Atividades enzimáticas (tripsina, quimotripsina e glicosidase) no sistema digestório de <i>P. maculatus</i> no reservatório alterado (reservatório da UHE do Funil - RJ) e não alterado.....   | 126        |
| <b>Capítulo IV.</b> | <b>Influência do ambiente e do regime alimentar na microbiota indígena de duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>134</b> |
| Tabela 12.          | Meios e condições de cultura para a análise qualitativa e quantitativa do conteúdo intestinal de <i>Hypostomus auroguttatus</i> e <i>Pimelodus maculatus</i> .....   | 146        |
| Tabela 13.          | Nível populacional (Média ± desvio padrão do log <sub>10</sub> ufc/g) dos microorganismos no intestino de <i>Hypostomus auroguttatus</i> e <i>Pimelodus maculatus</i> no reservatório da UHE do Funil e a sua jusante RJ.....                    | 148        |
| Tabela 14.          | Número de morfotipos (Média ± desvio padrão) dos microorganismos no intestino de <i>Hypostomus auroguttatus</i> e <i>Pimelodus maculatus</i> no reservatório da UHE do Funil e a sua jusante – RJ.....   | 149        |
| Tabela 15.          | Análise estatística (ANOVA) dos valores de número de morfotipos e níveis populacionais microbianos no intestino de <i>Hypostomus auroguttatus</i> .....  | 150        |
| Tabela 16.          | Análise estatística (ANOVA) dos valores de número de morfotipos e níveis populacionais microbianos no intestino de <i>Pimelodus maculatus</i> .....  | 151        |
| Tabela 17.          | Nível populacional (Média ± desvio padrão do log <sub>10</sub> ufc/g) dos microorganismos no intestino de <i>Pimelodus maculatus</i> nos reservatórios da UHE do Funil - RJ e da UHE Santa Branca - SP.....                                      | 153        |
| Tabela 18.          | Número de morfotipos (Média ± desvio padrão) dos microorganismos no intestino <i>Pimelodus maculatus</i> nos reservatórios da UHE do Funil – RJ e da UHE de Santa Branca - SP.....   | 154        |
| Tabela 19.          | Análise estatística (ANOVA) dos valores de número de morfotipos e níveis populacionais microbianos no intestino de <i>Pimelodus maculatus</i> nos reservatórios da UHE do Funil – RJ e da UHE de Santa Branca – SP.....                          | 155        |
| Tabela 20.          | Lista parcial das espécies identificadas de bactérias aeróbias facultativas e anaeróbias estritas no intestino de <i>Hypostomus auroguttatus</i> e <i>Pimelodus</i>  |            |

|  |            |
|--|------------|
| <i>maculatus</i> respectivamente.....  | 158        |
| Tabela 21. Identificação das bactérias de <i>Pimelodus maculatus</i> dos dois ambientes, não alterado (reservatório da UHE de Santa Branca – SP) e alterado (reservatório da UHE do Funil – RJ) durante a estação de inverno de 2006..       | 159        |
| <b>Capítulo V. Análise de metais em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório da UHE do Funil – RJ.....</b>   | <b>168</b> |
| Tabela 22. Número de amostras de tecido muscular examinados de <i>H. auroguttatus</i> e <i>P. maculatus</i> analisadas quanto a presença de metais pesados.....  | 175        |
| Tabela 23. Comparação dos níveis de metais pesados no tecido muscular das espécies. Os valores em negritos destacam as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....   | 176        |
| Tabela 24. Valores de F e significância para comparações da concentração de metais pesados no músculo entre ambientes e estações do ano para as duas espécies de peixes. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ )      | 179        |
| Tabela 25. Número de amostras do tecido hepático examinadas em <i>H. auroguttatus</i> e <i>P. maculatus</i> para análise de metais pesados.....  | 181        |
| Tabela 26. Comparação dos níveis de metais pesados no tecido hepático entre as espécies. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....   | 182        |
| Tabela 27. Valores de F e significância para comparações da concentração de metais pesados no fígado entre os ambientes e as estações do ano para as duas espécies de peixes. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) | 184        |
| Tabela 28. Valores de F e significância para comparações da concentração de metais pesados entre o fígado e o músculo das duas espécies de peixes. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....                       | 185        |

## SUMÁRIO

|                              |           |
|------------------------------|-----------|
| <b>Introdução Geral.....</b> | <b>18</b> |
| <b>Capítulo I.....</b>       | <b>32</b> |
| Resumo.....                  | 33        |
| Abstract.....                | 34        |
| Introdução.....              | 35        |
| Objetivos.....               | 37        |
| Material e Métodos.....      | 37        |
| Resultados.....              | 39        |
| Discussão.....               | 59        |



|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| Referências Bibliográficas.....   | 63  |
| <b>Capítulo II</b> .....          | 66  |
| Resumo.....                       | 67  |
| Abstract.....                     | 67  |
| Introdução.....                   | 68  |
| Objetivos.....                    | 70  |
| Material e Métodos.....           | 70  |
| Resultados.....                   | 71  |
| Discussão.....                    | 127 |
| Referências Bibliográficas.....   | 131 |
| <b>Capítulo III</b> .....         | 134 |
| Resumo.....                       | 135 |
| Abstract.....                     | 136 |
| Introdução.....                   | 137 |
| Objetivos.....                    | 142 |
| Material e Métodos.....           | 143 |
| Resultados.....                   | 144 |
| Discussão.....                    | 127 |
| Referências Bibliográficas.....   | 131 |
| <b>Capítulo IV</b> .....          | 134 |
| Resumo.....                       | 135 |
| Abstract.....                     | 136 |
| Introdução.....                   | 137 |
| Objetivos.....                    | 142 |
| Material e Métodos.....           | 143 |
| Resultados.....                   | 144 |
| Discussão.....                    | 160 |
| Referências Bibliográficas.....   | 164 |
| <b>Capítulo V</b> .....           | 168 |
| Resumo.....                       | 169 |
| Abstract.....                     | 170 |
| Introdução.....                   | 171 |
| Objetivos.....                    | 173 |
| Material e Métodos.....           | 174 |
| Resultados.....                   | 174 |
| Discussão.....                    | 186 |
| Referências Bibliográficas.....   | 189 |
| <b>Considerações Finais</b> ..... | 190 |
| <b>ANEXOS</b> .....               | 192 |

## 1 - INTRODUÇÃO GERAL

### 1. Descrição dos ambientes estudados e hipóteses levantadas

A área de estudo corresponde a bacia do rio Paraíba do Sul. O reservatório Funil (22°30S, 44°45W, altitude 440 m), é formado pelo barramento do rio Paraíba do Sul no limite entre o trecho médio superior e médio inferior, bem como pelo trecho do rio imediatamente à jusante da barragem. As amostragens e análises se realizam trimestralmente entre abril (outono) de 2003 e dezembro (verão) de 2004. Procurou-se avaliar a qualidade ambiental através de estudo de dois peixes Siluriformes (o cascudo - *Hypostomus auroguttatus* Kner, 1854 e o mandi - *Pimelodus maculatus* La Cépède, 1803) entre o ambiente do reservatório da Funil e o trecho do rio à jusante do reservatório. A hipótese a ser testada foi que o reservatório contribui para melhorar a qualidade da água do rio Paraíba do Sul, através do processo de decantação do material em suspensão trazido pelo rio, e que à jusante do mesmo, o ambiente seria de melhor qualidade. Este efeito de “filtro” tem sido atribuído a muitos reservatórios, embora existam outros fatores, tais como procedimentos de manutenção das usinas, que podem contribuir para a não existência desta “função” dos reservatórios.

A sazonalidade, que é outro importante fator de variação na qualidade ambiental dos reservatórios e rios também foi testada, uma vez que a variabilidade das condições ambientais resulta em diferenças significativas nas condições de habitat e físico-químicas que por sua vez, influenciam a biota. No Sudeste do Brasil, os pulsos sazonais nos sistemas lênticos e lóticos são ditados pelo regime de maior pluviosidade no verão, e de escassez de chuvas no inverno. Associados a estas variações do fluxo dos rios, que são proporcionais às suas bacias de drenagens, existem as cotas (níveis de água) dos reservatórios, que são ditados pelas operações das usinas, e que não coincidem com os pulsos sazonais de pluviosidade, uma vez que os reservatórios são deplecionados ao máximo no período da primavera, justamente antes do período do início das chuvas. Sendo assim, as maiores cotas normalmente são registradas no outono, e as menores na primavera. Este é outro fator a ser considerado em relação à variação sazonal, uma vez que os maiores níveis dos reservatórios correspondem à maior capacidade de diluição do ambiente e maiores

diversidade de habitat, uma vez que a vegetação marginal da zona litorânea pode ser parcialmente inundada, aumentando a oferta de abrigo e alimento.

Adicionalmente, comparou-se uma das espécies (*P. maculatus*) em um reservatório no trecho superior do rio Paraíba do Sul (reservatório de Santa Branca), onde o uso da terra e a inexistência de grandes cidades ao longo do rio, resultou em “melhor qualidade ambiental” neste ambiente oligotrófico, quando comparado com o eutrófico reservatório Funil, no inverno de 2006. A comparação entre o reservatório oligotrófico e de melhor qualidade ambiental (Santa Branca), com o reservatório eutrófico e de mais baixa qualidade ambiental (Funil), permitiu que comparações fossem feitas, desta vez dispondo-se de um “controle”. O controle foi feito através da comparação entre o reservatório oligotrófico e de melhor qualidade ambiental (Santa Branca), com o reservatório eutrófico e de mais baixa qualidade ambiental (Funil).

Os distintos hábitos alimentares das duas espécies estudadas foram explorados. O cascudo (*H. auroguttatus*) é uma espécie residente e de movimentos limitados, que apresenta hábito alimentar iliófago, utilizando principalmente algas epilíticas e matéria orgânica de origem vegetal, o que é refletido no seu longo intestino, um dos maiores entre todos os teleósteos. Por outro lado, o mandi (*Pimelodus maculatus*) é uma espécie com capacidade de realizar movimentos sazonais, especialmente no período reprodutivo, e apresenta hábitos onívoros, se alimentando de ambos material vegetal e animal, com tendência à carnivoría.

No escopo destas diferentes configurações, utilizou-se como parâmetros para comparações das diferentes hipóteses testadas, a distribuição das espécies ao longo do gradiente ambiental (espacial e sazonal), a relação dos peixes com condicionantes ambientais, a descrição do sistema digestório, atividades enzimáticas, a microbiota, e concentrações de metais nas duas espécies (Tabela 1). Esta abordagem multidisciplinar permitiu que as espécies fossem avaliadas e comparadas as duas espécies sob vários ângulos do conhecimento biológico, tendo como referência o uso das mesmas como avaliadores de qualidade ambiental.

As abordagens específicas encontram-se em cada um dos Capítulos que seguem especificados:

**Capítulo I** – Ocorrência e distribuição de dois Siluriformes no reservatório e Funil e rio Paraíba do Sul a jusante da represa

**Capítulo II** – Anatomo-histologia do sistema digestório de dois peixes Siluriformes no reservatório de Funil - RJ

**Capítulo III** – Atividade enzimática em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório de Funil, RJ

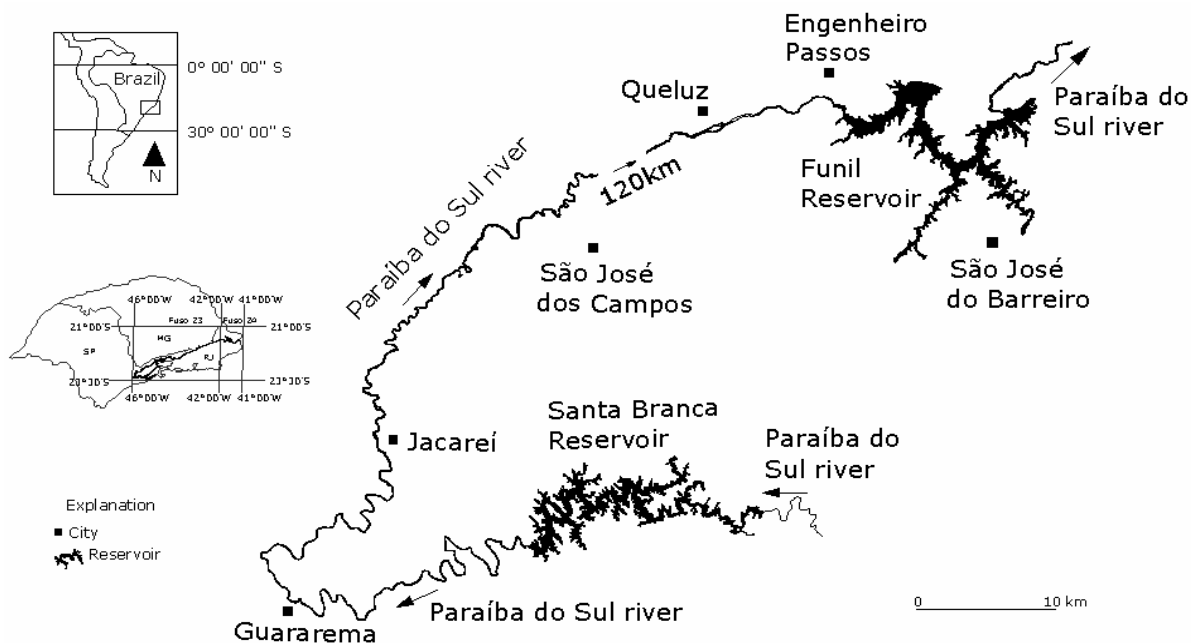
**Capítulo IV** – Influência do ambiente e do regime alimentar na microbiota indígena intestinal de duas espécies de peixes Siluriformes

**Capítulo V** – Análise de metal pesado em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório de Funil, RJ.

## 1.2. O rio Paraíba do Sul

### 1.2.1. Características gerais da bacia do Rio Paraíba do Sul

O Rio Paraíba do Sul nasce na Serra da Bocaina, no Estado de São Paulo, a 1.800m de altitude, e deságua no norte fluminense, no município de São João da Barra, percorrendo uma extensão aproximada de 1.150km. A bacia do rio Paraíba do Sul possui área de drenagem com cerca de 55.500 km<sup>2</sup>, compreendida entre os paralelos 20°26' e 23°00' 25 Norte e os meridianos 41°00'e 46°30' Oeste. A bacia estende-se pelos estados de São Paulo (13.900 km<sup>2</sup>), Rio de Janeiro (20.900 km<sup>2</sup>) e Minas Gerais



**Figura 1.** Bacia do rio Paraíba do Sul, com indicações dos reservatórios de Funil-RJ e Santa Branca-SP.

**Tabela 1.** Número de peixes examinados de cada espécie em cada uma das abordagens e respectivas etapas prévias às análises. Comprimento Total - CT = (mínimo-máximo)

| ESPÉCIE                | Universidade/laboratório  | Análise   | Quantificação (n) | Órgão  | Dissecção (Mecanismo)   |
|------------------------|---|---|-------------------|--|---|
| <i>H. auroguttatus</i> | UFRRJ – Laboratório de Ecologia de Peixe                        | Ocorrência e distribuição das espécies nos sistemas                   | 190               | Biometria do animal em análise (Ct=34-230mm) | Biometria do animal em análise e fixação em conservante <sup>1</sup>  |
| <i>P. maculatus</i>    |   |   | 406               |  |   |
| <i>H. auroguttatus</i> | UFRRJ – Laboratório de Histologia e Embriologia Animal          | Descrição anatômica e histologia utilizando coloração HE <sup>2</sup> | 37                | Esôfago<br>Estômago<br>Intestino<br>Fígado   | Dissecção imediatamente no campo, fixando em Bouin  |
| <i>P. maculatus</i>    |   |   | 53                |  |   |
| <i>H. auroguttatus</i> | UFRJ – Laboratório de Radioisótopos e Biofísica Penna Franca    | Concentração de Hg e Metais pesados <sup>3</sup>                      | 143               | Fígado e Músculo                             | Dissecados imediatamente. Conservado em - 4° C podendo ficar por até 1 ano.   |
| <i>P. maculatus</i>    |   |   | 154               |  |   |
| <i>H. auroguttatus</i> | UFMG – Laboratório de Enzimologia e Físico Química de Proteínas | Atividade enzimática (tripsina, quimotripsina e glicosidase).         | 51                | Estômago<br>Intestino<br>Fígado              | Transportados vivos (campo – laboratório) e dissecados imediatamente; aliquotados e conservados a -80°C.                              |
| <i>P. maculatus</i>    |   |   | 49                |  |   |
| <i>H. auroguttatus</i> | UFMG – Laboratório de Ecofisiologia de Microrganismos           | Descrição da microbiota indígena                                      | 30                | Região posterior do intestino                | Transportados vivos (campo – laboratório) e dissecados imediatamente; aliquotados e conservados - 80°C(anaeróbios)/ - 4° C (aeróbios) |
| <i>P. maculatus</i>    |   |   | 28                |  |   |

1 – fixados em formol 10% por 48 horas e posteriormente fixado em álcool 70%

2 – coloração de hematoxilina e eosina

3 –mercúrio total e Metais pesados (cromo, cobre, zinco, chumbo, níquel, manganês )

(20.700 km<sup>2</sup>), percorrendo 39 municípios no Estado de São Paulo, 53 no Rio de Janeiro e 88 em Minas Gerais. Em São Paulo, os 39 municípios estão distribuídos por cinco regiões: a Região Metropolitana de São Paulo, e os municípios de Cruzeiro, Guaratinguetá, São José dos Campos e Taubaté (Figura. 1). Neste trecho, encontram-se instaladas indústrias de grande porte ligadas a atividades metalúrgicas, alimentícias, petroquímicas (KLAPPER,1998), onde se observa a existência de 2.083 estabelecimentos industriais que obedecem à seguinte distribuição por “região”, excluindo-se a Região Metropolitana de São Paulo: São José dos Campos (48%), Taubaté (27%), Guaratinguetá (18%) e Cruzeiro (7%). No que se refere ao setor agropecuário, observa-se a existência de 2.109 estabelecimentos distribuídos nas seguintes Municípios: Guaratinguetá (45%), São José dos Campos (31%), Taubaté (19%) e Cruzeiro (5%), onde destacam-se os setores de produção como a lavoura e a pecuária (AGEVAP, 2007). Como consequência da poluição das águas do rio Paraíba do Sul, o reservatório de Funil apresenta condições adversas em relação aos diversos usos da água (FEEMA, 2007)

### **1.2.2. Características climáticas**

Em geral, a Região Sudeste caracteriza-se devido ao posicionamento latitudinal, como uma região de transição entre os climas quentes de latitudes baixas e os climas mesotérmicos, do tipo temperado das latitudes médias (MARENGO *et al.*, 2001). A precipitação distribui-se uniformemente com a média anual acumulada variando em torno de 1500 e 2000 mm. O trimestre mais seco (junho-julho-agosto) ocorrendo de forma bastante uniforme em toda a região. O trimestre mais chuvoso (dezembro-janeiro-fevereiro) também ocorre de forma bastante uniforme, exceto na parte leste, que apresenta o máximo de precipitação aproximadamente 1 mês antes.

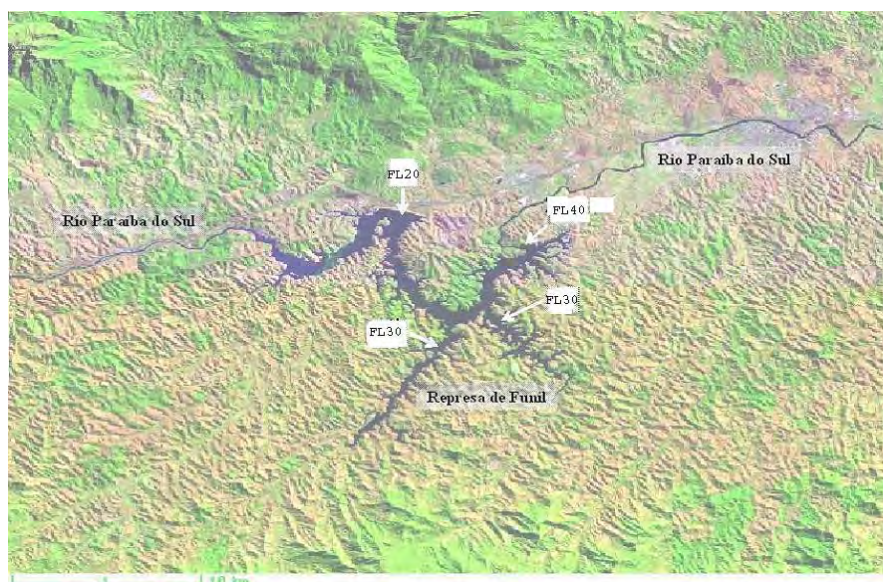
A bacia do rio Paraíba do Sul apresenta clima subtropical quente com temperatura média anual que oscilando entre 18°C e 24°C. As mais altas temperaturas ocorrem na região de Itaperuna, na bacia do rio Muriaé, com média das máximas situada em torno de 32°C. Os maiores índices pluviométricos ocorrem no trecho paulista da serra do Mar (Trecho Superior e Médio-Superior), nas regiões do maciço do Itatiaia e seus contrafortes e na serra dos Órgãos, trecho da serra do Mar que acompanha a Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, onde a precipitação anual chega a ultrapassar

2.000 mm. Nestas três regiões de altitudes elevadas, a média das temperaturas mínimas chega a menos de 10°C. O período de verão é caracterizado como chuvoso com precipitação acumulada entre 200 e 250 mm/mês, nos meses com máxima precipitação (dezembro e janeiro), enquanto que no inverno, o período mais seco o intervalo entre os meses de maio a julho, com precipitação acumulada inferior a 50 mm/mês (MARENGO & ALVES, 2005). O trecho Médio Superior apresenta extensão de 300 km, limitado à jusante pela cidade de Cachoeira Paulista, correndo sobre terrenos sedimentares de idade terciária, totalizando uma superfície drenada de 6.676 km<sup>2</sup>. A altitude varia entre 572 e 515 metros.

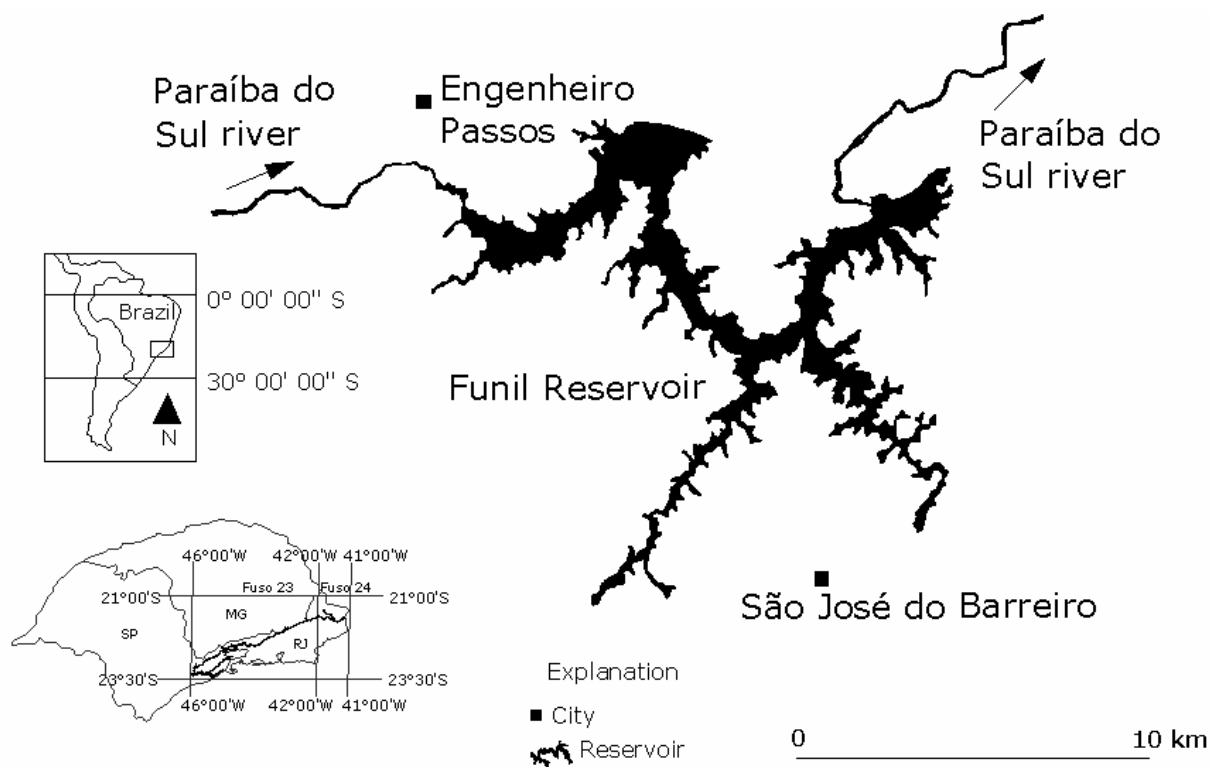
### 1.3. O reservatório da UHE de Funil

#### 1.3.1. Características Físicas

O reservatório da Usina Hidrelétrica Funil (22°30S, 44°45W, altitude 440 m) está localizado no trecho Médio-Inferior da bacia do Rio Paraíba do Sul. Situa-se em sua maior parte nos municípios de Itatiaia e Resende, margeando pequenas áreas dos municípios paulistas de Queluz, Areias e São José do Barreiro (Figuras. 2 e 3). Apresenta importância considerável, pois supre energia para o sul fluminense, atenua o impacto das cheias sobre as áreas urbanas nas cidades de Resende, Barra Mansa, Volta Redonda e Barra do Piraí, e eventualmente compõe o abastecimento de água do município do Rio de Janeiro (ALERJ, 2006).



**Figura 2 .** Reservatório de Funil, com indicação das quatro zonas estudadas: Z1 (FL20) = montante do reservatório; Z2 (FL30) = zonas intermediárias; Z3 (FL40) = zona baixa (remanso); Z4 (FL. 40) = Trecho de rio à jusante da barragem.



**Figura 3.** Área de estudo – reservatório da UHE do Funil, RJ

Com área de 40 km<sup>2</sup> e perímetro de 320 km, sua capacidade de armazenamento é de 888 milhões de m<sup>3</sup> de volume total e 605 milhões de m<sup>3</sup> de volume útil (Tabela 2). Apresenta profundidade máxima de 70m e média de 20m. As cotas operacionais mínima e máxima são, respectivamente, de 444,0 e 465,50 m. O tempo de retenção da água é de 10 a 55 dias, sendo a vazão média de 220 m<sup>3</sup>/s e a mínima de 80 m<sup>3</sup>/s (ANA, 2004, 2005).

**Tabela 2** - Informações físicas do reservatório da UHE do Funil - RJ

|  |                                      |
|--|--------------------------------------|
| Área do espelho de água no nível máximo útil   | 40Km <sup>2</sup>                    |
| Cota de coroamento                             | 468,00m                              |
| Nível altimétrico (N.A.) máximo Maximo         | 468,00m                              |
| N. A. máximo útil                              | 466,50m                              |
| N. A. acumulado mínimo útil                    | 444,00m                              |
| Localização da tomada de água para as turbinas | 77,83m                               |
| Perímetro do nível máximo útil                 | 320Km                                |
| Volume útil                                    | 605 X 10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup> |
| Volume total                                   | 888 X 10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup> |
| Vazão média de longo termo (período)           | 220 m <sup>3</sup> /s                |
| Tempo de retenção da água                      | 10 a 55 dias                         |



### **I.3.2. Variação sazonal das condições ambientais**

A variação do nível da água no reservatório de Funil ocorre em função do defluxo ditado pelas características de operação da usina, e não em função do regime pluviométrico. A pluviosidade máxima, que ocorre entre janeiro e março, não corresponde aos níveis máximos da cota dos reservatórios, que são deplecionados ao máximo antes do período de chuvas. O ano de 2003 foi atípico com níveis mais baixos em maio e junho, devido a estratégia de descarga de água em Funil determinada pela Agência Nacional da Água - ANA, para diluir a poluição causada pelo desastre da Cataguases de papel, que atingiu o rio Pomba, em Minas Gerais e contaminou o Paraíba do Sul (Figura. 4A). Os valores mínimos e máximos das cotas encontrados no período foram 446,82 e 466,44 respectivamente (ANA, 2004, 2005).

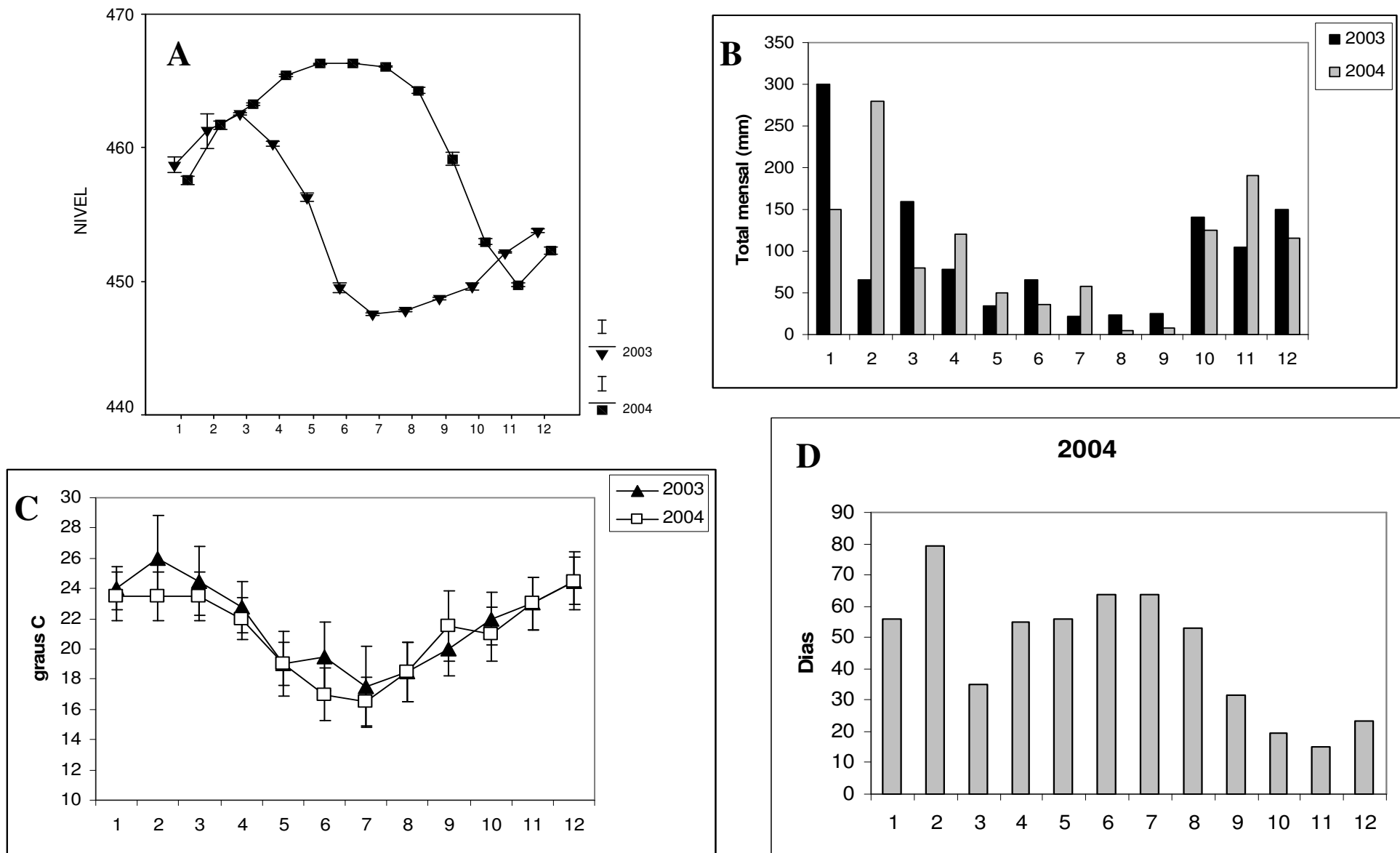
A pluviosidade apresentou maiores valores nos meses de verão (300 mm) e menores no inverno (5 mm) (Figura 4B). A temperatura do ar apresentou maiores médias nos meses de verão (26° C) e menores nos meses do inverno (16,5° C). Os valores mínimos e máximos da temperatura encontrados no período foram 12° C e 34° C, respectivamente (Figura 4C).

O tempo de retenção teórico da água foi estimado para o ano de 2004 pela relação  $V/Q$ , sendo  $V$  o volume total de água do reservatório ( $m^3$ ) e  $Q$  o total fluxo defluente ( $m^3/dia$ ). A media anual do tempo de retenção teórico da água no reservatório de Funil no ano de 2004 foi estimada em 46 dias (Figura 4D). Entretanto foi observada uma variação durante o ano, com um pico no mês de fevereiro (80 dias) e o mais baixo valor em novembro (14 dias). Observa-se uma tendência de aumento do tempo de retenção no inverno e decréscimo a partir do mês de setembro. Conforme o esperado, este padrão foi equivalente ao observado para o volume útil no ano de 2004.

### **1.3.3. Qualidade ambiental**

O reservatório de Funil é caracterizado como um ambiente eutrofizado em decorrência principalmente do aporte de poluentes do rio Paraíba do Sul gerados no trecho à montante. Como a bacia do reservatório está situada no Estado de São Paulo, as atividades desenvolvidas a montante, e o tipo de ocupação e uso do solo neste trecho da bacia, exercem influência sobre a qualidade de água do reservatório.





**Figura 4.** Variação mensal de 4 fatores ambientais do reservatório da UHE Funil em 2003/2004: a) nível da água; b) Pluviosidade .Fonte: SIMERJ; c) Temperatura do ar . Fonte: SIMERJ; d) Tempo de retenção da água do reservatório. Fonte: ANA

Como consequência, o reservatório de Funil apresenta condições adversas em relação aos diversos usos da água (FEEMA, 2007).

Concentrações elevadas de Clorofila a indicam florescimentos algais associadas à menor qualidade da água e excesso de matéria orgânica. BRANCO *et al.*, (2002) detectaram presença constante de *Microcystis aeruginosa var. aeruginosa* no reservatório apresentando *blooms* durante alguns períodos do ano, que contribui para o decréscimo da qualidade da água. Durante o verão foram observados *blooms* de *M. aeruginosa* causando redução na transparência da água, na concentração de nitrato e ortofosfato e aumento nos valores de clorofila a, pH e oxigênio dissolvido.

Segundo AZEVEDO *et al.*, (2005) o reservatório de Funil apresenta características de ambiente eutrófico com ocorrência de florações de cianobactérias. Os grupos encontrados foram Cianobactérias, seguida das Criptofíceas, Clorofíceas, Diatomáceas e Crisofíceas. Dentre as cianobactérias, predominaram espécies de *Anabaena e Microcystis*, sendo citadas na literatura como potencialmente produtoras de cianotoxinas.

Segundo a FEEMA (2007), os levantamentos da comunidade fitoplantônica realizados no reservatório da UHE Funil vêm demonstrando uma significativa modificação na composição qualitativa, com dominância de cianobactérias. Esse reservatório, no período de escassez de água, chegou a atingir níveis de abundância relativa superior a 90% no período de verão, quando se registram florações intensas de *Microcystis aeruginosa*, *Myrocystis sp.* e *Oscillatoria*. As cianobactérias são responsáveis, especialmente, no verão, por intensas florações no reservatório que confere às águas uma coloração verde.

Outra medida do potencial de eutrofização pode ser o resultado correspondente à concentração de Fósforo Total, já que este nutriente atua como agente causador do processo. Um gradiente de eutrofização foi observado para o reservatório de Funil com a concentração de Fósforo Total diminuindo da zona fluvial do reservatório para a zona lacustre. Este padrão corresponde a um gradiente longitudinal freqüentemente observado em reservatórios que apresentam concentração de material particulado de montante para jusante (BRANCO *et al.*, 2002).

O reservatório de Funil é considerado como um decantador natural de material em suspensão e, conseqüentemente, de substâncias potencialmente tóxicas provenientes da bacia a montante, pois o encontro do rio com o ambiente lântico do reservatório acarreta a deposição do material transportado pelo curso de água, devido a redução acentuada da velocidade da água na zona de transição rio/reservatório (FEEMA, 2007). Deste modo

poderia se esperar melhor qualidade da água do rio Paraíba do Sul a jusante do reservatório quando comparado com o trecho do rio a montante.

## **1.4. Reservatório Santa Branca**

### **1.4.1. Características Físicas**

O reservatório de Santa Branca, situado na porção superior do vale do Paraíba, São Paulo, como os reservatórios de Paraíbuna/Paraitinga e Jaguari, foram a princípio implantados para o controle das cheias do rio, e apenas secundariamente como aproveitamentos hidrelétricos. A partir do início de sua operação, as vazões do Paraíba do Sul deixaram de ser caracterizadas como naturais, e as enchentes, ao menos em sua calha principal, foram drasticamente reduzidas.

A Usina Hidrelétrica de Santa Branca, inaugurada em junho de 1999, com potência instalada de 58 MW, esta localizada no rio Paraíba do Sul, no município de Santa Branca. O remanso do reservatório aproxima-se do sopé da barragem de Paraíbuna, da CESP, cerca de 40 km a montante. O reservatório de Santa Branca apresenta Volume Máximo de 439,0 hm<sup>3</sup>, Volume Mínimo de 131,0 hm<sup>3</sup>, Volume Útil de 308,0 hm<sup>3</sup> (ANA, 2005).

As margens do reservatório apresentam encostas declivosas, com solos degradados e ocupados predominantemente por pastagens e reflorestamentos de eucaliptos, além de manchas de vegetação nativa em diversos estágios de recuperação, principalmente capoeiras e florestas secundárias, de biodiversidade bastante simplificada (AGEVAP, 2007). O rio Paraíba, a jusante da barragem, readquire características lóticicas, correndo sobre fundo rochoso ou arenoso.

### **1.4.2. Qualidade Ambiental**

A qualidade ambiental do reservatório Santa Branca foi analisada pela CETESB durante vários anos. Nos anos de 2003 a 2006, o reservatório apresentou pequenas oscilações ao longo dos anos, permanecendo predominantemente oligotrófico. No entanto em 2005, o reservatório ao longo do ano apresentou variações de ultraoligotrófico a mesotrófico (CETESB, 2004, 2005, 2006 e 2007).

Na bacia do rio Capivari, afluente deste reservatório, existe uma fonte expressiva de aporte de carga orgânica, devida à intensa atividade agropecuária e de reflorestamento. Entretanto, os dados médios das variáveis sanitárias de Santa Branca não acusaram nenhuma não conformidade. Os níveis médios da DBO e do fósforo total, que representam a

disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento dos processos de eutrofização, mantiveram-se baixos, característicos de ambientes pouco impactados.

A comunidade fitoplanctônica foi avaliada no reservatório de Santa Branca em dois períodos do ano: chuva e seca. Os resultados obtidos demonstraram que a comunidade fitoplanctônica revelou qualidade variando de Boa a Ótima, apresentando densidades baixas. Entretanto no mês de fevereiro de 2003, apresentou uma densidade de cianobactérias, mais elevada do que o ano de 2002, com presença de *Microcystis* e *Cylindrospermopsis*, gêneros considerados como potencialmente tóxicos. Nos meses de março, junho e dezembro de 2003, foram realizadas análises emergenciais de amostras de água do reservatório e do rio Paraíba do Sul, próximo às captações de Santa Branca e Jacareí, tendo em vista reclamações de odores na água tratada. Os resultados sugerem que houve uma floração de *Anabaena*, provavelmente devido ao baixo nível de água do reservatório e outros fatores de controle, tais como hidrodinâmica, nutrientes e insolação.

Em 2004 o grupo das cianobactérias esteve presente apresentando gêneros potencialmente tóxicos, em baixas densidades, como *Anabaena* e *Microcystis*. Em 2005 observou-se a dominância de Clorófitas da ordem *Chlorococcales*. Em relação ao ano anterior, observou-se uma ligeira piora devido, com o diagnóstico sendo registrado em menor frequência. A contagem de células de cianobactérias atingiu valores máximos de 13.400 céls./mL, atendendo à Resolução CONAMA 357/2005 para classe especial. Em 2006 foi observada qualidade Boa na maior parte nos meses amostrados, apresentando o valor de 15.650 céls./ml em fevereiro, correspondendo à espécie *Aphanocapsa delicatissima*, sendo que para este gênero não é relatada a presença de toxinas.

O diagnóstico da comunidade fitoplanctônica, foi de Bom a Ótimo, tendo em vista a baixa densidade de organismos e o fato de não haver dominância de grupos. Entretanto, é necessário observar que o grupo das cianobactérias esteve presente com espécies potencialmente tóxicas em baixas densidades em vários anos amostrados (CETESB, 2004, 2005, 2006 e 2007).

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGEVAP, 2007. Associação Pró-Gestão das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul – Plano de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Paraíba do Sul - *Diagnóstico dos Recursos Hídricos Relatório Final PSR-009-R1.COPPETEC*. Laboratório de Hidrologia e Estudos de Meio Ambiente.

ALERJ, 2006. Assembléia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro Comissão Permanente de Defesa do Meio Ambiente. Rio Paraíba do Sul – Reservatório do Funil: Poluição-Degradação <http://www.minc.com.br/mandato/meioambi/FUNIL%20RELAT%D3RIO%202005%202006%20revisao2.pdf>.

ANA, 2004. Agência Nacional de Águas. Superintendência de Usos Múltiplos. Boletim de Operação Hidráulica. Monitoramento dos Reservatórios do Sistema Hidráulico do Paraíba do Sul. Disponível em: [www.ana.gov.br](http://www.ana.gov.br)

ANA, 2005. Agência Nacional de Águas. Superintendência de Usos Múltiplos. Boletim de Operação Hidráulica. Monitoramento dos Reservatórios do Sistema Hidráulico do Paraíba do Sul. Disponível em: [www.ana.gov.br](http://www.ana.gov.br)

AZEVEDO, S. M. F. O; BRANDÃO, C. C. S.; AZEVEDO, L. O., MARINHO, M. M.;

MAGALHÃES, V.F.; HUSZAR, V. L. de M.; OLIVEIRA A. C. P. de O.; GOMES, A. M. da A. Efeitos de fatores físicos e químicos no crescimento de cianobactérias e proposição de técnicas de tratamento de água para remoção de cianobactérias e cianotoxinas. Relatório apresentado à Funasa. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2005. Em: <http://www.semasa.sp.gov.br/admin/biblioteca/docs/pdf/35Assemae027.pdf>.

BRANCO, C.W.C, ROCHA, M. I. A, PINTO, G. F. S, GÔMARA, G. A. & RODRIGO

FILIPPO, R. 2002. Limnological features of Funil Reservoir (R.J., Brazil) and indicator properties of rotifers and cladocerans of the zooplankton community. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 7: 87–92.

CETESB, 2004. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo-2006. São Paulo.

CETESB, 2005. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo-2006. São Paulo.

CETESB, 2006. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo-2006. São Paulo.

CETESB, 2007. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo-2006. São Paulo.

FEEMA,2007. Reservatórios.Disponível em: <http://www.feema.rj.gov.br/reservatorios>

KLAPPER H. (1998) Water quality problems in reservoirs of Rio de Janeiro, Minas Gerais and São Paulo. *Int.Rev. Hydrobiol.* v 83, 93–102.

MARENCO, J., MUNIZ, L., CASTRO, C. A. C, MENDES, D, 2001. Início da estação chuvosa nas Regiões Sudeste, Centro-Oeste e sul do Nordeste do Brasil: <http://www.cptec.inpe.br/energia/saiba/iniciochuvas.shtml>)

MARENCO, J. A. & ALVES, L. M. 2005. Tendências hidrológicas da bacia do Rio Paraíba do Sul. *Revista Brasileira de Meteorologia*, v.20, n. 2, 215-226

# **CAPÍTULO I**

## **OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE DOIS SILURIFORMES NO RESERVATÓRIO DA UHE DE FUNIL - RJ**



## RESUMO

DUARTE, Silvana. **Ocorrência e distribuição de dois Siluriformes no reservatório de Funil e rio Paraíba à jusante da represa 220 f.** Tese de Doutorado em Biologia Animal, Ciências Biológicas) Instituto de Biologia, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

Os Siluriformes *Hypostomus auroguttatus* (cascudo) e *Pimelodus maculatus* (mandi) estão entre os peixes mais abundantes do rio Paraíba do Sul, com ampla distribuição no reservatório da UHE do Funil. Um programa de amostragens trimestrais de coleta de peixes, entre abril de 2003 e outubro de 2004, foi realizado em 3 trechos do reservatório (zona alta, intermediária e baixa) e em um trecho do rio Paraíba à jusante da barragem do reservatório, com o objetivo de analisar a distribuição destes peixes e eventuais relações com variáveis ambientais de qualidade da água. As variáveis ambientais foram em parte medidas diretamente por ocasião das amostragens de peixes e parte foi obtida de um banco de dados de Furnas Centrais Elétrica S/A, concessionária do reservatório. *P. maculatus* foi a espécie mais abundante de toda ictiofauna, distribuída em todo reservatório, com maior abundância na zona baixa do reservatório e no trecho de rio a jusante da barragem. No reservatório, maiores abundâncias ocorreram em 2003 na zona intermediária durante a primavera-verão e em 2004 na zona baixa do reservatório no período outono-inverno. No rio, à jusante da barragem, não foi observado diferença entre os anos, com maior abundância no período da primavera-verão. *H. auroguttatus* apresentou maior abundância na zona alta do reservatório, no trecho caracterizado por formações rochosas (barragem Nhamgapi), no outono-inverno, padrão consistente para os dois anos de amostragens em número e peso. Também ocorreu no trecho de rio a jusante da barragem principal, porém em menor abundância relativa. A qualidade da água na camada eufótica do reservatório da UHE do Funil apresentou melhor qualidade em abril/julho (outono/inverno). Em outubro/janeiro (primavera/verão) observou-se uma qualidade da água mais baixa com menor transparência da água, maiores valores de Clorofila a, Nitrito, Fósforo total, Ortofosfato, Totais de Sólidos Suspensos e Totais de Sólidos Orgânicos e maiores temperaturas indicando alterações por eutrofização e sedimentação. Um gradiente espacial de menor intensidade que o sazonal foi observado, com a zona alta do reservatório apresentando maior concentração de Fósforo Total, Amônia, Ortofosfato, Totais de Sólidos Suspensos e Totais de Sólidos Inorgânicos quando comparado com a zona baixa. A camada afótica não apresentou padrão de variação espaço-temporal nos parâmetros de qualidade da água, porém apresentou maiores concentrações de amônia, Totais de Sólidos Suspensos e Totais de Sólidos Inorgânicos quando comparada à camada eufótica. Maiores abundâncias de *H. auroguttatus* ocorreram na zona de menor qualidade ambiental durante o período de melhor qualidade da água (outono/inverno) no reservatório. *P. maculatus* apresentou maior abundância no rio a jusante no período de mais baixa qualidade da água do reservatório (primavera-verão). Pode sugerir-se que estas duas espécies são bem adaptadas às condições ambientais do reservatório e diretamente influenciadas pelas características do habitat e condições locais e que outros fatores além daqueles relacionados à qualidade da água determinam seus padrões de ocorrência.

**Palavras chaves:** distribuição e abundância, Siluriformes, variáveis ambientais, qualidade da água.

## ABSTRACT

DUARTE, Silvana. 220 f. **Ocorrence and distribution of two Siluriformes in UHE of the Funil reservoir and Paraíba do Sul river (jusant´reservoir)**. Thesis (Doctorate in Animal Biology, Biological Sciences) - Institute of Biology, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

The Siluriformes species *Hypostomus auroguttatus* and *Pimelodus maculatus* rank among the most abundant and widely distributed fishes in the Paraíba do Sul river, with wide distribution in UHE do Funil reservoir, where this river is impounded. A quarterly fish sampling programme was carried out, between April 2003 and October 2004, in three reservoir zones (upper, intermediary and lower), and in one river zone downstream the dam, aiming to assess fish distribution and eventual relationship with environmental quality variables. Part of the water quality variables were taken at each sampling occasion; the other part were obtained from a database supplied by Furnas Centrais Elétricas S/A, concessionary of the reservoir. *P. maculatus* was the most abundant fish species, distributed all over the reservoir, with higher abundance in the lower zone and in the river zone downstream the dam. Higher abundance in the reservoir occurred in 2003 in intermediary zone during Spring-Summer, while in 2004 occurred in lower zone in Autumn-Winter. In the river, there is no between-year difference, with higher abundance occurring in Spring-Summer. *H. auroguttatus* showed higher abundance in upper reservoir zone, near to a rocky substrate dam (Nhamgapi reservoir) in Autumn-Winter, a consistent pattern for the two years in number and weight. This species also occurred in the river zone downstream the dam, but in lower relative abundance. Water quality in the euphotic layer showed higher quality in April/July (Autumn/Winter). In October/January (Spring/Summer) it was observed a lower water quality indicated by lower transparency, lower Chlorophyll A, Nitrite, Total Phosphorous, Orthophosphate, Total Suspended Solids and Total Organic Solids values and higher temperature, indicating alteration by entrophication and sedimentation. A less defined spatial gradient was detected, with the higher reservoir zone showing higher Total Phosphorous, Ammonia, Orthophosphate concentration, higher Total Suspended Solids and Total Inorganic Solids when compared with the lower zone. The aphotic layer did not show spatio-temporal variation in water quality parameters, but showed higher Ammonia concentration, Total Suspended Solids and Total Inorganic Solids, when compared with the euphotic zone. Higher *H. auroguttatus* abundances occurred in the lowest water quality (Autumn/Winter) season in reservoir. *P. maculatus* showed higher abundance in the river downstream the dam during the lowest water quality in reservoir (Spring/Summer) It can be raised that the two fish species are well adapted to the environmental conditions of the reservoir and are directly influence by habitat and local characteristics and other factors other than water quality determine the occurrence patterns.

**Key words:** distribution and abundance, Siluriformes, environmental variables  
water quality

## 1. INTRODUÇÃO

Os reservatórios modificam diferentes aspectos de uma bacia hidrográfica, alterando desde parâmetros físico-químicos da água até a estrutura da comunidade de peixes. Em muitos casos, a barragem constitui uma barreira intransponível para os peixes, isolando áreas que certas espécies freqüentavam para a reprodução ou em busca de alimento. As espécies mais afetadas são aquelas que realizam a piracema, ou seja, que migram para desovar. A água represada forma um novo sistema, do tipo lântico, o que provoca um impacto a mais sobre a comunidade de peixes, onde espécies adaptadas às águas correntes têm suas abundâncias reduzidas, enquanto aumenta a presença de espécies que melhor se adaptam a ambientes lânticos. Assim, as assembléias de peixes de reservatórios são resultado de um processo de reestruturação das populações de peixes que originalmente ocupavam os rios, com alterações na composição e na abundância de espécies.

O nível do impacto dos represamentos sobre a fauna íctica é influenciado pelas características locais da biota e do próprio reservatório (AGOSTINHO *et al.*, 1999). Além disso, a fauna de peixes de reservatórios ainda está sujeita a outras ações antropogênicas impactantes, em escala local e regional, como, por exemplo, pecuária extensiva, agricultura com o emprego de produtos químicos, precariedade das práticas de conservação do solo (ocasionando assoreamento), desmatamento, introduções de espécies exóticas e pesca desordenada. Os processos locais (características limnológicas e estruturais do habitat e interações intra e interespecíficas) têm sido apontados como os principais responsáveis pela estruturação das comunidades de peixes presentes nos diferentes tipos de ambientes, inclusive em reservatórios. Porém a determinação de qual variável é importante no processo de estruturação é dificultada devido à alta correlação entre as variáveis (AGOSTINHO *et al.*, 1997).

A distribuição de peixes em rios e ambientes represados tipicamente segue um padrão de zonação longitudinal das zonas mais altas para as mais baixas (HUGHES & GAMMON, 1987; BHAT, 2004; HABIT *et al.*, 2006) com as espécies sendo distribuídas ao longo de gradientes ambientais. Em zonas tropicais e subtropicais, LOWE-MCCONNELL (1975) explica estes padrões com sendo relacionados à diversidade de habitats que variam ao longo do perfil longitudinal destes sistemas.

A variação sazonal no nível de fluxo da água é outro fator estruturador das comunidades de peixe dos rios (WOOTTON, 1992). A instabilidade hidrológica e limnológica em rios regulados por barragens podem afetar adversamente a reprodução dos

peixes (AGOSTINHO *et al.*, 1993), interferindo nos estímulos que iniciam a atividade migratória de algumas espécies. As grandes alterações na vazão a jusante das barragens acarretam a diminuição na frequência das enchentes. Assim, as lagoas marginais não são inundadas e deixam de ser berçários para os alevinos (GODINHO, 1993), ocasionando conseqüente diminuição da diversidade de peixes. As áreas de planícies de inundação, caracterizadas por períodos de cheia e seca, são de extrema importância para a manutenção da assembléia de peixes.

Por outro lado, as espécies de peixes residentes, apresentam pulsos sazonais menos evidentes, e encontram-se diretamente influenciadas pelas características do habitat e condições locais, que apresentam variações ditadas pelo nível de fluxo do rio, pelo tempo de retenção e pela variação no nível da água no reservatório, que é ditada mais pela operacionalização das usinas do que pela variação na pluviosidade da área.

Duas espécies de peixes Siluriformes foram selecionadas para o presente estudo, o cascudo *H. auroguttatus* KNER, 1854 e o mandi – *P. maculatus* La Cépède, 1803, ambas de ampla distribuição na bacia do rio Paraíba do Sul (ARAÚJO, 1996), que utilizam o substrato, e são reportadas como resistentes às variações nas condicionantes ambientais (ARAÚJO *et al.*, 2003; PINTO *et al.*, 2006). *H. auroguttatus*, devido às características de sua boca ventral em forma de ventosa tem ocorrência diretamente associada à fundos rochosos, onde utiliza como alimentação algas epilíticas, bem como material orgânico, principalmente de origem vegetal que é digerido e absorvido principalmente em seu longo intestino (cerca de 15 vezes o comprimento total), sendo classificada como iliófaga/detritívora. *P. maculatus* também é uma espécie bentônica porém com menor dependência do substrato, com alguma capacidade de realizar pequenas migrações reprodutivas e com hábitos onívoros, com tendência à carnívoria. (ARAÚJO 1986; ARAÚJO *et al.*, 2003).

Este trabalho visa analisar padrões espaço-temporais de qualidade da água no reservatório da UHE do Funil, e relacionar a distribuição e abundância das duas espécies às variáveis ambientais. As seguintes hipóteses serão testadas:

- Existe gradiente espacial (longitudinal) de qualidade ambiental que possa ser associado à distribuição das espécies, com um trecho superior do reservatório mais alterado e uma melhor qualidade no trecho inferior e no trecho a jusante do reservatório, confirmando função dos reservatórios funcionando como “filtros” à poluição?

- A variação sazonal nas características ambientais influencia a ocorrência das duas espécies estudadas?

- A qualidade da água e um fator limitante na ocorrência destas espécies?

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a distribuição de dois Siluriformes ao longo dos gradientes longitudinais, sazonais e do nível de fluxo (lêntico vs. lótico) bem como as eventuais influências ambientais nos padrões de distribuição.

### **2.2 Objetivos Específicos**

1. Descrever a distribuição espaço-sazonal das duas espécies de peixes.
2. Comparar os ambientes lênticos e lóticos.
3. Descrever os parâmetros ambientais de qualidade da água nas zonas do reservatório: a montante (zona 1); intermediária (zona 2) e a barragem (zona 3) e sua influência na distribuição das espécies.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Coleta de peixes**

Durante 6 trimestres (abril 2003 a outubro de 2004) foram amostradas as três zonas do reservatório (alta – Z1, intermediária-Z2 e baixa-Z3) e a zona de rio a jusante da barragem (Z4). Cada um das quatro zonas foi amostrado uma vez por trimestre, com a utilização de redes com malhas de 5, 6 e 7 mm entrenós, e tamanho de aproximadamente 25 m x 2,5 m, colocadas ao entardecer e retiradas ao amanhecer do dia seguinte. O somatório (número e peso) das duas espécies de peixes capturados pelas redes em cada local de amostragens foi dividido pelo número de redes utilizadas, padronizando assim as amostragens em CPUEs (capturas por unidade de esforço) em número e peso, que foram utilizadas como estimativas da abundância relativa. Os peixes foram identificados, contados, pesados (em gramas) e medidos (em milímetros).

### **3.2. Variáveis ambientais**

#### **3.2.1. Programa Amostral**

As variáveis ambientais de qualidade da água foram medidas em parte diretamente por ocasião das amostragens de peixes e em parte obtidas de um banco de dados de Furnas Centrais Elétrica S/A, concessionária do reservatório.

Banco de dados fornecido por Furnas Centrais Elétrica S/A: Estes dados se referem aos anos de 2003 a 2004 e a coletas trimestrais (janeiro, abril, julho, outubro) em três zonas

no reservatório: FL20 - Zona 1 - Montante do reservatório (Nhamgapi); FL30 - Zona 2 – Intermediária; FL40 - Zona 3 - parte baixa do reservatório. Os seguintes parâmetros foram analisados: a) Físico-químicos: Sólidos suspensos totais, Sólidos orgânicos totais e sólidos inorgânicos totais; b) Indicativos de poluição orgânica (nutrientes): Amônia, Nitrato, Nitrito, Nitrogênio Kjeldahl total, Fósforo total e Ortofosfato; c) Hidrobiológicos: Silicato e Clorofila A.

Os dados foram coletados nas zonas eufótica e afótica do reservatório. A amostragem da zona afótica foi realizada através da coleta de água a cerca de um metro acima do fundo. Estas coletas foram realizadas com o auxílio de uma garrafa amostradora de Van Dorn. As amostras foram devidamente preservadas e levadas ao laboratório de química da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Furnas, onde foram realizadas as análises. Utilizando-se a garrafa de Van Dorn, a zona eufótica foi amostrada através de integração de coletas realizadas em três profundidades: a superfície, a profundidade correspondente à transparência (Secchi) e a de 3 vezes o valor do Secchi (cálculo de extensão da zona eufótica). No laboratório de química as amostras da zona eufótica foram submetidas às mesmas análises.

Como os dados apresentavam uma única amostragem em cada zona do reservatório por trimestre, o que impede a comparação das zonas por trimestre devido a falta de repetição das amostras, optou-se por agrupá-los com base nas estações do ano mais assemelhadas em relação ao nível da água e pluviosidade: outono-inverno (abril e julho) e primavera-verão (outubro e janeiro). O período de outono-inverno corresponde ao de menor pluviosidade e elevadas cotas (níveis da água); o período de primavera-verão, corresponde ao mais chuvoso e de cotas relativamente baixas.

Variáveis medidas diretamente por ocasião das amostragens de peixes: Em cada amostragem trimestral de peixes, foram também obtidos nos anos de 2003 a 2004, três zonas no reservatório (FL20 - Zona 1 - Montante do Reservatório; FL30 - Zona 2 – Intermediária; FL40 - Zona 3), bem como num trecho de rio a jusante do reservatório (Zona 4) os seguintes parâmetros ambientais: transparência, temperatura, pH e Condutividade.

Para a transparência, utilizou-se o disco de Secchi, com graduação em centímetro. A temperatura da água, condutividade e pH foram obtidos através da utilização do multisensor digital.

### **3.3. Tratamento estatístico**

Foram feitas comparações das variáveis ambientais e variáveis bióticas (número e peso dos peixes) entre as zonas do reservatório e os dois períodos do ano. O teste de

normalidade Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a distribuição dos dados das variáveis ambientais. A heterocedacidade (homogeneidade das variâncias) das variáveis foi determinada através do teste de Bartlett (SOKAL & ROHLF, 1995) tomando-se como fatores os locais, estações do ano e anos. Como as variáveis não atenderam a estes requisitos foram transformados através das transformações logarítmicas  $\text{Log}(x+1)$ , onde  $\text{Log}$  é o logaritmo na base 10, e  $x$  é o valor não transformado. Os testes de normalidade e homogeneidade das variáveis foram também aplicados aos dados transformados. Quando, mesmo transformados, os dados não atenderam aos requisitos da análise de variância, foi utilizado um método correspondente não paramétrico (SOKAL & ROHLF, 1995). Optou-se, então, pela realização de teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste “a posteriori” de Mann-Whitney, quando pertinente. Deste modo, para se testar as diferenças significativas entre os valores das variáveis ambientais, entre as zonas de coleta e os períodos do ano, os dois sistemas (rio vs. reservatório) foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis que compara as posições ou postos (ranks) dos valores das variáveis, assumindo que tais variáveis apresentam a mesma distribuição, ao nível de confiança de 95% ( $P < 0,05$ ), acompanhado do teste não paramétrico “a posteriori” de Mann-Whitney que compara dois grupos entre si para todas as variáveis.

Para determinar padrões espaciais e temporais ditados pelas variáveis ambientais, foi aplicada a técnica de ordenação Análise de Componentes Principais que é uma das mais utilizadas com base em modelos lineares, e estabelece um conjunto de eixos perpendiculares, onde o primeiro eixo da análise representará a maior parte da variação dos dados, resultando em um sistema reduzido de coordenadas. O diagrama de ordenação representado geralmente em um espaço bidimensional, apresenta a distribuição ou ordenação dos dados em função do primeiro e segundo componentes principais, que melhor explicam a variabilidade dos dados, proporcionando informações sobre as semelhanças ecológicas das amostras (PERES-NETO *et al*, 1995; VALENTIN, 2000).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Fatores Ambientais**

Os fatores ambientais foram avaliados nas variáveis abióticas e bióticas os quais foram constatam o padrão de distribuição espacial e temporal.

#### **4.1.1. Variáveis Abióticas**

Os dados abióticos, tanto brutos (não transformados) quanto transformados não atenderam aos requisitos de normalidade e homocedasticidade para os de testes estatísticos

paramétricos de Análise de Variância visando a comparação de médias. Optou-se, então, pela realização de teste não paramétricos de Kruskal-Wallis, seguido do teste “a posteriori” de Mann-Whitney.

**Tabela 3.** Resultado do teste não paramétrico Kruskal-Wallis (H) e teste “a posteriori” de Mann-Whitney (U) para comparação das variáveis ambientais entre as zonas e os períodos do ano no reservatório da UHE do Funil, no período de 2003/04. n.s. = não significativa; \*\* altamente significativa ( $p < 0,01$ ); \* significativa ( $p < 0,05$ ). Zona eufótica (EU); zona afótica (AFO).

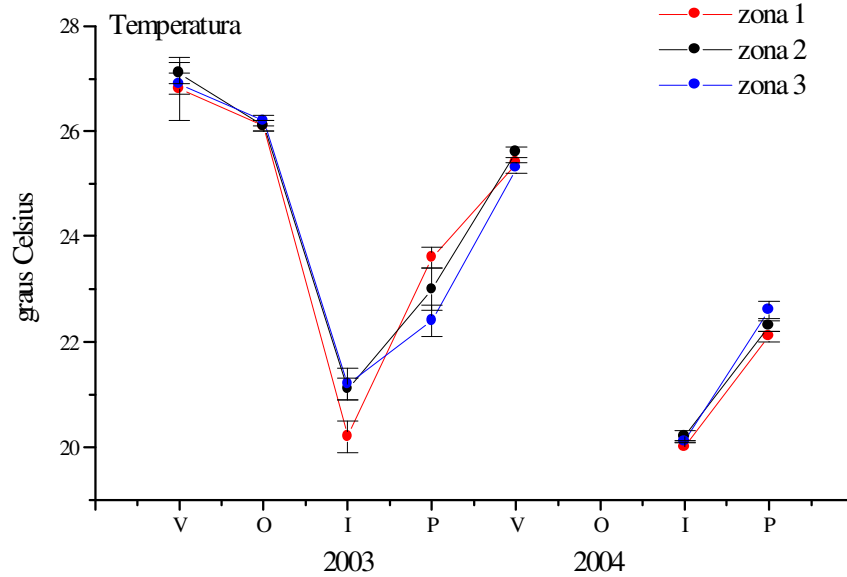
|                                   | Zona de Coleta |             | Estação do ano |                            |
|-----------------------------------|----------------|-------------|----------------|----------------------------|
|                                   | H              | U           | H              | U                          |
| Transparência                     | n.s.           |             | 11,9**         | Inverno > verão            |
| Oxigênio dissolvido               | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Temperatura                       | n.s.           |             | 11,8**         | Verão > inverno            |
| pH EU                             | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| pH AFO                            | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Condutividade EU                  | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Condutividade AFO                 | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Amônia EU                         | 12,3**         | Z1 > Z2, Z3 | n.s.           |                            |
| Amônia AFO                        | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Nitrito EU                        | n.s.           |             | 9,9**          | Primavera > inverno        |
| Nitrito AFO                       | n.s.           |             | 8,8**          | Primavera > inverno        |
| Nitrato EU                        | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Nitrato AFO                       | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Nitrogênio total Kjeldahl EU      | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Nitrogênio total Kjeldahl AFO     | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Ortofosfato EU                    | 10,6**         | Z1 > Z3     | 10,7**         | Primavera, Verão > inverno |
| Ortofosfato AFO                   | n.s.           |             | 12,0**         | Primavera, Verão > inverno |
| Fósforo total EU                  | 9,0*           | Z1, Z2 > Z3 | 8,4*           | Primavera, Verão > inverno |
| Fósforo total AFO                 | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Sólidos suspensos totais EU       | 12,0**         | Z1 > Z2, Z3 | n.s.           | Primavera, Verão > inverno |
| Sólidos suspensos totais AFO      | 11,1**         | Z1 > Z2, Z3 | n.s.           |                            |
| Sólidos orgânicos suspensos EU    | n.s.           |             | 15,5**         | Primavera, Verão > inverno |
| Sólidos orgânicos suspensos AFO   | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Sólidos inorgânicos suspensos EU  | 12,5**         | Z1 > Z2, Z3 | n.s.           |                            |
| Sólidos inorgânicos suspensos AFO | 8,2**          | Z1 > Z2, Z3 | n.s.           |                            |
| Silicato                          | n.s.           |             | n.s.           |                            |
| Clorofila a                       | n.s.           |             | 10,5**         | Primavera > inverno        |

**1. Temperatura:** Diferenças significativas foram encontradas entre as estações do ano com maiores valores no verão (27°C) e menores do inverno (20°C). Especialmente, nenhuma diferença foi encontrada entre as zonas estudadas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3; Figura 5).

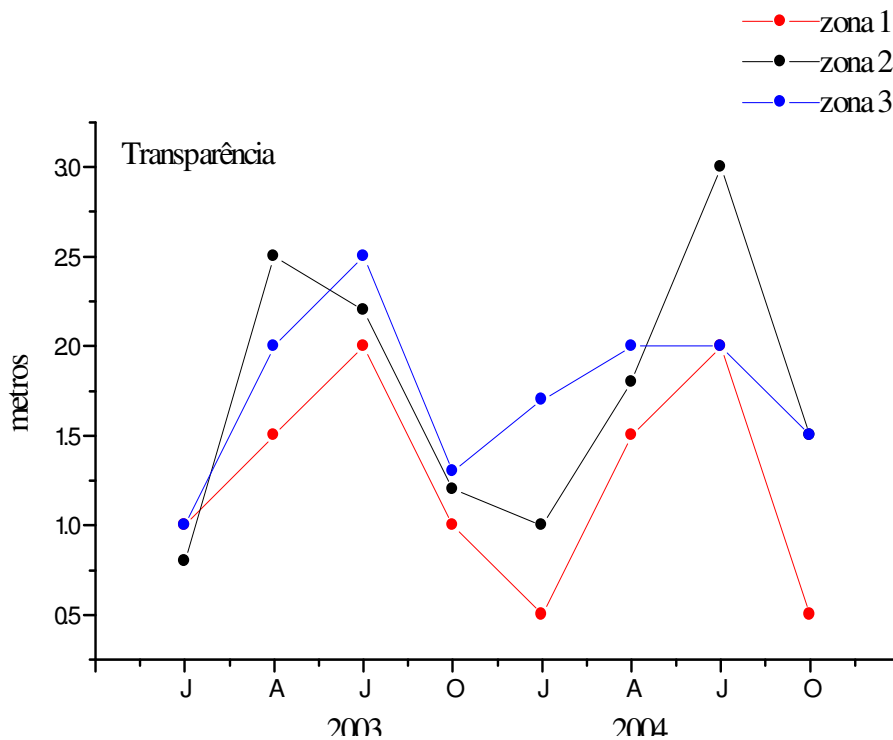
**2. Transparência:** Diferenças significativas foram encontradas entre as estações do ano ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1), com a transparência variando sazonalmente, com maiores valores no



inverno e menores valores na primavera e verão ( $p < 0,01$ ). Espacialmente, não foi encontrada diferença significativa entre as zonas estudadas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3; Figura 6).

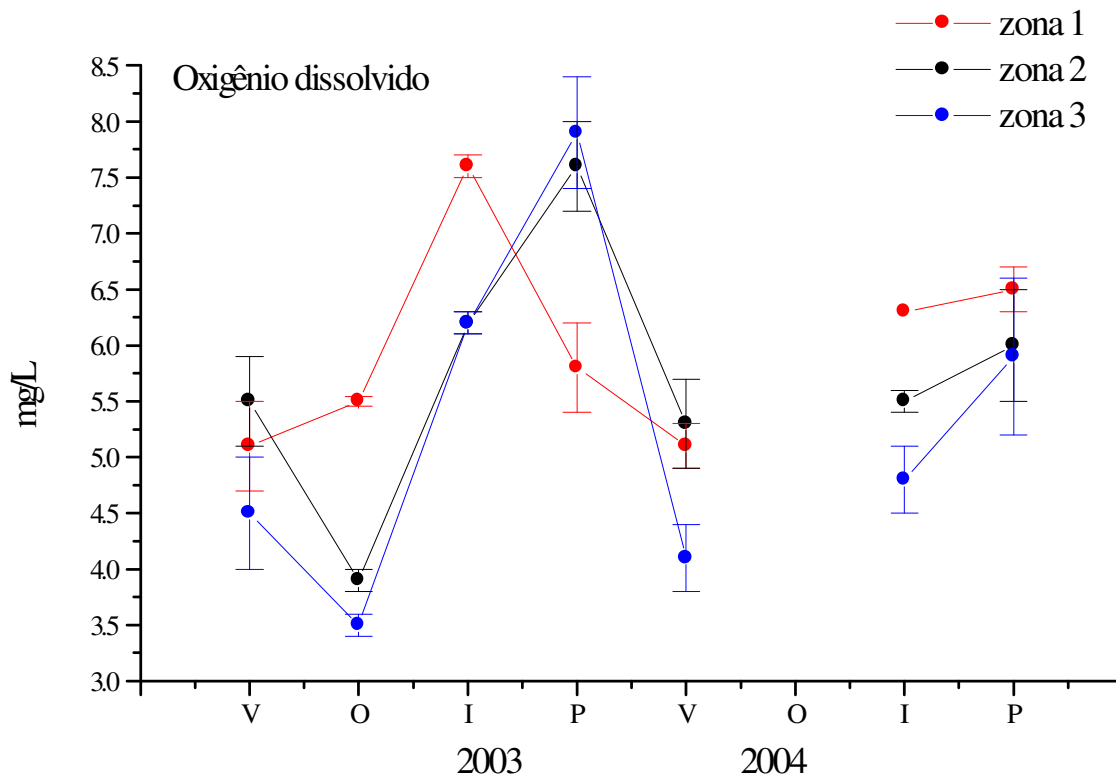


**Figura 5** . Média de temperatura da água do reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta no período 2003/2004. Barras representando +/- 1 erro padrão.



**Figura 6** Média de transparência da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta no período 2003/2004.

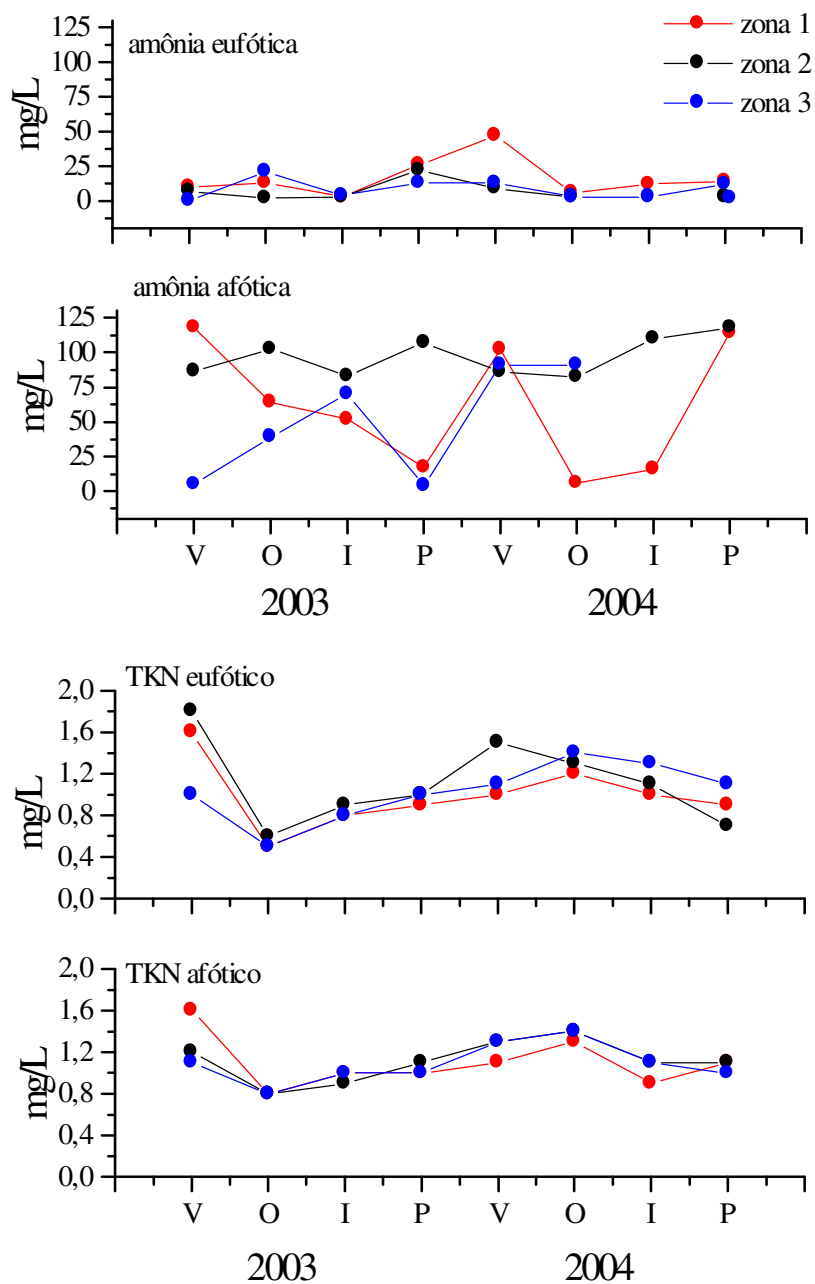
**3. Oxigênio dissolvido:** Apresentou diferente padrão entre os dois anos analisados, embora amostras do outono de 2004 não tenham sido analisadas. No ano de 2003, maiores valores foram registrados na primavera e menores valores no verão-outono. Diferenças significativas não foram encontradas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3; Figura 7).



**Figura 7.** Média do oxigênio dissolvido da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta no período 2003/2004. Barras representando +/- 1 erro padrão.

**4. Amônia:** Foi evidenciada uma diferenciação nos valores de amônia entre as zonas eufótica e afótica, com a zona eufótica apresentando menores valores de amônia do que a afótica ( $p < 0,05$ ). Na zona eufótica, diferenças significativas foram encontradas entre locais de coleta, com maiores valores na zona 1. A zona afótica não apresentou diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3, Figura 6).

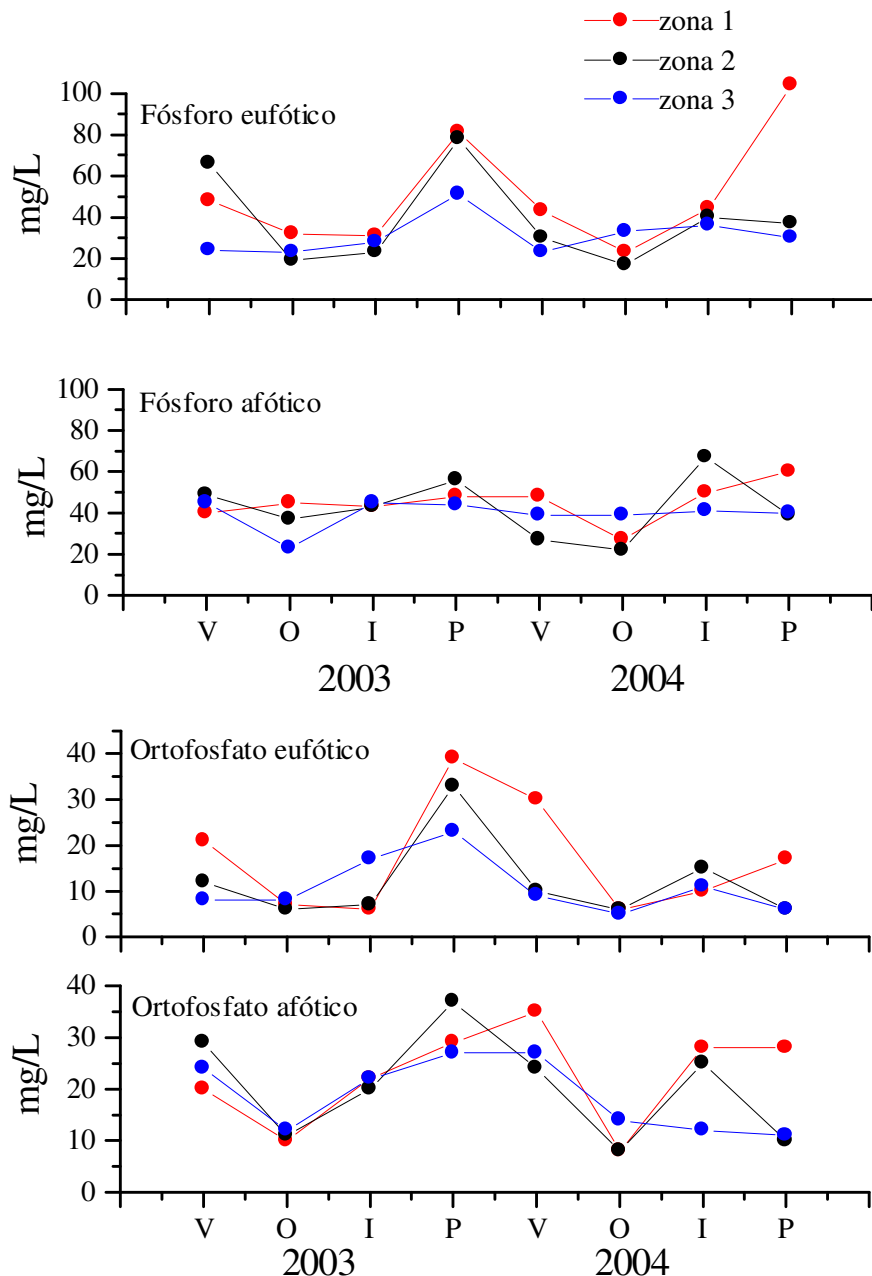
**5. Nitrogênio total Kjeldahl (TKN):** A zona eufótica e afótica não apresentaram diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 8).



**Figura 8.** Média da Amônia e Nitrogênio Kjeldhal da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.

**6. Fósforo Total:** A zona eufótica apresentou diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ), com maiores valores na primavera e verão e na zona 1 e 2 do reservatório (Figura 7). A zona afótica não apresentou diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ). Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 9).

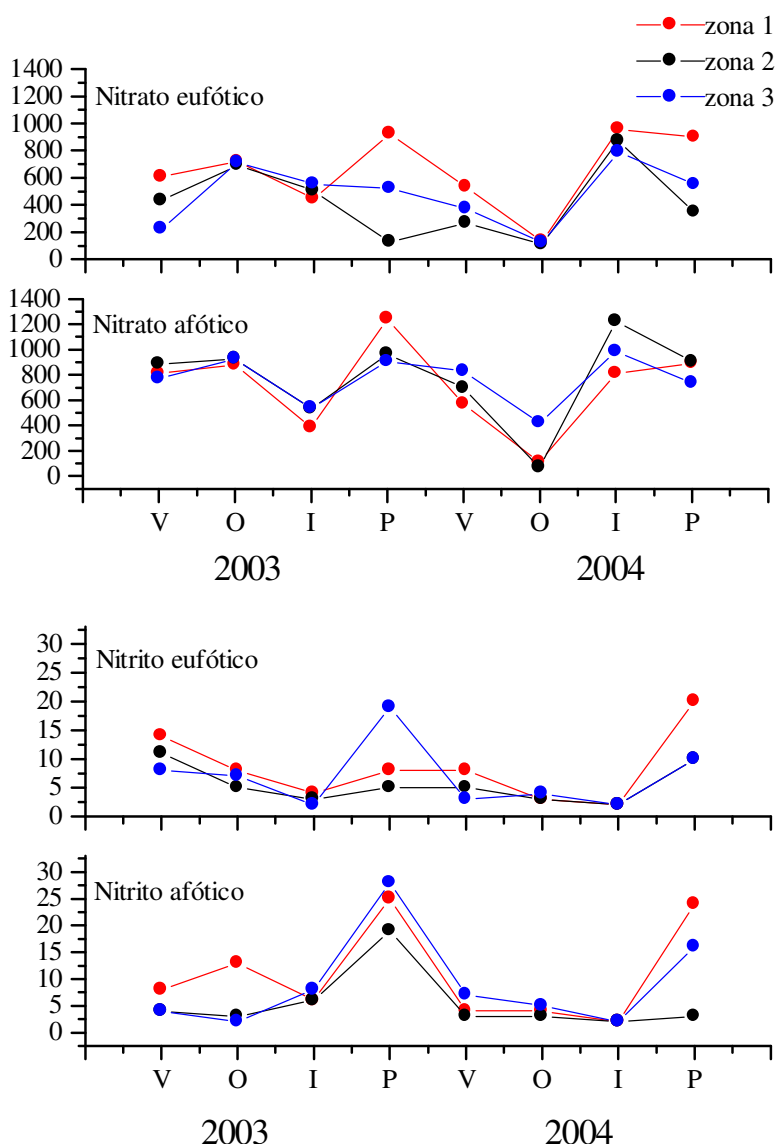
**7. Ortofosfato:** A zona eufótica apresentou diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ), com maiores valores na primavera e verão e na zona 1 do reservatório. A zona afótica apresentou diferenças significativas entre as estações do ano, não apresentando diferença entre os locais de coleta, com maiores valores na primavera e verão. Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 9).



**Figura 9.** Média do Fósforo total e Ortofosfato da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.

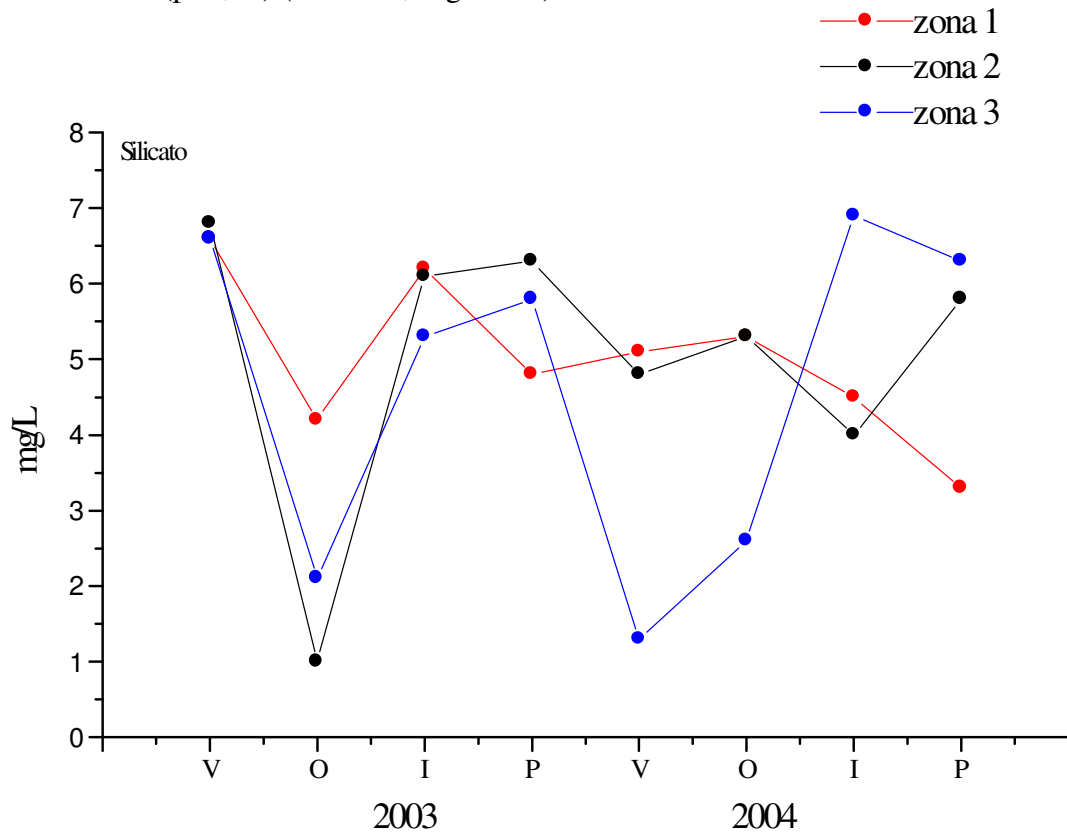
**8. Nitrato:** As zonas eufótica e afótica não apresentaram diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 10).

**9. Nitrito:** As zonas eufótica e afótica apresentaram diferenças significativas entre as estações do ano, com maiores valores na primavera ( $p < 0,05$ ), não apresentando diferenças entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ). Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 10).



**Figura 10.** Média do Nitrato e Nitrito da água no reservatório da UHE do Funil do por estações do ano e zonas de coleta, na camada eufótica e afótica, no período 2003/2004.

**10. Silicato:** Não apresentou diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3, Figura 11).

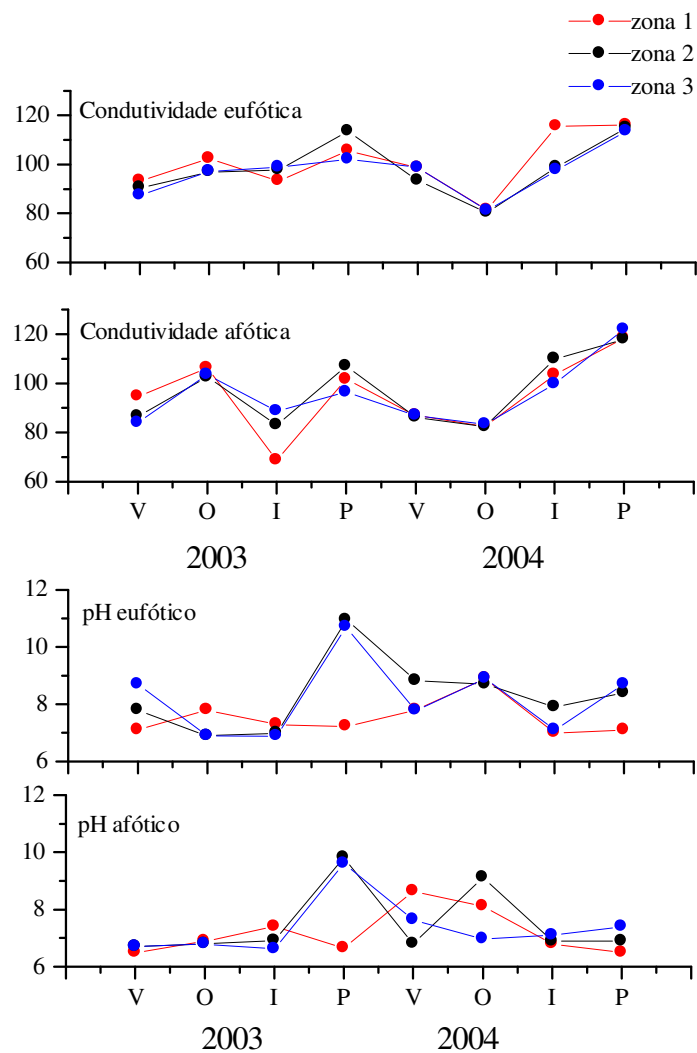


**Figura 11.** Média do Silicato na água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004.

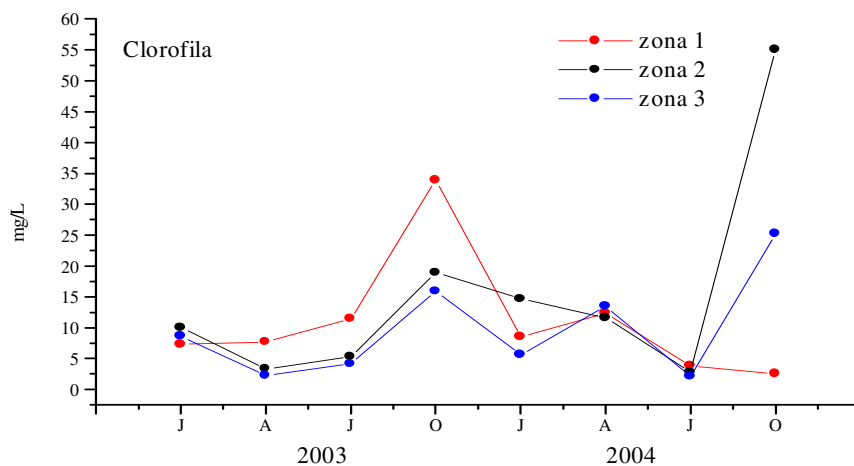
**11. Condutividade:** A zona eufótica e afótica apresentou diferenças significativas entre as estações do ano, com maiores valores na primavera, não apresentando diferença e entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 12).

**12. pH:** As zonas eufótica e afótica apresentaram diferenças significativas entre as estações do ano, com maiores valores na primavera, não apresentando diferença entre os locais de coleta ( $p < 0,05$ ). Foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 12), com maiores valores na camada eufótica.

**13. Clorofila a:** Apresentou diferença significativa entre os períodos do ano com maiores valores no período da primavera e menores valores no inverno ( $p < 0,05$ ), não apresentando diferença entre os locais de coleta (Tabela 3, Figura 13).

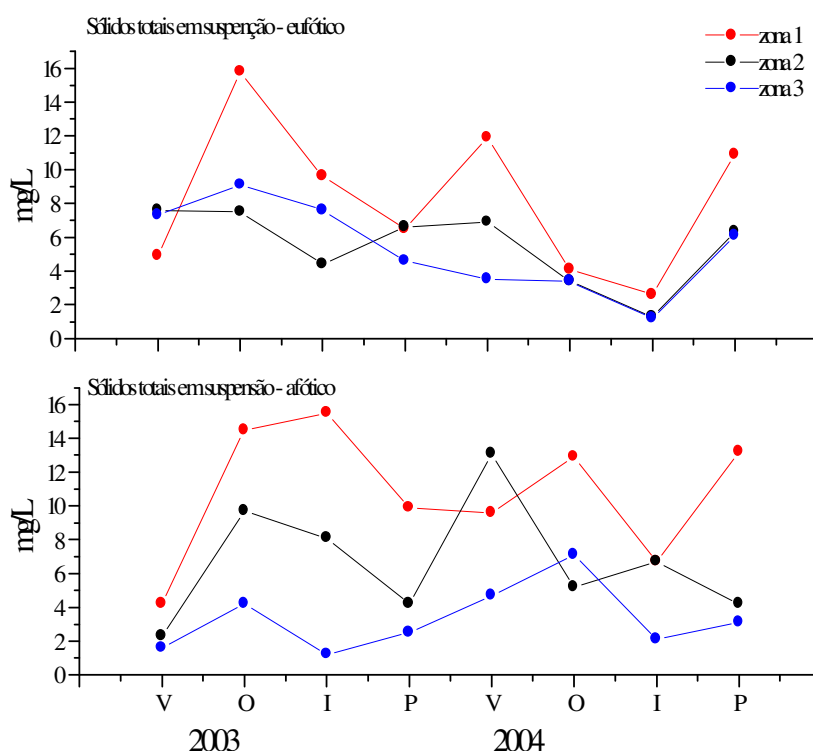


**Figura 12.** Média da Condutividade e pH da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada Eufótica e Afótica, no período 2003/2004.



**Figura 13.** Média da Clorofila a da água do reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004

**14. Sólidos Totais em Suspensão (STS):** A camada eufótica apresentou diferença significativa entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ), com maiores valores na zona 1 do reservatório e no período de outubro-janeiro. A camada afótica apresentou diferença significativa entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ), com maiores valores na zona 1 do reservatório, não apresentando diferença entre as estações do ano. Foi observada diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 14), com maiores valores na camada afótica.



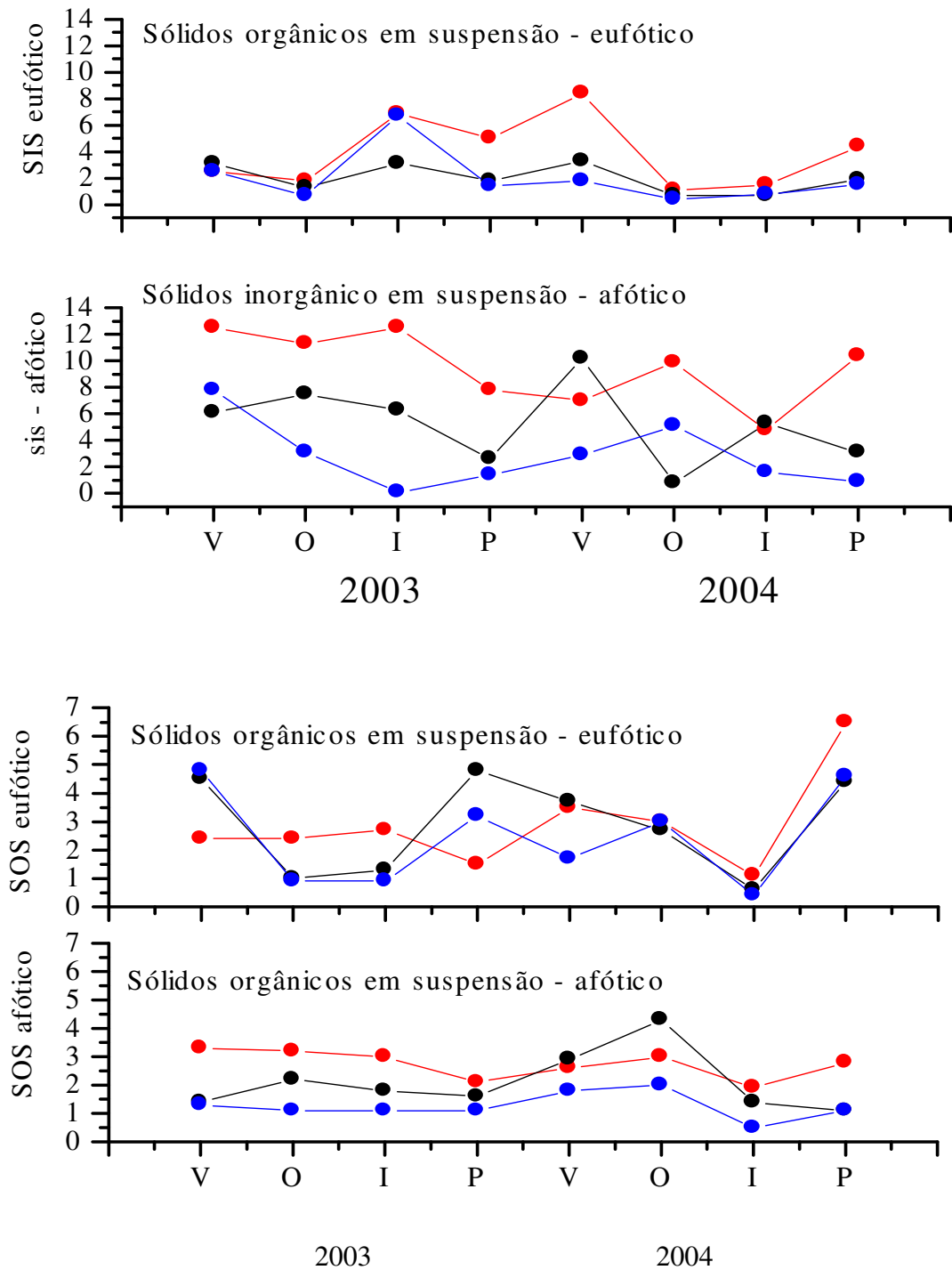
**Figura 14.** Média dos sólidos inorgânico e orgânico em suspensão da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada Eufótica e Afótica, no período 2003/2004

**15. Sólidos Inorgânicos em Suspensão (SIS):** As camadas eufótica e afótica apresentaram diferenças significativas entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ), com maiores valores na zona 1 do reservatório, não apresentando diferenças significativas entre as estações do ano. Foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 15), com maiores valores na camada afótica.

**16. Sólidos Orgânicos em Suspensão (SOS):** A camada eufótica apresentou diferenças significativas entre as estações do ano, com maiores valores na primavera e verão, não apresentando diferença entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ). A camada afótica não apresentou



diferenças significativas entre as estações do ano e entre os locais de coleta ( $P < 0,01$ ) Não foram observadas diferenças entre as camadas eufótica e afótica (Tabela 3, Figura 16)



**Figura 15.** Média dos Sólidos totais em suspensão da água no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, na camada Eufótica e Afótica, no período 2003/2004.

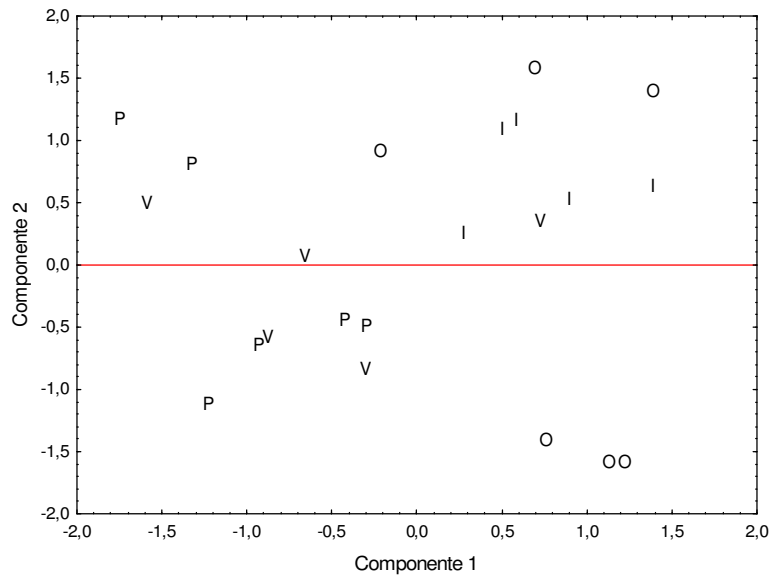
#### 4.1.2. Padrões espaço-temporais da Zona Eufótica

Dois componentes principais foram obtidos pela análise de componentes principais das variáveis ambientais com autovalores excedendo 1,0 e explicando 51,33 % da variância total (Tabela 4). O componente I apresentou maior contribuição negativa do Nitrito, Ortofosfato e Fósforo total e positiva da transparência, explicando 30,45 %. O componente II apresentou maior contribuição positiva do Nitrato e negativa do pH explicando 20,91 da variância total.

**Tabela 4.** Pesos dos Componentes principais das variáveis ambientais da zona Eufótica no reservatório da UHE do Funil nos 2 primeiros eixos, no período de 2003/2004. Valores altamente significantes em negrito.

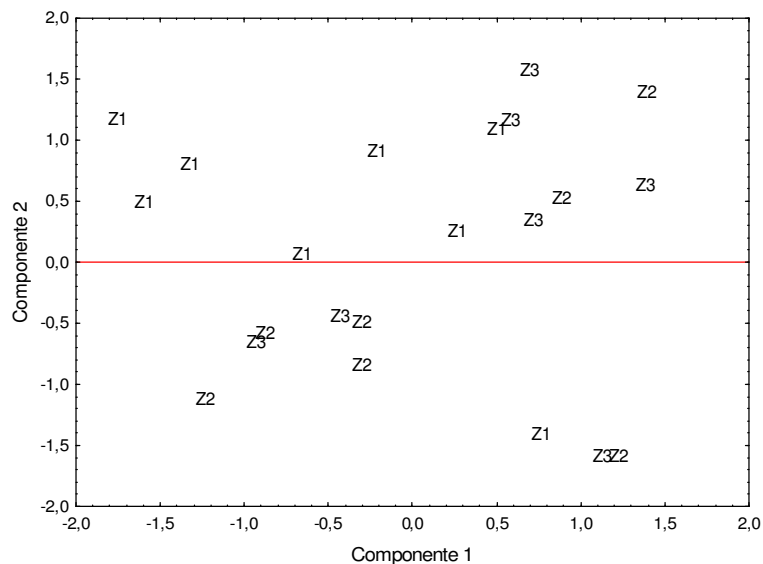
| Variáveis                        | Componente 1 | Componente 2 |
|----------------------------------|--------------|--------------|
| <b>Transparência</b>             | <b>0,83</b>  | 0,31         |
| pH                               | -0,22        | <b>-0,74</b> |
| Condutividade                    | -0,54        | 0,38         |
| Amônia                           | -0,65        | 0,31         |
| <b>Nitrito</b>                   | <b>-0,71</b> | -0,09        |
| <b>Nitrato</b>                   | -0,24        | <b>0,80</b>  |
| Nitrogênio total Kjeldahl        | -0,00        | -0,66        |
| <b>Ortofosfato</b>               | <b>-0,73</b> | 0,11         |
| <b>Fósforo Total</b>             | <b>-0,83</b> | 0,02         |
| Silicato                         | -0,25        | -0,47        |
| Sólidos Totais em Suspensão      | -0,46        | 0,41         |
| Clorofila                        | -0,31        | -0,33        |
| Sólidos orgânicos em Suspensão   | -0,63        | -0,54        |
| Sólidos Inorgânicos em Suspensão | -0,45        | 0,35         |
| Variação Explicada               | 4,26         | 2,92         |
| Proporção do total               | 30,45        | 20,91        |
| Cumulativa                       | 30,45        | 51,36        |

O diagrama dos componentes I e II das amostras codificadas pelas estações do ano (Figura 16), separou as estações primavera e verão das estações outono e inverno ao longo do componente I, situando do lado esquerdo as amostras de maiores valores de Nitrito, Ortofosfato e Fósforo total, e do lado direito do diagrama as amostras com os menores valores desta variável e maiores valores de transparência, evidenciando um padrão temporal de qualidade da água na zona eufótica, com o outono e inverno apresentando melhor qualidade da água.



**Figura 16.** Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona eufótica, codificadas pelas estações do ano, no período de 2003/2004. (V – Verão, I – Inverno, O – Outono, P – Primavera)

Este mesmo diagrama quando codificado pelos locais de coleta, não apresentou padrão espacial evidente (Figura 17), embora tenha sido observado predominância no lado esquerdo do diagrama das amostras da Z1 com maiores valores de Nitrito, Ortofosfato e Fósforo total, evidenciando tendência das amostras da zona alta do reservatório apresentarem mais baixa qualidade da água.



**Figura 17.** Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona eufótica, codificadas pelas zonas de coleta, no período de 2003/2004. (Z1 – zona 1, Z2- Zona 2, Z3-Zona 3).

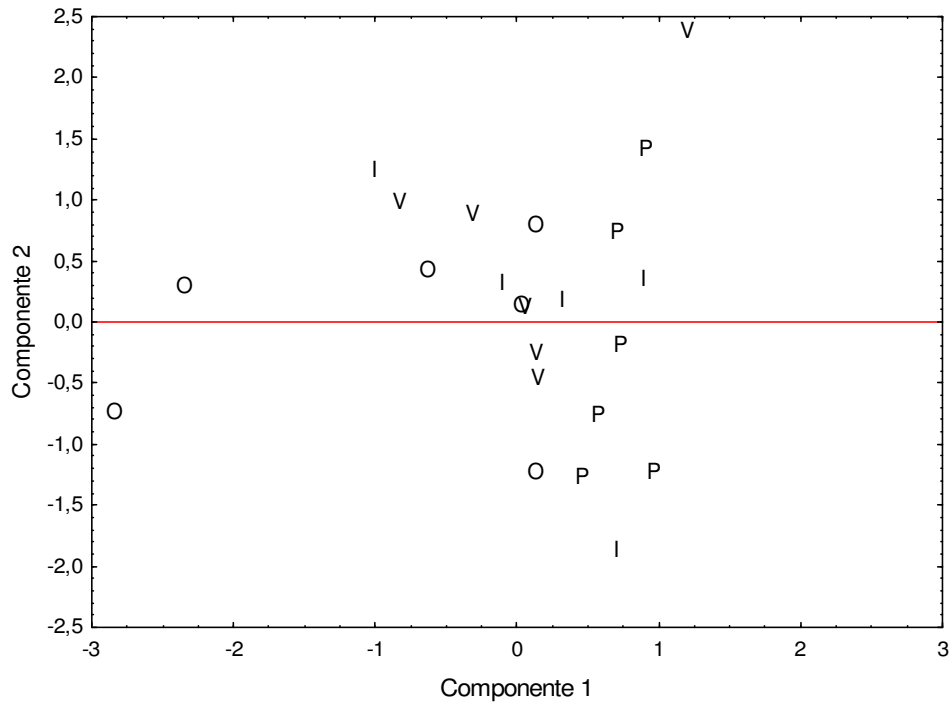
#### 4. 1.3. Padrões espaço-temporal da Zona Afótica

Dois componentes principais foram obtidos pela análise de componentes principais das variáveis ambientais com autovalores excedendo 1,0 e explicando 48,5 % da variância total (Tabela 5). O componente I apresentou maior contribuição positiva do Nitrato e Fósforo total, explicando 26,60 da variância total. O componente II apresentou maior contribuição positiva Sólidos totais em suspensão, Sólidos orgânicos em Suspensão, Sólidos Inorgânicos em Suspensão, explicando 21,89 da variância total.

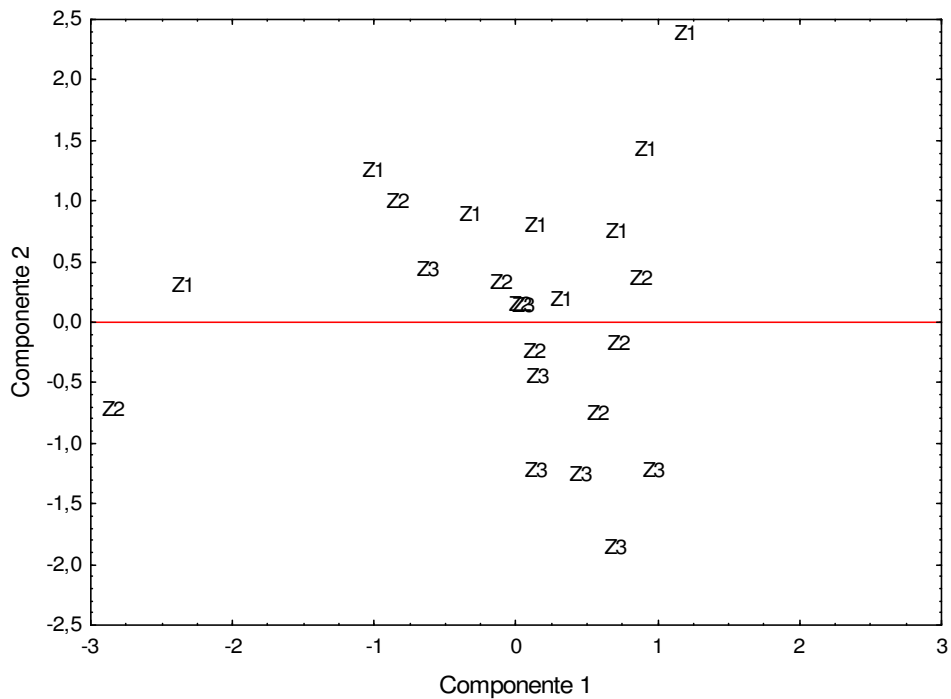
Quando se codificou as amostras pelas estações do ano e locais de coleta não se observou nenhum padrão espacial ou temporal evidente para a zona afótica (Figura 18 e 19)

**Tabela 5.** Pesos dos Componentes principais das variáveis ambientais da zona Afótica no reservatório da UHE do Funil nos 2 primeiros eixos, no período de 2003/2004. Valores altamente significantes em negrito.

| Variáveis                               | Componente 1 | Componente 2 |
|---|--------------|--------------|
| pH                                      | -0,37        | -0,25        |
| Condutividade                           | 0,64         | -0,16        |
| Amônia                                  | 0,39         | 0,25         |
| Nitrito                                 | 0,38         | 0,06         |
| <b>Nitrato</b>                          | <b>0,89</b>  | 0,07         |
| Nitrogênio total Kjeldahl               | -0,29        | 0,31         |
| Ortofosfato                             | 0,52         | 0,48         |
| <b>Fósforo Total</b>                    | <b>0,70</b>  | 0,50         |
| <b>Sólidos Totais em Suspensão</b>      | -0,34        | <b>0,70</b>  |
| <b>Sólidos orgânicos em Suspensão</b>   | -0,55        | <b>0,72</b>  |
| <b>Sólidos Inorgânicos em Suspensão</b> | -0,06        | <b>0,80</b>  |
| Variação Explicada                      | 2,92         | 2,40         |
| Proporção do total                      | 26,60        | 21,89        |
| Cumulativa                              | 26,60        | 48,50        |



**Figura 18** . Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona afótica, codificadas pelo nível do reservatório, no período de 2003/2004.



**Figura 19**. Diagrama de ordenação nos dois primeiros componentes principais para as amostras dos fatores ambientais na zona Afótica, codificadas pelas zonas de coleta, no período de 2000/2004.

## 4.2 Variáveis Bióticas

### 4.2.1. Distribuição espacial e sazonal das espécies

Vinte e cinco espécies de peixes foram capturadas nas amostragens no período de 2003/2004, correspondendo a 1.343 indivíduos e 165,6 Kg e compreendendo 20 gêneros e 12 famílias. As espécies *P. maculatus* e *H. auroguttatus* estão entre as espécies mais abundantes em número de indivíduos e em peso: *P. maculatus* correspondendo a 23,7% em número e 28,0 % em peso, dos indivíduos totais capturados e com frequência de ocorrência de 96,2% nas amostragens, e *H. auroguttatus* correspondendo a 10,2 % em número e 11,1% em peso de indivíduos totais capturados e frequência de ocorrência de 80,8% nas amostragens.

Em relação as zonas de coleta *H. auroguttatus* apresentou percentual de número de indivíduos de 27,0%, 4,57%, 2,42% e 11,16% e peso de 24,9%, 4,75%, 1,7% e 10,48% respectivamente nas zonas 1, 2, 3, e 4, e *P. maculatus* apresentou percentual de número de indivíduos de 14,56%, 13,04%, 28,57% e 71,63% e peso de 15,78%, 23,27%, 29,3% e 51,33% respectivamente nas zonas 1, 2, 3, e 4 (Tabela 4).

**Tabela 6.** Valor comparativo total e percentual (número/peso) da ictiofauna no reservatório da UHE do Funil em relação aos dois Siluriformes nas zonas de coleta.

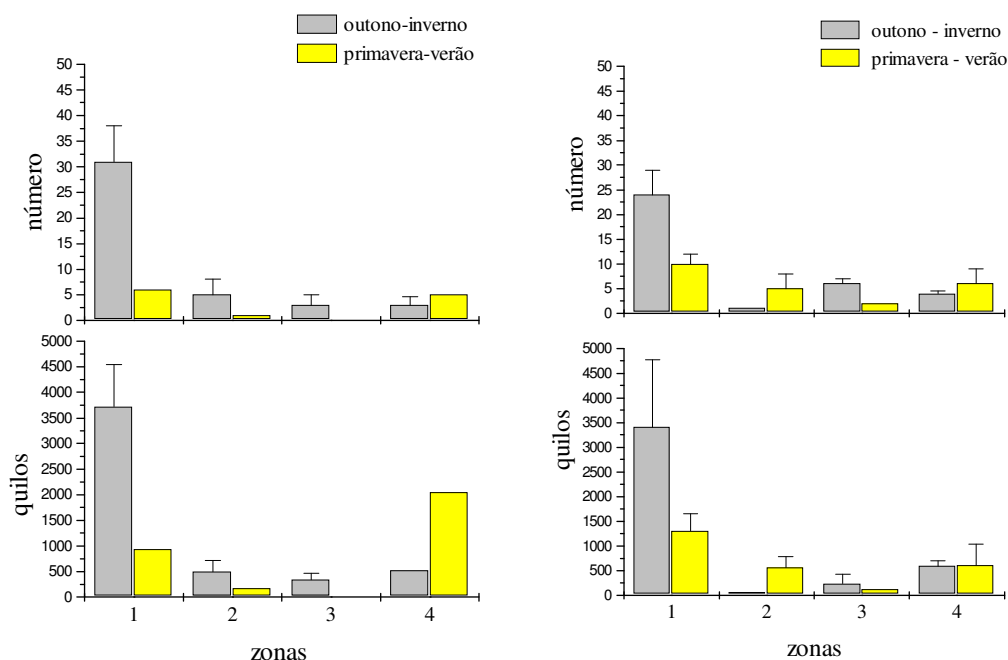
| Número                                    |                        |       |                     |       |          |       |          |
|---|------------------------|-------|---------------------|-------|----------|-------|----------|
| Zona                                      | <i>H. auroguttatus</i> | %     | <i>P. maculatus</i> | %     | Outros   | %     | Total    |
| 1   | 135                    | 27,0  | 74                  | 14,56 | 299      | 58,85 | 508      |
| 2   | 21                     | 4,57  | 60                  | 13,04 | 379      | 82,39 | 460      |
| 3   | 10                     | 2,42  | 118                 | 28,57 | 285      | 69,00 | 413      |
| 4   | 24                     | 11,16 | 154                 | 71,63 | 37       | 17,20 | 215      |
| Peso                                      |                        |       |                     |       |          |       |          |
| Zona                                      | <i>H. auroguttatus</i> | %     | <i>P. maculatus</i> | %     | Outros   | %     | Total    |
| 1   | 17.814,3               | 24,9  | 11290,5             | 15,78 | 42441,5  | 59,32 | 71546,3  |
| 2   | 2.428,1                | 4,75  | 11885,2             | 23,27 | 36755,9  | 71,98 | 51069,2  |
| 3   | 720,0                  | 1,7   | 12.545,6            | 29,3  | 29.554,2 | 69,02 | 42.819,2 |
| 4   | 4.981,4                | 10,48 | 24.403,4            | 51,33 | 18.161,3 | 38,19 | 47.546,1 |
| Reservatório: zona 1, 2, 3    Rio: zona 4 |                        |       |                     |       |          |       |          |

Os dados bióticos, tanto brutos (não transformados) quanto transformados (através da logaritmização na base 10) não atenderam aos requisitos de normalidade para os de testes estatísticos paramétricos de Análise de Variância visando a comparação de médias. Optou-se, então, pela realização de testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, seguido do teste “a posteriori” de Mann-Whitney, quando pertinente.

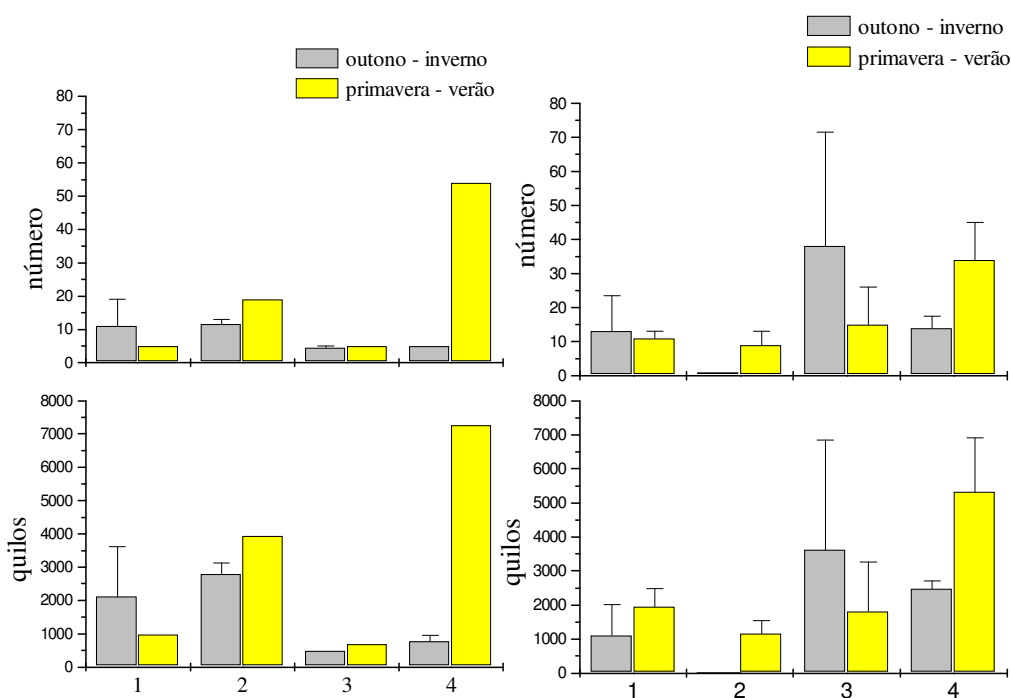
**Tabela 7.** Resultado do teste não paramétrico Kruskal-Wallis (H) e teste “a posteriori” de Mann-Whitney (U) para comparação das duas espécies peixes entre as zonas e as estações do ano no reservatório da UHE do Funil, no período de 2003/04. n.s. = não significativa; \*\* altamente significativa ( $P < 0,01$ ); \* significativa ( $p < 0,05$ ).

|                        |        | Zona de Coleta |           | Período do ano |     |
|------------------------|--------|----------------|-----------|----------------|-----|
|                        |        | H              | U         | H              | U   |
| <i>H. auroguttatus</i> | Número | 12,8**         | 1 > 2,3,4 | n.s            | n.s |
| <i>H. auroguttatus</i> | Peso   | 11,8**         | 1 > 2,3,4 | n.s            | n.s |
| <i>P. maculatus</i>    | Número | 6,70*          | 4 > 1,2,3 | n.s            | n.s |
| <i>P. maculatus</i>    | Peso   | 7,0*           | 4 > 1,2,3 | n.s            | n.s |

Na abundância as espécies *P. maculatus* e *H. auroguttatus* apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os locais de coleta, mas não entre os períodos do ano. *H. auroguttatus* apresentou maiores abundancias numéricas e em peso na zona 1, enquanto *P. maculatus* apresentou maiores abundancias numéricas e em peso na zona 4 (Tabela 7). *H. auroguttatus*, tanto em número como em peso, apresentou maior abundancia na zona alta do reservatório decrescendo ao longo do trecho longitudinal, enquanto *P. maculatus* apresentou maior abundancia na zona baixa do reservatório e rio a jusante (Figuras 20 e 21).



**Figura 20.** Média do numero e peso de *Hypostomus auroguttatus* no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004

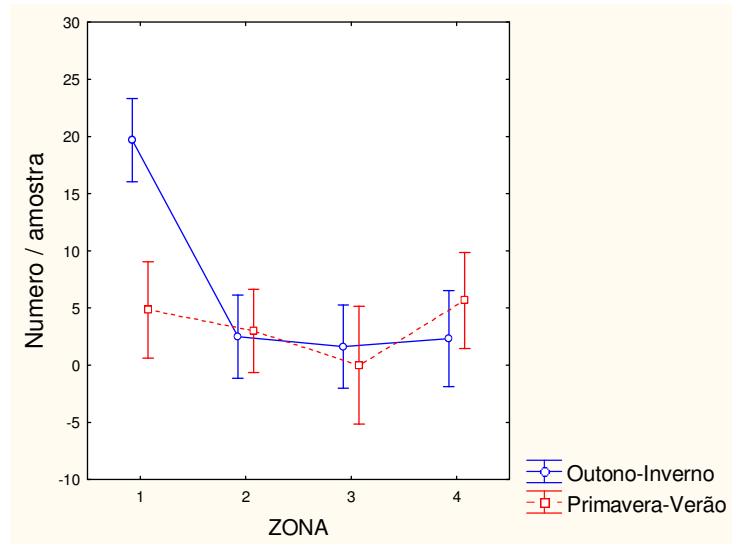


**Figura 21.** Média do número e peso de *Pimelodus maculatus* no reservatório da UHE do Funil por estações do ano e zonas de coleta, no período 2003/2004

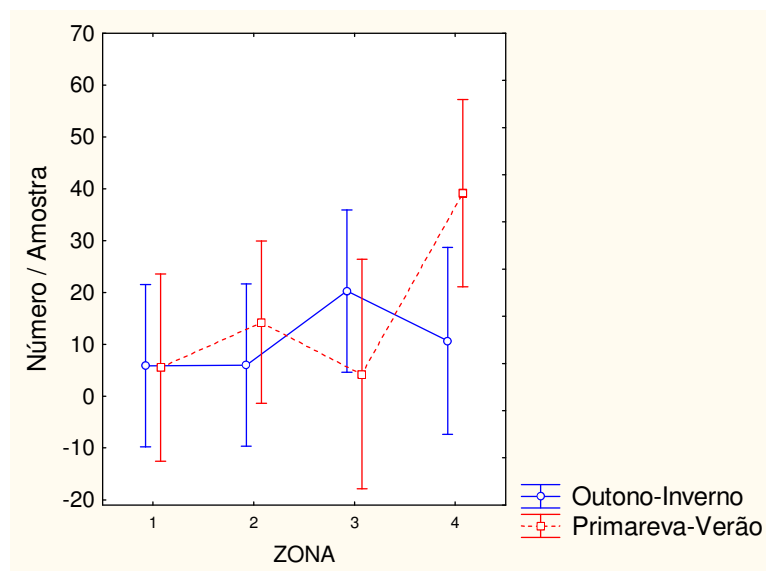
De um modo geral, os anos apresentaram padrões diferentes entre si para número/peso. Observou-se que *P. maculatus* está distribuído em todo reservatório, sendo mais abundante na zona intermediária em 2003 e na barragem em 2004 quando o nível do reservatório estava alto (outono-inverno). No rio o padrão é similar sendo abundante entre os anos. *H. auroguttatus* apresentou maior abundância na zona alta do reservatório no período outono-inverno, padrão consistente para os dois anos de amostragem em número e peso.

As duas espécies de Siluriformes foram as mais abundantes da ictiofauna no reservatório da UHE Funil. *H. auroguttatus*, apesar de abundante, teve a sua distribuição limitada dentro do reservatório, predominantemente na região alta. Já *P. maculatus* foi a espécie mais abundante de toda ictiofauna, distribuído em todo reservatório, sendo a região da barragem com a distribuição mais significativa. Ambas as espécies são abundantes no rio (jusante) (Figuras 22, 23, 24 e 25).

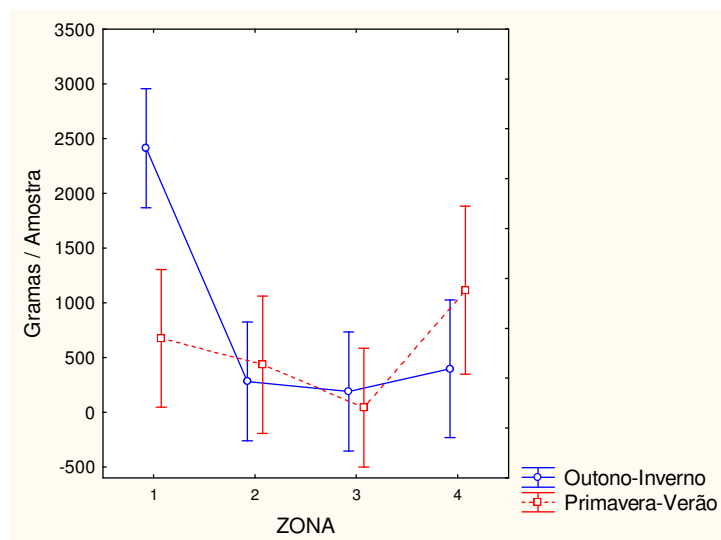




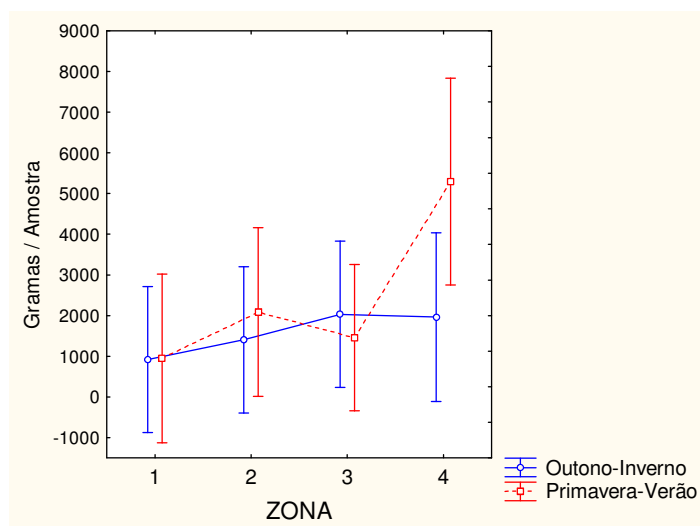
**Figura 22.** Número de indivíduos por amostra de *H. aurogutattus* nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.



**Figura 23.** Número de indivíduos por amostra de *P. maculatus* nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.



**Figura 24 .** Peso de indivíduos por amostra de *H. auroguttatus* nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.



**Figura 25.** Peso de indivíduos por amostra de *P. maculatus* nas zonas de coleta e estações do ano no reservatório da UHE do Funil nos anos de 2003/2004.

#### 4.2.2. Espécies x Variáveis Ambientais

Em relação às variáveis ambientais, foi observado um padrão espacial-temporal de qualidade da água na camada eufótica do reservatório da UHE do Funil. A qualidade da água analisada se apresentou melhor durante o período abril/julho, que corresponde a estação seca no inverno, nível alto do reservatório, e apresentando mais baixa qualidade no período outubro/janeiro, que corresponde a estação chuvosa no verão, no nível baixo do reservatório. No período outubro/janeiro que corresponde à estação cheia (verão), observa-se menor

transparência da água, maiores valores de clorofila a, Nitrito, fósforo total, Ortofosfato, Sólidos suspensos totais e Sólidos orgânicos totais. Um padrão espacial de qualidade da água pode ser observado apresentando qualidade da água mais baixa na zona alta do reservatório, com maiores valores de Amônia, Ortofosfato, Fósforo, Sólidos suspensos totais e Sólidos inorgânicos totais. *H. aurogutatus* foi mais abundante neste local, enquanto *P. maculatus* foi mais abundante no rio jusante e zona baixa.

As abundâncias destas espécies não foram associadas à sazonalidade observada para a qualidade da água no reservatório da UHE do Funil, que foi o padrão mais evidenciado de variação dos parâmetros ambientais analisados, que ao contrário das espécies, apresentaram variação espacial mais evidente.

## 5. DISCUSSÃO

Uma evidente variação sazonal na qualidade da água no reservatório da UHE do Funil foi encontrada, com águas de baixa qualidade entre outubro e janeiro (nível baixo do reservatório, maior pluviosidade), e com as “melhores condições” entre abril e julho (nível alto do reservatório, menor pluviosidade). A transparência corresponde ao padrão sazonal do rio (cheia e seca), pois o seu decréscimo coincide com o aumento da precipitação e conseqüentemente com a grande introdução de material alóctone transportados pelo rio. A concentração de sólidos suspensos totais foi maior durante o período outubro-janeiro coincidindo com as menores transparências da estação chuvosa.

Um padrão de variação sazonal de eutrofização também foi identificado. A determinação da concentração da clorofila a é utilizada como indicadora da biomassa das algas presentes em um reservatório. Concentrações elevadas de clorofila a indicam florescimentos algais associadas a menor qualidade da água e excesso de matéria orgânica (STRASKRABA & TUNDISI, 1999). No período Outubro-Janeiro observou-se maior quantidade de Clorofila a, indicando o maior crescimento do fitoplâncton presente na água, onde a elevação da temperatura e o aumento da entrada de material alóctone no sistema podem explicar esta modificação em relação período Abril-Julho. BRANCO *et al.*, (2002), constataram no reservatório da UHE do Funil, que a temperatura da água era indicada como a variável ambiental que mais influenciava os valores de clorofila a, o que coincide com o período de maior quantidade de clorofila a encontrado neste trabalho.

O pH é influenciado pelo metabolismo de organismos aquáticos, podendo apresentar oscilações ou valores máximos decorrente das atividades metabólicas destes, sendo que

ambientes eutrofizados apresentam maiores valores de pH, decorrente da intensa atividade fotossintética e retirada de CO<sub>2</sub>. O pH da água de Funil está relacionado à qualidade da água deste ambiente, com os maiores valores ocorrendo na zona eufótica onde predominaram pH alcalino ou próximo de neutro, podendo ser conseqüência da intensa atividade fotossintética nesta região, o que resulta em grande consumo de CO<sub>2</sub> e conseqüentemente aumento dos valores de pH. BRANCO *et al.*, (2002) concluíram que o aumento do pH e oxigênio dissolvido próximo a superfície era o resultado do aumento da biomassa do fitoplâncton, assim como também da redução da transparência da água no reservatório da UHE do Funil. Outra medida do potencial de eutrofização pode ser os resultados correspondentes à concentração de Fósforo total, já que este nutriente atua como o agente causador do processo. O fósforo total também apresentou padrão temporal diferenciado com maiores valores durante o período Outubro-Janeiro.

Um gradiente de eutrofização também foi observado para o reservatório da UHE do Funil com a concentração de Fósforo total diminuindo da zona 1 do reservatório para a zona 3. Este padrão corresponde a um gradiente longitudinal frequentemente observado em reservatórios que apresentam concentração de material particulado de montante para jusante. Os pulsos sazonais de aporte de sólidos suspensos para as represas podem levar ao estabelecimento de gradientes longitudinais na transparência da água e, portanto, determinar uma heterogeneidade espacial horizontal na extensão da camada eufótica. Resultados similares foram encontrados por BRANCO *et al.*, (2002) no reservatório da UHE do Funil.

Uma tendência encontrada em reservatórios eutrofizado tropicais submetidos a influências antrópicas é a alta produção de fitoplâncton, e a deposição de sedimentos orgânicos no fundo do reservatório (INFANTE & INFANTE 1994; BRANCO & SENNA 1996; BARBOSA *et al.* 1998). No reservatório da UHE do Funil, a camada afótica apresentou maiores concentrações de Amônia e Sólidos suspensos totais e Sólidos suspensos inorgânicos. O crescimento de algas promovido pelo aporte de nutrientes provenientes do rio Paraíba do Sul, pode provocar um aumento na quantidade de matéria orgânica em processo de sedimentação e decomposição no fundo do reservatório, que acarretará também depleção do oxigênio no fundo, tendências típicas de ambientes eutrofizados.

O reservatório da UHE do Funil é parte de uma bacia hidrográfica e como tal detecta os efeitos das atividades antropogênicas da bacia, sendo caracterizado como um ambiente eutrofizado em decorrência principalmente do aporte de poluentes do rio Paraíba do Sul gerados no trecho à montante. A sazonalidade observada é associada ao aumento vazão da água do rio Paraíba do Sul no verão causado pelo aumento da precipitação, responsável pelo

aumento de nutrientes e sólidos suspensos na coluna d'água, assim como pelo o decréscimo da transparência. A hipótese testada de que o reservatório da UHE do Funil é considerado como um decantador natural de material em suspensão, não pode ser comprovada neste estudo, pois foi observado um padrão sazonal mais evidente que o espacial para as variáveis ambientais analisadas.

As duas espécies de Siluriformes analisadas estão entre as mais abundantes da ictiofauna do reservatório de Funil e apresentaram distintos padrões de distribuição espacial. *P. maculatus* foi a espécie mais abundante de toda ictiofauna, distribuído em todo reservatório, tendo a região da barragem e rio a jusante com a distribuição mais significativa. *H. auroguttatus* apresentou maior abundância na zona alta do reservatório no período outono-inverno, padrão consistente para os dois anos de amostragem em número e peso.

Características do habitat e relação predador-presa têm sido apontadas como os principais responsáveis pela estruturação das comunidades de peixes presentes em diferentes habitats de um mesmo ecossistema ou região biogeográfica (HINCH & COLLINS, 1993). No ecossistema aquático, a existência de barreiras físicas, bem como variações significativas das condições físicas e químicas da água e dos tipos de substratos e habitats levam a ictiofauna a apresentar, em cada trecho, características próprias quanto à sua distribuição (CASTRO *et al.*, 2003). A diversidade de habitats influencia a disponibilidade dos recursos, sendo a ocupação e a permanência das espécies no habitats dependente da habilidade e exigência de cada uma (MARTIN-SMITH, 1998).

*H. auroguttatus* habita ambientes lóticos e semilóticos com fundos rochosos, diretamente associados com seu hábito alimentar, pois esta espécie possui hábito iliófago/detrítivo (AGOSTINHO *et al.*, 1997). São importantes elos na cadeia alimentar, pois transformam detritos e bentos em componentes energéticos para níveis tróficos superiores (BENEDITO-CECÍLIO & AGOSTINHO, 2000). A distribuição de *H. auroguttatus* com maior abundância na zona mais alta da represa, pode estar relacionada ao tipo de fundo desta região, que é predominantemente rochoso e à maior influência do ambiente lótico. Em estudos sobre a ictiofauna do rio Paraíba do Sul, *H. auroguttatus* foi uma das espécies que tiveram distribuição restrita a determinados trechos pedregosos do rio (TEIXEIRA *et al.*, 2005), corroborando sua preferência de habitat.

*P. maculatus* apresenta hábito alimentar onívoro, possuindo dieta variada constituída de larvas de insetos, algas, moluscos, peixes e fragmentos de vegetais (BENNEMANN *et al.*, 2000), sendo considerada uma espécie migradora. A capacidade de distribuição das espécies ao longo do trecho longitudinal de um rio pode estar associada com a habilidade de realizar

migrações ou movimentos mais amplos. O fato de *P. maculatus* ser a espécie mais abundante no reservatório da UHE de Funil e estar distribuída no rio a jusante e no reservatório pode decorrer de seu hábito alimentar onívoro e da sua mobilidade, diferente de *H. auroguttatus* que é uma espécie aproximadamente associada ao fundo de hábito alimentar iliófago, possuindo pequena capacidade de realização de movimentos longitudinais.

As abundâncias destas espécies não foram associadas à sazonalidade observada para a qualidade da água do reservatório da UHE do Funil, que foi o padrão mais evidenciado de variação dos parâmetros ambientais analisados. Ao contrário da sazonalidade das condicionantes ambientais, as espécies apresentaram variação espacial mais evidente. TEIXEIRA *et al.*, (2005) observaram no rio Paraíba do Sul que a variação do período cheia/seca não foi um fator relevante para variação da abundância relativa da ictiofauna, embora a estação chuvosa tenha contribuído para aumentar a riqueza de espécies. Concluíram também que diferenciações na fisiografia ao longo da extensão longitudinal da bacia não coincidiram com mudanças nas assembléias de peixes, sugerindo que fatores associados à diferenciação de habitats poderiam estar estruturando a comunidade de peixes ao nível local.

Pode ser sugerido que estas espécies sejam bem adaptadas às condições ambientais do reservatório e diretamente influenciadas pelas características do habitat e condições locais e que outros fatores que não a qualidade da água podem estar relacionados à abundância destas espécies.

## 6. CONCLUSÕES

1. Um padrão espacial-temporal de qualidade da água na camada eufótica do reservatório da UHE do Funil foi observado, com o padrão sazonal mais evidente que o espacial;
2. A qualidade da água foi melhor durante o nível alto do reservatório (Outono/Inverno) que corresponde à estação seca, e mais no nível baixo do reservatório que corresponde à estação chuvosa (Primavera/Verão);
3. A zona alta do reservatório, mais próxima do trecho de influência fluvial apresentou água de qualidade mais baixa, porém este padrão foi menos consistente do que o padrão sazonal;
4. As qualidades mais baixas de água corresponderam às menores transparências, e maiores valores de Clorofila a, Fósforo total, Ortofosfato, Nitrito, Sólidos suspensos totais e Sólidos orgânicos totais;

5. A camada afótica não apresentou padrão espaço-temporal evidente, e a qualidade de água foi inferior à da zona eufótica;
6. Tanto no reservatório como no rio *P. maculatus* foi a espécie mais abundante em número e peso; esta espécie encontra-se amplamente distribuída em todo o reservatório, sendo mais dominante no trecho do rio à jusante do reservatório;
7. *H. auroguttatus* foi mais abundante no trecho à montante do reservatório, diminuindo a abundância no trecho baixo do reservatório, e apresentando uma pequena elevação no trecho de rio à jusante da barragem;
8. De um modo geral, as quatro zonas refletiram o mesmo padrão entre os anos para número/peso para *H. auroguttatus*; para *P. maculatus* os anos apresentaram padrões diferenciados;
9. As abundâncias destas espécies não foram associadas a sazonalidade observada para a qualidade da água no reservatório da UHE do Funil.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, A. A. ; VAZZOLER, A. E. A. M. ; GOMES, LUIZ CARLOS ; OKADA, EDSON KIYOSHI Estratificación espacial y comportamiento de *Prochilodus scrofa* en distintas fases del ciclo de vida, en la planície de inundación del alto río Paraná y embalse de Itaipu, Paraná, Brasil. *Rev. Hidrobiol. Trop., Bondy*, v.26, 79-90, 1993.

AGOSTINHO, A. A.; HAHN, NORMA SEGATTI ; GOMES, LUIZ CARLOS ; BINI, L. M. Estrutura trófica. *In: Vazzoler, A. E. A. de M. et al. (Ed.). A Planície de Inundação do Alto Rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos. Maringá: Eduem, p.229-248, 1997.*

AGOSTINHO, A. A.; JULIO JUNIOR, H. F. AGOSTINHO, A. A. Peixes da bacia do alto rio Paraná. *In: Lowe-Mcconnell, R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: Edusp, v. 374-400, 1999.*

ARAÚJO, F. G. Composição e estrutura da comunidade de peixes do médio e baixo rio Paraíba do Sul, RJ. *Revista Brasileira Biologia*, v. 56, p.111-126, 1996.

ARAÚJO, F. G., I. FICHBERG, B. C. T. PINTO & PEIXOTO, M. G. A preliminary index of biotic integrity for monitoring condition of the Rio Paraíba do Sul, Southeast Brazil. *Environmental Management*, v. 32, p.516-526, 2003.

BHAT, A. Patterns in the distribution of freshwater fishes in rivers of Central Western Ghats, India and their associations with environmental gradients. *Hydrobiologia*, v.529, 83-97, 2004.

BRANCO, C. W. C., ROCHA, M. I. A., PINTO, G. F. S., GÔMARA, G. A. & FILIPPO, R. Limnological features of UHE of Funil Reservoir (R.J., Brazil) and indicator properties of rotifers and cladocerans of the zooplankton community. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, v.7 87-92, 2002.

BRANCO C. W. C. & SENNA P. A. C. Relations among heterotrophic bacteria, chlorophyll a, total phytoplankton, total zooplankton and physical and chemical features in the Paranoá Reservoir, Brasília, Brazil. *Hydrobiology* v.337, p.171-81, 1996.

BARBOSA F., GARCIA F., MARQUES M. G. S. M. & NASCIMENTO F. A. Nitrogen and phosphorus balance in an eutrophic reservoir in Minas Gerais: a first approach. *Rev. Brasil. Biol.* v ,58, p 233–239. 1998

BENEDITO-CECILIO, E; AGOSTINHO, A. A. Distribution, abundance and use of different environments by dominant ichthyofauna in the influence area of the Itaipu reservoir.. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 22, n. 2, p. 429-437, 2000.

BENNEMANN, S.T., SHIBATTA, O.A. & GARAVELLO, J.C. *Peixes Do Rio Tibagi: Uma Abordagem Ecológica*. Ed. UEL, Londrina. 62p. 2000.

CASTRO, R. J., FORESTI, F. & CARVALHO, E. D. Composição e abundância da ictiofauna na zona litorânea de um tributário, na zona de sua desembocadura no reservatório de Jurumirim, Estado de São Paulo, Brasil *Acta Scientiarum: Biological Sciences* v.25, n.1, 63-70. 2003.

GODINHO, A. L. E. Os peixes de Minas em 2010? *Ciência Hoje*, São Paulo, v. 16, n.91, p.44-49, 1993.

HABIT E., M. C. BELK, R. C. TUCKFIELD & O. PARRA. Response of the fish community to human-induced changes in the Biobío River in Chile. *Freshwater Biology*,v. 51, p. 1-11. 2006.

HINCH, S.G.; COLLINS, N.C. Relationships of littoral fish abundance in fish to water chemistry and macrophyte variables in Central Ontario lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa, v. 50, n. 9, p. 1870-1878. 1993.

HUGHES, R. M. & J. R. GAMMON, Longitudinal changes in fish assemblages and water quality in the Willamette river, Oregon. *Transactions of the American Fisheries Society* .v 116, p. 196-209, 1987.



INFANTE A. G. & INFANTE O. Limnological studies in a tropical man-made lake (Lagartijo Reservoir) Venezuela. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.*, v. 79, p. 17–25, 1994.

LOWE-MCCONNELL, R. H., *Fish Communities in Tropical Freshwaters: Their Distribution, Ecology and Evolution*, Longman, London. p. 210. 1975.

MARTIN-SMITH, K. M. Relationships between fishes and habitat in rainforest streams in Sabah, Malaysia. *Journal of Fish Biology*, v. 52, p. 458-482. 1998.

PERES NETO, P. R.; VALENTIN, J. L.; FERNANDEZ, F. *Tópicos em tratamento de dados biológicos*. Fish ecology. New York, Chapman & Hall. 212 p. 1995.

PINTO, B. C. T.; ARAÚJO, F. G. ; HUGHES, R. M. Effects of landscape and riparian condition on a fish index of biotic integrity in a large southeastern Brazil river. *Hydrobiologia*, v.55, p. 69-83. 2006.

SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. *Biometry; the principles and practice of statistics in biological research* . W. H. Freeman and Co., 3d. ed. San Francisco, p 887. 1995.

STRASKRABA, M. & J. G. TUNDISI, 1999. Reservoir Ecosystem Functioning: Theory and Application *In*. Tundisi, J. G & M. Straskraba (eds), *Theoretical Reservoir Ecology and its Applications*. International Institute of Ecology, Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers, São Carlos: 565-597. 1999.

TEIXEIRA, T. P., PINTO, B. C. T., TERRA, B. F., ESTILIANO, E. O., GRACIA, D. & ARAÚJO, F. G. Diversidade das assembléias de peixes nas quatro unidades geográficas do rio Paraíba do Sul. *Iheringia, Sér. Zool.*, v.95, n.4, p. 347-357. 2005.

VALENTIN, J. L. *Ecologia Numérica - Uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos*. Editora Interciência, 117 p. 2000.

## **CAPÍTULO II**

### **HISTOLOGIA DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES SILURIFORMES NO RESERVATÓRIO DA UHE DO FUNIL – RJ**

## RESUMO

DUARTE, Silvana. **Histologia de duas espécies dois peixes Siluriformes no reservatório de Funil e rio Paraíba à jusante da represa 220 f.** Tese de Doutorado em Biologia Animal, (Ciências Biológicas) Instituto de Biologia, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

O presente trabalho apresenta uma descrição do sistema digestório de duas espécies de peixes Siluriformes (*H. auroguttatus* e *P. maculatus*) de diferentes hábitos alimentares do reservatório da UHE Funil. Para a descrição da anatomia e histologia do esôfago, estômago, intestino e das glândulas anexas fígado e pâncreas são descritas para cada espécie. Fragmentos dos órgãos foram submetidos ao processamento histológico para inclusão em parafina e feita a microtomia. “Os órgãos de cada espécie foram fixados para avaliação anatômica macroscópica e fragmentos de tecidos foram processados para microscopia óptica, utilizando-se técnica histológica com inclusão de parafina”. Os cortes foram submetidos às técnicas rotineiras de desparafinização e hidratação (HUMASON,1972), tendo sido corados pelos seguintes métodos: a) Técnica de coloração Hematoxilina-Eosina para estudos panorâmicos de rotina; b) Técnica de coloração Ácida periódico-Schiff – PAS, para descrever as células mucosas e caliciformes; c) Técnica de coloração Azul de Alcian para mucopolissacarídeos e glicoproteínas (mucinas); e d) Técnica de coloração pelo Tricrômico de Gomori para visualizar as fibras da musculatura e as fibras colágenas. A anatomia do trato digestório das duas espécies é marcadamente diferenciada, o que está associado ao diferente hábito alimentar, com *H. auroguttatus* apresentando estômago com funções respiratórias e digestivas, e longo intestino associados à iliofagia. Por outro lado, *P. maculatus* apresentou estômago plástico, com funções digestivas, intestino curto, associado à onivoria com tendência à carnivoria.

**Palavras chaves:** Histologia, sistema digestório, Siluriformes, técnicas de coloração

## ABSTRACT

DUARTE, Silvana. 220 f. **Histology of digestive trate of two Siluriformes in UHE of the Funil reservoir and Paraíba do Sul river (jusant´reservoir).** Thesis (Doctorate in Animal Biology, Biological Sciences) - Institute of Biology, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

The present work shows a description of the digestive tract of two Siluriformes fishes (*H. auroguttatus* and *P. maculatus*) of different feeding habits from the UHE Funil reservoir, and try to associate eventual anomalies with environmental alteration. Anatomy and histology of esophagus, stomachs, intestine and the appended glands, liver and pancreas were described for each species. The slices cuts were submitted to routine techniques of deparafinnation and hydratation, and were stained by the following methods: a) Hematoxilina-Eosina stained for ordinarily panoramic studies; b) Periodic-Schiff Acid – PAS stained technique, for describing the mucous and caliciformes cells; c) Alcian Blue stained technique for both mucopolissacarids and glycoprotein (mucins); and d) Tricrômico Gomori stained technique for visualizing muscles. Anatomy of the digestive tracts of the two species is markedly differentiated, which is associated to different feeding habits, with *H. auroguttatus* showing stomach with respiratory and digestive function, and long intestine associated to iliophagy. On the other hand, *P. maculatus* show plastic stomach, with digestive functions and short intestine, associated to onivory with tendency to carnivory.

**Key Word:** Histology, system digestive, Siluriformes, techniques of coloration

## 1. INTRODUÇÃO

O sistema digestório de peixes pode refletir os hábitos alimentares e adaptação que a espécie experimentou ao longo e sua história evolutiva. Espécies iliófagas como o cascudo *H. auroguttatus* ingerem substrato formado por lodo ou areia, que por si só não representa um tipo de alimento. Associados aos substratos ocorrem os alimentos procurados (animal, vegetal ou detrito) sendo que esses peixes contam com um aparelho digestivo adaptado para selecioná-lo (ZAVALA-CAMIN, 1996). GNERI & ANGELESCU (1951) relacionaram os principais alimentos incluídos no lodo: 1 – organismos microscópicos de superfície; 2 – detrito de macroflora; 3 – detrito de fauna nectônica e bentônica; 5 – matéria coprogênica; 6 – detritos orgânicos e 7 – detrito inorgânico.

Por outro lado, espécies onívoras como o mandi *P. maculatus* são peixes que utilizam o alimento animal e vegetal vivo, em partes bastante equilibradas. No caso desta espécie há certo domínio de alimento de origem animal, com tendência à carnivoría. Os onívoros aproveitam a grande variedade de alimentos disponíveis em diversos locais, por esse motivo uma mesma espécie pode apresentar dieta diversificada, dependendo do local e da época do ano.

Uma descrição do canal digestivo é importante para associar as macro e micro-estruturas como inferências à alimentação, desde a captura, quebra do alimento, digestão e absorção. Adicionalmente, podem ser descritas variações nas estruturas associada a eventuais patologias, decorrentes de alteração ambiental ou exposição a poluentes (ALBRECHT *et al.*, 2001)

A morfologia do trato gastrointestinal tem sido descrita em várias espécies de peixes (KHANNA & MEHROTRA 1971; KAPOOR *et al.*, 1975; TIBBETS 1997), despertando considerável interesse pelas amplas variações tanto na forma quanto nas funções, como reflexo da elevada diversidade deste grupo zoológico, e suas diferentes posições na cadeia trófica. Apesar das diferenças interespecíficas no trato gastrointestinal, semelhanças estruturais básicas são comuns dentro do grupo (DIAZ *et al.*, 2003). Em algumas espécies as diferenças estão proximamente relacionadas com a natureza do hábito alimentar, tamanho do corpo e sexo (KAPOOR *et al.*, 1975; SMITH, 1989). O conhecimento de hábito alimentar em peixes é de fundamental importância no delineamento da estrutura trófica do ecossistema bem como do nível trófico ocupado pelas espécies (FUGI & HAHN, 1996).

Alguns trabalhos têm sido realizados sobre anatomia do sistema digestório de peixes neotropicais onívoros e iliófagas. MENIN & MIMURA (1992) compararam as características

da anatomia funcional do gênero *Pimelodus*; as pregas espessas na região do estômago têm a função de armazenar grandes volumes de alimento ingerido por estes peixes. GODINHO *et al.*, (1970) caracterizaram a histologia do trato digestivo de *P. maculatus*, tendo salientado a presença de células mucosecretoras na mucosa. OLIVEIRA E SILVA *et al.*, (1965), PODKOWA & GONIAKOWSKA-WITALINSKA (2003) descreveram histologia do trato digestório do gênero *Hypostomus*, enfatizando a função respiratória do estômago.

Nos Siluriformes ocorre uma variabilidade de posição ocupada pelo pâncreas nos teleósteos, de acordo com (YOUSSON, 2006) o “órgão ilha” dos peixes raiados (ray-finned) é geralmente localizado dentro do mesentério que conecta o intestino, estômago, fígado e bexiga gasosa. Como observado acima, a maior variação é o grau de concentração do tecido. Por exemplo, no actinopterygíio “basal”, o bowfin (*Amia calva*), as ilhotas são de tamanho variável e estão dispersas no mesentério entre o intestino e o estômago e estendida através do ponto onde o ducto biliar extrahepático entra no fígado. Em teleósteos como o *Osteoglossomorpha* o “tecido ilha” pode ser mais compactado próximo ao ducto biliar extrahepático e à base dos cecos pilóricos.

O reservatório da UHE Funil, um ambiente com elevado nível de eutrofização e que sofre forte pressão antrópica na bacia do rio Paraíba do Sul, por se distribuir ao longo de uma região bastante industrializada e de grandes adensamentos populacionais. Alterações ambientais têm sido refletidas em modificações nos processos fisiológicos que ocorrem no trato digestório dos peixes. Os centros melano-macrofágicos (CMMs) ou agregados macrofágicos usualmente circundam a região de absorção (artéria/veia) e excreção (região biliar) do fígado, estando associados à ação de metabolismos de compostos tóxicos (DIAZ *et al.*, 2005) porém, informações sobre a distribuição composição e mecanismos que alteram a dinâmica destes grânulos intracelulares nos CMMs são escassas. Além do fígado estes agregados foram encontrados no pâncreas compacto e difuso.

O presente trabalho visa caracterizar a histologia do sistema digestório de *H. auroguttatus* e *P. maculatus* tentando associar ao hábito alimentar.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Descrever a histologia do sistema digestório de dois peixes Siluriformes, tentando associá-la com o hábito alimentar.

### **2.2. Objetivos Específicos**

1. Descrever a histologia do trato alimentar que serve como compartimento para assimilação do alimento
2. Descrever a anatomia e histologia as glândulas anexas que funcionam auxiliando os processos metabólicos de substâncias orgânicas e inorgânicas contidas dentro do tubo digestivo.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Mensuração e fixação do material**

Foram utilizados para descrição histológica 32 exemplares de *H. auroguttatus* na área do reservatório e sete do rio; e 37 exemplares de *P. maculatus* do reservatório e 15 do rio, totalizando 91 Siluriformes. Em relação ao fígado, 28 exemplares foram examinados dos 91 Siluriformes, sendo 18 de *P. maculatus* (16 reservatório e 2 do rio) e 10 de *H. auroguttatus* (9 do reservatório e 1 do rio).

Os peixes foram sacrificados por hipotermia/comoção cerebral e imediatamente necropsiados, efetuando-se uma incisão ventral a partir da região anal e removendo as vísceras em conjunto, fixadas pelo período de 8 horas. As soluções fixadoras utilizadas, à temperatura ambiente foram o formol a 10% para estudos anatômicos, e o líquido de Bouin, ácido glacial colocado posteriormente, para estudos histológicos, tendo os espécimens sido, transferidos após 9 horas para o álcool 70%.

As técnicas histológicas de rotina encontram-se no protocolo no ANEXO 1.

### **3.2. Análise histológica do aparelho digestivo**

As lâminas foram observadas com auxílio de microscópio óptico triocular Olympus B-MAX 50 – III, dando ênfase à: a) estrutura geral do epitélio que reveste o tubo digestivo; b) ocorrência e distribuição das glândulas unicelulares – células mucosas e caliciformes; estrutura das glândulas anexas; c) predominância da presença e distribuição de estruturas que pudessem indicar patologias (CMMs; vacuolização, necrose).

### 3.3. Fotografias e fotomicrografias

Todas as lâminas foram observadas com microscópio Olympus Dx, objetiva 20X e fotomicrografias foram feitas com câmera digital Nikon Colpix 4300 com: 2272 X 1704 pixels.

Fotos macroscópicas foram feitas com máquina fotográfica Zenit 200 e filme Kodak – Gold Plus – 100, cujas fotografias utilizadas para caracterizar as espécies e para demonstrar os órgãos que compõem o aparelho digestivo.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 *Hypostomus auroguttatus*, Kner 1854

#### 4.1.1. Sistema digestório

A anatomia do sistema digestório de *H. auroguttatus* possui três peculiaridades: externamente a boca ventral suctória (ventosa) é formada por lábios grossos, com um par de barbilhões curtos; internamente o estômago e o intestino se destacam pela função e forma respectivamente (Figura 26 A). O estômago, além de função digestiva (Figura 26 B) desenvolve a hematose. O longo intestino que compartimentaliza-se enrodilhando-se; o final do intestino fica à esquerda da cavidade visceral. O intestino é longo, típico de herbívoros e iliófagos (Figura 26 A).

O resultado do cálculo da relação do comprimento total do intestino com comprimento do corpo padrão de *H. auroguttatus*  $1,40 \pm 0,19$ . A diferença significativa  $p < 0,05$ .

O fígado é formado por um par de lobos, comumente de coloração vinho viscoso e; prende-se a um septo transverso e deste ponto dirige-se para trás. Toda a massa do órgão achata-se na cavidade pericárdica, sendo difícil, a um simples exame, estabelecer qualquer delimitação; devido ao arranjo interno das vísceras: a gônada de fêmea madura e o intestino longo. Unidos por um curto mesovário na porção caudal, as gônadas da fêmea amadurecem no sentido contrário à posição do fígado, ocupando um grande tamanho e volume (Figura 26C). O intestino, por sua vez, seu comprimento e compartimentação pesa sobre as vísceras, inclusive o fígado. Portanto a compressão e o peso sofrido por esta glândula fazem com que ela tenha a forma achatada e pouco volumosa (Figura 26 C; 26 D).

#### **4.1.2. Histologia de sistema digestório**

##### **Esôfago**

A mucosa do esôfago apresentou muito pregueada (Figura 27.1), longitudinalmente revestida, incluindo células mucíparas (Figura 27.2; 27.3). Estas predominam sobre as células superficiais de revestimento pelo tamanho. O tecido conjuntivo da lâmina própria da mucosa é abundante, com muitas fibras, permitindo grandes pregas dessa membrana sem alteração na forma da túnica muscular externa. A camada muscular é constituída por fibras estriadas.

##### **Estômago**

A parede do estômago é muito delgada em comparação com o esôfago. As três regiões: cárdica, fúndica, pilórica, são caracterizadas pela forma e volume e, pela ausência ou pela presença, de vasos sanguíneos na submucosa. A camada submucosa é formada pelo tecido conjuntivo frouxo, vasos sanguíneos plexos nervosos. A região cárdica caracterizada por ser a maior porção do estômago aparentemente mais respiratória que digestiva, onde as criptas são mais raras e tornam-se rasas, com nítida predominância de capilares. Na região fúndica há criptas rasas e superficiais (Figura 27.4).

Na região pilórica desaparecem as criptas gástricas assim como a área respiratória. Não foram observadas glândulas gástricas na mucosa. O estômago apresenta uma mucosa (é fúndica), revestida por epitélio simples cilíndrico, com criptas epiteliais predominantes na região fúndica. A lâmina própria é composta por tecido conjuntivo propriamente dito e muscular da mucosa bem desenvolvida. A submucosa possui um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado (Figura 27.5) estando em continuidade com a área respiratória.



**Figura 26. Anatomia do sistema digestório de *Hypostomus auroguttatus* Kner, 1854**

**Figura A**

Vista do esôfago (seta vermelha) e estômago (inflado com salina 9%) de *H. auroguttatus*, dividido em três regiões: cárdia (seta vermelha hachurada), fúndica (linha preta hachurada) e pilórica (seta preta).

**Figura B**

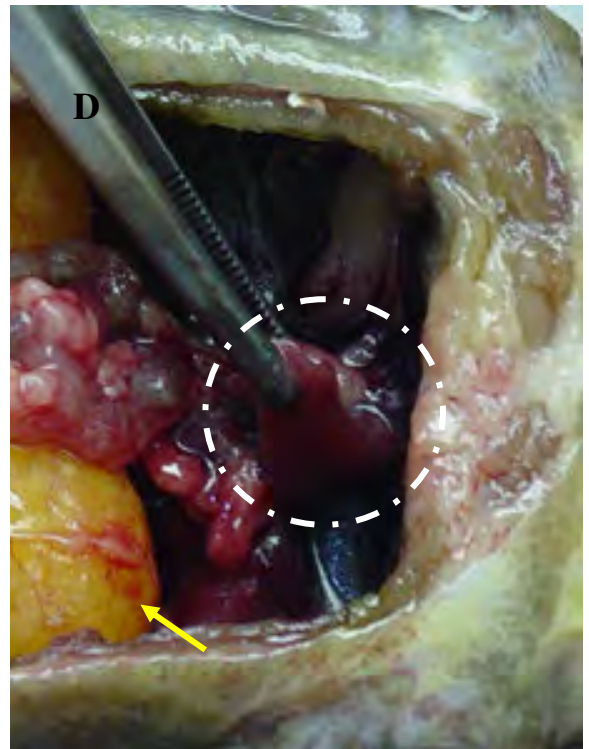
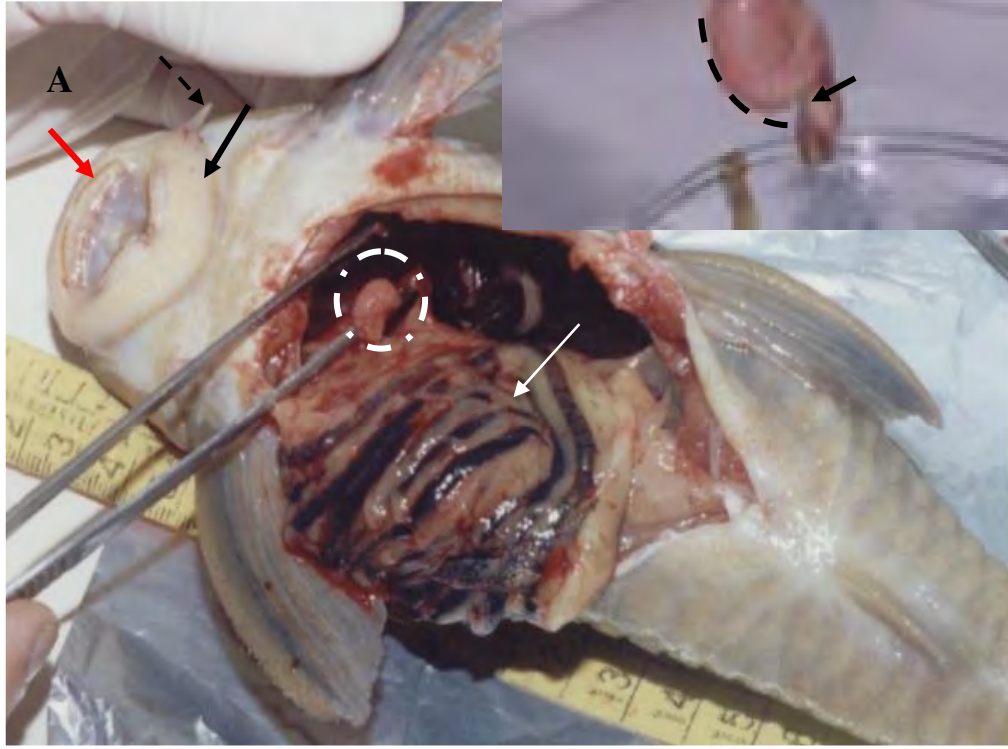
Sistema digestório de *H. auroguttatus* destacando o estômago vazio (hachurado branco) e o intestino enovelado (seta branca). Os dentes (seta vermelha) são circundados por lábios espessos - ventosas (seta preta) e um par de barbilhões laterais curtos (seta hachurada).

**Figura C**

O peso do intestino (seta branca) e da gônada (seta amarela) contribui para que o fígado bilobado seja achatado e menos volumoso (hachurado de branco).

**Figura D**

O fígado é achatado e menos volumoso (hachurado de branco), perto da gônada feminina (seta amarela).



## **Intestino**

O intestino é subdividido em segmentos proximal, médio e distal. A região do segmento médio do intestino é bastante pregueada. Esta região é responsável pela absorção de macromoléculas de proteínas.

Possui uma camada mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 27.1). A camada mucosa é revestida por um epitélio simples formado por células cilíndricas altas com planuras estriadas e células caliciformes (Figura 27.6; 27.7). Não foram observadas glândulas intestinais em nenhum segmento do intestino. A submucosa constituída por tecido conjuntivo acompanha as vilosidades, onde se observam as fibras musculares da muscular da mucosa (Figura 27.8).

A camada muscular possui duas camadas: a interna, de fibras circulares, é duas a três vezes mais espessa que a externa, cujos elementos dispõem-se longitudinalmente. Por fora na serosa é observado as células mesoepiteliais, constituindo lâmina muito fina (Figura 27.8).

## **Glândulas Anexas**

### **1. Fígado**

No parênquima hepático de *H. auroguttatus* não há cápsula de revestimento (Figura 28.1). As células ficam justapostas, formando uma margem, sem haver um tecido definido delimitando-o. Com a técnica de coloração pela hematoxilina-eosina o parênquima se apresenta homogêneo e basófilo, porque não se consegue distinguir lóbulos; os núcleos das células que compõem o tecido ficam fracamente roxos. Estas células, os hepatócitos, formam placas celulares que constituem o fígado. A placa vascular é formada pelos sinusóides anastomosados (Figura 28.2). Consegue-se distinguir a artéria hepática da veia hepática, pelo lúmen da primeira que é destituída de células sanguíneas. O ducto biliar é formado pelas células epiteliais cúbicas (Figura 28.4).

As células hepáticas do sistema reticulo-endotelial, como a de Kupffer, não foram identificadas pelas técnicas de coloração. Por outro lado, uma categoria especial de macrófagos, os melano-macrofágicos (CMMs) foram comuns. Com tamanho e número variados, estes macrófagos concentraram-se formando centros na periferia e na porção portal. São logo reconhecidos pelos seus grânulos citoplasmáticos, no caso, grânulos de melanina, que se apresentam de cor amarelo ocre e amarronzados (Figura 28.3; 28.4).

## **2. Pâncreas: compacto**

A estrutura básica do pâncreas é compacto em *H. auroguttatus* e fica próximo do baço (Figura 28.5). Nas porções exócrinas, caracterizadas pela forte basofilia, há duas células típicas: as células acinosas que se agrupam e formam lóbulos acinosos e, as células centroacinosas, ligando a sua parte basal a um ducto pancreático. A parte endócrina é formada pelas ilhotas de Langerhans (Figura 28.6). Delimitando a parte exócrina do pâncreas encontra-se uma cápsula de tecido conjuntivo extremamente delicado, que envia septos para o seu interior dividindo a glândula em lóbulos onde inserem os adenômeros. Não se conseguiu observar pâncreas difuso em *H. auroguttatus*.

**Figura 27. Fotomicrografia do esôfago, estômago e intestino**

*Hypostomus auroguttatus* Kner, 1854.

**ESÔFAGO** - Escala = 50  $\mu\text{m}$

- 1 . Observar a formação de pregas composta por epitélio estratificado (ep), lâmina própria (lp), camada submucosa e camada muscular (cm) - ( HE);
- 2 . Células superficiais de revestimento (cr) e as células mucosas (mu) - ( HE);
- 3 . Células superficiais de revestimento (cr) e as células mucosas (setas) - (AB).

**ESTÔMAGO** - Escala = 50  $\mu\text{m}$

- 4 . Região fúndica: ocorre o aumento da camada mucosa, o epitélio (ep) é formada por criptas gástricas como ocorre no detalhe - ( HE);
- 5 . Região cárdia: uma delgada camada mucosa (cm) e uma área respiratória bem desenvolvida. Camada submucosa com inúmeros vasos sanguíneos, no detalhe, um vaso com hemáceas nucleadas. - (HE);

**INTESTINO** - Escala = 50  $\mu\text{m}$ ;

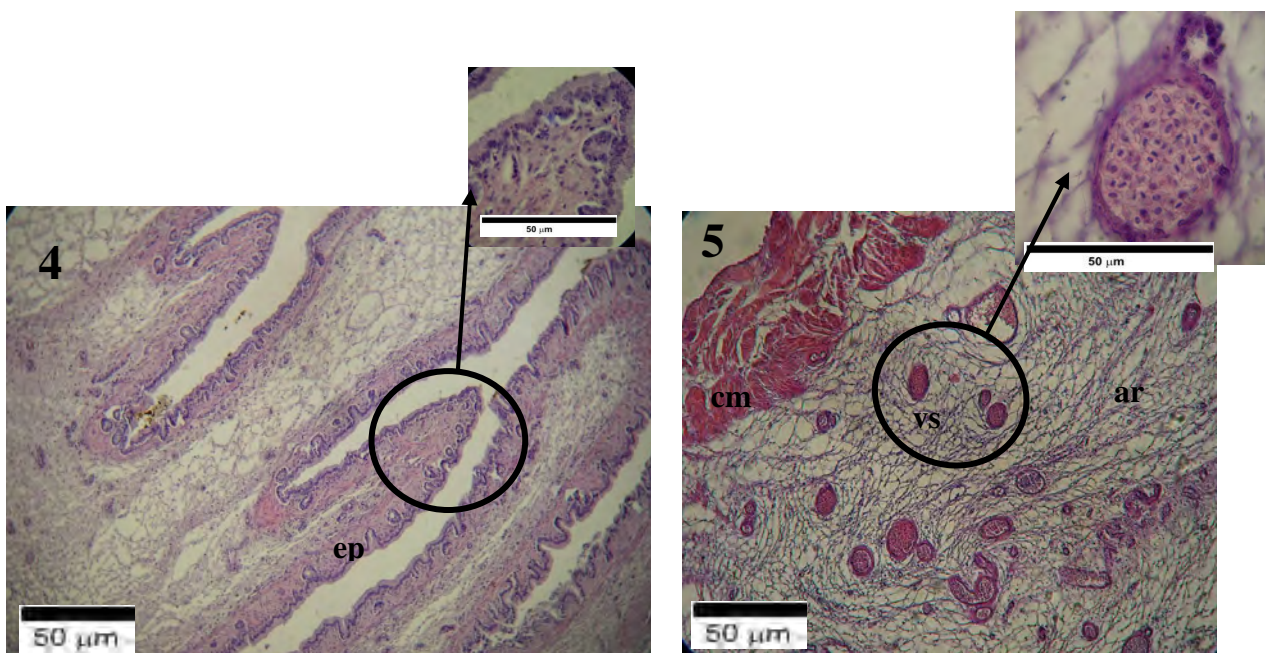
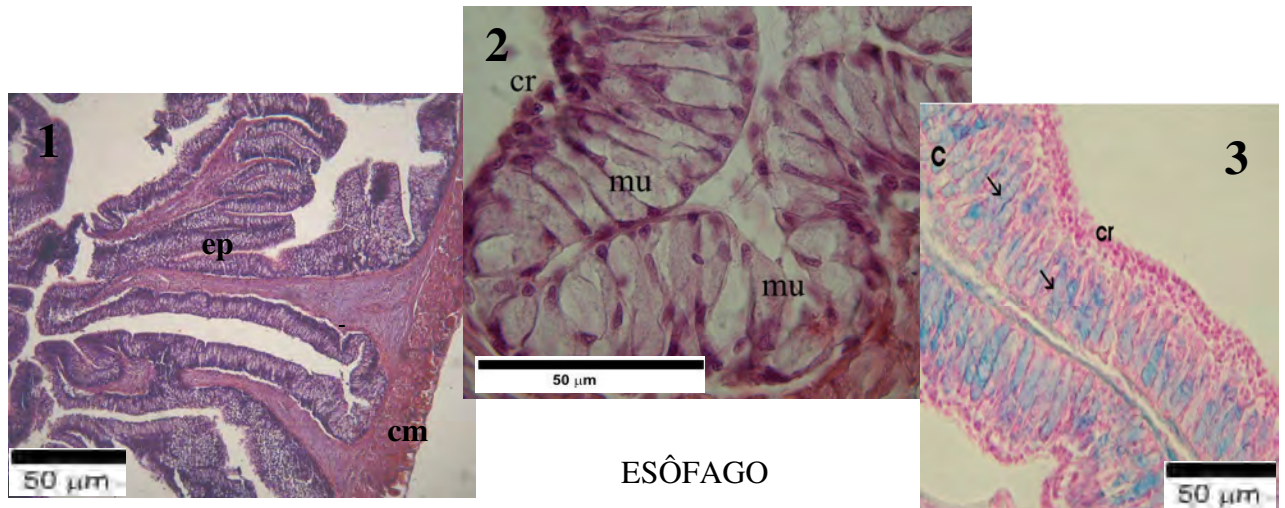
- 6 . Intestino com vilosidade revestida com células caliciformes (cc). (AB).
- 7 . Camada mucosa com epitélio intestinal com células caliciformes (cc), no lúmen (lm). (TG).
- 8 . Prega Intestinal com serosa (s), camada muscular (cm). As células claviformes (cv) que circundam a lâmina própria (lp) e planura estriada (círculo hachurado); os restos alimentares (ra) encontram-se no lúmen. (HE)

**LEGENDA**

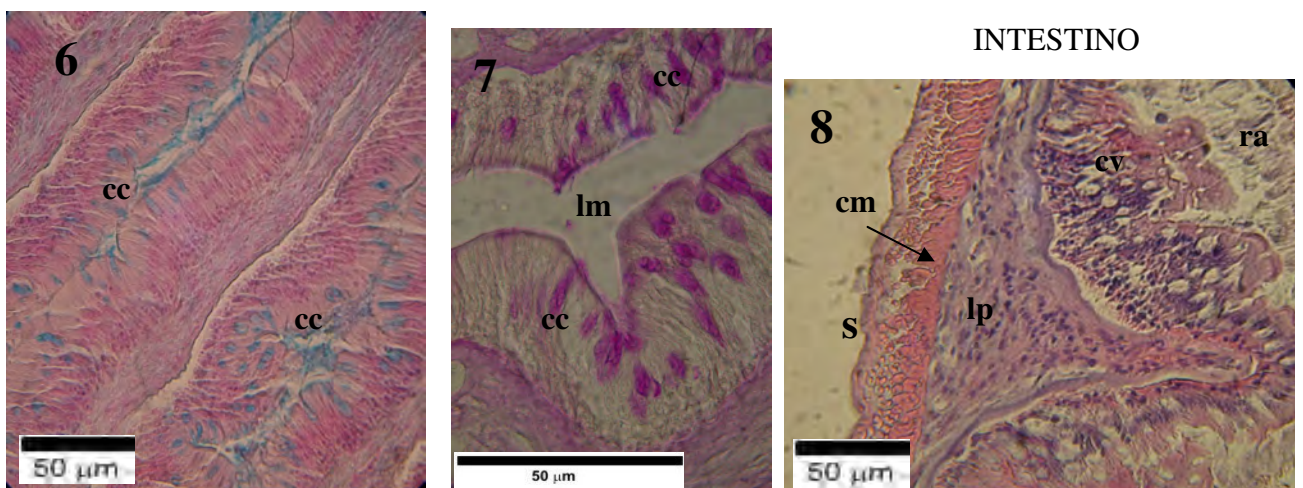
- EP . epitélio estratificado;
- LP . lâmina própria
- SM . camada submucosa
- CM . camada muscular
- CC . célula caliciforme
- CR . camadas superficiais de revestimento
- MU . células mucosa
- CC . células caliciformes
- Lm . lúmen
- AR . região aérea
- VS . vasos sanguíneos



Histologia do esôfago, estômago e intestino de *H. auroguttatus*



ESTÔMAGO



## Figura 28

### Fotomicrografia do fígado e pâncreas de *Hypostomus auroguttatus* Kner, 1854

#### FÍGADO - Escala = 50 µm. HE

1. Porção limítrofe do parênquima hepático sem membrana fibro conectiva (não evidencia revestimento na borda);
2. Corte transversal mostrando porção parcial do parênquima hepático com veia e hepatócitos;
3. Área vascular no parênquima hepático – artéria (a)/veia (v) hepática; notadamente com centros melanomacrofágicos de coloração amarelo ocre (setas amarelas) ficam na porção portal;
4. No detalhe, os centros melanomacrofágicos de coloração marron (seta amarela), que estão juntos à artéria hepática (a) associada ao ducto biliar (db) e a veia hepática (v) lembram uma tríade portal;

#### PÂNCREAS - Escala = 50 µm. HE

5. Parênquima esplênico contendo os centros melanomacrofágicos (seta amarela), sendo margeado no campo superior direito pelo pâncreas compacto;
6. Parênquima pancreático mostrando a porção exócrina (ex) e endócrino (en), com ilhotas de Langerhans (seta vermelha).

#### LEGENDA

pH . parênquima hepático;

a . artéria hepática

v . veia hepática

db . ducto biliar

Seta preta hachurada . hepatócito

Círculo preto hachurado . pâncreas

EN . porção endócrina do pâncreas

EX . porção exócrina do pâncreas

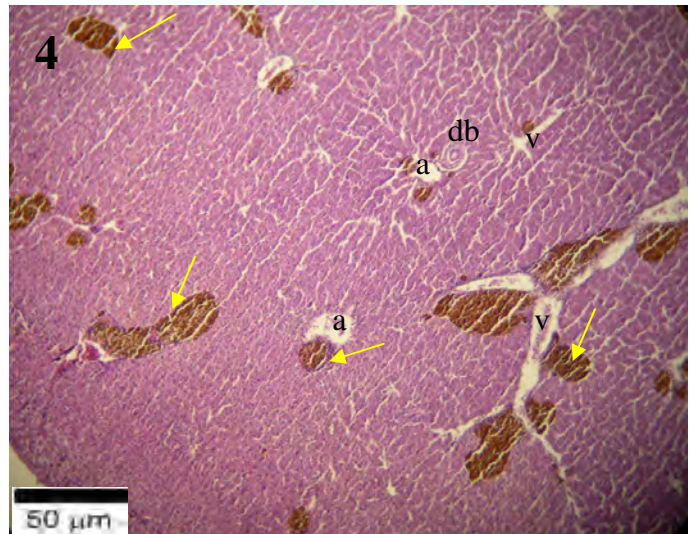
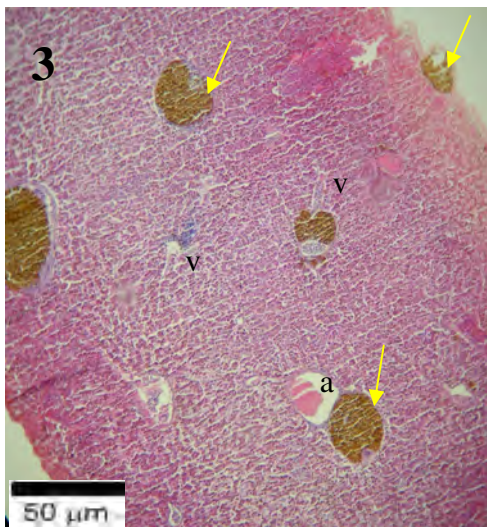
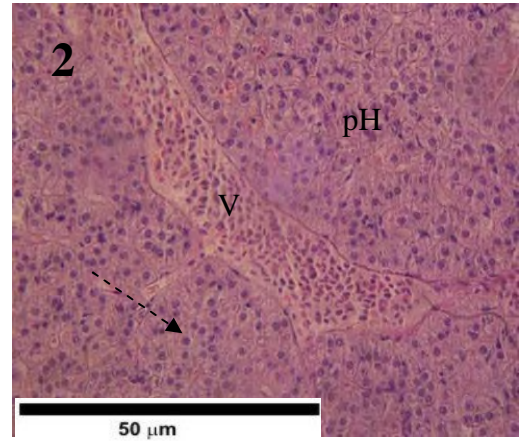
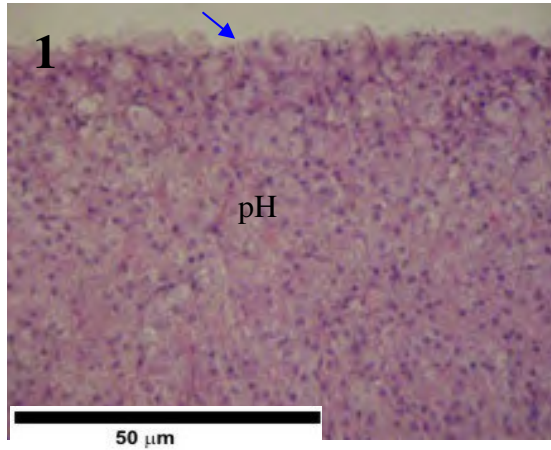
Setas amarelas . CMMs

Seta vermelha . ilhota de Langerhans

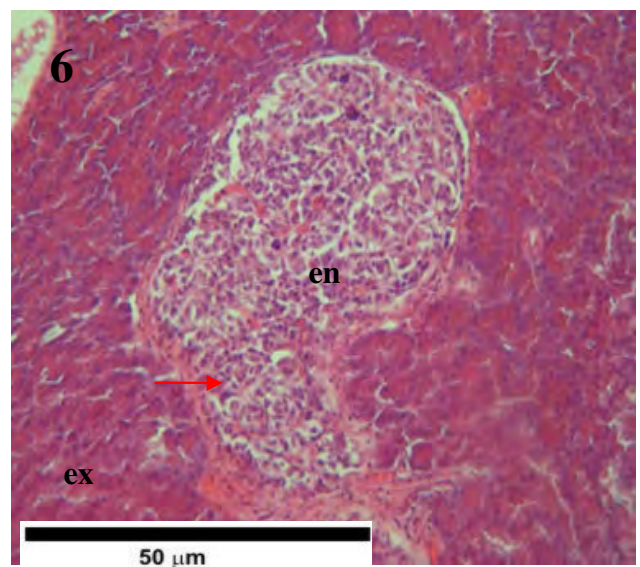
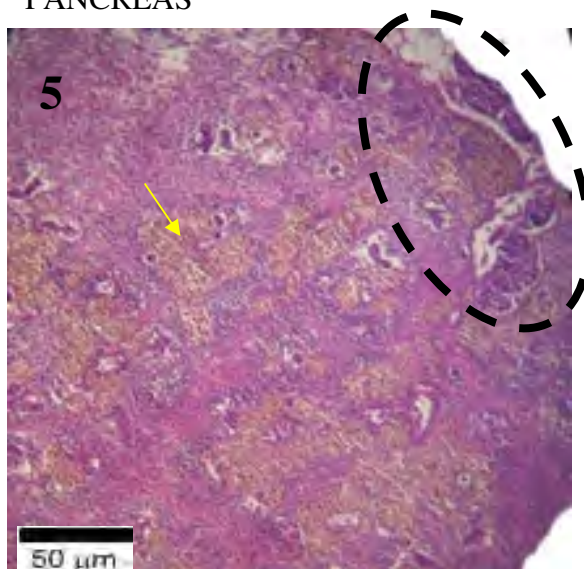


Histologia do fígado e pâncreas de *H. auroguttatus*

FÍGADO



PÂNCREAS





## **4.2. *Pimelodus maculatus* Lacèpède, 1803**

### **4.2.1. Sistema digestório**

Internamente o sistema digestório de *P. maculatus* (Figura 39A) apresenta o estômago como um órgão espesso que aumenta muito o tamanho quando está cheio. O intestino é curto. A plasticidade do estômago e o tamanho do intestino são indicações do hábito alimentar onívoro de *P. maculatus* com tendência a carnivoraria; a figura mostra comportamento ictiofágico (Figura 29B).

O fígado é bilobado e de fácil localização e toda a massa do órgão prende-se a um septo transversal e deste ponto dirige-se para trás. Normalmente é viscoso e volumoso, isto faz com que sobressaia sobre o arranjo interno às outras vísceras; podendo variar a coloração (Figura 29B; Figura 29C), durante todo o ciclo de vida do animal.

O pâncreas de *P. maculatus* foi observado na sua forma compacta e difusa. A forma compacta localiza-se na junção entre o estômago e na porção cranial do intestino médio, aderido a parede do tubo (Figura 29B); a difusa foi encontrada no fígado (intra-hepático) e no baço (intra-esplênico) e no do mesentério por uma extensão longitudinal.

A vesícula biliar também foi descrita através da histologia, pela presença de ductos biliares no fígado.

### **2.2.2. Histologia do sistema digestório.**

Esôfago.

Na musculatura, é notadamente observada, a transição do esôfago para estômago através da abrupta mudança do epitélio estratificado pavimentoso para o epitélio simples cilíndrico (Figura 30.1). A região cranial do esôfago, a estratificação do epitélio é mais notada, com maior número de pregas longitudinais e células claviformes (Figura 30.2) quando comparado com a região caudal. Na túnica mucosa do esôfago, similarmente à da cavidade bucofaríngea nas pregas longitudinais, o elemento com predominância neste epitélio foram as células mucosetoras, as quais se dispuseram de forma homogênea aumentando ao longo de todo o epitélio (Figura 30.2; Figura 30.3). A serosa é fina, composta por epitélio simples pavimentoso.

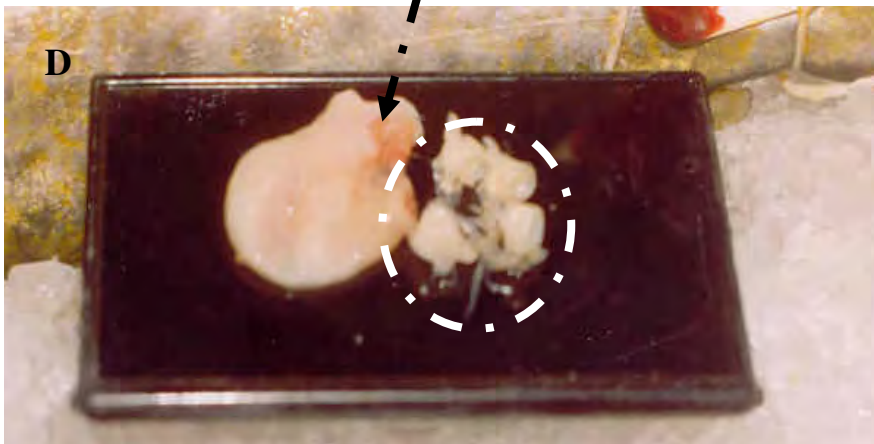
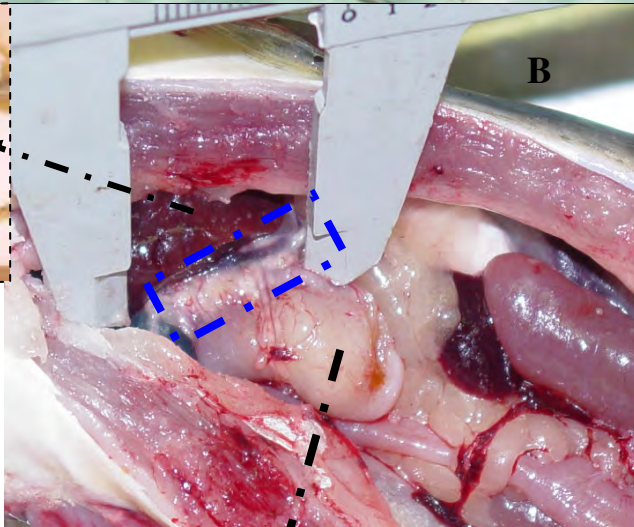
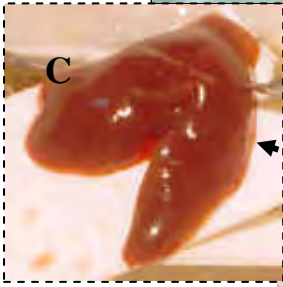
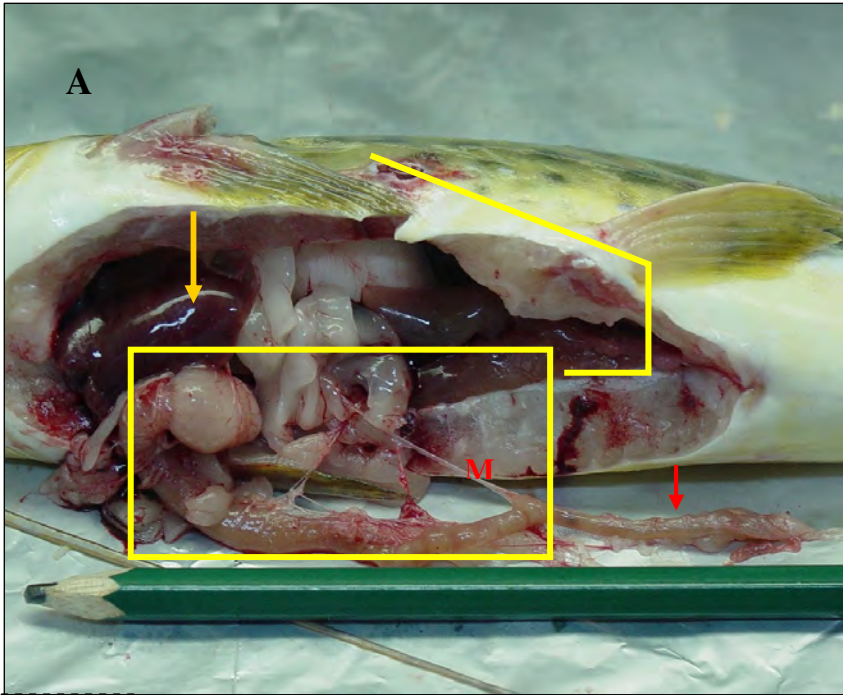
**Figura 29. Anatomia do sistema digestório *Pimelodus maculatus* Lacèpède, 1803**

**A.** Vista parcial da cavidade visceral com o sistema digestório: a) fígado (↓); b) estômago e intestino médio anterior ( ); mesentério (M) c) intestino posterior. (↓).

**B.** Vista parcial da cavidade abdominal do pâncreas – massa esbranquiçada (linha hachurada azul).

**C.** O fígado bilobado, porém levemente assimétrico e volumoso, com cor vinho viscoso.

**D.** Detalhe mostrando conteúdo do estômago (círculo hachurado branco), com tendência a carnivoría observada através das vértebras de peixe encontrada no estômago de *P. maculatus*.



Os testes histoquímicos revelaram uma intensa reação das células mucosecretoras ao PAS (Figura 30.3) .

#### Estômago.

É dividido em regiões cárdica, fúndica e pilórica. A Fig. 30.4, a transição entre a lâmina própria e a túnica submucosa é demarcada pela presença de uma muscular da mucosa. A túnica muscular na região pilórica contém duas camadas de músculo liso: uma circular interna e outra longitudinal externa. Na região pilórica observaram-se três camadas, sendo uma oblíqua mais internamente. Externamente, o estômago é recoberto por uma serosa. A lâmina própria possui glândulas tubulares gástricas (Figura. 30.5) constituídas por células chamadas de oxintopépticas, as quais se abrem nas criptas das pregas da mucosa, sendo predominantes na porção fúndica, e tornando-se escassas na região pilórica. Os testes histoquímicos revelaram uma forte reação positiva ao AB e PAS apenas na superfície apical das células epiteliais (Figura 30.6).

#### Intestino

No duodeno, abre-se o canal do colédoco cuja mucosa é revestida por um epitélio simples cilíndrico sem células caliciformes, seguidos por uma lâmina própria e uma camada muscular bem definida (Figura 30.7). A mucosa apresenta vilosidades. O epitélio é simples cilíndrico com planura estriada e células caliciformes (Figura 30.8) mais numerosas no duodeno. Estas células se apresentam fortemente coradas tanto pelo método do PAS quanto AB (Figura 30.9).

**Figura 30.**

**Fotomicrografia do esôfago, estômago e intestino de *Pimelodus maculatus* Lacèpède, 1803**

**ESÔFAGO** - Escala = 50 µm.

1. Abrupta transição do epitélio estratificado (ce) esofágico para cilíndrico simples (cs) do estômago. Lúmen (lm). (HE);
2. Epitélio esofágico com célula mucosecretora (cm) e células claviformes (cv) sob as pregas (p) apoiada na lâmina própria (coloração verde) (TG);
3. Reação moderada das células mucosecretoras (cm) e claviforme (cv) (AB);

**ESTÔMAGO** - Escala = 50 µm.

4. Observação parcial do estômago mostrando a túnica mucosa, submucosa, muscular da mucosa e serosa; (TG);
5. Lâmina própria da região fúndica com glândulas tubulares ramificadas – oxinticopéticas; (HE)
6. Fossetas bem pronunciadas da região (PAS).

**INTESTINO** – Escala = 50 µm.

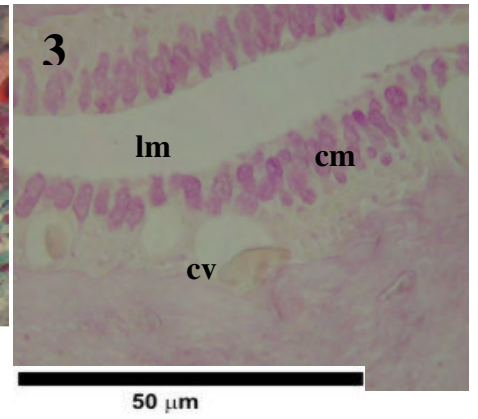
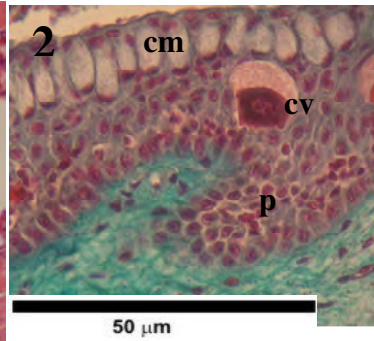
7. Túnica submucosa apresentando o canal do colédoco (cd) com epitélio pseudoestratificado sem células caliciformes e camada muscular (círculo hachurado); (HE)
8. A reação intensa das células caliciformes (cc) demonstra a sua dominância ao epitélio intestinal; também é notada a forma de cálice ou gota; (TG)
9. A reação intensa das células caliciformes (cc) também é demonstrada a sua dominância no epitélio intestinal (PAS).

**LEGENDA**

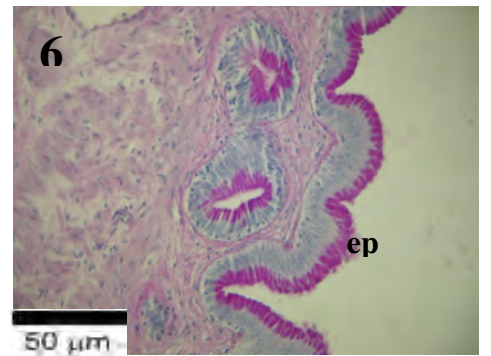
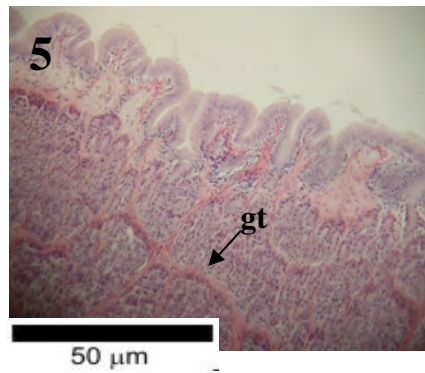
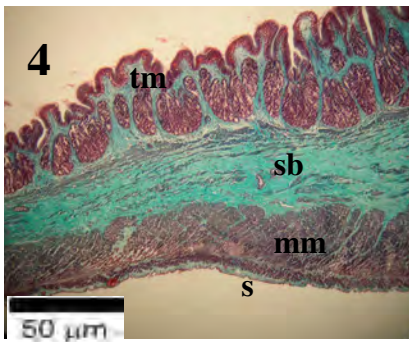
|  |                                    |
|--|------------------------------------|
|  | CD. colédoco                       |
| CS. epitélio cilíndrico simples        | Círculo hachurado preto. Intestino |
| CE . epitélio cilíndrico estratificado | CC . células caliciformes          |
| GT . glândulas tubulares ramificadas.  | AD . adenômero                     |
| TM . túnica mucosa                     | CM. células mucosecretoras         |
| SM . túnica submucosa                  | CV. células claviformes            |
| TM . túnica muscular                   | Lp .lâmina própria                 |
| S. serosa                              | P .pregas                          |



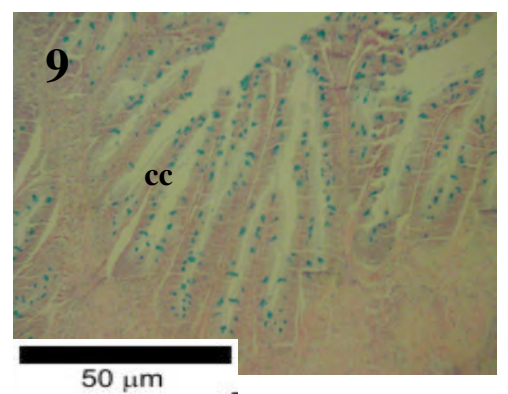
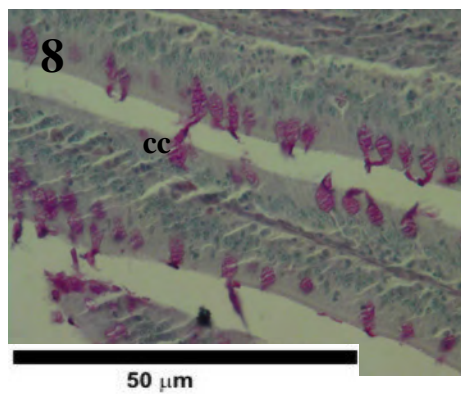
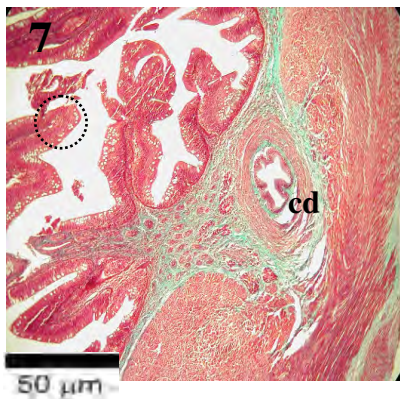
Histologia do esôfago, estômago e intestino de *P. maculatus*



ESÔFAGO



ESTÔMAGO



INTESTINO

## **Glândulas Anexas**

### **1. Fígado**

No parênquima hepático de *P. maculatus* há uma cápsula de revestimento, formado por um tecido fibroconectivo (Figura 31.1). A porção portal encontra-se artéria hepática (Figura 31.2), veia hepática (Figura 31.3) e tubos bilíferos isolados em todo o parênquima hepático que é homogêneo e basófilo. À parte de absorção (vascular) e excreção (bilífera) é composta por numerosos hepatócitos que formam cordões, que se ramificam anastomosando-se; os sinusóides estão radialmente dispostos. Os CMMs de *P. maculatus* provavelmente, constituídos de lipofuccinas, de coloração amarelo ocre também apresentaram tamanho e número variados na porção portal e periferia de parênquima hepático (Figura 31.3; Figura 31.4). A região vascular invadida por parasitos oportunistas, é também um local propício para os CMMs (Figura 31.5).

### **2. Pâncreas**

#### **Compacto**

O parênquima da forma compacta do pâncreas de *P. maculatus* é constituído de adenômeros, dispostos sobre a membrana basal. Os adenômeros circunvizinham o ducto colédoco formado por fibras musculares lisas (Figura 32.1). O citoplasma das células mostra forte basofilia na porção basal e nítida acidofilia na apical, é visível uma clara distinção de cores rosa-arroxeadas. Os ductos pancreáticos compõem o seio destas estruturas endócrinas. São vistas células acinosas na porção exócrina do pâncreas compacto. (Figura 32.2).

#### **Difuso: intra-hepático**

O pâncreas difuso foi encontrado no fígado. Não havendo uma tríade portal verdadeira no parênquima hepático de *P. maculatus*, freqüentemente o tecido exócrino é encontrado circulando a artéria hepática. O tecido pancreático pode ser facilmente diferenciado do tecido hepático pela organização dos ácinos e pela mancha característica com a técnica de hematoxilina e eosina. Uma fina dobra de camada de

**Figura 31. Fotomicrografia do fígado de *Pimelodus maculatus* La Cèpède, 1803**

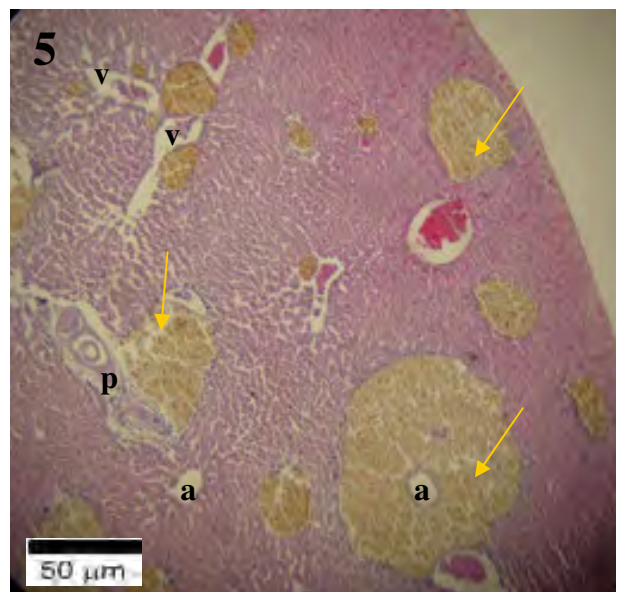
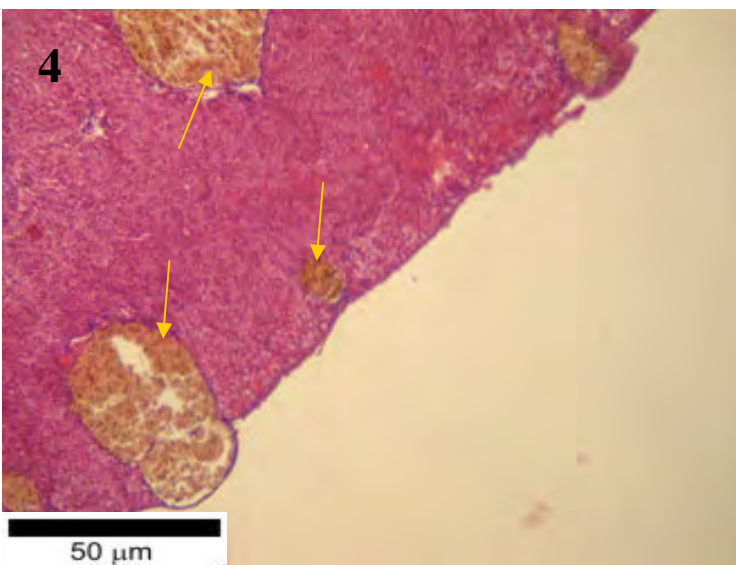
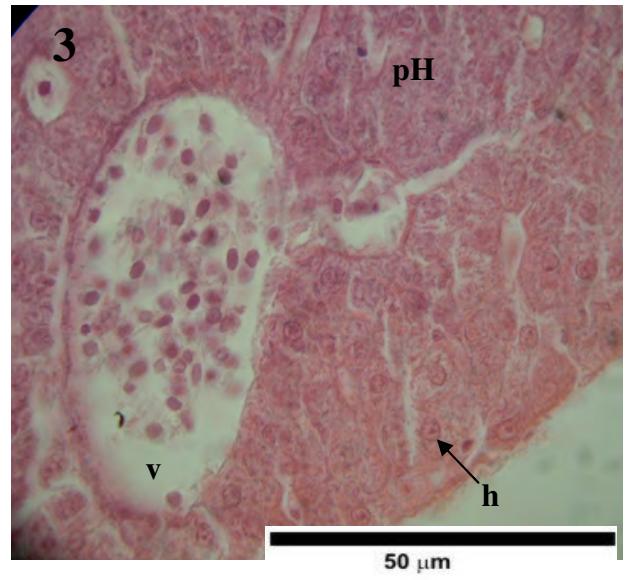
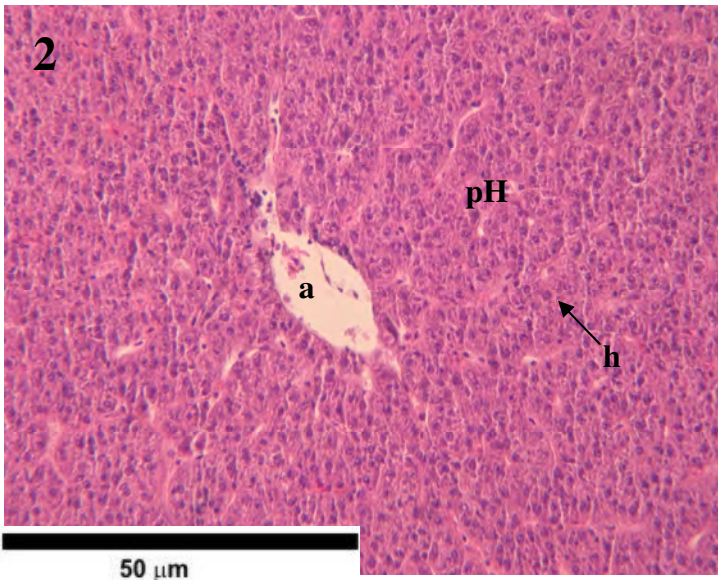
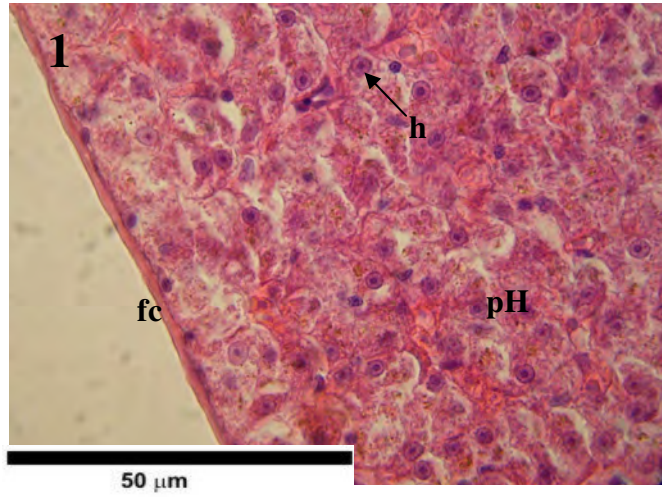
1. Parênquima hepático (pH) sendo delimitado pelo revestimento fibroconectivo (fc); os hepatócitos (h) que compõem o tecido hepático, possuem o núcleo basófilo. Escala = 50  $\mu$ m. HE
2. Visão parcial do parênquima hepático (pH) onde é notadamente observado os cordões hepatócitos (h) anastomosados que irradiam da artéria hepática (a). Escala = 50  $\mu$ m. HE
3. Veia hepática (v) contendo hemácias nucleadas no parênquima hepática (pH), onde os hepatócitos (h) são visivelmente observados. Escala = 50  $\mu$ m. (HE)
4. Visão geral dos centros melanomacrofágicos (setas amarelas) na porção portal e periférica do parênquima hepático. Escala = 50  $\mu$ m.(HE).
5. Visão geral dos centros melanomacrofágicos (setas amarelas) entre veias (v) e artérias (a), no detalhe um parasita (p) no parênquima hepático. Escala = 50  $\mu$ m. (HE).

LEGENDA

- pH. parênquima hepático;
- p. parasito
- A . artéria hepática
- V. veia hepática
- FC . Revestimento fibroconectivo
- DB . ducto biliar
- Seta amarela . CMMs



Histologia do fígado e pâncreas de *P. maculatus*



tecido conjuntivo separa as células pancreáticas exócrinas. Os lóbulos acinosos são observados no parênquima (Figura 32.3). A célula centroacinososa e os tubos intercalados formam um sistema de liberação primário para as enzimas pancreáticas. Estes ductos primários combinam-se para formar ductos pancreáticos interlobulares maiores (Figura 32.4).

### **Difuso: intra - hepático**

#### **Pâncreas difuso: mesentérico**

Estes ductos pancreáticos maiores também têm uma serosa mesotelial quando ocorrem extrapancreaticamente, como ocorre no mesentérico de *P. maculatus*. Pela forte basofilia dos adenômeros, fica fácil observar a disposição do pâncreas exócrino entremeado no mesentérico (castanho claro). Próxima à porção endócrina, há ductos pancreáticos que aparecem próximo (ou circundando) aos vasos sanguíneos ou condutos biliares (Figura 32.5). Apresentam as mesmas características descritas anteriormente, não tendo sido observados ductos excretores.

#### **Pâncreas difuso: intra-esplênico**

No parênquima esplênico, a cápsula de tecido conjuntivo denso, a qual emite trabéculas que se dividem em compartimentos incompletos, o pâncreas intra-esplênico foi localizado nesta região cercado pelos CMMs, apresentando uma região exócrina e ducto pancreático (Figura 32.6).

Os CMMs foram observados no pâncreas difuso no parênquima hepático, mesentelial, esplênico de pequeno tamanho e coloração amarelada.

**Figura 32. Fotomicrografia do pâncreas compacto de *Pimelodus maculatus* La Cèpède, 1803**

**Pâncreas compacto**

- 1) Na região do intestino, circulando o colédoco, fica localizado o pâncreas compacto (área retangular hachurada preta);
- 2) Circulando a região do parênquima hepático fica localizado pâncreas compacto, no detalhe a sua porção exócrina (ex);
- 3) Na porção exócrina (ex) observa aglomerações de adenômeros (hachurado branco) circulando ducto pancreático(dp) e biliar (db).

**Pâncreas intra-hepático**

- 4) Tecido exócrino (ex) circulando região portal no parênquima hepático (pH). O CMMs de coloração amarelo ocre (seta branca);

**Pâncreas difuso**

- 5) Região do mesentério com uma porção exócrina (ex) e endócrina (en) do pâncreas difuso. Entre o ducto biliar (db) e ducto pancreático (dp) há também CMMs (seta amarela) e tecido conjuntivo (tc).

**Pâncreas esplênico**

- 6) O pâncreas é observado entre a polpa vermelha circulado pelos CMMs; no detalhe a porção exócrina.

**LEGENDA**

Quadrado hachurado azul. Pâncreas compacto no baço

Quadrado hachurado preto. Pâncreas compacto no estômago.

Cd. colédoco

I . intestino

E . estômago

Ad . adenômeros

A . artéria hepática

EX. porção exócrina

EN. porção endócrina

pH. parênquima hepático

TC. tecido conjuntivo

V . veia hepática

Seta amarela. CMMs

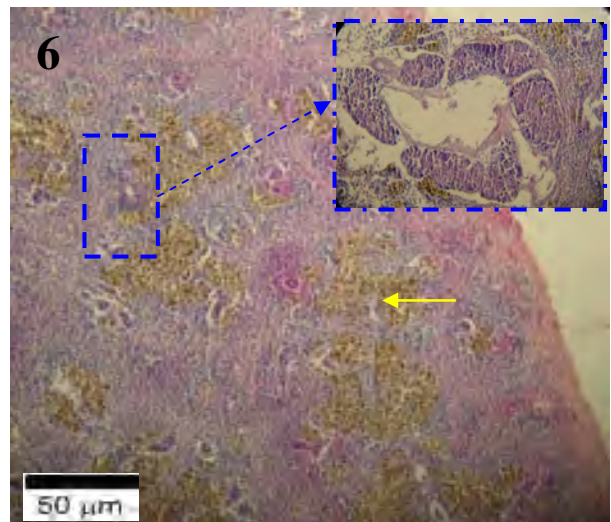
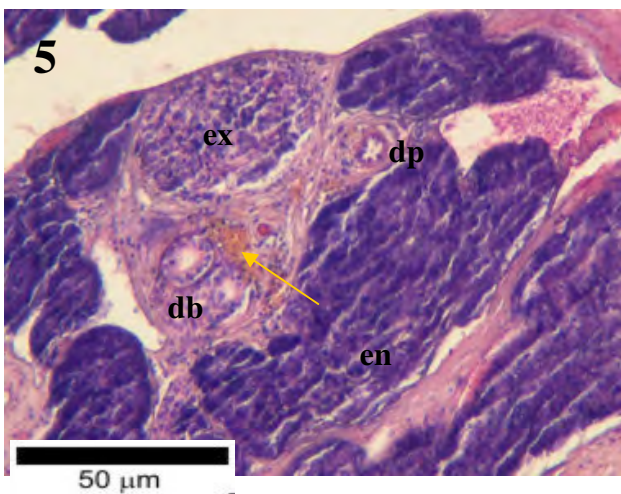
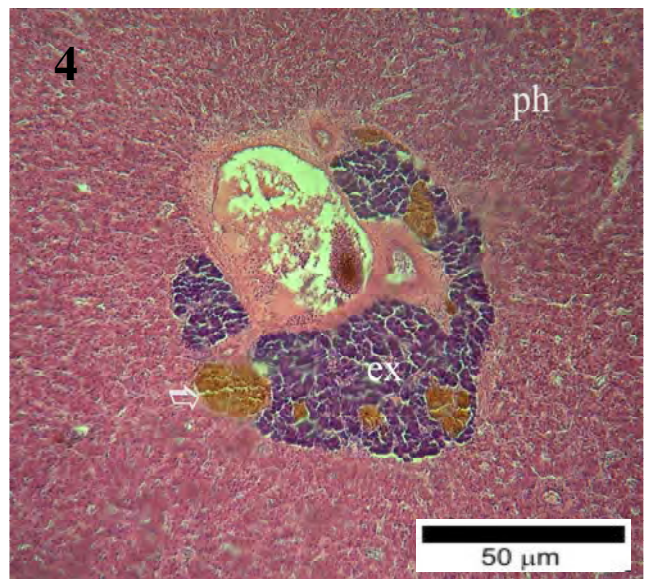
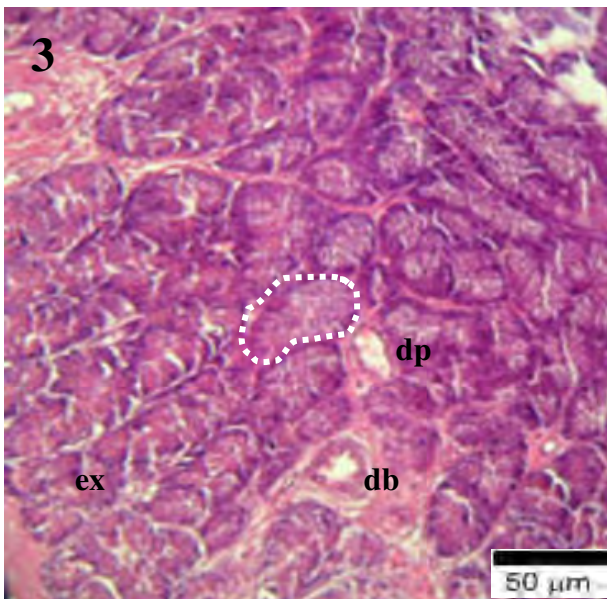
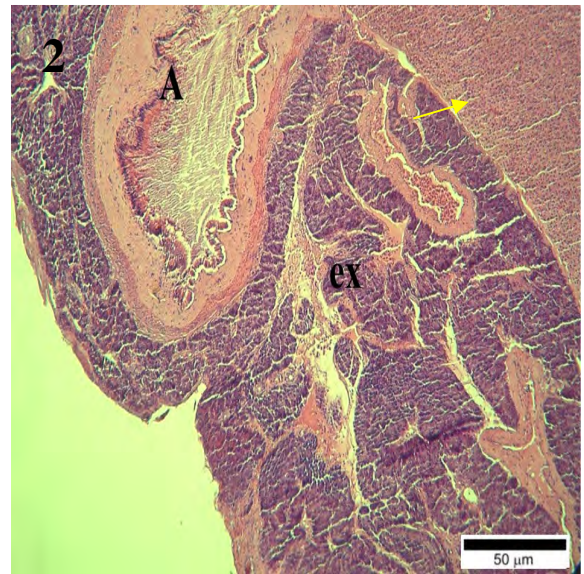
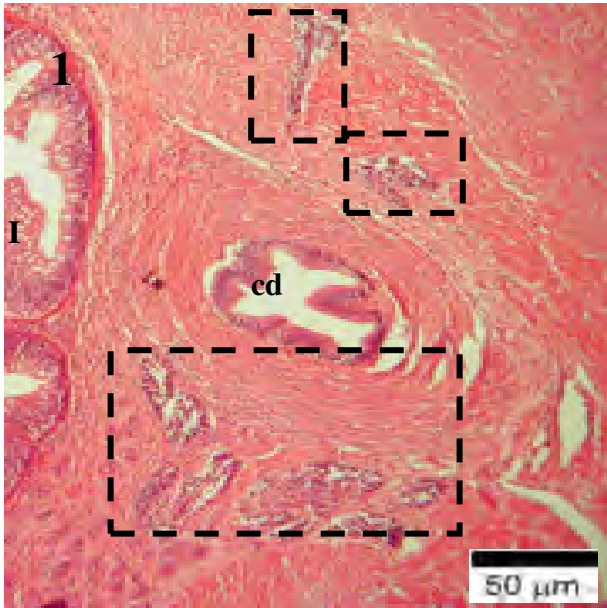
Hachurado branco. Adenômeros

DP. ducto pancreático

DB. ducto biliar



Pâncreas de *P. maculatus*



## 5. DISCUSSÃO

Na anatomia do sistema digestório de *P. maculatus* a região mecânica é destituída de dentes no palato; os três barbilhões maxilares possuem tamanhos distintos, sendo que os mais longos, alcançam a região de pedúnculo caudal, GODINHO, 1967; BARCELOS, *et al.* 1968; GODINHO, *et al.* 1970; MEDEIROS, 1970; GREMSKI, 1975; FERRI, S. & STIPP, 1984; FERRI *et al.* 1986; BASILE-MARTINS *et al.* 1986a; BASILE-MARTINS, *et al.* 1986b; MENIN & MIMURA, 1992; LÓLIS & ANDRIAN, 1996; LOBÓN-CERVIÁ, & BENNEMANN, 2000; CALLISTO *et al.* 2002.

A anatomia do trato digestório das duas espécies de peixes estudadas no reservatório da UHE Funil é marcadamente diferenciada, o que está associado ao diferente hábito alimentar e respiração. *H. auroguttatus* apresentou estômago com funções respiratórias e digestivas, e longo intestino associados à iliofagia, enquanto em *P. maculatus* as funções digestivas do estômago e o intestino curto está associado à onivoria.

No reservatório da UHE de Segredo, AGOSTINHO & GOMES (1997), constataram que as espécies do gênero *Hypostomus* têm hábitos alimentares noturnos e matutinos, sugerindo que o ritmo alimentar destes peixes, que selecionam também organismos do fundo pode estar relacionada ao horário de maior atividade de suas presas. *P. maculatus* é um peixe de couro que habita o fundo dos ambientes aquáticos e tem ampla distribuição geográfica nas bacias hidrográficas da América do Sul (FOWLER, 1954; BASILE-MARTINS *et al.*, 1986a; ALMEIDA *et al.*, 2003). Por ser uma espécie eminentemente onívora (HAHN *et al.*, 1998; BASILE-MARTINS *et al.*, 1986b; CALLISTO *et al.*, 2002), possui dieta variada, constituída de larvas de insetos, algas, moluscos, peixes e fragmentos de vegetais (BASILE-MARTINS *et al.*, 1986b; LÓLIS & ANDRIAN, 1996; LOBON-CERVIÁ & BENNEMANN; CALLISTO *et al.*, 2002), fazendo uso dos mais diferentes recursos alimentares disponíveis no ambiente aquático (BASILE-MARTINS *et al.*, 1986ab; HAHN *et al.*, 1998). A detecção do alimento por esta espécie é auxiliada pela presença de dois pares de barbilhões maxilares (ALVES & POMPEU, 2001), uma estrutura de tato ao substrato e de auxílio aos hábitos noturnos.

O estômago de *P. maculatus* é dividido em três regiões e apresenta grande elasticidade (GODINHO, 1972) enquanto o intestino apresenta tamanho intermediário (MENIM & MIMURA, 1992). *H. auroguttatus* apresenta na parte anterior do estômago (cárdica) criptas raras e rasas, com predominância de capilares, associada às funções respiratórias, enquanto na

região posterior (fúndica) estas criptas são maiores e mais numerosas. Já *P. maculatus* apresenta criptas mais numerosas na região fúndica, com células oxinticopéticas da glândula tubular na lamina própria, responsáveis pela eliminação do ácido clorídrico; tais células são escassas na região pilórica.

O estômago de *P. maculatus* é o órgão do sistema digestório que mais chama atenção quando está repleto, ocupando mais da metade da cavidade abdominal, denotando a ampla elasticidade deste órgão. O mesmo comportamento foi observado por MENIN & MIMURA (1992); LÓLIS & ANDRIAN (1996); LOBÓN-CERVIÁ & BENNEMANN (2000). Em *Pimelodus* sp o estômago possui a região pilórica pouco desenvolvida, situada ventralmente à região cárdica, e dispendo-se linearmente à região fúndica, ao longo do plano sagital mediano. As regiões cárdica e fúndica possuem pregas espessas que têm a função de armazenar grande volume de alimento digerido (MENIN & MIMURA 1992). No presente estudo também foi confirmado a existência destas regiões assim como uma túnica muscular bastante desenvolvida na região pilórica, caracterizada por três camadas musculares, o que facilita o esvaziamento gástrico e a expulsão do alimento para o intestino anterior. Para STROBAND & VAN DER VEEN (1981), as principais funções do estômago são o armazenamento de alimentos e a defesa contra microorganismos pela produção de ácido clorídrico; a digestão protéica em ambiente de baixo pH seria de importância secundária. Esta ausência da função digestória foi associada aos teleósteos sem estômago, que absorvem por pinocitose e digerem intracelularmente, proteínas no intestino, num processo similar ao descrito em mamíferos recém-nascidos.

A mucosa do estômago de *P. maculatus* apresentou-se revestida por epitélio cilíndrico simples composto de células com núcleo basal e glândulas gástricas tubulares na lâmina própria. De acordo GREMSKI (1975), as células cilíndricas deste epitélio apresentam microvilos, visíveis em microscopia eletrônica. As glândulas gástricas são compostas por células oxinticopéticas que, assim como as células principais e parietais em mamíferos, relacionam-se com a síntese de ácido clorídrico e pepsinogênio. Tais glândulas foram relacionadas ao hábito alimentar (MOHSIN, 1962), e atividade enzimática (MEDEIROS, 1970; GREMSKI, 1975) de outras espécies de teleósteos, tendo inclusive sido usados para classificação taxonômica (KONFAN, 1966); Os testes revelaram a presença de GPs neutras e ácidas no terço superior das células cilíndricas superficiais. Estas GPs, produzidas pelas células epiteliais, podem proteger a mucosa do ácido contido no estômago (SCOCCO *et al.*, 1996; MORRISON & WRIGHT, 1999).

O esôfago de *H. auroguttatus* não apresenta células claviformes (secretoras de muco), ao contrário de *P. maculatus*, uma indicação do diferenciado hábito alimentar entre as duas espécies. Pode ser inferido que a grande concentração de células mucosas no esôfago destas duas espécies de Siluriformes esteja relacionada com o aumento da proteção da mucosa contra abrasão e lubrificação desta área.

O epitélio que compõe o estômago de *H. auroguttatus* é constituído por uma única camada de células colunares, sendo do tipo colunar simples secretor, não existindo outros tipos celulares, como células mucosas ou células claviformes. As células que revestem as laterais dos dobramentos epiteliais e que se dirigem para as criptas gástricas são uniformemente colunares. Ao estômago de *H. auroguttatus* não pode ser atribuída a função de contenção da distensibilidade excessiva desse órgão, quando da ingestão, por estas espécies, de presas inteiras e de grande porte, pela limitação da extensibilidade dessas fibras.

De acordo com PODKOWA e GONIAKOWSKA-WITALINSKA (2003) estudando a capacidade de digestibilidade do estômago *Hypostomus plecostomus* concluíram que as células endócrinas, não enervadas estão envolvidas com a regulação da digestão e provavelmente com trocas de gases locais. CRUZ *et al.*, (2005) afirmam que os corpos celulares das células epiteliais da camada mucosa, estão diretamente em contato com os capilares. As glândulas gástricas localizadas na camada mucosa do loricarídeo - *Liposarcus anistsi* submucosa abrem-se na superfície interna do estômago, inferindo portanto, que há duas funções evidentes: digestiva e respiratória.

O intestino de ambas as espécies apresenta mucosa com células calciformes. Sua submucosa constituída por tecido conjuntivo acompanhando as vilosidades onde se observam as fibras musculares da muscular da mucosa. Diferentemente de *P. maculatus*, não foram observadas glândulas intestinais em nenhum segmento do intestino de *H. auroguttatus*, uma indicação da necessidade da microbiota para ajudar na digestão do alimento.

O intestino de *P. maculatus* é curto, típico dos de peixes carnívoros, com o epitélio intestinal sendo do tipo cilíndrico simples com planura estriada e células calciformes. Este padrão diferenciou-se do reportado por GODINHO *et al.*,(1970) para *P. maculatus*, que foi do tipo prismático estratificado. As células calciformes produzem intensa lubrificação, o que pode estar associado ao pequeno tamanho do intestino e tendências à ictiofagia da espécie, uma característica observada por MENIN & MIMURA (1992) em *Pimelodus* sp. As células em forma arqueadas (rodlet cells) caracterizam-se por apresentar forma de cápsula e já foram observadas no epitélio intestinal de *Oncorhynchus mykiss* e *Salmo trutta* (BIELEK, 2002), *Leporinus friderici* (ALBRECHT, 2001) e *Gambusia affinis* (BULLOCK, 1967), cuja função



está associada a mecanismos de defesa. Tais células, entretanto, não foram observadas no epitélio intestinal de *P. maculatus* no reservatório da UHE Funil e isto pode ser uma indicação da ausência de alterações no epitélio intestinal. De acordo com LEINO (1996) apud DIAZ *et al.*, (2005), a proliferação de “rodlet cells” no epitélio de peixes é associada à função de proteção e parece ser induzida por produção de substâncias como resultado de injúrias teciduais e fatores associados. Na camada submucosa do duodeno foi observada a abertura do colédoco, sendo seu epitélio do tipo cilíndrico simples sem células caliciformes, positivo tanto ao PAS quanto ao AB o que indica a presença de uma secreção local. Externamente pode ser observada uma disposição de fibras musculares constituindo um esfíncter.

Os Centros Melano Macrofágicos (CMMs), encontrados na porção portal e periferia do fígado, caracterizados por serem grandes e pouco numerosos. Ocorreram em *H. auroguttatus*, apresentando cor marrom (melanina) em *P. maculatus* estes centros apresentaram cor amarela (hemosiderina). Estudos mais detalhados de eventuais poluentes na formação de CMMs nos Siluriformes visando determinar eventuais associações, de tamanho, coloração e quantidade. É evidente que o aumento do CMMs correspondem a respostas humoral e inflamatórias, armazenagem, destruição e desintoxicação de substâncias exógenas e endógenas, e reciclagem de ferro em teleósteos (MIZUNO *et al.*, 2002; GARCIA-ABIADO, 2004; RABITTO, *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2005). Foram observado histologicamente, que o efeito da inanição na deposição do CMMs em *Oncorhynchus masou* - trutas silvestres e hibridizadas (MIZUNO *et al.*, 2002). Estes macrófagos concentram substâncias heterogêneas tais como lipofuccina (coloração natural amarelo uiscado), melanina (coloração natural marrom ou preto), ceróide (PAS-positivo) ou hemosiderina (Perls – positivo). Tais produtos podem desempenhar o papel em neutralizar potencialmente os radicais livres tóxicos e formar cátions produzidos durante perioxidação de lipídios insaturados (BRUSLÉ & ANDON, 1996).

Segundo JUNQUEIRA & CARNEIRO (2004), alguns ramos das artérias interlobulares se capilarizam e vão irrigar as estruturas da porção portal, ao passo que outros ramos terminam diretamente nos sinusóides, produzindo um mistura de sangue arterial e venoso. Em resumo, o sangue flui da periferia para a artéria hepática (centrolobular), o que significa que as células da periferia do parênquima hepático, recebem primeiro, não só alimentos, como também as substâncias tóxicas que vêm pelo sangue. Tal particularidade é bem evidente em patologia, onde freqüentemente as alterações do fígado ocorrem, de preferência, ora na região central, ora na periferia do lóbulo.



Tanto em *H. auroguttatus* e como *P. maculatus* os CMMs foram evidentes além do fígado, baço, mesentério nas regiões vasculares e periféricas dos parênquimas afins. Mesmo em estudos mais antigos, como os de TOKUMARU & GODINHO (1968) descreveram CMMs em *P. maculatus*, porém colocaram outra denominação - “pigmento”; estes foram encontrados de modo ocasional em outros tecidos, além do baço, rim e no tecido pancreático. Os autores citaram que a primeira descrição foi feita para estes “pigmentos” em 1910, analisados em rim de teleósteos sem, contudo classificá-los. Nas espécies, a coloração é amarelo-acastanhada, onde a tonalidade pode apresentar grande variação. Quanto a consistência dos “pigmentos”, eram grânulos grosseiros de forma arredondada. Encontravam-se dispersos no citoplasma de células parenquimatosas, ou ainda, no interior de macrófagos; livres e isolados e, ou entre as células pancreáticas ou hepáticas, bem como no seio do tecido conjuntivo do espaço perivascular e entre os ductos biliares. Nas células de Kupffer em nenhum dos órgãos apresentaram-se com “pigmentos”. A presença destes, nesses órgãos e tecidos, em maior ou menor quantidade, de modo sistemático, ocorreu em animais que aparentemente não portavam infecção. Porém, citações de 1953, neste trabalho, já confirmavam a relação dos “pigmentos” com patologia. Iniciando-se assim uma longa indagação a funcionalidade dos CMMs.

A coloração vinho-fosca do fígado de *H. auroguttatus* está associada à ausência de uma membrana de revestimento fibroconectivo como ocorre em *P. maculatus*, que se apresenta mais definido e com colocação vinho-brilhante. O volume do fígado de *H. auroguttatus* é relativamente menor por sofrer pressão visceral do intestino muito alongado e das gônadas quando maduras. O fígado do peixe é geralmente vinho devido a sua rica vascularização (BRUSLÉ & ANDON, 1996), tendendo a se tornar amarelo quando houver acúmulo de lipídeo como encontrado para *Anguilla anguilla*, *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata* (BAC *et al.*, 1983). A flutuação do índice hepatossomático, ou seja, forma, volume e coloração podem ser alterados em função de tais fatores: sazonalidade e fotoperíodo - *Oncorhynchus mykiss* (BOUJARD & LEATHERLAND, 1992), estresse ambiental *Abramis abramis* (SLOOF *et al.*, 1983), maturação sexual *Carassius auratus* (HORI *et al.*, 1979).

Uma associação semelhante à tríade portal foi observada em ambas as espécies, com a artéria hepática associada ao ducto biliar e à veia hepática um pouco afastada. No fígado de *Parophrys vetulus* (MYERS *et al.*, 1993), os ductos biliares e elementos vasculares são difundidos irregularmente ao longo do parênquima em lugar de se organizarem em tríades. A ausência das tríades também foi relatada em *Serranus cabrilla* (GONZÁLES *et al.*, 1993), porém, foram verificadas, ocasionalmente, associações dois-por-dois entre veias sanguíneas e

ductos biliares. Por meio da histologia do *H.auroguttatus* e de *P.maculatus* pode-se inferir que estes ductos, têm a capacidade de conduzir secreções biliares, envolvidas com a emulsificação de gorduras, que são liberadas no intestino. GROMAN (1982) descreve que o canalículo biliar está posicionado entre os hepatócitos adjacentes e estão conectados a amplos ductos biliares. Estes ductos biliares podem ocorrer dentro do parênquima ou em associação com o pâncreas do fígado. Eles estão alinhados por um estreito epitélio cuboidal e envolvidos por uma fina camada de tecido conectivo fibroso.

Em ambas as espécies o pâncreas compacto foi encontrado, já o difuso (intra-hepático, intra-esplênico e mesentelial) foi descrito somente para *P. maculatus*. A morfologia estrutural e ultraestrutural do pâncreas e as células acinosas, respectivamente, de *P. maculatus* têm sido bem documentadas. BARCELOS *et al.*, (1968) estudaram a anatomia e a morfologia microscópica do pâncreas de mandi; o órgão apresenta-se sob forma de massa compacta na junção gastro-duodenal e de maneira difusa no interior do fígado, baço, ao redor da vesícula biliar e no seio da gordura mesentelial.

No pâncreas de *P. maculatus*, os adenômeros circunvizinham o colédoco que são delimitadas fibras musculaturas lisas O citoplasma das células mostra forte basofilia na porção basal e nítida acidofilia na apical, sendo visível uma clara distinção de cores rosa-arroxeadas. O mesmo padrão é observado no pâncreas compacto de *H. auroguttaus*. As células piramidais contêm uma grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso e na forma vesicular (complexo de Golgi, mitocôndria, grânulos de zimogênio e lisossomos) inserido há inclusões (corpos filamentosos, rod-shape, club-shaped) pâncreas exócrino, provavelmente estão relacionados com funções secretoras nas células acinosas (STIPP & FERRI, 1984). Segundo FERRI & STIPP (1984), a estrutura de vários nervos foi observada nas ilhotas pancreáticas de *P. maculatus* em nível ultraestrutural; apresentam-se em grupos ou isoladas em justaposição às células endócrinas e estão relacionados com os terminais simpáticos e parassimpáticos. FERRI *et al.*, (1986) constataram que as células mesoteliais e acinosas de *P. maculatus* somente aparecem em justaposição ou separadas de uma matrix extracelular que contém muitas fibrilas colágenas. Estas diferenças ambientais certamente causam uma variedade de estímulo em ambas células tipo, particularmente no que diz respeito à presença de desmossomos, cuja função está ligada à aderência em células adjacentes e via de transporte iônico.

A produção de enzimas não está restrita a seções específicas do trato digestivo em teleósteos, CHACKRABARTI *et al.* (1995). Em geral a digestão envolve muitas enzimas derivadas do estômago, pâncreas e intestino os quais trabalham juntos para completar a

hidrólise de ingestão de nutrientes JUN-SHENG *et al.*, (2006). Nos peixes o pâncreas exócrino secreta substâncias alcalinas e também enzimas digestivas (proteases, lípases e amilases). No pâncreas endócrino, as células secretoras se agrupam em ilhotas pancreáticas. Estas ilhotas são enervadas por nervos autônomos e são responsáveis pelo controle de suas secreções. O pâncreas de teleostes secreta os seguintes hormônios polipeptídeos: célula glucagon, insulina, somatostatina. Dentre estes polipeptídeos são reguladores da homeostase nutricional. A taxa que a glicose, aminoácido, ácido graxo entra e sai do espaço extracelular é influenciada por esses hormônios FIALHO *et al.*, (2001).

Esta complexidade de posição e forma variável descrita para o pâncreas exócrino e endócrino em *H. auroguttatus* e *P. maculatus*, sem uma seção específica no trato digestivo para a produção de enzima, certamente está relacionada a uma condição evolutiva. YOUSON (2006) fazendo uma revisão recente do desenvolvimento ontogenético e filogenético do pâncreas em peixes (sistema gastroenteropancreático – GEP), conceituaram que a ontogenia se refere a desenvolvimento do tecido pancreático endócrino de um único indivíduo e a filogenia é a tendência evolutiva no tecido pancreático de um grupo de espécies, no caso, os peixes. Esta extensiva revisão, aplica as complicações da terminologia envolvendo o homólogo pâncreas endócrino em peixes. Os termos usados no passado para este homólogo foram: pâncreas endócrino, tecido ilha, tecido insular, órgão ilha ou órgão insular, ilhotas de Langerhans, corpos de Brockman e ilhotas principal. Muitos destes termos foram surgindo porque o homólogo pâncreas endócrino em peixe é apresentado em uma variedade de formas; ambos em tamanhos e em extensas distribuições e associado com tecido pancreático exócrino. Por esta razão “órgão ilha” seria usado como o homólogo pâncreas endócrino de uma espécie de peixe, independente da distribuição ou da forma. Diferentemente a “ilhota principal” é um termo que se refere à uma vasta acumulação de tecido endócrino envolvendo uma fina borda do tecido exócrino. “Corpos de Brockman” são grandes concentrações de ilhotas pancreáticas, algumas das quais podem ser ilhotas principais entre as vísceras do peixe, então o termo poderia ser usado como sinonímia. No presente trabalho não foi citado corpos de Brockman em função desta conceituação (que ainda não está clara), certamente os pâncreas ilustrados apresentaram esta estrutura, que pode ser vista pela simples técnica de coloração hematoxilina e eosina.

## 6. CONCLUSÕES

1. A anatomia do trato digestório das duas espécies de peixes é marcadamente diferenciada, o que está associado ao diferente hábito alimentar, com *H. auroguttatus*

apresentando estômago com funções respiratórias e digestivas, e longo intestino associados à iliofagia. Por outro lado, *P. maculatus* apresentou estômago plástico, com funções digestivas, intestino curto, associado à onivoria com tendência à carnivoría.

2. *H. auroguttatus* apresenta na parte anterior do estômago (cárdica) criptas raras e rasas, com predominância de capilares, associada à funções respiratórias, enquanto na região posterior (fúndica) estas criptas são maiores e mais numerosas, indicando alguma função digestiva. Já *P. maculatus* apresenta criptas mais numerosas na região fúndica, com células oxintopépticas da glândula tubular na lamina própria, responsáveis pela eliminação do ácido clorídrico; tais células são escassas na região pilórica.
3. O esôfago de *H. auroguttatus* não apresenta células claviformes (secretoras de muco), ao contrário do *P. maculatus*, uma indicação do diferenciado hábito alimentar entre as duas espécies.
4. O intestino de ambas as espécies apresenta mucosa com células caliciformes no epitélio e submucosa constituída por tecido conjuntivo acompanhando as vilosidades onde se observam as fibras musculares da muscular da mucosa. Diferentemente de *P. maculatus*, não foram observadas glândulas intestinais em nenhum segmento do intestino, uma indicação da necessidade da microbiota para ajudar na digestão do alimento.
5. A coloração vinho-fosca do fígado de *H. auroguttatus* está associada à ausência de revestimento fibroconjuntivo como ocorre em *P. maculatus*, que se apresenta mais definido e com colocação vinho-brilhante. O volume do fígado de *H. auroguttatus* é relativamente menor por sofrer pressão visceral do intestino muito alongado e das gônadas quando maduras.
6. Pâncreas compacto foi observado em ambas as espécies, porém pâncreas difuso (intrahepático, intraesplênico e intramesentérico) foi observado apenas em *P. maculatus*.
7. Os Centros Melano-Macrofágicos-CMMs, grandes e pouco numerosos, ocorreram em *H. auroguttatus* (melanina – cor marrom) independente da exposição a metais pesados

(Cu, Cd e Zn), enquanto em *P. maculatus* (hemosiderina – cor amarela) coincidiram com maiores exposição e estes metais, principalmente o Zn.

8. Uma associação semelhante à tríade portal foi observada em ambas as espécies, com a artéria hepática associada ao ducto biliar e a veia hepática um pouco afastada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, M. P.; FERREIRA, M. F. N. & CARAMASCHI, E. P. Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anostomidae). *Journal of Fish Biology*. Drumfreis v. 58, p. 419-430, 2001.

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, n.3, p. 301-305. 2003.

ALVES, C. B. M. & POMPEU, P. S. *Peixe do rio das Velhas: passado e presente*. Cidade de Belo Horizonte. 192 p. 2001.

ANGELESCU, V. Y GNERI, F.S., Adaptaciones del aparato digestivo al régimen alimenticio en algunos peces del rio Uruguay y del rio de la Plata. I – Tipo omnivoro e iliófago en representantes de las familias Loricariidae y Anostomidae. *Revta Mus. Argent. Cien. Nat. Bernardino Rivadavia Inst. Nac. Invest. Cienc. Nat.*, v. 1 n.6, p. 161-272. 1949.

AGOSTINHO, A. A. & GOMES, L.C. *Bases ecológicas para o manejo*. Maringá: EDUEM co-edição com COPEL e Nupélia (UEM). 387pp. 1997.

BAC, N. S.; BIAGIANTI, S. & BRUSLÉ, J. Etude cytologique ultrastructurale des anomalies hépatiques du loup, de la daurade et de l'anguille, induites par une alimentation artificielle. *Actes de Colloques IFREMER* v. 1, p. 473-484, 1983.

BARCELOS, S.R.; FERRI, A. G. & WORSMANN, T.U. Contribuição ao estudo morfológico do pâncreas de mandi (*Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803) *Rev. Brasil. Biol.*, v. 32, n. 3, p. 423-428, 1968.

BASILE-MARTINS, M. A.; GODINHO, H. M.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, 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, n.1, p.169-184, 1986a.

BRUSLÉ, J. & ANADON, G.G. The structure and function of fish liver *in Fish Morphology*

p77-97, 1996.

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, n.1, p. 17-29, 1986b.

BULLOCK W. L. The intestinal histology of the mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard). *Acta Zoologica*. Stockholm, v 48: 1-17, 1967.

BOUJARD, T. & LEANTHERLAND, J. F. Circadian pattern of hepatosomatic index, liver glycogen and lipid content, plasma non-esterified, fatty acid glucose. T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, growth hormone and cortisol concentrations in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes and fed using demand-feeders. *Fish Physiol. Biochem*, v. 10: p 111-122. . 1992.

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 n 1: 67-73. 2002.

CHACKRABARTI, I.; GAMI, M.A.; CHAKI, K.K.; SUR, R., MISRA, K.K. Digestive enzyme in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habitat and niche segregation. *Comp. Biochem. Physiol. A* 112, 167-177.1995.

CRUZ, A.L.; PEDRETTI; A.C.E.; FERNANDES, M.N. Morphological and morphometric analysis of stomach of the armored catfish *Liposarcus anisitsi* (Pisces: Loricariidae). *Resumo*. Congresso de Microscopia, 2005.

DIAZ, A. O.; GARCÍA, A. M.; DEVINCENTI, C. V. & GOLDEMBERG, A. L. Morphological and histochemical characterization of the mucosa of the digestiva tract in *Engraulis anchoita*. *Anatomie and Histologya and Embryologia: Journal of Veterinary Medicine. Série C*. Berlin v 32: 341-346, 2003.

DIAZ, A. O.; GARCÍA, A. M.; DEVINCENTI, C. V. & GOLDEMBERG, A. L. Ultrastructure and histochemical study of glycoconjugates in the gills of the white croaker (*Micropogonias furnieri*). *Anatomie and Histologya and Embryologia: Journal of Veterinary Medicine. Série C*. Berlin 34: 117-122. 2005.

FERRI, S. & STIPP, A.C. M. Fine structure of islet cell innervation in the pâncreas of the Teleost *Pimelodus maculatus*. *Zool. Anz.*, v. 213, 190-195, 1984

FERRI, S.; FERREIRA, N. & BLAZQUEZ, F.J.H. Tissue components of the Teleost (*Pimelodus maculatus*) cápsula pâncreas. *Zool. Anz.*, v. 216, 185-190, 1986

FIALHO, E. T.; ARAÚJO, M.G.; SILVA, M.O.B.; VIEIRA, J.S. Descrição e fisiologia de aparelho digestivo de peixes. Trabalho apresentado a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências da disciplina – *Métodos de avaliação de alimentos e exigências nutricionais para monogástricos* – Doutorado em Aquicultura, Lavras. p 106. 2001.

FOWLER, H. W. *Os Peixes de água doce do Brasil*. vol II . Arq. Zool., São Paulo, i-xii, 1-400. 1954.

FUGI, R. & HAHN, N.S. Espectro alimentar e relações morfológicas com o aparelho digestivo de três espécies de peixes comedores de fundo do Rio Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Biol.*, v 51 n.4 873-879, 1991.

GARCIA-ABIADO, M.A.; MBAHINZIREKI, G.; RINCHARD, J; LEE, K.J. AND DABROWSKI, K. Effect of diets containing gossypol on blood parameters and spleen structure in tilapia, *Oreochromis sp.*, reared in a recirculating system. *Journal of Fish Diseases*. 27:359-368. 2004.

GODINHO, H. Estudos anatômicos sobre o trato alimentar de um Siluroidei *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803. *Rev Bras Biol*. Rio de Janeiro, v 27, n 4, p. 425-433. 1967.

GODINHO, H.; TOKIMARU, M. & FERRI, A. G. Histologia do trato digestivo de *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (pisces, Siluroidei). *Rev Brasil de Biol*. Rio de Janeiro. v 30, n 4, p.583-593. 1970.

GOMORI, G. Microscopic Histochemistry. *University of Chicago Press*, Chicago, p.66, 1952.

GONZÁLES, G.; CRESPO, S.; BRUSLE, J. Hysto-cytological study of the cabrilla sea bass, *Serranus cabrilla* (Teleostei, Serranidae), an available model for marine fish experimental studies. *J. Fish. Biol.*, v.43, p. 363-373, 1993.

GREMSKI, W. Contribuição ao estudo ultra-estrutural do epitélio do trato digestivo de *Pimelodus maculatus*, Lacépède, 1803 (Pisces). *Tese de doutorado*. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. 1975, 270 p

GROMAN, D.B. Histology of the Striped Bass. *Monograph Number 3*, p.21-82,1982.

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. *Rev Interciência*, São Paulo, v 23, n 4, p. 299-305.1998.

JUN-SHENG, L.; JIAN-LIN, L.; TING-TING, W. Ontogeny of protease, amylase and lipase in the alimentary tract of hybrid Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* vs. *Oreochromis aureus*) *Fish Physiol Biochem*, n.32: 295-303. 2006

KAPOOR, B.G.; SMITH, H & VERIGHINA, I. A. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advance in Marine Biology*. Austin. v 63: 301-308. 1975.

KHANNA, S. S. & MEHROTRA, I. F. 1971. Morphology and histology of teleostean intestine. *Anatomischer Anzeiger*. Lubeck, v 129: 1-18.

KONFAN, E. 1966. Beitrag zur vergleichenden mikroskopischen anatomie der verdauungsröhre der fische. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae Zoologia*. Bratislava. v 13: 259-267.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. Editora Guabara Koogan, 2004 p 484.

LEINO, R. L. Reaction of rodlet cells to a myxosporean infection in kidney of the bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Canadian Journal of Zoology*. Toronto 74: 217-225. 1996

LEV, R. & SPICER, S. S. Specific staining of sulphate groups with Alcian blue at low pH. *Journal Histochemistry*, v. 13, p. 309, 1964.

LINCOLN, R. F. & SCOTT, A. P. Sexual maturation in triploide rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, v.25 p.385-392, 1984.

LOBÓN-CERVIÁ, J. & BENNEMANN, S. Temporal trophic shifts and feeding diversity in two sympatric, neotropical, omnivorous fishes: *Astyanax bimaculatus* and *Pimelodus maculatus* in Rio Tibagi (Paraná, Southern Brazil). *Archives fuer Hydrobiologie*. Helgoland v. 149, v. 2: 285-306. 2000.

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 123-28, 1996.

MALLORY, F. B. "Pattological Technic", Saunders, Philadelphia, 1938.

MEDEIROS, L. O. Estudo histoquímico de polissacarídeo do tecido epitelial do tubo digestivo de *Pimelodus maculatus*. *Rev. Brasil de Biola*. Rio de Janeiro. v 30: 81-85. 1970.

MENIN, E & MIMURA, O. M. Anatomia funcional comparativa do estômago de três peixes Teleostei de hábito alimentar onívoro. *Revista Ceres*. São Paulo. v 39, n 223: 233-260. 1992.

McMANUS, J.F.A. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, v. 23, n. 3, p. 99-108, 1948.



MIZUNO, S; MISAKA,N.; MIYAKOSHI,Y; TAKEUCHI, K and KASAHARA, N. Effects of starvation on melano-macrophages in the kidney of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). *Aquaculture* v 209 p.247-255. 2002.

MORRISON, C. M. & WRIGHT, J. R. Jr. A study of the histology of the digestive tract of the Nile tilapia. *Journal of Fish Biology*. Drumfreis. v 54, p. 597-606. 1999.

MOHSIM, S.M. Comparative morphology and histology of the alimentary canals in certain groups of indian teleostes. *Acta Zoologica*. Stockholm, v 43, p 79-133.1962.

MYERS, MS. RHODES, L.D. & McCAIN, B.B. Pathology anatomy and patterns of occurrence of hepatic neoplasms, putative preneoplastic lesions, and other idiopathic conditions in English sole (*Parophrys vetulus*) from Puget Sound, Washington. *J. Natl. Cancer Inst.* v. 78, n. 2, p.333-363, 1987.

OLIVEIRA e SILVA, S.L. Aspectos histológicos do tubo digestivo de *Plecostomus* sp (Pisces, Actinoptergii, Loricariidae). Rio de Janeiro Actas Soc. Biol. 4 : 63-68. 1965.

PODKOWA, D. & GONIAKOWSKA-WITALINSKA, L. Morphology of the air-breathing stomach of the catfish *Hypostomus plecostomus*. *Journal of Morphology* 257(2): 147-163. 2003.

RABITTO, I.S.; ALVES COSTA, J.R.M.; ASSIS, SILVA DE ASSIS, H. C.; PELLETIER; AKAISHI, F. M.; ANJOS, A.; RANDI, M.A.F and OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 147-156. 2005.

RIBEIRO, H. J.; SANTOS, H.B.; PEREIRA, F. A.; RIZZO, E.; BALZUWEIT, K; CORREIA JUNIOR, J. D. Caracterização morfológico-elementar de grânulos presentes em agregados macrofágicos de baço. *Resumo do III ENAPEBI. VIII Encontro de Pesquisa do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais*. 2005.

SCOCCO, P.; CICCARELLI, P. & MENGHI, G. Glycohistochemistry of the *Tilapia* spp stomach. *Journal of Fish Biology*. Drumfreis. v 49, p 584-593. 1996.

SLOOF, W.C. VAND KREIJII & BAARS, A. Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquatic Toxicology*, n. 4, p. 1-14.

SMITH, L. S. Digestive functions in teleosts fishes *In: Fish nutrition*. J.E. Halver (Ed.), Academic press, San Diego, p 331-421. 1989.

STIPP, A.C.M. & FERRI, S. Electron microscope study of cytoplasmatic inclusions in acinar cells of Teleost (*Pimelodus maculatus*) pâncreas. *Zool. Anz. Jena* v. 212, n. 1/2, p. 117-121.1984.

STROBAND, H. W. J. & VAN DER VEEN, F. H. Localization of protein absorption during transport of food in the intestine of grasscarp *Ctenopharyngodon idella*. *Journal of Experimental Zoologie*. New Haven, v 218, 149-156. 1981.

TIBBETS I. R. The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftii*. *Journal of Fish Biology*. Drumfreis. 50: 809-820. 1997.

TOKUMARU, M. & GODINHO, H. Estudo morfológico dos pigmentos encontrados no fígado, baço e rim de peixes de água doce. *Revista da Faculdade de Medicina São Paulo*, v. 7, n.4: p. 833-840, 1968.

VEGAS-VELEZ, M. La structure histologique typique du tube digestif des poissons téléostéens. *Tethys*. 4: 163-174. 1972.

ZAVALA-CAMIM, L.A. *Introdução aos estudos sobre alimentação natural de peixes*. EDUEM. Nupelia Maringá, p. 129. 1996.

YOUSON, J.H.; MAHROUKI, A.A.AI, AMEMIYA, Y.; GRAHAM, L.C.; MONTPETIT, C.J.& IRWIN, D.M. The fish endocrine pancreas: review, new data, and future research directions in ontogeny and phylogeny. *General and Comparative Endocrinology* v 148 p.105-115. 2006

## **CAPÍTULO III**

### **ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM DUAS ESPÉCIES DE PEIXES SILURIFORMES NO RESERVATÓRIO DA UHE DO FUNIL-RJ**

## RESUMO

DUARTE, Silvana. **Atividade enzimática do sistema digestório de duas espécies de peixes Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*) no reservatório da UHE de Funil, RJ. 2007, f 220.** Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

A atividade enzimática para digestão de carboidratos (glicosidases) e proteínas (proteases) foi testada em três órgãos envolvidos no trato digestório (estômago, intestino e fígado) de duas espécies de Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*) no sistema rio Paraíba - reservatório da UHE do **Funil**. Foram analisadas variações interespecíficas, entre dois sistemas diferenciados (ambiente represado versus ambiente de rio à jusante do represamento), entre estações do ano e entre reservatórios com diferentes níveis de alteração (reservatório da UHE do **Funil** – eutrófico *versus* reservatório da UHE de Santa Branca – oligotrófico) visando testar as hipóteses de que tais fatores poderiam ser refletidos em variações na atividade enzimática. *H. auroguttatus* apresentou maiores valores das atividades enzimáticas no intestino quando comparado com *P. maculatus*. O intestino foi o órgão onde se observou maior atividade enzimática para *H. auroguttatus*, sem ter sido observada variação entre os órgãos para *P. maculatus*. O verão, estação chuvosa, quando maiores contribuições da área de drenagem são carregadas para o sistema aquático, foi o período de maior atividade enzimática para *P. maculatus*, enquanto o inverno foi para *H. auroguttatus*. Apenas *P. maculatus* apresentou tendência de apresentar maiores atividades enzimáticas no reservatório, onde se espera encontrar a maioria dos poluentes decantados, do que no ambiente de rio à jusante do reservatório. Esta última espécie, cuja atividade enzimática foi testada entre reservatório de diferentes níveis de alteração não apresentou tendência que pudesse indicar a atividade enzimática como uma ferramenta associada ao nível de alteração ambiental.

**Palavras chaves:** atividade enzimática, Siluriformes, reservatório, sazonalidade

## ABSTRACT

DUARTE, Silvana. 220 f. **Enzymatic activity digestive trate of two Siluriformes in UHE of the Funil reservoir and Paraíba do Sul river (jusant´reservoir).** Thesis (Doctorate in Animal Biology, Biological Sciences) - Institute of Biology, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

Enzymatic activities for digestion of carbohydrates (glycosidases) and for proteins (proteases) were tested in three organs linked to digestive tract (stomach, intestine and liver) of two species of Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* and *P. maculatus*) in Paraíba do Sul – UHE Funil reservoir system. Comparisons were performed between the two species, two aquatic systems (reservoir versus river flow downward the dam), seasons and reservoir with different alteration levels (UHE Funil reservoir – eutrophic *versus* UHE Santa Branca reservoir – oligotrophic) aiming to test the hypothesis that such factor could be reflected in changes in enzymatic activity levels. *H. auroguttatus* showed higher enzymatic activities in stomach and intestine when compared with *P. maculatus*. The intestine showed the highest enzymatic activity for *H. auroguttatus*, but no variation between organs was found for *P. maculatus*. Summer, the rainy season, when more loads from watershed are carried into the aquatic system, was the period of higher enzymatic activity for *P. maculatus*, while the winter was the one for *H. auroguttatus*. Only *P. maculatus* showed a trend to show higher enzymatic activity in reservoir, where most pollutants are expected to be decanted, compared with the river stretches below the dam. This latter species, which was tested for enzymatic activities between reservoirs in different levels of alteration, did not show a clear tendency that could suggest that enzymatic activity may be indicated as a tool associate to level of environmental alteration.

**Key word:** enzymatic activity, Siluriformes, reservoir, sazonality

## 1. INTRODUÇÃO

A atividade enzimática é parte importante do processo digestivo e concentra-se no estômago e intestino dos peixes. Determinadas espécies têm órgãos especiais para a produção de enzimas digestivas, os cecos pilóricos (BUDDINGTON & DIAMOND, 1986; KLOMKLAO *et al.*, 2007) e em outras espécies as enzimas são produzidas pelo hepatopâncreas (MICALÉ *et al.*, 2006). Dentre as enzimas digestivas mais importantes, estão as proteases (CHAKRABARTI, *et al.*, 1995; JUN-CHENG *et al.*, 2006; CASTILLO-YÁÑEZ *et al.*, 2005, 2006), as lipases (NATALIA *et al.*, 2004; JUN-CHENG *et al.*, 2006) e as enzimas que digerem carboidratos: amilases, maltases e glicosidases (KUZ'MINA *et al.*, 1996; PAPOUTSOGLOU & LYNDON, 2006). Um aspecto importante é que a distribuição das enzimas no trato gastro-intestinal pode ser variável. CORRÊA *et al.*, (2007) encontraram atividade de quimotripsina e de tripsina no intestino e nos cecos pilóricos de tambaqui (*Colossoma macropomum*), mas esta atividade estava ausente no estômago, que por sua vez apresentava atividade de uma protease ácida. O estudo da atividade enzimática em peixes é predominantemente voltado para esclarecer aspectos da sua fisiologia nutricional (COHEN *et al.*, 1981; JÓNÁS *et al.*, 1983; BEZERRA *et al.*, 2000) e hábito alimentar (HSEU & TING, 1997; CHAN & HORN, 1999; KUS'MINA *et al.*, 1999) e, conseqüentemente procuram sanar alguns problemas nutricionais na alimentação de peixes para aqüicultura (HIDALGO *et al.*, 1999; KAWAI & IKEDA, 1972; DABROWSKI & GLOCOWSKI, 1977).

A atividade pode não variar significativamente com o tipo de dieta, como ocorre para alguns peixes carnívoros. Entretanto, existem outros estudos mostrando que a atividade das enzimas digestivas pode variar em função da dieta ou hábito alimentar do indivíduo (KOFUKI *et al.*, 2006; CORRÊA *et al.*, 2006). O cascudo (*H. auroguttatus*) é um peixe bentônico detritívoro, diretamente associado ao fundo; com sua boca ventral, adere ao fundo rochoso, alimentando-se do “alga film”, de matéria orgânica, principalmente de origem vegetal, e de microalgas associadas ao fundo. Estas características fazem que o mesmo tenha um dos mais longos intestinos de toda a fauna de peixes, em algumas espécies chegando a medir cerca de 15 vezes o comprimento total do indivíduo e apresentando forma enovelada, indicando um longo processo digestivo do material vegetal predominante na dieta. Portanto, este processo digestivo dependerá bastante da presença de enzimas capazes de digerir carboidratos, como as glicosidases). O mandi (*P. maculatus*) também é um peixe bentônico, porém com menor dependência do fundo, apresentando inclusive capacidade de realizar deslocamentos sazonais no período reprodutivo. Seu hábito alimentar é tipicamente onívoro,

com tendência a carnivorismo, apresentando estratégia oportunística de predação das presas disponíveis no ambiente. O tamanho do intestino é cerca de 1,5 vezes o comprimento total, e a atividade enzimática no intestino deve estar direcionada para digestão de material de diferentes naturezas, principalmente de origem animal, sendo portanto bastante dependentes da presença de proteases.

LUNDSTEDT *et al.*, (2004) estudando um Siluriformes de grande porte (*Pseudoplatystoma corruscans*) encontraram que um balanço entre proteínas e compostos energéticos, tais como lípidios e carboidratos na dieta, otimizam o crescimento do peixe. NELSON *et al.*, (1999) encontraram que conteúdos frescos de estômagos do Loricarídeo comedor de madeira Panaque tem atividade enzimática diretamente contra celulose e hemicelulose. O intestino de alguns loricarídeos são capazes de digerir fibras de carboidrato (NELSON *et al.*, 1999). Isto sugere que a digestão destes peixes deve ser dependente de uma microbiota com capacidade celulolítica.

Outro aspecto importante é avaliar se a atividade de enzimas digestivas em peixes pode variar de acordo com diferenças ecológicas. Variações ambientais devem refletir-se em modificações de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, os quais podem funcionar como indicadores ALLAN *et al.*, 2006). VAN DER OOST *et al.*, (2003) definem um biomarcador como uma variação em uma resposta biológica, que pode ser bioquímica ou fisiológica, a uma alteração ambiental ou à exposição do indivíduo à substância tóxica ou poluente. Os biomarcadores podem ser divididos em três grupos. Os biomarcadores de exposição referem-se à presença de substâncias exógenas ao animal, como por exemplo o acúmulo de microcistinas produzidas por cianobactérias em tecidos de peixes (MAGALHÃES, 2001), . Os biomarcadores de efeito incluem as modificações bioquímicas e fisiológicas, como as variações de atividade enzimática. Dentre as enzimas que funcionam como bons biomarcadores de variações ambientais estão aquelas que participam do metabolismo de compostos xenobióticos, como a citocromo P450 e outras oxidases (FENT, 2004). Os biomarcadores de susceptibilidade referem-se às alterações genéticas que ocorrem devido à exposição dos peixes a xenobióticos VAN DER OOST *et al.*, (2003).

Atividades de enzimas digestivas podem também refletir variações sazonais. Para peixes de regiões de clima frio, atividades de enzimas como amilases e sacarases são significativamente maiores no verão, onde a temperatura atinge 20 °C que em outras estações em que a temperatura não supera 10 °C (KUZ'MINA *et al.*, 1996). Efeitos de temperatura sobre a ação de enzimas amilolíticas do trato gastro-intestinal de peixes da Rússia também

foram investigados (KUZ'MINA *et al.*, 2003). Entretanto, não existem estudos semelhantes para peixes de clima tropical ou sub-tropical.

Dois períodos bem distintos caracterizam os ambientes de rio e de reservatório da região estudada. Um período de cheias de verão, onde uma maior quantidade de material é carregada da bacia de contribuição da área de drenagem do entorno para o sistema aquático em oposição ao período de menor pluviosidade de inverno, onde as temperaturas mais baixas podem causar a desestratificação dos reservatórios, causando a mistura de água de menor qualidade da zona profunda com as águas superficiais (BRANCO *et al.*, 2002). Desta forma, marcadores bioquímicos que sejam sensíveis a variações sazonais podem ser valiosos para detectar alterações climáticas. Estudos da literatura mostram que a atividade de enzimas digestivas de peixes são sensíveis a variações sazonais de temperatura (KUZ'MINA *et al.*, 1996).

Procurar-se-á, neste trabalho, examinar e comparar a atividade enzimática de uma das espécies (mandi) entre dois ambientes represados de diferentes níveis de alteração. O reservatório da UHE do Funil, onde a influência da baixa qualidade do trecho médio superior é marcante, foi comparado com outro reservatório (o reservatório de Santa Branca), que represa o mesmo rio Paraíba do Sul em seu trecho superior, onde poucas influências antrópicas existem devido à inexistência de grandes cidades ou parques industriais instalados à montante. A qualidade ambiental do reservatório Santa Branca foi analisada pela CETESB em vários anos e apresentou poucas oscilações ao longo dos anos, permanecendo o ambiente predominantemente oligotrófico (CETESB, 2004).

Também existem mudanças de acordo com o ambiente ocupado por estas espécies; ambientes lênticos (represados) são mais variáveis em suas características ambientais, e isto exerce grande influência para peixes que vivem no fundo (bentônicos). Por outro lado, os ambientes lóticos, devido ao movimento contínuo e unidirecional do fluxo da água, apresentam maior estabilidade das características ambientais e melhor qualidade em geral, ditada pela contínua renovação da água. Por estes peixes, *P. maculatus* e *H. auroguttatus* serem bastante resistentes às variações ambientais, procurar-se-á entender se existem variações nas atividades enzimáticas por meio da análise de quatro fatores importantes: 1) variação interespecífica, considerando-se que os hábitos alimentares das duas espécies são diferentes, 2) dois sistemas diferenciados (um ambiente represado e um ambiente de rio à jusante do represamento) e 3) dois ambientes de reservatórios de diferentes níveis de alteração e 4) as variações sazonais

Testar-se-á a hipótese se as atividades de enzimas digestivas para carboidratos (glicosidases) e para proteínas (proteases) podem ser utilizadas como indicadoras do tipo de ambientes (lêntico/lótico) e de eventuais impactos ambientais.

Os resultados das atividades enzimáticas (proteolítica e glicosidásica) de segmentos do tubo digestivo de *H. auroguttatus* e *P. maculatus* foram conduzidos, com o objetivo de gerar conhecimento sobre o local de atuação das enzimas digestivas, já que os Siluriformes são desprovidos de cecos pilóricos, e as respostas destas, em função espacial e sazonal, utilizando um segundo ambiente como controle.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Identificação e quantificação das atividades enzimáticas no trato digestivo de *H. auroguttatus* e de *P. maculatus* e determinação de eventuais mudanças nas atividades enzimáticas associadas às alterações ambientais, com o regime do fluxo (ambiente lêntico vs. ambiente lótico) ou em relação as mudanças sazonais.

### 2.2 Objetivos Específicos

1. Identificar e quantificar as atividades enzimáticas de proteases (com especificidade de tripsina e de quimotripsina) e de  $\beta$ -glicosidases no trato gastro-intestinal (estômago e intestino) e no fígado;
2. Determinar as diferenças de atividade enzimática entre as duas espécies de peixes, comparando-se os órgãos estudados;
3. Verificar se as atividades catalíticas das enzimas podem atuar como biomarcadores de alteração ambiental e de variações sazonais;
4. Constatar as possíveis variações das atividades enzimáticas de proteases e glicosidases entre os órgãos em um período de dois anos, de 2004 a 2006, no reservatório da UHE do Funil;
5. Constatar as possíveis variabilidades das atividades enzimáticas entre os órgãos do sistema digestório de *P. maculatus* em dois reservatórios: alterado (eutrofizado e com elevada taxa de sedimentação) (reservatório da UHE do Funil-RJ) e não alterado (reservatório da UHE de Santa Branca-SP, oligotrófico e com baixa taxa de sedimentação), durante a estação de inverno de 2006.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material utilizado

As duas espécies de peixes Siluriformes (*P. maculatus* e *H. auroguttatus*) foram coletadas trimestralmente no reservatório da UHE do Funil e no rio Paraíba do Sul, à jusante deste reservatório entre julho de 2003 e outubro de 2004. Um total de 44 espécimens de *H. auroguttatus* e de 41 indivíduos de *P. maculatus* foi usado nesta parte do trabalho. Adicionalmente, no inverno de 2006, para uma das espécies de peixes (*P. maculatus*) foram feitas coletas no reservatório de UHE do Funil (área de interesse) – 12 indivíduos e em um ambiente relativamente bem preservado (reservatório de Santa Branca-SP) – 12 indivíduos para testar se o nível de variação ambiental entre os dois sistemas que barram o rio Paraíba do Sul apresenta diferenças nas atividades enzimáticas de proteases e de glicosidases. Em cada local, foram coletados somente exemplares adultos vivos. Os exemplares foram sacrificados por imersão em água a 4 °C. Após ter medido o comprimento e a massa corpórea, os indivíduos foram introduzidos em uma câmara de fluxo laminar (Veeco, Campinas, SP), onde sofreram incisão longitudinal ventral para retirada de uma porção do intestino. Para retirada do conteúdo intestinal, a região posterior retal do intestino foi escolhida, sendo a dissecação dessa porção padronizada em 26,0 cm para *H. auroguttatus* e 2,5 cm para *P. maculatus* como ilustra a Tabela 1 (Introdução Geral)

Portanto este desenho amostral foi feito para testar variações da atividade enzimática entre os ambientes lântico e lótico, bem como mudanças decorrentes das variações sazonais (estações do ano).

#### 3.2. Preparação das alíquotas

Retirou-se o conteúdo interno do segmento intestinal e estomacal, lavando-o com solução salina a 9%, em seguida o tecido (estomacal, intestinal ou hepático) foi pesado e ao mesmo foi adicionada a solução salina, macerando-o (Figuras 33a; 33b; 33c). O volume foi escolhido de maneira que cada extrato tivesse a mesma relação entre massas de tecido e volume de solução salina a 9 %, ou seja, de cada 1 mL de extrato foi proveniente de 5g de tecido (Figuras 40d; 40e). Posteriormente o material é centrifugado (14.000 rpm, 60 min, 4 °C) e o sobrenadante é separado em quatro alíquotas menores, que são acondicionadas em “freezer” a – 80 °C. Cada alíquota correspondeu a uma análise enzimática a ser feita: tripsina, quimotripsina, glicosidase e a quarta alíquota foi reservada para a dosagem de proteínas totais.

A preparação das alíquotas da atividade com especificidade tripsínica, quimotripsina, glicosidase estão registradas no protocolo do ANEXO 2

### 3.3. Análise Quantitativa

Os dados de velocidade inicial para as atividades tripsínica, quimotripsínica e de  $\beta$ -glicosidase foram obtidos a partir das inclinações dos gráficos de incremento de absorbância em função do tempo (dAbs/dt), tendo sido utilizadas as regiões lineares de tais gráficos. Os gráficos e cálculos de parâmetros cinéticos foram preparados com o auxílio do programa computacional Microcal Origin. Estes valores foram então divididos pelos respectivos valores de absorvidade molar dos produtos formados (x para 4-nitroanilina e y para 4-nitrofenol) para fornecer a velocidade ( $\text{mols min}^{-1} \text{ L}^{-1}$ ), em espectrofotômetro modelo Shimadzu UV 160 A, contendo compartimento com controle de temperatura. Finalmente as atividades específicas foram obtidas após a divisão dos valores de velocidade pela concentração total de proteína correspondente à massa de tecido utilizada para o ensaio.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Atividade enzimática em *Hypostomus auroguttatus* Kner 1854

**4.1.1. Atividade com especificidade tripsínica:** Foi a mais elevada quando comparada com a atividade quimotripsínica, em *H. auroguttatus* (Figura 33A). O intestino apresentou significativamente valores maiores, seguido do estômago, enquanto o fígado apresentou os menores valores de atividade tripsínica. Maiores atividades de tripsina foram observadas na primavera no estômago e as atividades foram igualmente elevadas no inverno e na primavera no intestino. Em relação às atividades tripsínicas hepáticas, as variações sazonais não foram significativas, a despeito de terem sido observadas atividades elevadas para peixes do rio no inverno, embora com desvio padrão elevado. De uma maneira geral, durante o verão foram apresentadas as menores atividades de tripsina nos três órgãos. Não foram observadas diferenças significativas entre o ambiente de rio e o ambiente de reservatório, embora tenha sido detectada uma maior tendência para elevação de atividade no ambiente de rio para esta atividade no intestino (Figura 34 A; Tabela 8).

**Figura 33.** Preparação das alíquotas de conteúdo orgânico referente a estômago, intestino e fígado de *Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus* do reservatório da UHE de Funil 2004

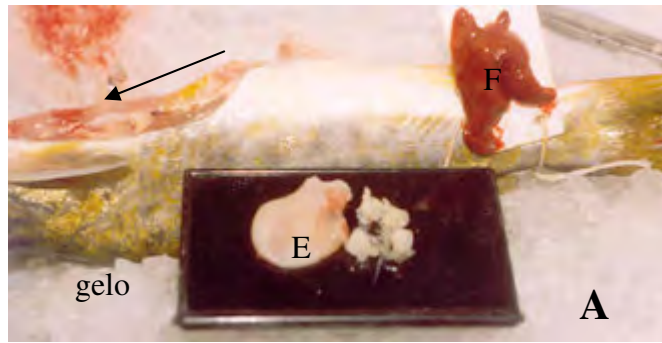
A) Exemplar de *P. maculatus* acondicionado a  $-4^{\circ}\text{C}$  (gelo), após a incisão ventral (  $\rightarrow$  ); no detalhe estômago (E) e fígado (F);

B) Pesagem em balança de precisão dos segmentos do sistema digestório;

C) Fragmentos dos segmentos do sistema digestório originado de cortes com tesoura, para facilitar a maceração;

D) Maceração para obtenção de massa de proteína por massa de tecido, de cada segmento do trato digestivo;

E) Volume do extrato orgânico obtido após a maceração calculado considerando-se que cada 1 mL de extrato, foi proveniente de 5 g de tecido



**4.1.2. Atividade com especificidade quimotripsínica:** As atividades estomacais de enzimas com especificidade de quimotripsina foram de modo geral mais baixas que as atividades intestinais e não revelaram variações sazonais significativas. Assim como o observado para a atividade tripsínica, a atividade intestinal com especificidade quimotripsínica apresentou tendência de elevação no inverno e na primavera, tendo sido significativamente mais baixa nos meses de verão. Apresentou o mesmo padrão de variação da tripsina para intestino, também com uma tendência de maiores valores para o ambiente de rio. Esta atividade foi maior na primavera para o estômago e fígado e no inverno para o intestino. As atividades hepáticas do tipo quimotripsina apresentaram um tendência de redução na estação mais quente, mas outras diferenças significativas não foram observadas. Diferenças para as atividades quimotripsínicas entre os ambientes lântico e lótico não foram significativas para nenhum dos órgãos estudados. (Figura 34B ; Tabela 8).

**4.1.3. Atividade de beta-glicosidase:** A exemplo da tripsina e da quimotripsina, a  $\beta$ -glicosidase apresentou o mesmo padrão entre os órgãos, sendo significativamente mais elevada no intestino. No inverno, verificou-se a maior atividade em todos os três órgãos estudados e no verão os menores valores. Para a atividade intestinal da enzima, atividades elevadas foram também observadas para as amostras de peixes de primavera. Nenhuma diferença foi encontrada entre os ambientes do rio e do reservatório para nenhum dos três órgãos (Figura 34 C; Tabela 8).

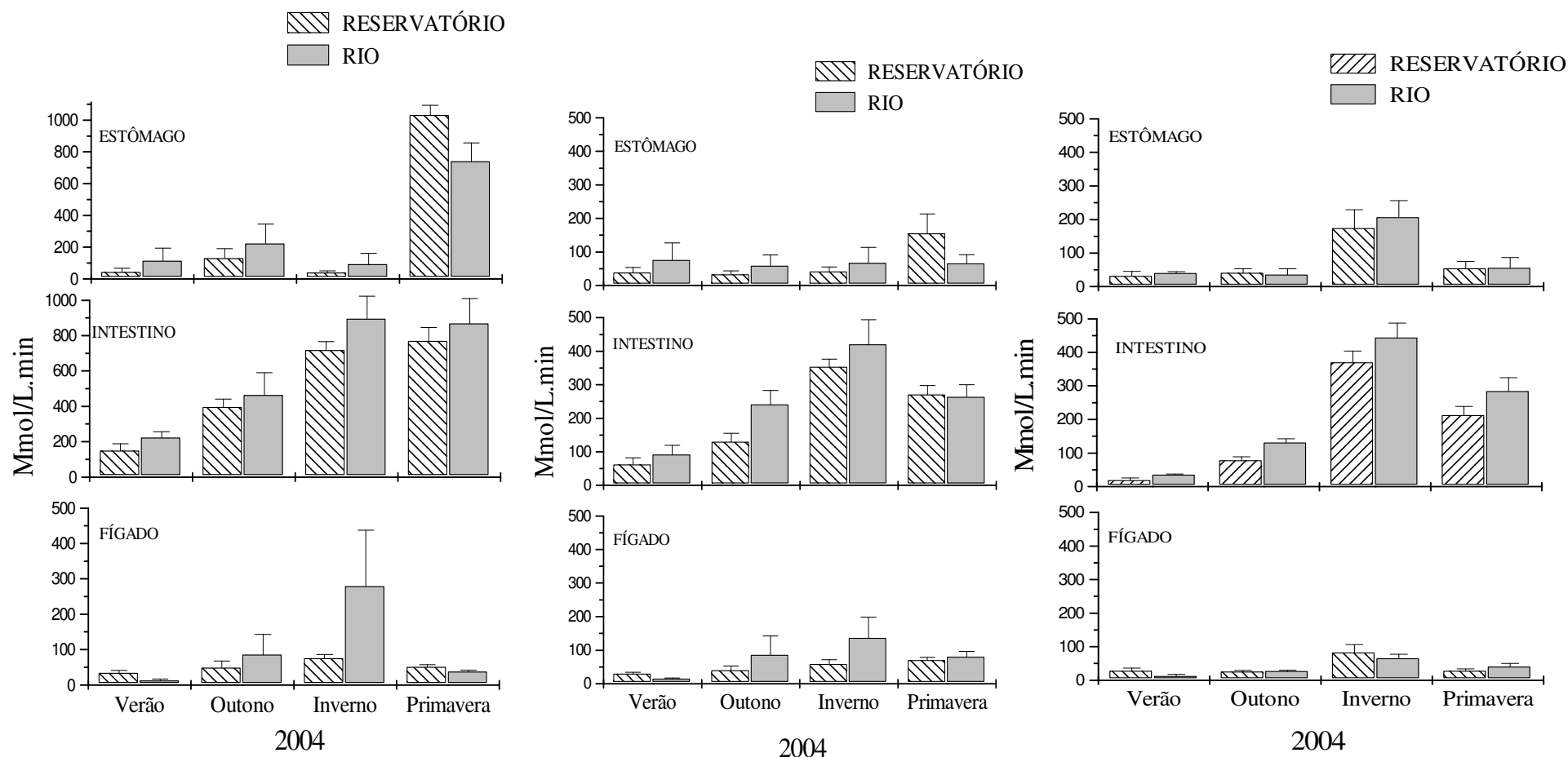
## **4.2. Atividade enzimática em *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803**

**4.2.1. Atividade com especificidade tripsínica:** Não se observaram diferenças significativas entre as atividades tripsínicas no estômago e no intestino, uma vez que as variações individuais de atividades foram mais elevadas que possíveis diferenças entre os dois órgãos. As diferenças entre espécimes foram menores para as amostras hepáticas possivelmente porque as enzimas do trato gastro-intestinal refletiram mais o estado nutricional do indivíduo. Em geral, a atividade tripsínica hepática parece menor que as atividades estomacal e intestinal, embora as diferenças não sejam significativas. Variações sazonais significativas não foram observadas, mas a atividade tripsínica intestinal parece ter sofrido uma redução durante os meses de outono (Figura 35A; Tabela 9).

a) ATIVIDADE DE TRIPSINA

b) ATIVIDADE DE QUIMOTRIPSINA

c) ATIVIDADE DE GLICOSIDASE



**Figura 34.** Atividade enzimática de tripsina (A), quimotripsina (B) e glicosidase (C) no sistema digestório (estômago, intestino e fígado ) de *Hypostomus auroguttatus* no reservatório de Funil durante as estações do ano de 2004.

**Tabela 8.** Diferenças significativas entre três atividades enzimáticas – tripsina, quimotripsina e glicosidase – do sistema digestório de *Hypostomus auroguttatus* em relação às zonas e estações do ano em 2004 no reservatório da UHE do Funil, RJ.

| <b>Atividade variáveis</b> | <b>Enzimática</b>            | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças Significativas</b>                |
|----------------------------|------------------------------|---------------------|---|
| Tripsina                   | Estômago                     | <b>61,99 (0,00)</b> | Prim > Out > Ver – Inv<br>-----                 |
|                            | Intestino                    | <b>24,80 (0,00)</b> | Prim > Inv > Out > Ver<br>-----                 |
|                            | Fígado                       | -                   | -----   |
|                            | Órgãos do sistema digestório | <b>31,95 (0,0)</b>  | <i>Intestino &gt; Estômago &gt; Fígado</i>      |
| Quimotripsina              | Estômago                     | <b>4,90 (0,05)</b>  | <i>Prim &gt; Ver &gt; Inv &gt; Out</i><br>----- |
|                            | Intestino                    | <b>29,68 (0,00)</b> | <i>Inv &gt; Prim &gt; Out &gt; Ver</i><br>----- |
|                            | Fígado                       | -                   | -----   |
|                            | Órgãos do sistema digestório | <b>48,02 (0,0)</b>  | <i>Intestino &gt; Estômago - Fígado</i>         |
| Glicosidase                | Estômago                     | <b>15,88 (0,00)</b> | <i>Inv &gt; Prim &gt; Out &gt; Ver</i><br>----- |
|                            | Intestino                    | <b>51,78 (0,00)</b> | <i>Inv &gt; Prim &gt; Out &gt; Ver</i><br>----- |
|                            | Fígado                       | <b>4,46 (0,00)</b>  | Inv > Prim > Out > Ver<br>-----                 |
|                            | Órgãos do sistema digestório | <b>24,11 (0,0)</b>  | <i>Intestino &gt; Estômago – Fígado</i>         |

**4.2.2. Atividade com especificidade quimotripsínica:** As atividades intestinal e estomacal do tipo quimotripsina foram aparentemente menores que as atividades tripsínicas nos órgãos correspondentes. Não se observaram diferenças significativas entre as atividades gastro-intestinal e hepática. Variações sazonais também não foram relevantes a despeito de uma redução drástica da atividade quimotripsínica hepática em peixes coletados no outono e de uma tendência de aumento na atividade estomacal na mesma estação (Figura 35B; Tabela 9).

**4.2.3. Atividade de beta-glicosidase:** De modo geral as atividades de beta-glicosidase no trato gastro-intestinal foram significativamente menores em *Pimelodus maculatus* que em *Hypostomus auroguttatus*. Atividades estomacais de beta-glicosidase foram elevadas somente em peixes coletados no verão, tendo sido significativamente maiores em peixes do rio que do reservatório. As atividades intestinais também foram baixas, sem variações sazonais relevantes a despeito de atividades mais elevadas observadas para peixes do reservatório coletados durante o verão. As atividades hepáticas foram moderadamente baixas sem variações sazonais importantes (Figura 35C; Tabela 9).

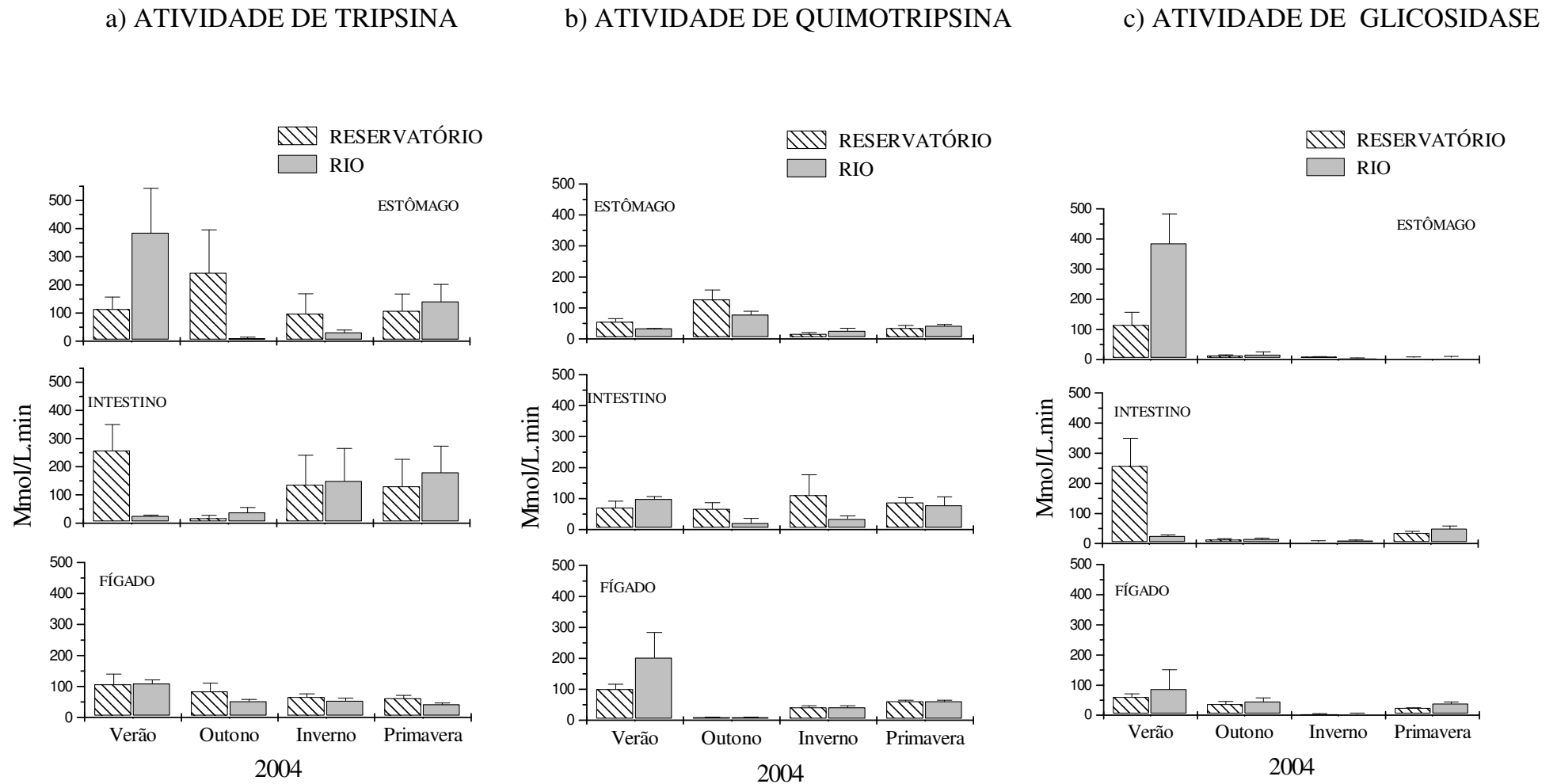
#### **4.3. Comparação de atividade enzimática entre as duas espécies de Siluriformes**

*H. auroguttatus* apresentou maior atividade enzimática de proteases com especificidade de tripsina e de quimotripsina no intestino do que *P. maculatus*. A atividade de enzimas do tipo tripsina no estômago também foi maior em *H. auroguttatus* do que em *P. maculatus*. No fígado nenhuma destas enzimas apresentaram diferenças significativas entre as duas espécies. Conforme já mencionado, de modo geral as atividades de beta-glicosidase no trato gastro-intestinal foram menores em *P. maculatus* que em *H. auroguttatus* (Figura 44; Tabela 9).

#### **4.4. Comparação da atividade enzimática em *Pimelodus maculatus* entre o sistema lótico e lântico do reservatório da UHE do Funil no Inverno/06**

Devido à grande variabilidade da atividade enzimática entre indivíduos no ano de 2004, foram feitas novas análises no inverno de 2006, visando a comparar novamente os trechos lânticos e lóticos. Em 2006 obteve-se em geral uma maior atividade de tripsina e de quimotripsina, quando comparada com o período correspondente de 2004.





**Figura 35.** Atividade enzimática de tripsina (A) quimotripsina (B) e glicosidase (C) no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) de *Pimelodus maculatus* no reservatório de Funil durante as estações do ano de 2004.

**Tabela 9.** Diferenças significativas entre três atividades enzimáticas – tripsina, quimotripsina e glicosidase – do sistema digestório de *Pimelodus maculatus* em relação as zonas e estações do ano em 2004 no reservatório da UHE do Funil – RJ.

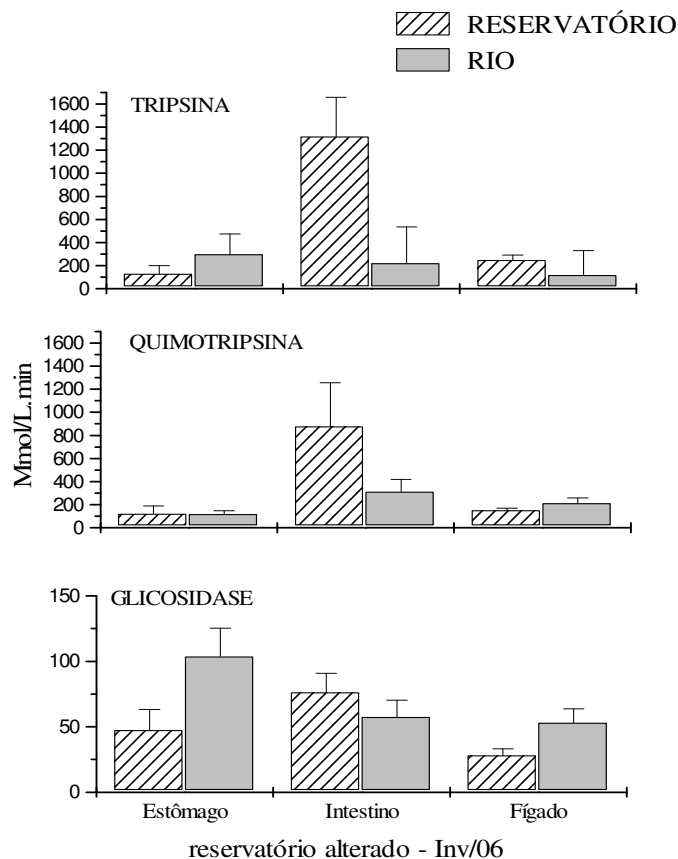
| <b>Atividade variáveis</b> | <b>Enzimática</b>            | <b>-</b>                                  | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças Significativas</b>             |
|----------------------------|------------------------------|---|---------------------|--|
| Tripsina                   | Estômago                     | -   | -                   | -----  |
|                            |                              |   | -                   | -----  |
|                            | Intestino                    | -   | -                   | -----  |
|                            |                              |   | -                   | -----  |
|                            | Fígado                       | <b>4,23(0,01)</b><br><b>4,33(0,04)</b>    |                     | Ver > Out > Inv > Prim<br>Reservatório > Rio |
|                            | Órgãos do sistema digestório |   | <b>11,69 (0,00)</b> | Intestino > Estômago – Fígado                |
| Quimotripsina              | Estômago                     | -   | -                   | -----  |
|                            |                              |   | -                   | -----  |
|                            | Intestino                    | <b>6,73 (0,00)</b><br><b>4,34 (0,04)</b>  |                     | Ver > Out > Prim > Inv<br>Reservatório > rio |
|                            | Fígado                       | <b>17,25 (0,00)</b><br>-                  |                     | Ver > Prim > Inv > Out<br>-----              |
|                            |                              | Órgãos do sistema digestório              |                     | 0,96 (0,38)<br>-----                         |
| Glicosidase                | Estômago                     | <b>12,18 (0,00)</b><br><b>4,13 (0,03)</b> |                     | Ver > Out - Inv – Prim<br>Rio > reservatório |
|                            | Intestino                    | <b>8,47 (0,00)</b>                        |                     | Ver > Prim > Out > Inv                       |
|                            | Fígado                       | -   | -                   | -----  |
|                            |                              |   | -                   | -----  |
|                            |                              | Órgãos do sistema digestório              | -                   | -  |

**Tabela 10.** Diferenças significativas das três atividades enzimáticas – tripsina, quimotripsina e glicosidase – entre espécies e segmentos do sistema digestório dos dois Siluriformes em 2004 no reservatório da UHE do Funil – RJ

| Atividade Enzimática – variáveis |               | F(p)                | Diferenças Significativas                    |
|----------------------------------|---------------|---------------------|--|
| Estômago                         | Tripsina      | <b>9,03 (0,00)</b>  | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
|                                  | Quimotripsina | -                   | -----  |
|                                  | Glicosidase   | <b>4,29 (0,04)</b>  | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
| Intestino                        | Tripsina      | <b>68,64 (0,00)</b> | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
|                                  | Quimotripsina | <b>91,34 (0,00)</b> | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
|                                  | Glicosidase   | <b>26,94 (0,00)</b> | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
| Fígado                           | Tripsina      | -                   | -----  |
|                                  | Quimotripsina | -                   | -----  |
|                                  | Glicosidase   | -                   | -----  |
|                                  |               |                     |  |

Coincidentemente com 2004 (Figuras 33 - 44), foram obtidos em 2006 (Figura 35) maiores valores de atividade de quimotripsina no intestino de peixes do reservatório que de peixes provenientes do rio. Para as atividades de glicosidase, diferenças entre os ambientes não foram significativas, mas observa-se uma tendência de maior atividade enzimática para peixes do rio que para peixes do reservatório no estômago e no fígado. Da mesma forma, as atividades de quimotripsina no estômago e no fígado não foram significativamente diferentes nos ambientes lóticos e lênticos.

Diferentemente do ano de 2004, em 2006 a atividade tripsínica intestinal apresentou uma maior atividade no reservatório que no rio. De modo geral, os dados mostram que a atividade das enzimas digestivas estudadas não foi um bom biomarcador de efeito, pois as diferenças de atividade entre os ambientes lêntico e lótico não são consistentes e usualmente não são significativas, sendo normalmente menores que as diferenças entre indivíduos.



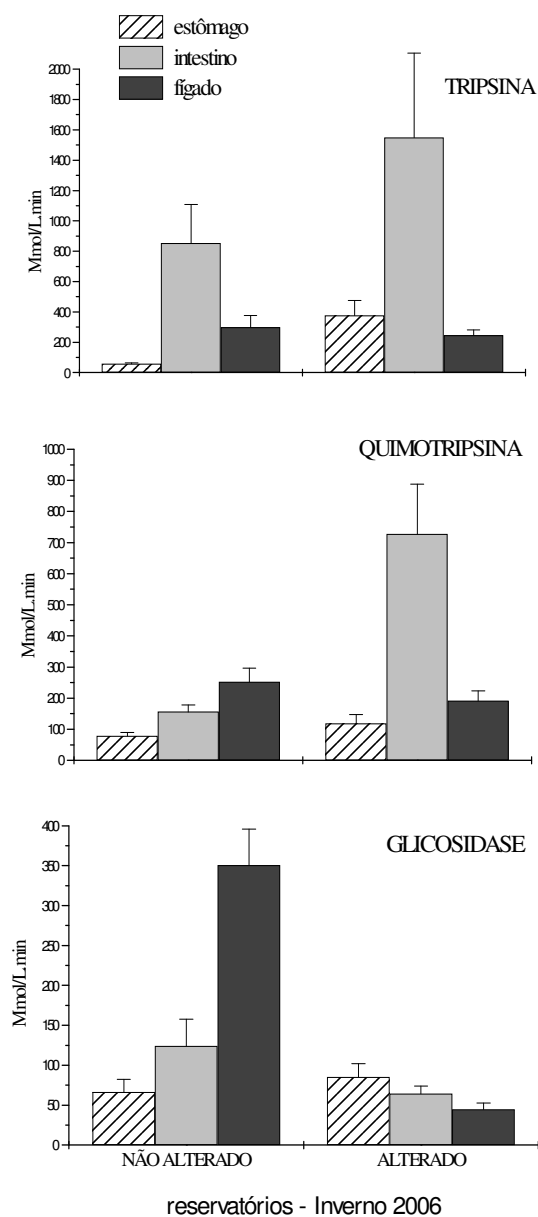
**Figura 36.** Atividade enzimática no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) em *Pimelodus maculatus* no reservatório da UHE Funil no Inverno 2006 (julho).

#### 4.5 Atividade enzimática em *Pimelodus maculatus* em dois reservatórios com diferentes níveis de alteração

A Figura 36 e a Tabela 11 apresentam a análise das três atividades enzimáticas (proteases dos tipos tripsina e quimotripsina e beta-glicosidase) no sistema digestivo de *P. maculatus* no reservatório alterado (reservatório da UHE de Funil - RJ) e no não alterado (reservatório da UHE Santa Branca – SP ) durante o inverno de 2006.

No ambiente não alterado (Santa Branca), o fígado apresentou maior atividade de glicosidase, mas as atividades glicosidásicas estomacis e intestinais não variaram significativamente entre os dois órgãos. A tripsina, por sua vez, apresentou maior atividade no intestino, seguida do estômago e menor atividade no fígado. A atividade tripsínica estomacal parece ter sofrido uma diminuição significativa em peixes do reservatório poluído, quando comparada com a atividade enzimática de peixes do reservatório

oligotrófico de Santa Branca. Em relação à atividade quimotripsínica, parece existir um aumento significativo da atuação intestinal da enzima em peixes do ambiente poluído em relação aos espécimes coletados no ambiente oligotrófico. Temos, portanto, indícios preliminares de três possíveis biomarcadores de poluição: atividade tripsínica estomacal, atividade quimotripsínica intestinal e atividade glicosidásica hepática. Todavia, estudos adicionais são necessários para confirmar a relevância e a consistência desses resultados.



**Figura 37.** Atividade enzimática no sistema digestório (estômago, intestino e fígado) de *Pimelodus maculatus* nos reservatórios da UHE de Santa Branca (não alterado) e do Funil (alterado) no Inverno 2006.

**Tabela 11:** Atividades enzimáticas (tripsina, quimotripsina e glicosidase) no sistema digestório de *P. maculatus* no reservatório alterado (reservatório da UHE do Funil - RJ) e não alterado ( reservatório da UHE de Santa Branca – SP) durante a estação de inverno de 2006.

| <b>Atividade variáveis</b>                                  | <b>Enzimática</b> | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças Significativas</b> |
|---|-------------------|---------------------|----------------------------------|
| <b>Inverno 2006 – Santa Branca (não alterado)</b>           |                   |                     |                                  |
| Órgãos do Sistema digestório                                | Tripsina          | <b>4,79 (0,01)</b>  | Intestino > Estômago > Fígado    |
|   | Quimotripsina     | <b>9,06 (0,00)</b>  | Fígado > Intestino > Estômago    |
|   | Glicosidase       | <b>18,40 (0,00)</b> | Fígado > Intestino > Estômago    |
| <b>Inverno 2006 - Funil (alterado)</b>                      |                   |                     |                                  |
| Órgãos do Sistema digestório                                | Tripsina          | -                   | -----                            |
|   | Quimotripsina     | <b>4,88 (0,01)</b>  | Intestino > Estômago = Fígado    |
|   | Glicosidase       | -                   | -----                            |
| <b>Inverno 2006:<br/>Ambiente Alterado vs. Não Alterado</b> |                   |                     |                                  |
| <b>TRIPSINA</b>   |                   |                     |                                  |
| Estômago  |                   | -----               | -----                            |
| Intestino   |                   | -----               | -----                            |
| Fígado  |                   | -----               | -----                            |
| <b>QUIMOTRIPSINA</b>  |                   |                     |                                  |
| Estômago  |                   | -----               | -----                            |
| Intestino   |                   | <b>5,18 (0,03)</b>  | Não Alterado > Alterado          |
| Fígado  |                   | -----               | -----                            |
| <b>GLICOSIDASE</b>  |                   |                     |                                  |
| Estômago  |                   | -----               |                                  |
| Intestino   |                   | -----               |                                  |
| Fígado  |                   | <b>44,32 (0,00)</b> | Alterado > Não Alterado          |

## 5 - DISCUSSÃO

O reservatório de UHE do Funil, que é formado pelo barramento do rio Paraíba do Sul após seu trecho médio superior, onde a influência da baixa qualidade da água é marcante (KLAPPER, 1998) foi comparado com outro reservatório (reservatório de UHE Santa Branca), que represa o mesmo rio Paraíba do Sul em seu trecho superior, onde poucas influências antrópicas existem devido à inexistência de grandes cidades ou de parques industriais instalados à montante. Existe ainda pouca informação disponível sobre atividade enzimática em peixes, e muito menos ainda sobre o uso deste tipo de atividade como marcador de poluição.

No presente estudo, comparações da atividade enzimática de um dos peixes (*P. maculatus*) entre os dois reservatórios com diferentes estados de alteração (reservatório de UHE Funil *versus* reservatório da UHE Santa Branca) não apresentou tendências que pudessem indicar que as diferenças do estado trófico dos reservatório se refletisse na atividade enzimática. Todavia, três observações preliminares podem ser apontadas como possivelmente relevantes: uma menor atividade estomacal de tripsina em peixes do ambiente poluído, uma elevação de atividade quimotripsínica intestinal em peixes do ambiente poluído e uma diminuição da atividade de  $\beta$ -glicosidase hepática em espécimens no reservatório da UHE do Funil, quando comparado a indivíduos do reservatório oligotrófico. Esta última observação talvez seja a mais interessante sob o aspecto de busca de um biomarcador enzimático de poluição, por dois motivos: primeiramente, a diferença de atividade entre os dois ambientes foi significativa. O segundo aspecto importante é que muitos biomarcadores enzimáticos são enzimas hepáticas (VAN DER OOST *et al.*, 2003). Deste modo, a atividade de  $\beta$ -glicosidase pode refletir alterações fisiológicas e histológicas do fígado de animais de ambiente eutrofizado. Considerando-se que os ensaios de medida de atividade glicosidásica são de relativa simplicidade, investigações adicionais devem ser conduzidas para verificar se tal atividade pode de fato ser um novo bioindicador de poluição.

As causas destas diferenças não são explicadas e requerem o aprofundamento dos estudos visando a encontrar padrões, o que ainda é muito controverso na literatura disponível. CHONG *et al.*, (2002) mostraram que as atividades quimotripsínica e tripsínica

em *Symphysodon aequifasciata* eram claramente mais elevadas no intestino do que no estômago. LUNDSTEDT *et al.*, (2004) mostraram que *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado) apresentava atividade proteolítica dos tipos tripsínica e quimotripsínica, que era especialmente elevada no estômago. Entretanto, estes estudos não relacionam às atividades enzimáticas a variações ambientais. Portanto, conclui-se que não existem informações suficientes para deduzir que a atividade enzimática no órgão do trato digestório depende de condicionantes ambientais.

As enzimas digestivas nos peixes têm sido associadas ao hábito alimentar, com diferenças entre os órgãos. Quando considerado apenas o reservatório da UHE do Funil, o intestino foi o órgão que apresentou maior atividade enzimática em ambas as espécies. CHAKRABARTI *et al.* (1995) estudando atividade em 11 teleósteos de água doce encontrou que as várias enzimas estudadas (alfa-amilase, celulase, invertase, esterase, protease ácida e alcalina) foram mais elevadas no intestino quando comparadas com o estômago e fígado das diferentes espécies de peixes com hábito alimentar diferenciado. Pode ser concluído, portanto, que a atividade enzimática é mais pronunciada no intestino, independentemente do hábito alimentar. Estes estudos também mostram a dificuldade de obter uma associação entre níveis de atividades de enzimas digestivas e o hábito alimentar de peixes, o qual por sua vez pode variar de um ambiente oligotrófico para um ambiente eutrofizado.

As três atividades enzimáticas testadas no estômago e no intestino foram consistentemente maiores em *H. auroguttatus* quando comparadas com *P. maculatus*, enquanto que no fígado não se observou diferença interespecífica. Elevada atividades enzimáticas no trato digestório de peixes iliófagos provavelmente são maiores do que em peixes onívoros, devido ao maior conteúdo vegetal cuja digestão é mais difícil. Especialmente em relação à digestão de carboidratos, alguns autores sugerem que peixes possam expressar enzimas celulolíticas, mas o mais provável é que tais enzimas sejam produzidas por espécies da microbiota do trato gastro-intestinal. BAIRAGI *et al.* (2002) sugerem ainda que a presença de microorganismos com enzimas celulolíticas está relacionada ao hábito alimentar do peixe, sendo comumente encontrada em animais herbívoros e raramente encontrada em peixes carnívoros. Possivelmente por esta razão, as atividades de glicosidases no trato gastrointestinal foram comumente maiores em *H.*



*auguttatus* que em *P. maculatus*. Considerando-se que existe uma microbiota associada ao trato-gastrointestinal de vertebrados, uma questão interessante é saber se as enzimas digestivas dos peixes são produzidas pelo próprio animal ou se são de origem microbiana. IZVEKOVA (2005) avaliou a contribuição de proteases e amilases secretadas por bactérias firmemente aderidas ao intestino de peixes. A ocorrência de atividade enzimática em peixes herbívoros tem sido muito controversa, com alguns autores (PREJS & BLASZEZKY, 1974; LOBEL, 1981) arguindo que a atividade enzimática não tem origem no próprio peixe e sim na microbiota do trato gastrointestinal, enquanto que outros (PREJS & BLASZEZKY, 1977) registraram atividade enzimática nas próprias espécies de peixes. NELSON (1999) estudando um cascudo comedor de madeira do gênero *Panaque* encontrou que esta espécie teve atividade enzimática dirigida contra celulose cuja origem foi atribuída à microbiota. SHEHERBINA & KAZLAWLENE (1971) in BAIRAGI *et al.*, (2002) sugerem que uma celulase endógena é secretada na porção anterior do trato digestivo da carpa, enquanto a absorção da celulose ocorre na porção posterior do trato digestivo, indicando a presença de celulase microbiana nesta região. BAIRARD *et al.* (2002) concluiu existem enzimas digestivas produzidas por microbiota, além daquelas produzidas no trato gastrointestinal, e que peixes herbívoros podem beneficiar-se da celulase microbiana, já que mais energia da dieta seria disponível para estes peixes.

Além das variações devidas à exposição a agentes xenobióticos específicos, também existem mudanças que dependem mais amplamente do ambiente ocupado por estas espécies. Os chamados ambientes lênticos (represados) são mais variáveis em suas características ambientais e isto tem grande influência para peixes que vivem no fundo (bentônicos) e têm que adaptar-se para suportar a este tipo de variação (AGOSTINHO *et al.*, 2004). Por outro lado, os ambiente lóticos, devido ao movimento contínuo e unidirecional do fluxo da água, apresentam maior estabilidade das características ambientais e melhor qualidade ecológica em geral, ditada pela contínua renovação da água. Deste modo, é importante encontrar biomarcadores que possam diferenciar indivíduos de ambientes lênticos daqueles de ambientes lóticos. Considerando-se que a disponibilidade de alimentos é diferente nos dois ambientes, a hipótese é que as atividades de enzimas digestivas como proteases e glicosidases sejam sensíveis ao tipo de ambiente, podendo então atuar com biomarcadores. Todavia, no presente trabalho não foram encontradas

diferenças significativas nas atividades enzimáticas investigadas de *H. auroguttatus* entre os dois tipos de ambientes, enquanto para *P. maculatus* observou-se uma tendência de maiores atividades enzimáticas no ambiente lêntico que no ambiente lótico, mas as diferenças não foram estatisticamente significativas. .

A sazonalidade na atividade enzimática também foi observada no presente trabalho, que indicou maior tendência de valores das atividades enzimáticas no inverno e na primavera para *H. auroguttatus*, embora nem sempre com diferenças significativas em relação às outras estações. No caso de *P. maculatus*, as variações sazonais não são evidentes. *H. auroguttatus* é uma espécie residente e territorialista, com pequena capacidade de deslocamento; os peixes algívoros no inverno têm melhores condições ambientais no reservatório da UHE do Funil, quando menor contribuição alóctone é introduzida no sistema aquático e a represa se encontra em cota relativamente elevada, talvez justificando a maior atividade enzimática relacionada a uma alimentação mais intensa. Já *P. maculatus* é uma espécie com capacidade de realizar pequenas migrações no verão quando ocorre a maior parte de suas desovas, e esta maior atividade de verão poderá resultar em maior atividade enzimática.

## 6. CONCLUSÕES

1. As três atividades enzimáticas foram mais elevadas no intestino e estômago de *H. auroguttatus* quando comparado com *P. maculatus*.
2. As atividades enzimáticas foram maiores no inverno e na primavera para *H. auroguttatus*. Para *P. maculatus*, as variações sazonais não foram significativas.
3. *P. maculatus* apresentou maior atividade enzimática no fígado do reservatório não alterado quando comparado com o reservatório alterado.
4. *H. auroguttatus* tendeu a apresentar maiores atividades enzimáticas no ambiente de rio quando comparado com o reservatório, enquanto *P. maculatus* apresentou maior atividade no reservatório que no rio.
5. A atividade hepática de  $\beta$ -glicosidase de *P. maculatus* pode vir a ser um biomarcador de poluição, caso as diferenças observadas entre os ambientes eutrófico e oligotrófico sejam confirmadas em estudos mais abrangentes.

## 7 . REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; VERÍSSIMO, S.; OKADA, E. K.. Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. v. 14; n.1; p.11-19, 2004.

ALLAN, I. J.; VRANA, B.; GREENWOOD, R.; MILLS, G. A.; ROIG, B.; GONZALEZ, C. A “toolbox” for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive. *Talanta*, v. 69, p.302-322, 2006.

BAIRAGI, A.; GOSH, K. S.; SEN, S. K.; RAY, A. K. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquacult. Int.*, v.10, p.109-121, 2002.

BOGIALLI, S.; BRUNO, M.; CURINI, R.; DI CORCIA, A.; LAGANA, A.; MARI, B. Simple assay for analyzing five microcystins and nodularin in fish muscle tissue: hot water extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, v.53, 6586 - 6592, 2005.

BRANCO, C. W. C., ROCHA, M. I. A., PINTO, G. F. S., GÔMARA, G. A. & FILIPPO, R. Limnological features of Funil Reservoir (R.J., Brazil) and indicator properties of rotifers and cladocerans of the zooplankton community. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* v.7, p. 87–92, 2002.

BUDDINGTON, R. K.; DIAMOND, J. M. Aristotle revisited: The function of pyloric caeca in fish. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 83, p.8012-8014, 1986.

CASTILLO-YÁÑEZ, F. J.; PACHECO-AGUILAR, R.; GARCÍA-CARREÑO, F. L.; NAVARRETE-DEL TORO, M. A. Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine *Sardinops sagax caerulea*. *Comp. Biochem. Physiol. B*, v. 140; p. 91-98, 2006.

CASTILLO-YÁÑEZ, F. J.; PACHECO-AGUILAR, R.; GARCÍA-CARREÑO, F. L.; NAVARRETE-DEL TORO, M. A.; LÓPEZ, M. F. Purification and biochemical characterization of chymotrypsin from the viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caeruleus*). *Food Chem.*, v. 99; p. 252-259, 2006.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo. 2004.

CHAKRABARTI, I.; GANI, MD. A.; CHAKI, K. K.; SUR R.; MISRA, K. K. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. *Comp. Biochem. Physiol. A*; v. 112, p.167-177, 1995.

CHONG, A. S. C.; HASHIM, R.; CHOW-YANG, L.; ALI, A. B. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture*, v.3, n. 4, p. 321-333, 2002.

CORRÊA, C. F.; AGUIAR, L. H.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. *Comp. Biochem. Physiol. A* ; v. 147; p. 857-862, 2007.

FENT, K. Ecotoxicological effects at contaminated sites. *Toxicology*, 205, 223-240, 2004.

Izvekova, G. I. Hydrolytic activity of enzymes of microflora associated with digestive-transport surfaces of pike intestine and *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) parasitizing in it. *J. Evol. Biochem. Physiol.* v 41, 185-193, 2005.

JUN-SHENG, L.; JIAN-LIN, L.;TING-TING, W. Ontogeny of protease, amylase and lipase in the alimentary tract of hybrid Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*). *Fish Physiol. Biochem.*, v 32, 295-303 2006.

KLAPPER H. Water quality problems in reservoirs of Rio de Janeiro, Minas Gerais and São Paulo. *Int. Rev. Hydrobiol.* V 83, 93–102, 1998.

KLOMKLAO, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H.; SIMPSON, B. K. Trypsin from the pyloric ceca of atlantic Bonito (*Sarda sarda*): Recovery and characterization. *J. Agric. Food Chem.*, v. 55: 4548-53, 2007.

KOFUJI, P. Y. M.; HOSOKAWA, H.; MATSUMOTO, T. Effect of dietary supplementation with feeding stimulants on yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel; Carangidae) protein digestion at low water temperatures. *Aquacult. Res.*, v. 37, 366-373, 2006.

KUZ'MINA, V. V.; GLATMAN, L.; DRABKIN, V.; GELMAN, A. Amylolytic activity in fish intestinal mucosa: temperature effects. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, v. 134, 529-534, 2003.

KUZ'MINA, V. V.; GOLOVANOVA, I. L.; IZVEKOVA, G. I. Influence of temperature and season on some characteristics of intestinal mucosa carbohydrases in six freshwater fishes. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 113, 255-260. 1996.

LOBEL, P. S. (1981) Trophic biology of herbivorous reef fishes: alimentary pH and digestive capabilities. *J. Fish Biol.* 19, 365-397, 2003..

LOWRY, O. H.; ROSBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. . Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 193, 265-275, 1951.

LUNDSTEDT, L. M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Compar. Biochem. Physiol. B.*, v. 137, p. 331-339, 2003.

IZYEKOVA, G.I. Hydrolytic activity of enzymes of microflora associated with digestive-transport superfaces of pike intestine and *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllídea) Parasitizing in It. *J. Evol Bioch Phys* v 41, n 2, p. 185-193, 2005

MAGALHÃES, V. F.; SOARES, R. M.; AZEVEDO, S. M. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicon*, v 39, p 1077-1085. 2001.

MICALE, V.; GARAFFO, M.; GENOVESE, L.; SPEDICATO, M. T.; MUGLIA, U. The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. 2006.

NATALIA, Y.; HASHIM, R.; ALI, A.; CHONG, A. Characterization of digestive enzyme in a carnivorous ornamental fish, the Asian bone tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture*, 233, 305-320, 2004.

NELSON, J. A.; D.J. STEWART, M.E. WHITMER, E.A.JOHNSON & D.WUBAH. Wood-eating catfishes of the genus *Panaque*: gut microflora and cellulolytic enzyme activities. *J.l Fish of Biol.* 51: 1069-1082, 1999.

PAPOUTSOGLOU, E. S.; LYNDON, A. R. Digestive enzymes of *Anarhichas minor* and the effect of diet composition on their performance. *J. Fish Biol.*, 69, 446-460, 2006.

PREJS, A. and BLASZEZYK, M. Relationship between food and cellulose activity in freshwater fishes. *J. Fish Biol.* V 11, 447-452, 1977.

VAN DER OOST, R.; BEYER, G.; VERMEULEN, N. P. E.. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13, 57-149. 2003

## **CAPÍTULO IV**

# **INFLUÊNCIA DO AMBIENTE E DO REGIME ALIMENTAR NA MICROBIOTA INDÌGENA INTESTINAL DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES SILURIFORMES NO RESERVATÓRIO DA UHE DO FUNIL - RJ**

## RESUMO

DUARTE, Silvana. **Influência do ambiente e do regime alimentar na microbiota indígena intestinal de duas espécies de peixes Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*) no reservatório da UHE de Funil, RJ. 2007, f 220.** Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Entre 2003 e 2004, foi examinada a microbiota no intestino de duas espécies de peixes Siluriformes de diferentes hábitos alimentares (*H. auroguttatus* – iliófago; e *P. maculatus* – onívoro) no reservatório da UHE do Funil. Adicionalmente utilizou-se uma das espécies (*P. maculatus*) no inverno de 2006 para comparar a microbiota entre um reservatório eutrófico e de forte alteração ambiental (reservatório da UHE do Funil) com outro reservatório oligotrófico (reservatório da UHE Santa Branca) com menor grau de alteração. A hipótese a ser testada é de que a qualidade do ambiente poderia ser uma condicionante com impacto importante sobre o micro-ecossistema digestivo e de que existem variações nos níveis populacionais e espécies bacterianas do intestino de duas espécies de peixes em função de quatro parâmetros: 1) hábito alimentar; 2) tipo de sistema (um ambiente represado e um ambiente de rio à jusante do represamento); 3) nível de alteração ambiental; e 4) estação do ano. Em relação aos meios de cultura seletivos, *P. maculatus* apresentou níveis populacionais em torno de dez a cem vezes mais elevados do que *H. auroguttatus*. Os níveis populacionais de microorganismos tanto para *H. auroguttatus* como *P. maculatus* apresentaram o mesmo padrão quando foram comparados os resultados obtidos no rio com o reservatório. Não foi observado efeito constante de alguma das quatro estações do ano sobre os valores de número de morfotipos e níveis populacionais intestinais para os dois peixes. Tanto para o número de morfotipos como para os níveis populacionais bacterianos para as duas espécies, valores mais elevados foram encontrados com mais frequência no rio em relação ao reservatório. Ao contrário dos resultados obtidos em 2003-2004, os níveis populacionais das bactérias anaeróbias estritas totais foram mais baixos quando comparados com os anaeróbios facultativos no intestino de *P. maculatus*, nos dois reservatórios em 2006. Para esses dois níveis, foi observada uma tendência em valores mais elevados no ambiente menos alterado em relação ao ambiente alterado, em particular para bactérias totais, enterococos, vibriões e bactérias do ácido lático. Nos dois reservatórios, enterobactérias, Bacteroides e bactérias do ácido lático foram entre as populações dominantes. As formas bacterianas predominantes nas duas espécies de peixes foram de bastonetes Gram negativos anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos, enquanto cocos, bastonetes Gram positivos anaeróbios facultativos foram encontrados em menor número. As leveduras também foram encontradas em menor número populacional. As bactérias *Aeromonas. hydrophila* e *Pleisiomonas shigelloidis* e as bactérias aeróbias estritas – *Fusobacterium mortiferum* foram as mais frequentemente identificadas em ambas as espécies. Os níveis populacionais e morfotipos microbianos são mais elevados nas amostras intestinais quando os peixes se encontram em ambiente menos alterado quando comparado com ambiente alterado.

**Palavras chaves:** bactérias aeróbias e anaeróbias, Siluriformes, reservatório, sazonalidade

## ABSTRACT

**DUARTE, Silvana. Fluence of environmental and feeding in of the intestinal microbiota of two Siluriformes in UHE of the Funil reservoir and Paraíba do Sul river**  
Thesis (Doctorate in Animal Biology, Biological Sciences) - Institute of Biology, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

In 2003 and 2004, the microbiota in of the intestine of two Siluriforms fish species of different feeding habits (*H. auroguttatus* – iliophgue; and *P. maculatus* – onivore) in UHE of Funil of reservoir was examined. Additionally, one of the two species (*P. maculatus*) was examined in the Winter 2006 to compare microbiota between an eutrophic and heavily altered (UHE of Funil reservoir) and a well preserved oligotrophic system (UHE of Santa Branca reservoir). The tested hypothesis is that the environment quality could be have an important impact in the digestive micro-ecosystem and that changes in populational levels and bacterial species in the intestine of the two species occur and depend four factors: 1) feeding habits; 2) types of systems (an impounded- lentic and a running waters – lotic downstream the dam); 3) environmental degradation; and 4) seasons. In relation to selective microbial culture, *P. maculatus* showed higher populational levels about 10 to 100 times higher than *H. auroguttatus*. Microbial populational levels for both *H. auroguttatus* and *P. maculatus* showed similar pattern in river and reservoir. It was not recorded a consistent effect of the seasons on the number of morphotypes and populational levels for the two species. For both number of morphotypes and populational levels in the two species, higher values was found more frequently in the river when compared with the reservoir. Contrarily to 2003-2004, in winter 2006 the populational levels of total obligate anaerobic bacteria were lower when compared with facultative anaerobic in intestine of *P. maculatus*, in both reservoirs. For the two parameters, a trend for higher values in less altered system when compared with the altered system, particularly for total bacteria, enterococos, vibrio and lactic acid bacteria. In both reservoirs, enterobactérias, Bacteroides and lactic acid bacteria ranked among the dominant populations. The bacterial forms predominant in both fish species were Gram-negative rods, facultative anaerobe and obligate anaerobe, while cocci, Gram-positive rods, facultative anaerobie and yeasts were found in lower number. The bacteria, *Aeromonas. hydrophila* and *Pleisiomonas shigelloidis* and the bacteria obligate anaerobe – *Fuso bacterium mortiferum* were the most frequently identified species. The populational levels and microbial morphotypes (isolates) were higher in intestine samples when the two species occur in the less altered system when compared with the altered system.

**Key Word:** obligate anaerobie e anaerobie bacteria, Siluriformes, reservoir, sazonality



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Microbiota digestiva de peixes

Como todo animal, os peixes abrigam elevadas populações microbianas nas suas superfícies e mucosas como pele, brânquias e trato digestivo (AUSTIN, 2002). Essas populações, chamadas globalmente de microbiota indígena, crescem usando o alimento absorvido, secreções digestivas e fragmentos da mucosa do epitélio (LESEL, 1991).

A microbiota digestiva de peixes é constituída de níveis populacionais similares de aeróbios, anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos que, de maneira similar a outras espécies animais, apresenta três grandes funções: a resistência à colonização por patógenos, a modulação do sistema imune e a contribuição nutricional. A composição da microbiota como as suas funções mudam ou podem ser influenciadas por fatores como regime alimentar e condições ambientais (RINGO & OLSEN, 1999; RINGO *et al.*, 2001).

### 1.1.1. Contribuição nutricional

Em condições normais, todos os seres vivos são associados com populações microbianas extremamente elevadas e diversificadas. Pelo seu tamanho e pela sua atividade metabólica, essa biomassa microbiana é muitas vezes considerada como um órgão ou organismo desenvolvendo nas superfícies e mucosas de um hospedeiro diversas funções benéficas. A presença dessa microbiota, por exemplo, protege os ecossistemas superficiais contra invasão por microrganismos patogênicos (proteção ecológica), modula as defesas internas dos hospedeiros (imunomodulação) e participa na nutrição deste hospedeiro (contribuição nutricional) ou na sua adaptação ao ambiente. Neste sentido, uma otimização das relações do hospedeiro com a sua microbiota associada é fundamental para que as funções citadas sejam preservadas e aproveitadas ao máximo. Para isto, é necessário um conhecimento profundo da identidade dos componentes dessa microbiota assim como dos mecanismos usados por eles para desenvolver as suas funções. Atualmente, existem bastante informações a respeito dos ecossistemas associados ao homem e alguns animais domésticos (suínos e frangos) e de laboratório (ratos e camundongos), mas muito poucas para outras espécies animais, em particular nos peixes. Para esses últimos, há também

poucas informações sobre os fatores (ambientais, nutricionais e de estresse) que podem influenciar os equilíbrios populacionais da microbiota normal e conseqüentemente as suas funções. RINGO & BIRKBECK (1999) afirmaram os componentes da microbiota digestiva podem auxiliar na digestão ou serem degradados para servir de alimento para o hospedeiro. Tem sido especulado, em particular, se os peixes poderiam obter nutrientes de bactérias ou se beneficiar da ampla variedade de enzimas extracelulares produzidas por esses microorganismos da microbiota do intestino.

A microbiota deve ser particularmente importante para peixes que se alimentam de substratos de difícil digestão e absorção, ou com necessidade em vitaminas que a microbiota pode sintetizar. Em situações específicas, enzimas microbianas como proteases devem ser particularmente importantes em peixes sem estômago ou em larvas de peixes antes do desenvolvimento do estômago (RAMIREZ & DIXON, 2003).

Componentes da microbiota de peixes têm sido associados com a produção de numerosos compostos como polímeros, ácido eicosapentaenóico, e vitaminas (MACDONALD *et al.*, 1986). Menadionas (vitamina K) são produzidas por uma grande variedade de bactérias intestinais, incluindo *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Bifidibacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Veillonella*, *Enterococcus*, *Enterobacter* e *Streptococcus* (HILL, 1997). SUGITA *et al.* (1991) relatam a habilidade de produção de vitamina B12 pela microbiota intestinal de peixes e resultados indicam que o gênero *Bacteroides* deve ser o maior produtor dessa vitamina no intestino de peixes de água doce.

A microbiota do trato gastrointestinal em geral apresenta um potencial enzimático extremamente ativo e diversificado. ABHINANDA *et al.* (2002) encontraram no trato gastrointestinal de peixes várias cepas microbianas exibindo atividade amilolítica, celulolítica, lipolítica e proteolítica. DAS & TRIPATHI (1991) comprovaram a importância dessa contribuição enzimática ao relatar um declínio da atividade da celulase intestinal em peixes alimentados com dietas suplementadas com tetraciclina, um antibiótico de amplo espectro, o suposto responsável por ter eliminado a microbiota intestinal. Diversos estudos mostraram que a produção por fermentação pela microbiota intestinal de ácidos graxos de cadeia curta deve ter um papel no fornecimento de nutrientes para peixes como o “herring cale” (*Odax cyanomelas*), a carpa (*Cyprinus carpio*), “shad” (*Dorosoma cepedianum*) e

“bass” (*Micropterus salmoides*) (SMITH *et al.* 1996). Várias enzimas de origem bacteriana foram também detectadas como amilase, carboximetilcelulase, galactosidases, glucuronidases, glucosidases, fucosidases, poligalacturonase, tripsina, esterases e fosfatase alcalina (MOUNTFORT *et al.*, 1994 ; MOUNTFORT & ATKINSON, 1995; STELLWAG *et al.*, 1995; SUGITA *et al.*, 1997; TENGJAROENKUL *et al.*, 2000; RAMIREZ & DIXON, 2003).

A fosfatase alcalina está associada com absorção de lipídeos, glicose, cálcio e fosfato inorgânicos, e pode ajudar tornando os componentes nutricionais permeáveis através da membrana do plasma. A capacidade de produção de enzimas varia nas espécies de bactérias, mas no geral, nota-se que isolados do tipo Gram positivo (*Clostridium*) produzem mais peptidases e proteases enquanto bactérias Gram negativo (*Bacteroides*, *Fusobacterium* e *Porphyromonas*) produzem carboidrases. Fosfatases, esterases e lipases são produzidas por ambas (KONEMAN *et al.*, 2001). De maneira geral também, os anaeróbios estritos desempenham um papel maior no fornecimento de um complemento enzimático para o hospedeiro quando comparados com as bactérias aeróbicas.

### **1.1.2. Influência do regime alimentar na microbiota digestiva**

O grau de contribuição da microbiota indígena à fisiologia digestiva do seu hospedeiro depende do regime alimentar e, em particular, da complexidade e dificuldade de utilização dos nutrientes absorvidos por este hospedeiro. Neste sentido, os peixes herbívoros e detritívoros devem depender muito mais da sua microbiota do que os onívoros e carnívoros. A necessidade dessa contribuição microbiana, acompanha-se da presença de um trato digestivo mais complexo e com compartimentos desenvolvidos em termos evolutivos para abrigar essa microbiota (câmara de fermentação) (SEETO *et al.*, 1996). Confirmando essa hipótese, o estudo de STICKNEY (1975) não encontrou microbiota celulolítica em “catfish” e “murrel” que são carnívoros, enquanto uma alta atividade de celulase microbiana foi detectada em peixes herbívoros e peixes onívoros.

### **1.1.3. Influência de fatores ambientais na microbiota digestiva.**

Os componentes da microbiota digestiva podem ser classificados em dois grandes grupos: biota autóctone e alóctone. A microbiota autóctone é composta por microrganismos sempre presentes durante a evolução do hospedeiro e bem adaptados ao ambiente onde vivem. Microrganismos alóctones podem ser encontrados no hospedeiro em algum dado habitat somente num determinado instante. Tais Microrganismos transitórios geralmente não se estabelecem, mas apenas passam por um local, tendo chegado a ele pela ingestão do alimento ou da água. No caso dos animais terrestres, a microbiota alóctone é esporádica e sem grande impacto para o hospedeiro (exceto quando patogênica). Já nos peixes, os microrganismos alóctones, provenientes da água que circunda o hospedeiro aquático têm um acesso constante às superfícies e mucosas. Portanto, o número e a composição taxonômica das populações bacterianas no tubo digestivo dos peixes refletem em parte a composição microbiológica da água em que vivem. Devido a este contato mais estreito com o ambiente aquático quando comparado com espécies terrestres, a microbiota digestiva é também mais influenciada pela qualidade físico-química da água (temperatura, salinidade, poluição) (OLAFSEN, 2001).

Na literatura científica, existem vários estudos relativos a influência da temperatura e da salinidade da água sobre a composição da microbiota digestivo (SUGITA *et al.*, 1989; RINGO & STROEM, 1994). Ao contrário, não se encontra informação quanto aos efeitos da poluição, estação do ano ou tipo de ambiente (lêntico ou lótico). No caso de ambientes alterados é de se esperar componentes microbianos alterados na água circundante e, portanto, com reflexo na microbiota digestiva. Na poluição com efluentes orgânicos que podem servir de substratos para crescimento, é lógico prever um aumento das populações microbianas. Já a poluição por metais, muitas vezes inibidores do crescimento microbiano, o efeito deve ser inverso. De maneira similar, a estação do ano deveria também influenciar os microrganismos presentes tanto no ambiente como na microbiota indígena de peixe, em particular pelo efeito carreador de nutrientes das águas de chuvas. Finalmente, as variações físico-químicas e nutricionais entre ambientes ecológicos diferentes, deve logicamente afetar o tipo de microrganismos presentes. Neste capítulo, procurou-se avaliar os efeitos, **caracterizando-os**, na microbiota digestiva de duas espécies de peixes Siluriformes de regime alimentar diferenciado e em condições ambientais diferenciadas.

## **1.2. Os modelos de peixes**

O cascudo (*H. auroguttatus*) é um peixe bentônico detritívoro, com uma boca ventral adaptada à uma fixação nos fundos, onde se alimenta de matéria orgânica vegetal e de microalgas. Essa alimentação baseada em nutrientes de difícil e lenta absorção faz com que tenha um dos mais longos intestinos de toda a fauna de peixes, com alguns espécimes apresentando um trato digestivo medindo até 15 vezes o comprimento total do corpo. Além do longo comprimento, o trato intestinal apresenta forma enovelada que sugere uma adaptação evolutiva para abrigar uma microbiota encarregada de auxiliar o processo digestivo do material vegetal da dieta (ANGELESCU & GNERI, 1949; FUGI & HAHN, 1991). O mandi (*P. maculatus*) é também um peixe bentônico, porém com menor dependência do fundo, apresentando inclusive capacidade de realizar deslocamentos sazonais no período reprodutivo. O seu hábito alimentar é tipicamente onívoro, com tendência a carnivoría, apresentando estratégia oportunística de predação das presas disponíveis no ambiente (GODINHO, 1967; MENIN & MIMURA, 1992; LOBÓN-CERVIÁ & BENNEMANN, 2000). Como esperado pelo seu regime alimentar, o intestino é simples e de tamanho menor (somente 1,5 vezes o comprimento do corpo), sugerindo uma menor dependência em relação a microbiota intestinal, já que proteínas animais são de mais fácil digestão.

## **1.3. Os modelos ambientais**

O reservatório da UHE do Funil, caracterizado pela baixa qualidade do trecho médio superior foi comparado com o reservatório de UHE de Santa Branca, que represa o mesmo rio Paraíba do Sul em seu trecho superior, más com pouca influência antrópica resultante da inexistência de grandes cidades ou parques industriais instalados à montante.

Também existem variações de acordo com o ambiente ocupado pelas espécies de peixes estudadas. Ambientes lênticos (represados) são mais variáveis em suas características ambientais, e isto tem grande influência para peixes que vivem no fundo (bentônicos). Por outro lado, os ambientes lóticos, devido ao movimento contínuo e

unidirecional do fluxo da água, apresentam maior estabilidade das características ambientais e melhor qualidade em geral, ditada pela contínua renovação da água.

Dois períodos bem distintos caracterizam os ambientes de rios e reservatório da região estudada. Um período de cheias de verão chuvoso, quando uma maior quantidade de material é carregada para o sistema aquático da bacia de contribuição da área de drenagem do entorno da bacia em oposição ao período de menor pluviosidade de inverno, onde as temperaturas mais baixas podem causar a desestratificação dos reservatórios, causando a mistura de água de menor qualidade da zona profunda com as águas superficiais

#### **1.4. Hipótese**

A hipótese a ser testada é que existem variações nos níveis populacionais e nas espécies bacterianas do intestino de duas espécies de peixes Siluriformes em função de quatro parâmetros: 1) hábito alimentar; 2) tipo de sistema (um ambiente represado e um ambiente de rio à jusante do represamento); 3) nível de alteração ambiental; e 4) estação do ano.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar a microbiota indígena do trato digestório de *H. auroguttatus* e *P. maculatus*, e os possíveis variações associadas ao regime alimentar (detritívoro vs. onívoro), ao período do ano (variação sazonal), ao tipo de ambiente (lêntico e lótico) e a alterações ambientais (alterado e não alterado).

### **2.2 . Objetivos Específicos**

1. Comparar os componentes dominantes da microbiota indígena intestinal entre os dois peixes Siluriformes (*P. maculatus* e *H. auroguttatus*) com regime alimentar diferente;
2. Comparar os componentes dominantes da microbiota indígena intestinal dos peixes Siluriformes (*P. maculatus* e *H. auroguttatus*) coletados em estações do ano diferentes;
3. Comparar os componentes dominantes da microbiota indígena intestinal dos peixes Siluriformes (*P. maculatus* e *H. auroguttatus*) coletados em ambientes ecológicos diferentes.

4. Comparar os componentes dominantes da microbiota indígena intestinal de um dos peixes Siluriformes (*P. maculatus*) coletados em ambientes com níveis de alteração diferentes.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Coleta dos peixes e processamento das amostras intestinais

Para os objetivos específicos 1, 2 e 3, as duas espécies de peixes Siluriformes (*P. maculatus* e *H. auroguttatus*) foram coletadas trimestralmente no reservatório da UHE do Funil e no rio Paraíba do Sul, à jusante deste reservatório, entre julho de 2003 e outubro 2004. Para o objetivo 4, no inverno de 2006, espécimes de *P. maculatus* foram coletados no reservatório de UHE do Funil e no reservatório de UHE Santa Branca. Em todos os locais, foram coletados somente exemplares adultos vivos, visando eliminar eventuais fatores interferentes decorrentes da idade do peixe. Os exemplares foram sacrificados por imersão em água a 4°C. Após ter medido o comprimento e o peso total do corpo, os indivíduos foram introduzidos numa câmara de fluxo laminar (Veeco, Campinas, SP) onde sofreram incisão longitudinal ventral para retirada de uma porção do intestino. Para retirada do conteúdo intestinal, a região posterior retal do intestino foi escolhida, sendo a dissecação dessa porção padronizada em  $\pm 26,0$  cm para *H. auroguttatus* e 6,0 cm para *P. maculatus*. O restante do intestino foi acondicionado em formol 4% para posterior biometria. Depois de obtido, o conteúdo intestinal foi pesado e submetido a diluições decimais sucessivas de  $10^{-2}$  até  $10^{-9}$  em salina esterilizada (Figura 37). Um volume de 0,1 ml de cada diluição foi plaqueado em placas de Petri contendo meios de cultura universais e seletivos como apresentado na Tabela 12. A seguir as placas foram incubadas a temperatura ambiente durante dois ou sete dias em aerobiose ou anaerobiose (câmara anaeróbica da Forma Scientific Company, Marietta, USA, contendo uma atmosfera contendo N<sub>2</sub> 85%, H<sub>2</sub> 10% e CO<sub>2</sub> 5%), respectivamente (Figura 37b), para contagem do número de colônias e número de morfotipos em cada meio (Figura 37c) e isolamento dos microrganismos dominantes (Figura 37d) do conteúdo intestinal.

### 3.2. Contagem, isolamento e identificação inicial dos microorganismos

Para a contagem, os dados foram apresentados em  $\log_{10}$  de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g de conteúdo intestinal. Para isolamento, uma amostra de cada morfotipo de colônia diferente foi repicada no mesmo meio de cultura e uma alíquota submetida à observações microscópicas a fresco e após coloração de Gram. Cada isolado foi também submetido a uma determinação do tipo respiratório (anaeróbio facultativo, microaerofílico ou anaeróbio estrito) Tabela 12. A identificação preliminar foi baseada no teste respiratório, no aspecto morfológico após coloração de Gram e nos resultados obtidos com kits de identificação API (bioMérieux S.A., Marcy-l'Étoile, França) 20A para anaeróbios, 20E para enterobactérias e outras bactérias Gram negativa, 20 STREP para *Enterococcus* e *Streptococcus*, 50CHL para metabolismo de carboidratos de bactérias lácticas e 20 AUX para leveduras). A coloração de Gram permite determinar a forma e arranjo das células bacterianas, assim como o tipo de parede celular, específicos de cada espécie. A bactéria fica com a coloração rosa para Gram negativo ou azul/roxo escuro para Gram positivo.

## 4. RESULTADOS

A análise dos dados relativos à microbiota intestinal de *H. auroguttatus* e *P. maculatus* foi feita sob dois aspectos: a) descrição comparativa da microbiota indígena no conteúdo intestinal de duas espécies de Siluriformes com regime alimentar diferente (detritívoro e onívoro), nas quatro estações do ano (outono, inverno, primavera e verão) e em dois ambientes diferentes (o reservatório e o rio que o alimenta) e b) descrição comparativa da microbiota indígena do conteúdo intestinal de uma mesma espécie em dois reservatórios (oligotrófico e eutrófico).





**Figura 38.** Etapas da análise qualitativa e quantitativa da microbiota indígena: (a) plaqueamento das diluições em meios de cultura universais e seletivos; (b) incubação em aerobiose e anaerobiose; (c) enumeração; (d) obtenção de colônias isoladas e (e) isolamento (f) contagem de colônias e (g) identificação inicial com kit API.

Tabela 12. Meios e condições de cultura para a análise qualitativa e quantitativa do conteúdo intestinal de *Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*.

| Atmosfera de incubação e meios de cultura | Mecanismo seletivo e tipo de microorganismos avaliados nos meios e atmosferas utilizados |  |                           |
|---|--|--|---------------------------|
|   | Mecanismos   | Microorganismos avaliados                                  |                           |
|   | Agar YM  | pH ácido   | Leveduras                 |
|   | Agar Enterococcus  | Azida sódica   | <i>Enterococcus</i>       |
| Aerobiose                                 | TCBS   | Tioglicolato, citrato, bile e sacarose                     | <i>Vibrio</i>             |
|   | Agar sangue  | Meio rico não seletivo                                     | Aeróbios totais           |
|   | Ágar MacConkey   | Sais biliares e corantes                                   | <i>Enterobacteriaceae</i> |
|   | Ágar BBE   | Bile e esculina  | <i>Bacteroides</i>        |
| Anaerobiose                               | Ágar MRS   | pH ácido e Tween 80  | Bactérias do ácido lático |
|   | Agar sangue suplementado   | Meio rico não seletivo suplementado com hemina e menadiona | Anaeróbios totais         |

## **4.1. Comparação da microbiota indígena dos dois Siluriformes no reservatório da UHE do Funil e no rio à jusante deste reservatório.**

### **4.1.1. Comparação entre as espécies de peixes**

Nos dois peixes, analisando o número total de microorganismos (Ágar Sangue), os anaeróbios estritos têm níveis populacionais estatisticamente mais elevados ( $P < 0,05$ , Tabelas 14 e 15) do que os anaeróbios facultativos (*H. auroguttatus* - reservatório: 6,14 / 5,32 e rio 6,53 / 3,89; *P. maculatus* - reservatório: 7,67 / 5,69 e rio: 8,03 / 7,01). Em relação aos meios de cultura seletivos, *P. maculatus* apresentou níveis populacionais em torno de dez a cem vezes mais elevados do que *H. auroguttatus* em todos eles, exceto em YM no reservatório. Os níveis populacionais de microorganismos tanto para *H. auroguttatus* como *P. maculatus* apresentaram o mesmo padrão quando foram comparados os resultados obtidos no rio com o reservatório. Entre as famílias e gêneros bacterianos avaliados, as enterobactérias e os *Bacteroides* estão entre as bactérias dominantes, porém com certa superioridade numérica das primeiras em *H. auroguttatus* (Tabela 13). Não foi observada diferença em termos de número de morfotipos entre as duas espécies (Tabela 14).

### **4.1.2. Comparação entre as estações do ano**

Não foi observado efeito constante de alguma das quatro estações do ano sobre os valores de número de morfotipos e níveis populacionais intestinais para os dois peixes (Tabelas 15 e 16), exceto para uma leve repetição de valores maiores no outono.

### **4.1.3. Comparação entre os tipos de ambiente (rio / reservatório)**

Para as duas espécies de peixes, e tanto para o número de morfotipos como para os níveis populacionais bacterianos, valores mais elevados foram encontrados com mais frequência no rio em relação ao reservatório. Este efeito foi mais particularmente observado para os níveis intestinais de alguns microorganismos em *P. maculatus* (levedura, víbrios e *Bacteroides*) (Tabelas 14 e 15).

**Tabela 13.** Nível populacional (Média  $\pm$  desvio padrão do  $\log_{10}$  ufc/g ) dos microorganismos no intestino de *Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus* no reservatório da UHE do Funil e a sua jusante RJ.

| Meios de cultura e atmosfera de incubação |                          | <i>Hypostomus auroguttatus</i> |                 | <i>Pimelodus maculatus</i> |                 |
|---|--------------------------|--------------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|
|   |                          | Reservatório                   | Rio             | Reservatório               | Rio             |
|   | YM                       | 2,20 $\pm$ 2,18                | 0,76 $\pm$ 1,78 | 1,74 $\pm$ 2,65            | 4,11 $\pm$ 2,34 |
|   | <i>Enterococcus</i>      | 2,47 $\pm$ 2,89                | 2,83 $\pm$ 3,19 | 3,54 $\pm$ 2,74            | 5,07 $\pm$ 1,91 |
| Aerobiose                                 | TCBS                     | 2,99 $\pm$ 3,02                | 3,38 $\pm$ 2,84 | 4,18 $\pm$ 3,29            | 6,43 $\pm$ 1,54 |
|   | Agar Sangue              | 5,32 $\pm$ 2,72                | 3,89 $\pm$ 3,70 | 5,69 $\pm$ 3,60            | 7,01 $\pm$ 2,76 |
|   | MacConkey                | 5,68 $\pm$ 1,74                | 6,42 $\pm$ 0,93 | 6,97 $\pm$ 1,15            | 7,41 $\pm$ 2,11 |
|   | BBE                      | 4,72 $\pm$ 2,68                | 5,01 $\pm$ 0,87 | 6,92 $\pm$ 1,46            | 7,73 $\pm$ 0,90 |
| Anaerobiose                               | MRS                      | 2,29 $\pm$ 2,49                | 4,21 $\pm$ 2,26 | 4,74 $\pm$ 2,59            | 6,30 $\pm$ 2,45 |
|   | Agar Sangue suplementado | 6,14 $\pm$ 1,61                | 6,53 $\pm$ 0,70 | 7,67 $\pm$ 1,03            | 8,03 $\pm$ 0,53 |

**Tabela 14.** Número de morfotipos (Média  $\pm$  desvio padrão) dos microorganismos no intestino de *Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus* no reservatório da UHE do Funil e a sua jusante – RJ.

| Meios de cultura e atmosfera de incubação |                          | <i>Hypostomus auroguttatus</i> |               | <i>Pimelodus maculatus</i> |               |
|---|--------------------------|--------------------------------|---------------|----------------------------|---------------|
|   |                          | Reservatório                   | Rio           | Reservatório               | Rio           |
|   | YM                       | 1,7 $\pm$ 2,1                  | 0,5 $\pm$ 1,4 | 0,8 $\pm$ 1,9              | 2,8 $\pm$ 2,7 |
|   | <i>Enterococcus</i>      | 1,0 $\pm$ 1,5                  | 0,7 $\pm$ 0,8 | 1,9 $\pm$ 1,9              | 2 $\pm$ 1,3   |
| Aerobiose                                 | TCBS                     | 1,4 $\pm$ 1,9                  | 1,1 $\pm$ 1,9 | 2,7 $\pm$ 1,9              | 2,2 $\pm$ 1,0 |
|   | Agar Sangue              | 2,7 $\pm$ 1,9                  | 2,1 $\pm$ 2,3 | 2 $\pm$ 1,6                | 2,2 $\pm$ 1,3 |
|   | MacConkey                | 3,5 $\pm$ 2,2                  | 6,0 $\pm$ 2,3 | 3,7 $\pm$ 1,3              | 4,1 $\pm$ 2,4 |
|   | BBE                      | 1,9 $\pm$ 1,4                  | 2,4 $\pm$ 1,0 | 1,7 $\pm$ 1,0              | 2,1 $\pm$ 0,5 |
| Anaerobiose                               | MRS                      | 1,1 $\pm$ 1,2                  | 2,5 $\pm$ 1,7 | 1,3 $\pm$ 1,0              | 2,1 $\pm$ 1,4 |
|   | Agar Sangue Suplementado | 4,0 $\pm$ 1,8                  | 5 $\pm$ 1,9   | 3,8 $\pm$ 2,1              | 3,9 $\pm$ 1,4 |

**Tabela 15.** Análise estatística (ANOVA) dos valores de número de morfotipos e níveis populacionais microbianos no intestino de *Hypostomus auroguttatus*.

| <b>MORFOTIPOS</b>           |                     |   |
|-----------------------------|---------------------|---|
| <b>Meios de Cultura</b>     | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças</b>   |
| Testes Respiratórios        | <b>4,09 (0,04)</b>  | Bactérias anaeróbias estritas > Bactérias anaeróbias facultativas |
| YM                          | <b>35,27 (0,00)</b> | Outono > Verão - Primavera - Inverno                              |
| <i>Enterococcus</i>         | -                   | -----   |
| TCBS                        | <b>4,14 (0,01)</b>  | Verão > Outono – Inverno - Primavera                              |
| Ágar Sangue                 | -                   | -----   |
| MacConkey                   | <b>8,71 (0,01)</b>  | rio > reservatório  |
| BBE                         | -                   | -----   |
| MRS                         | <b>6,24 (0,01)</b>  | rio > reservatório  |
| Ágar Sangue Suplementado    | <b>7,96 (0,00)</b>  | Primavera > Outono – Verão – Inverno                              |
| <b>NÍVEIS POPULACIONAIS</b> |                     |   |
| <b>Meios de Cultura</b>     | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças</b>   |
| Testes Respiratórios        | <b>7,76 (0,00)</b>  | Bactérias anaeróbias estritas > Bactérias anaeróbias facultativas |
| YM                          | <b>5,49 (0,00)</b>  | Outono > Primavera - Inverno - Verão                              |
| <i>Enterococcus</i>         | -                   | -----   |
| TCBS                        | <b>4,0 (0,01)</b>   | Verão > Outono – Inverno - Primavera                              |
| Ágar Sangue                 | <b>12,18 (0,00)</b> | Outono > Inverno > Primavera - Verão                              |
| MacConkey                   | -                   | -----   |
| BBE                         | -                   | -----   |
| MRS                         | <b>4,69 (0,03)</b>  | rio > reservatório  |
| Ágar Sangue Suplementado    | -                   | -----   |

**Tabela 16.** Análise estatística (ANOVA) dos valores de número de morfotipos e níveis populacionais microbianos no intestino de *Pimelodus maculatus*.

| <b>MORFOTIPOS</b>           |                     |   |
|-----------------------------|---------------------|---|
| <b>Meios de Cultura</b>     | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças</b>   |
| Testes Respiratórios        | -                   | -----   |
| YM                          | <b>13,41 (0,00)</b> | Outono > Primavera - Inverno - Verão                              |
| <i>Enterococcus</i>         | <b>6,55 (0,01)</b>  | rio > reservatório  |
| TCBS                        | -                   | -----   |
| Ágar Sangue                 | -                   | -----   |
| MacConkey                   | -                   | -----   |
| BBE                         | -                   | -----   |
| MRS                         | <b>4,24 (0,01)</b>  | Outono > Primavera - Inverno – Verão                              |
| Ágar Sangue Suplementado    | -                   | -----   |
| <b>NÍVEIS POPULACIONAIS</b> |                     |   |
| <b>Meios de Cultura</b>     | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças</b>   |
| Testes Respiratórios        | <b>22,27 (0,0)</b>  | Bactérias anaeróbias estritas > Bactérias anaeróbias facultativas |
| YM                          | <b>6,98 (0,01)</b>  | rio > reservatório  |
| <i>Enterococcus</i>         |                     | -----   |
| TCBS                        | <b>6,09 (0,01)</b>  | rio > reservatório  |
| Ágar Sangue                 |                     | -----   |
| MacConkey                   |                     | -----   |
| BBE                         | <b>3,5 (0,07)</b>   | rio > reservatório  |
| MRS                         |                     | -----   |
| Ágar Sangue Suplementado    |                     | -----   |

#### **4.2. Comparação da microbiota intestinal de *Pimelodus maculatus* em dois reservatórios com níveis diferentes de alteração ambiental**

Ao contrário dos resultados obtidos em 2003-2004, os níveis populacionais das bactérias anaeróbias estritas totais, foram mais baixos quando comparados com os anaeróbios facultativos no intestino de *P. maculatus*, nos dois reservatórios. Para esses dois níveis, foi observada uma tendência em valores mais elevados no ambiente menos alterado em relação ao ambiente alterado, em particular para bactérias totais, enterococos, vibriões e bactérias do ácido láctico (MRS). Nos dois reservatórios, enterobactérias, *Bacteroides* e bactérias do ácido láctico foram entre as populações dominantes. O número de morfotipos foi maior no ambiente não alterado (SP) quando comparado com o alterado, para todos os meios (Tabelas 17 e 18). A análise estatística dos valores confirmou essas diferenças (Tabela 19).



**Tabela 17.** Nível populacional (Média ± desvio padrão do  $\log_{10}$  ufc/g) dos microorganismos no intestino de *Pimelodus maculatus* nos reservatórios da UHE do Funil - RJ e da UHE Santa Branca - SP.

|   |                     | <i>Pimelodus maculatus</i>     |                            |
|---|---------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Meios de cultura e atmosfera de incubação |                     | Reservatório SP (não alterado) | Reservatório RJ (alterado) |
|   | YM                  | 2,04 ± 1,61                    | 2,21 ± 3,43                |
|   | <i>Enterococcus</i> | 3,07 ± 1,80                    | 0,98 ± 2,39                |
| Aerobiose                                 | TCBS                | 4,22 ± 0,84                    | 2,49 ± 2,76                |
|   | Agar Sangue         | 8,21 ± 0,37                    | 7,02 ± 1,35                |
|   | MacConkey           | 7,76 ± 0,94                    | 7,45 ± 1,00                |
|   | BBE                 | 7,43 ± 1,13                    | 7,81 ± 0,80                |
| Anaerobiose                               | MRS                 | 7,36 ± 0,93                    | 6,80 ± 1,12                |
|   | Agar Sangue         | 7,73 ± 1,02                    | 4,00 ± 1,79                |

**Tabela 18.** Número de morfotipos (Média ± desvio padrão) dos microorganismos no intestino *Pimelodus maculatus* nos reservatórios da UHE do Funil – RJ e da UHE de Santa Branca - SP.

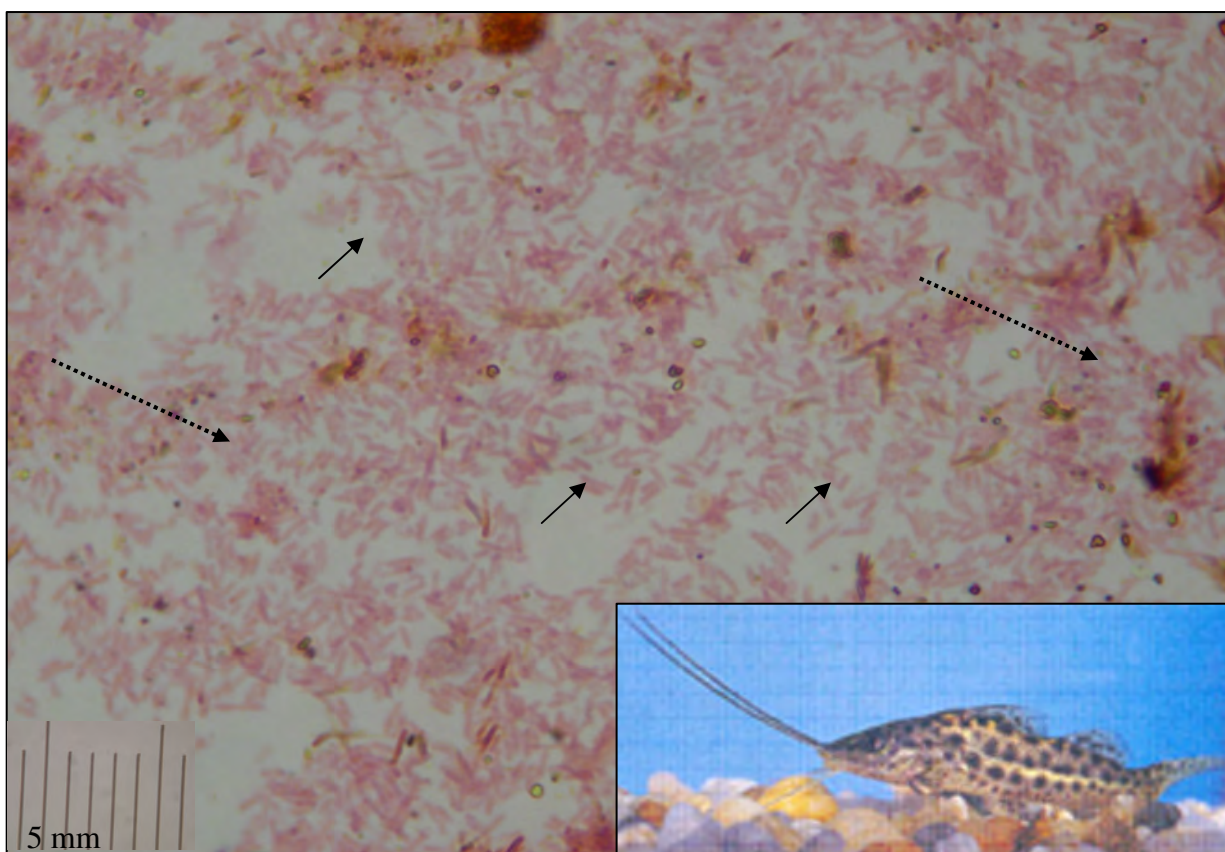
|   |                              | <i>Pimelodus maculatus</i>          |                                 |
|---|------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| Meios de cultura e atmosfera de incubação |                              | Reservatório - SP<br>(não alterado) | Reservatório - RJ<br>(alterado) |
|   | YM                           | 3,5 ± 3,4                           | 0,7 ± 1,2                       |
|   | <i>Enterococcus</i>          | 1,2 ± 0,7                           | 0,3 ± 0,8                       |
| Aerobiose                                 | TCBS                         | 2,2 ± 1,0                           | 0,5 ± 0,5                       |
|   | Agar Sangue                  | 3,5 ± 1,0                           | 2,3 ± 0,8                       |
|   | MacConkey                    | 5,8 ± 2,2                           | 2,3 ± 0,8                       |
|   | BBE                          | 4,0 ± 1,3                           | 2,0 ± 0,9                       |
| Anaerobiose                               | MRS                          | 4,7 ± 1,4                           | 3,5 ± 0,8                       |
|   | Agar Sangue<br>Suplementando | 8,1 ± 0,9                           | 2,5 ± 1,0                       |

**Tabela 19.** Análise estatística (ANOVA) dos valores de número de morfotipos e níveis populacionais microbianos no intestino de *Pimelodus maculatus* nos reservatórios da UHE do Funil – RJ e da UHE de Santa Branca – SP.

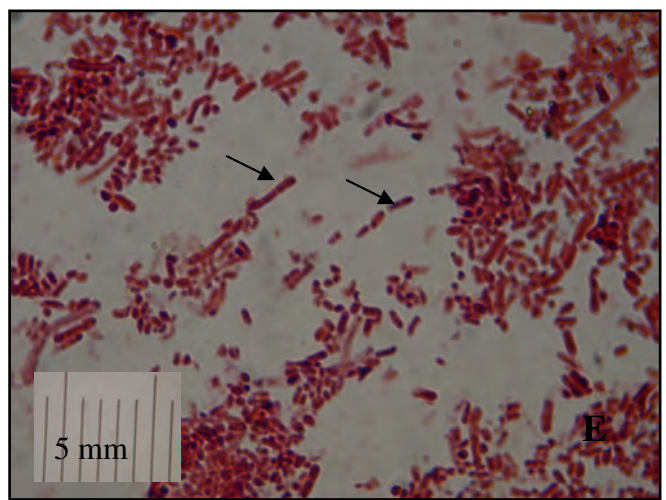
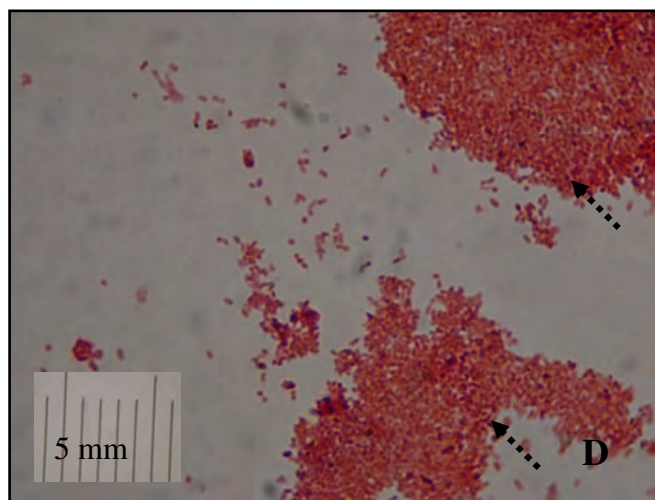
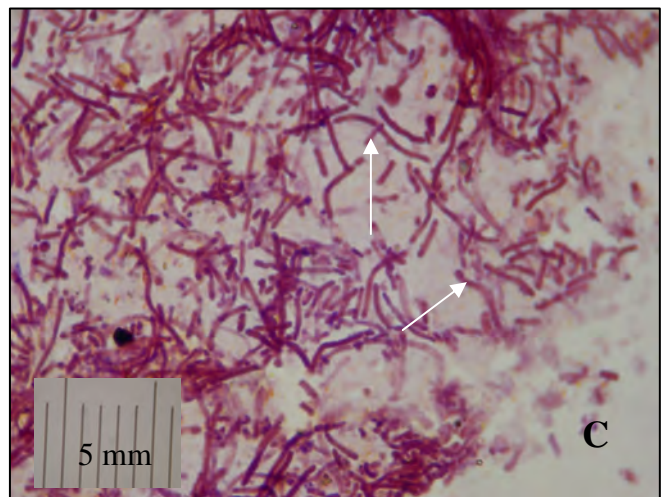
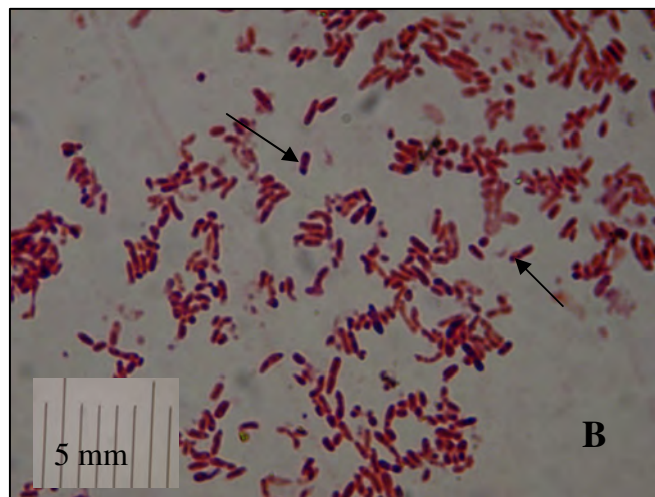
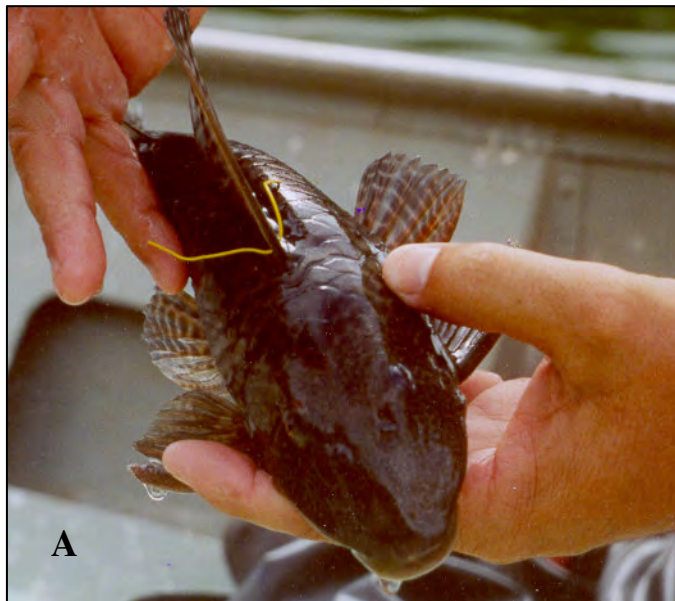
| <b>MORFOTIPOS</b>           |                     |   |
|-----------------------------|---------------------|---|
| <b>Meios de Cultura</b>     | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças</b>                                       |
| Testes                      |                     |   |
| Respiratórios               | <b>4,39 (0,04)</b>  | Bactérias anaeróbias facultativas > anaeróbias estritas |
| YM                          | <b>303,66(0,08)</b> | Não alterado > Alterado                                 |
| <i>Enterococcus</i>         | <b>3,42 (0,07)</b>  | Não alterado > Alterado                                 |
| TCBS                        | -                   | -----   |
| Ágar Sangue                 | -                   | -----   |
| MacConkey                   | -                   | -----   |
| BBE                         | -                   | -----   |
| MRS                         | -                   | -----   |
| Ágar Sangue Suplementado    | -                   | -----   |
| <b>NÍVEIS POPULACIONAIS</b> |                     |   |
| <b>Meios de Cultura</b>     | <b>F (p)</b>        | <b>Diferenças</b>                                       |
| Testes                      |                     |   |
| Respiratórios               | <b>26,60 (0,02)</b> | Bactérias anaeróbias facultativas > anaeróbias estritas |
| YM                          | -                   | -----   |
| <i>Enterococcus</i>         | <b>3,18 (0,02)</b>  | Não alterado > Alterado                                 |
| TCBS                        | <b>5,92 (0,00)</b>  | Não alterado > Alterado                                 |
| Ágar Sangue                 | <b>5,90 (0,02)</b>  | Não alterado > Alterado                                 |
| MacConkey                   | -                   | -----   |
| BBE                         | <b>4,5 (0,04)</b>   | Não alterado > Alterado                                 |
| MRS                         | -                   | -----   |
| Ágar Sangue Suplementado    | -                   | -----   |

### 4.3 Espécies bacterianas

As formas bacterianas predominantes nas duas espécies de peixes foram de bastonetes Gram negativos anaeróbios facultativos (Figura 38; Figura 39) e anaeróbios estritos, enquanto cocos, bastonetes Gram positivos anaeróbios facultativos e leveduras foram encontrados em menor número. Uma lista parcial das espécies reconhecidas de bactérias no intestino das duas espécies de Siluriformes, no reservatório da UHE do Funil e no ambiente de rio à jusante do reservatório, é apresentada na Tabela 20. As espécies bacterianas, anaeróbias facultativas, *Pleisiomonas shigelloidis* e *Aeromonas hydrophila* e, as aeróbias estritas, *Fuso bacterium mortiferum* foram as mais frequentemente encontradas, independentemente das espécies.



**Figura 38.** Fotomicrografia de colônias (seta hachurada) de bactérias gram negativas do tipo bastonete (↓) de *Pimelodus maculatus* (detalhe)



**Figura 40.** Fotomicrografia de colônias (seta hachurada) de bactérias gram negativas do tipo bastonete (↓) e bacilo (seta branca) de *Hypostomus auroguttatus* (detalhe acima).

**Tabela 20.** Lista parcial das espécies identificadas de bactérias aeróbias facultativas e anaeróbias estritas no intestino de *Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus* respectivamente.

| ANAERÓBIOS FACULTATIVOS                   | <i>Hypostomus auroguttatus</i> |     | <i>Pimelodus maculatus</i> |     |
|---|--------------------------------|-----|----------------------------|-----|
|   | Ambientes                      |     | Ambientes                  |     |
|   | Reservatório                   | Rio | Reservatório               | Rio |
| 1. <i>Pantoea</i> spp                     | X                              |     |                            |     |
| 2. <i>Photobacterium damsella</i>         | X                              |     |                            |     |
| 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>          | X                              |     |                            |     |
| 4. <i>Edwardsiella tarda</i>              | X                              |     | X                          | X   |
| 5. <i>Pasteurella pneumoniae</i>          | X                              |     |                            | X   |
| 6. <i>Enterobacter sakazakii</i>          | X                              |     |                            |     |
| 7. <i>Edwardsiella tarda</i>              | X                              |     |                            |     |
| 8. <i>Serratia odorífera</i>              | X                              |     |                            | X   |
| 9. <i>Pseudomonas fluorescens</i>         | X                              |     |                            |     |
| 10. <i>Pleisiomonas shigelloidis</i>      | X                              |     | X                          | X   |
| 11. <i>Aeromonas hydrophila</i>           | X                              | X   | X                          | X   |
| 12. <i>Pseudomona aeruginosa</i>          | X                              |     |                            |     |
| 13. <i>Enterobacter cloacae</i>           |                                | X   | X                          |     |
| 14. <i>Vibrio fluvialis</i>               |                                |     |                            |     |
| 15. <i>Citrobacter freundii</i>           |                                |     |                            | X   |
| 16. <i>Morganella morganii</i>            |                                |     |                            | X   |
| 17. <i>Bordetella alcaligenes mor</i> spp |                                |     |                            | X   |
| 18. Não fermentador spp                   |                                |     | X                          |     |
| AERÓBIOS ESTRITOS                         | <i>Hypostomus auroguttatus</i> |     | <i>Pimelodus maculatus</i> |     |
|   | Ambientes                      |     | Ambientes                  |     |
|   | Reservatório                   | Rio | Reservatório               | Rio |
| 1. <i>Fuso bacterium mortifera</i>        | X                              | X   | X                          | X   |



Comparando as espécies bacterianas nos dois ambientes da estação de inverno de 2006 – não alterado (reservatório da UHE de Santa Branca – SP) e alterado (reservatório da UHE do Funil – RJ) durante a estação de inverno de 2006 conclui-se que as espécies bacterianas predominantes foram as anaeróbias facultativas - *Pleisiomonas shigelloidis* e *Aeromonas hydrophila* e as aeróbias estritas - *Fuso bacterium mortiferum* (Tabela 21).

**Tabela 21.** Identificação das bactérias de *Pimelodus maculatus* dos dois ambientes, não alterado (reservatório da UHE de Santa Branca – SP) e alterado (reservatório da UHE do Funil – RJ) durante a estação de inverno de 2006.

| <i>Pimelodus maculatus</i>             | Teste respiratório |          | Ambientes    |          |
|--|--------------------|----------|--------------|----------|
|  | Anaeróbios         | Aeróbios | Não alterado | Alterado |
| Espécie Bacteriana                     | Facultativos       | Estritos |              |          |
| 1. <i>Pseudomonas fluorescences</i>    | X                  |          | X            |          |
| 2. <i>Pseudomonas putita</i>           | X                  |          | X            |          |
| 3. <i>Aeromonas hidrophilla</i> *      | X                  |          | X            | X        |
| 4. <i>Pasteurella pneumonie</i>        | X                  |          | X            | X        |
| 5. <i>Pleisiomonas shigelloides</i> *  | X                  |          | X            | X        |
| 6. <i>Serratia</i> sp                  | X                  |          | X            |          |
| 7. <i>Serratia odorífera</i>           | X                  |          | X            |          |
| 8. <i>Serratia liquefaciens</i>        | X                  |          | X            |          |
| 9. <i>Kleisibiella ornithinolytica</i> | X                  |          | X            |          |
| 11. <i>Vibrio colerae</i>              | X                  |          |              | X        |
| 12. <i>Vibrio mimicus</i>              | X                  |          |              | X        |
| 13. <i>Vibrio vulcanis</i>             | X                  |          |              | X        |
| 14. <i>Bacteroides distansonis</i>     |                    | X        |              | X        |
| 15. <i>Fuso bacterium mortiferum</i> * |                    | X        | X            | X        |
| 16. <i>Enterobacter</i> sp             |                    | X        | X            |          |

\* bactérias mais abundantes

## V - DISCUSSÃO

Os bastonetes Gram-negativos e as bactérias anaeróbias estritas foram mais abundantes que os bastonetes Gram positivos e anaeróbios facultativos em ambos Siluriformes, no rio como no reservatório. Geralmente as formas bacterianas Gram negativas estão associadas com a produção de carboidrases, enquanto as Gram positivas produzem proteases (RAMIREZ & DIXON, 2003). Uma maior quantidade de bactérias Gram negativas anaeróbias estritas foi encontrada por SILVA *et al.* (2005) em uma espécie detritívora (*Prochilodus argenteus*), e os autores sugeriram que estas bactérias desempenhariam um papel importante no processo de digestão e absorção dos nutrientes pelos peixes, bem como na produção de vitaminas.

NELSON *et al.* (1999) não conseguiram isolar colônias de bactérias anaeróbias estritas nos loricarídeos *Panaque macus* e *Liposarcus* sp em um meio de sais de extrato basal de levedura com diversas fontes de carbono (glicose, celobiose, celulose cristalina, manana, xilana), sendo que boa parte da atividade enzimática encontrada no intestino desses peixes parece proveniente de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. A espécie *P. macus*, detritivo – alimenta-se de madeira em decomposição, necessitando portanto de uma microbiota indígena que fornece enzima para a quebra de polímeros vegetais recalcitrantes, levando assim a uma relação simbiótica. Os resultados do presente trabalho diferem marcadamente do descrito acima, o que poderia ser explicado pela maior diversidade de meios de cultura utilizado aqui (8 diferentes meio de cultura, sendo 3 incubados em anaerobiose e 5 em aerobiose) quando comparado com o relato de NELSON *et al.* (1999) (um único meio, com variação somente da fonte de carbono). Como comentado por BARONI *et al.* (2003), a eficiência de um estudo sobre a identidade e funções dos componentes de microbiota associada a um hospedeiro depende do uso, na metodologia, de um leque amplo de meios universais e seletivos permitindo isolar todos os possíveis microorganismos presentes.

Os níveis populacionais máximos de bactérias observados no intestino de *H. auroguttatus* foram de 6,14 log<sub>10</sub> UFC/g no reservatório e 6,53 log<sub>10</sub> UFC/g no rio. Esses valores são similares aos encontrados em *P. argenteus*, uma espécie migradora e de hábitos reprodutivos marcadamente sazonais, com 6,81 log<sub>10</sub> UFC/g no período reprodutivo sob



restrição alimentar e  $6,87 \log_{10}$  UFC/g no período alimentar (SILVA *et al.*, 2005). Essa similaridade poderia ser explicada pelo mesmo tipo de regime alimentar apresentado pelos dois peixes (detritívoros). Em *P. maculatus*, onívoro, os níveis populacionais intestinais máximos foram mais altos com  $7,67 \log_{10}$  UFC/g no reservatório e  $8,03 \log_{10}$  UFC/g no rio. Contudo, essa diferença observada de níveis populacionais entre peixes detritívoros e onívoros foi inversa do esperado. A necessidade de uma contribuição simbiótica da microbiota intestinal para a degradação de substratos recalcitrantes aliada ao tubo mais comprido, no caso do primeiro regime alimentar deveriam ter conduzido a populações bacterianas mais elevadas do que em *P. maculatus*. Com os resultados atualmente disponíveis, não foi possível explicar essa contradição.

A variação do perfil em microrganismos no trato digestivo de peixes como indicadores da condição alimentar e de poluição foi avaliada por SYVOKIENE & MICKENIENO (1999) que constataram que o nível populacional variou entre as estações do ano e entre as espécies, com a digestão bacteriana sendo mais proeminente no período alimentar intensivo (verão). Isto sugere uma produção de enzimas digestivas pelos peixes insuficientes para cobrir o fluxo aumentado de alimentos, sendo o déficit compensado pela ampla capacidade enzimática da microbiota.

Nos estudos feitos por ZANIBONI FILHO & SCHULZ (1999) sobre o ciclo de vida dos peixes migratório do rio Uruguai constataram que as gônadas de indivíduos adultos de *P. maculatus*, **ocorrem** entre setembro (primavera) e março (outono) quando a temperatura da água está elevada, enquanto picos de desova ocorrem no inverno, provavelmente devido as condições hidrológicas, sendo que o período posterior a desova (julho-inverno) corresponde a uma época de alimentação intensa. VAZ *et al.*, (2000) afirmam que, nessa última fase, *P. maculatus* alimentam-se de larvas bentônicas de insetos, algas, moluscos, peixes e fragmentos de vegetais, acumulando gordura, que depois será utilizada na maturação da gônada, para a reprodução no verão. No presente estudo, correlações consistentes não foram observadas entre essas fases reprodutivas e alimentares e a microbiota intestinal.

SYVOKIENE & MICKENIENO (1999) afirmaram que se um peixe encontra-se em condições ambientais alteradas, a sua microbiota intestinal é a primeira a ser afetada. Tanto em *H. auroguttatus* como em *P. maculatus*, diversas populações microbianas foram mais

elevadas quando os peixes vinham do rio em vez do reservatório. Como salientado na Introdução, uma alteração ambiental com material orgânico (substratos para crescimento) pode levar a um aumento das populações microbianas no intestino, tanto por elevação das populações na água circundante como daquelas constituindo a microbiota indígena. Já a poluição por metais inibidores do crescimento poderia ter um efeito inverso sobre as populações microbianas alóctones e autóctones. Portanto, a presença de metais acumulados no reservatório poderia ser a responsável pelos níveis populacionais microbianos mais baixos encontrados no intestino dos peixes provenientes deste ambiente. O rio Paraíba do Sul é o principal formador do reservatório da UHE do Funil após ter atravessado uma área intensamente desenvolvida (grandes cidades e aglomerações urbano-industriais) onde recebe altas cargas de sedimentos orgânicos e inorgânicos AB'SABER & BERNARDES (1958); ARAÚJO (1996); TEIXEIRA *et al* (2005).

Ao que tudo indica espécies *A. hydrophila* e *P. shigelloidis* fazem parte da microbiota indígena dos dois peixes. Essas espécies de bactérias Gram negativas, anaeróbias facultativas foram também encontradas em *P. argenteus* (SILVA *et al.*, 2005), e de maneira geral em peixe de água doce (RINGO *et al.*, 2003). Entre os gêneros e espécies bacterianos estudados em peixes, as enterobactérias são consideradas como indígenas, mas paradoxalmente, algumas são simultaneamente vistas como patógenas como *P. shigelloidis*, *Pantoea* spp, *E. sakazakii*, *S. odorífera* e *E. tarda*. Segundo RUIZ (2001), todas as bactérias infecciosas para peixes seriam aeróbicas ou anaeróbias facultativas e raramente anaeróbias estritas (*Bacteroides*).

*Pimelodus maculatus* no reservatório não alterado (Santa Branca) apresentou maiores níveis populacionais e morfotipos nas amostras intestinais quando comparados com o ambiente alterado (reservatório da UHE do Funil). A razão para este fato poderia ser similar a aquela levantada acima para explicar as diferenças populacionais microbianas no intestino das duas espécies de peixes coletados no rio e no reservatório. Alternativamente, essa microbiota presente em menor quantidade em peixe vivendo em ambiente alterado, pode qualitativamente apresentar vantagem para o hospedeiro. As amplas capacidades catalíticas de enzimas produzidas por microorganismos podem aumentar a chance para o peixe de adaptar-se a mudanças no substrato nutricional e assimilação de alimentos com maior eficiência. SYVOKIENE & MICKENIENO (1999) reportaram que poluentes

oleosos ingeridos pelos peixes juntamente com seus alimentos podem ser degradados por enzimas de microorganismos (bactérias que degradam hidrocarbonetos) presente no intestino, e que peixes com microbiota apresentando essa adaptação tem maior oportunidade e alta eficiência em tolerar poluição.

## 5. CONCLUSÕES

1. Ambos os Siluriformes apresentaram maiores níveis populacionais de algumas populações microbianas e seus números de morfotipos nas amostras intestinais de peixes provenientes da região do rio quando comparadas com o reservatório;
2. A espécie *P. maculatus* possui maiores níveis populacionais como de número de morfotipos microbianos no seu conteúdo intestinal quando comparado com *H. auroguttatus*. Essas observações contraditórias em visto dos regimes alimentares das duas espécies de peixes não têm explicações tomando em conta as informações disponíveis neste ponto do estudo;
3. Nos dois tipos de peixes, as bactérias Gram negativas anaeróbias facultativas são dominantes no conteúdo intestinal, dado que concorda com o encontrado na literatura para a maioria das espécies de peixes. Dentre deste tipo de bactérias, *A. hydrophila* e *P. shigelloidis* foram as mais frequentemente identificadas.
4. Nos dois tipos de peixes, as bactérias Gram negativas anaeróbias estritas são dominantes no conteúdo intestinal. Dentre deste tipo de bactérias, *Fuso bacterium mortifera* foram as mais freqüentemente identificadas.
5. Os níveis populacionais e morfotipos microbianos são mais elevados nas amostras intestinais quando os peixes se encontram em ambiente menos alterado quando comparado com ambiente alterado.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHINANDA, B., GHOSH, K.S., SEN, S.K., RAY, A.K. Enzyme producing bacterial flora from fish digestive tracts. *Aquacult. Intern.*, v.10, p.109-121, 2002.

AB'SABER, A.N.& BERNARDES, N. **Vale do Paraíba, serra da Mantiqueira e arredores de São Paulo**. Rio de Janeiro, Conselho Nacional de Geografia, 303 pp. 1958.

ANGELESCU, V. Y GNERI, F.S., Adaptaciones del aparato digestivo al régimen alimenticio en algunos peces del río Uruguay y del río de la Plata. I – Tipo omnívoro e iliófago en representantes de las familias Loricariidae y Anostomidae. *Revta Mus. Argent. Cien. Nat. Bernardino Rivadavia Inst. Nac. Invest. Cienc. Nat.*, v. 1 n.6, p. 161-272, 1949.

AUSTIN, B. The bacterial microflora of fish. *Sci. World J.*, v.2, p.558-572, 2002.

BARONI, F.A., SOUZA, M.M.S. & CAMPOS, S.G. 2003. *Microbiologia geral*. Imprensa universitária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Departamento de Microbiologia Veterinária. 160 p

DAS, K.M., TRIPATHI, S.D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, v. 92, p. 21-32, 1991.

FUGI, R. & HAHN, N.S. Espectro alimentar e relações morfológicas com o aparelho digestivo de três espécies de peixes comedores de fundo do Rio Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Biol.*, v 51 n.4 873-879, 1991.

GODINHO, H. Estudos anatômicos sobre o trato alimentar de um Siluroidei *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803. *Rev Brasi Biol.* Rio de Janeiro, v 27, n 4, p. 425-433. 1967.

HILL, M.J. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur. J. Cancer Prev.*, v.6, p.S43-S45, 1997.

LESEL, R. Does a digestive active bacterial flora exist in fish? *In: Fish Nutr. Pract.*. Biarritz, France, p.655-664, 1991.

LOBÓN-CERVIÁ, J. & BENNEMANN, S. Temporal trophic shifts and feeding diversity in two sympatric, neotropical, omnivorous fishes: *Astyanax bimaculatus* and *Pimelodus maculatus* in Rio Tibagi (Paraná, Southern Brazil). *Archives fuer Hydrobiologie*. Helgoland v. 149, v. 2: 285-306. 2000

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido 50 edição. Rio de Janeiro. MEDSI, 1456 p. 2001.

MACDONALD, N.L., STARK, J.R., AUSTIN, B. Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Dover sole (*Solea solea*), with emphasis on the possible role of bacteria in the nutrition of the host. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.35, p. 107-111, 1986.

MENIN, E & MIMURA, O. M. Anatomia funcional comparativa do estômago de três peixes Teleostei de hábito alimentar onívoro. *Revista Ceres*. São Paulo. v 39, n 223: 233-260. 1992.

MOUNTFORT, D.O., ATKINSON, M. Evidence for the role of Na<sup>+</sup> and galacturonic acid in the regulation of polygalacturonase production by the marine anaerobe, *Eubacterium* sp. Strain P-1. *Bot. Mar.*, v.38, p.195-201, 1995.

MOUNTFORT, D.O., RAINEY, F.A., BURGHARDT, J., STACKEBRANDT, E. *Clostridium grantii* sp. Nov., a new obligately anaerobic alginateolytic bacterium isolated from mullet gut. *Arch. Microbiol.*, v.162, p.173-179, 1994.

NELSON, J. A., D.J. STEWART, M.E. WHITMER, E.A., JOHNSON, D.WUBAH. Wood-eating catfishes of the genus *Panaque*: gut microflora and cellulolytic enzyme activities. *J. Fish of Biol.* 51: 1069-1082, 1999.

OLAFSEN, J.A . Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture.*, v. 200, p. 223-247, 2001.

RAMIREZ, R.F., DIXON, B.A. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus acellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*, v.227, p.417-426, 2003.

RINGO, E., BIRKBECK, T.H. Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquacult Res.* 30: 73-93. 1999.

RINGO, E., LODEMEL, J.B., MYKLEBUST, R., KAINO, T., MAYHEW, T.M., OLSEN, R.E. Epithelium-associated bacterial in the gastrointestinal tract of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). An electron microscopical study. *J. Appl. Microbiol.*, v. 90, p. 294-300, 2001.

RINGO, E., OLSEN, R.E, MAYHEW, T.M., MYKLEBUST, R. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish. *Aquaculture.* 227, 395-415.2003.

RINGO, E., OLSEN, R.E. The effect of diet on aerobic bacterial flora associated with intestine of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *J. Appl. Microbiol.*, v. 86, p. 22-28, 1999.

RINGO, E., STROEM, E. Microflora of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): Gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal microflora *Aquac. Res.*, v. 25, p. 623-629, 1994

RUIZ, E. 2001. *Patogenia de Peixes*. Belo Horizonte, p 214.

SEETO, G.S., VEIVERS, K.D., CLEMENTS, K.D., STAYLOR, M. Carbohydrate utilisation by microbial symbionts in the marine herbivorous fishes *Odax cyanomelas* and *Crinodus lophodon*. *J. Comp. Physiol.*, v.165, p. 571-579, 1996.

SILVA, F.C.P., BRITO, M.F.G., FARIA, L.M., NICOLI, J.R. Composition and antagonistic activity of the indigenous intestinal microbiota of *Prochilodus argenteus* Agassiz. *J. Fish Biology* n 67, p. 1686-1698, 2005.

SMITH, T.B., WAHL, D.H., MACKIE, R.I. Volatile fatty acids and anaerobic fermentation in temperature piscivorous and omnivorous freshwater fish. *J. Fish Biol.*, v.48, p.829-841, 1996.

STELLWAG, E.J., SMITH, T.D., LUCZKOVICH, J.J. Characterization and ecology of carboxymethylcellulase-producing anaerobic bacterial communities associated with the intestinal tract of pinfish, *Lagodon rhomboides*. *Appl. Environm. Microbiol.*, v.61, p.813-816, 1995.

STICKNEY, R.R. Cellulase activity in the stomachs of freshwater fishes from Texas. *Proc. Southeast Assoc. Game Fish Com.*, v.29, p.282-287, 1975.

SUGITA, H., IWATA, J., MIYAJIMA, C., KUBO, T., NOGUCHI, T., HASHIMOTO, K., DEGUCHI Y. Changes in microflora of a puffer fish *Fugu niphobles*, with different water temperatures. *Marine Biol.*, v. 101, p. 299-304, 1989.

SUGITA, H., KAWASAKI, J., DEGUCHI, Y. Production of amylase by intestinal microflora in cultured freshwater fish. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.24, p.105-108, 1997.

SUGITA, H., MIYAJIMA, C., DEGUCHI, Y. The vitamin B<sub>12</sub> – producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. *Aquaculture.*, v.92, p.267-276, 1991.

SYVOKIENE, J., MICKENIENE, L. Micro-organisms in the digestive tract of fish as indicators of feeding condition and pollution. *J. Marine Sci* v56: p 147-149. 1999;

TEIXEIRA, T. P., PINTO, B. C. T., TERRA, B. F., ESTILIANO, E. O., GRACIA, D. & ARAÚJO, F. G. Diversidade das assembléias de peixes nas quatro unidades geográficas do rio Paraíba do Sul. *Iheringia, Sér. Zool.*, v.95, n.4, p. 347-357. 2005.

TENGJAROENKUL, B., SMITH, B.J., CACECI, T., SMITH, S.A. Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*. v.182, p.317-27, 2000.

VAZ, M. M., TOQUARTO, V.C, BARBOSA, N.D.C 2000. CEMIG - Companhia energética de Minas Gerais. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. 2000. *Guia ilustrado de peixes da bacia do rio Grande*. Belo Horizonte: CEMIG/CETEC. 144 p

ZANIBONI FILHO, E., SCHULZ, U.H. *Migratory fishes of the Uruguay river* –2003. Chapter 4. p 6 -11.

## **CAPÍTULO V**

### **ANÁLISE DE METAIS PESADOS EM DUAS ESPÉCIES DE PEIXES SILURIFORMES DO RESERVATÓRIO DA UHE DO FUNIL – RJ**



## RESUMO

DUARTE, Silvana. **Análise de metais pesados em duas espécies de peixes Siluriformes (*Hypostomus auroguttatus* e *Pimelodus maculatus*) no reservatório da UHE de Funil, RJ. 2007, f 220.** Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

As concentrações de Hg, Cd, Cu, Mn, Pb, Ni e Zn foram determinadas no tecido muscular e no fígado de duas espécies de peixes Siluriformes de diferentes hábitos alimentares (cascudo= *Hypostomus auroguttatus*, iliófago; e mandi= *Pimelodus maculatus*, onívoro) no reservatório da UHE do Funil. Foram feitas comparações das concentrações destes metais entre as espécies, entre as estações do ano, e entre os ambientes do reservatório e de rio imediatamente a jusante. O objetivo foi testar a hipótese de que o reservatório funciona como “filtro” decantando o material poluente que é introduzido pelo rio Paraíba do Sul. O fígado, apresentou maiores concentrações de metais do que o músculo, uma indicação de exposição recente dos dois peixes aos poluentes e de que este órgão funciona como seqüestrador e removedor destes, através da corrente sanguínea. Diferenças significativas das concentrações no tecido muscular e hepático entre as duas espécies estudadas foram detectadas apenas para o Cd, com valores significativamente maiores para *H. auroguttatus* e para o Cu, apresentou maiores valores para *P. maculatus*. As variações sazonais nas concentrações de metais no músculo foram pouco evidentes, embora uma tendência de maiores valores na primavera tenham sido detectadas para Ni no músculo de ambas as espécies, para Cu em *H. auroguttatus* e para Cd para o *P. maculatus*. O fígado foi menos eficiente do que o músculo para estabelecer comparações entre os ambientes e estações do ano, uma vez que nenhuma diferença significativa na concentração de metais entre os ambientes foi encontrada através da análise do fígado. Por outro lado, as concentrações de metais no músculo diferiram para vários tipos metais, tanto entre os dois sistemas (rio vs. reservatório) e entre as estações do ano. Não foram observadas suficientes diferenças na concentração de metais entre os ambientes do reservatório e do rio (jusante do reservatório) que pudesse corroborar o possível efeito de “filtro” pelo reservatório.

**Palavra chave:** metais pesados, Siluriformes, reservatório, sazonalidade

## ABSTRACT

DUARTE, Silvana. 220 f. **Analisis Heavy metals in two Siluriformes in UHE of the Funil reservoir and Paraíba do Sul river (jusant´reservoir)**. Thesis (Doctorate in Animal Biology, Biological Sciences) - Institute of Biology, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2007.

Concentrations of heavy metals Hg, Cd, Cu, Mn, Pb, Ni and Zn were determined in muscles and liver determined of two Siluriformes species of different feeding habits (*Hypostomus auroguttatus*, iliophage; and *Pimelodus maculatus*, omnivore) in Funil of UHE of reservoir. Comparisons of pollutants concentrations were performed between species, seasons, and the systems reservoir and the river downstream the dam aiming to test the hypothesis that the reservoir acts as a “filter” decanting the pollutant brought by the river. The liver, as expected, showed higher concentration than muscles, and indications of recent exposure of fishes to pollutants, and that it works as pollutant sequestering, removing them from the blood stream. Significant differences in concentration in muscles and liver tissues between the two species were detected for Cd, with higher significant values for *H. auroguttatus* and for Cu, that showed higher values for *P. maculatus*. Seasonal variation in metal concentration in muscles were not evident, although a tendency for higher values in Spring were detected for Ni in muscles of both species, for Cu in *H. auroguttatus* and for Cd in *P. maculatus*. The liver was less efficient than muscles to detect comparisons among the two systems and seasons, since no difference in metal concentration were found through liver analyses. On the other hand, metal concentration in muscles differed in several metals types, between the systems (river vs. reservoir) and among seasons. It was not found enough differences in metal concentration between the systems reservoir and river (downstream reservoir) that could corroborate the role of “filter” by the reservoir.

**Key words:** Heavy metals, Siluriformes, reservoir, sazonality

## 1. INTRODUÇÃO

O rio Paraíba do Sul é barrado formando o reservatório da UHE do Funil numa área próxima ao limite do trecho médio-superior e médio-inferior (*sensu* AB'SABER & BERNARDES, 1958), após receber efluentes de um trecho onde esse rio percorre municípios com grandes adensamentos populacionais e parques industriais, como São José dos Campos e Taubaté, no vale paulista do rio Paraíba do Sul.

O efeito “filtro” é esperado para reservatórios que recebem poluentes (material particulado em suspensão) dos rios tributários que os barram. Os poluentes associados a esses sólidos em suspensão são transportados pelos rios até o reservatório, onde graças à diminuição da velocidade da água tendem a se depositar e acumular no fundo destes ambientes, muitas vezes ficando indisponíveis para os ciclos biológicos, depositados no sedimento, não sendo incorporados por outros componentes da biota. Nestes casos, a água liberada à jusante do reservatório tende a ser de melhor qualidade do que a água do próprio reservatório.

Metais pesados, como o mercúrio têm sido registrados historicamente, desde o episódio da Baía de Minamata (SMITH & SMITH, 1973) como causador de grandes influência no homem. De uma maneira geral a assimilação eficiente e acumulação de metais via ingestão alimentar dependem de fatores biológicos diversos que são específicos de cada espécie e de cada tipo de metal (NI *et al.*, 2000).

No presente trabalho a hipótese do reservatório da UHE do Funil atuar como decantador natural de poluentes é testada através da avaliação dos níveis de metais de duas espécies de peixes Siluriformes (o cascudo - *H. auroguttatus* e o mandi - *P. maculatus*) que possuem ampla distribuição neste corpo hídrico e elevada tolerância a baixas condições ambientais. Como poluentes, foram analisados alguns metais pesados que poderiam estar se acumulados no fígado ou no músculo dos peixes. Caso os peixes no reservatório acumulem maior quantidade de metais do que aqueles à jusante da barragem, o efeito filtro do reservatório será corroborado. Caso não haja diferenças na concentração dos metais entre os peixes do reservatório e do rio à jusante, este efeito não será corroborado. Caso os peixes da jusante do reservatório apresentaram maiores concentrações do que os peixes do

reservatório (resultado não esperado) levantar-se-á a hipótese de que tais metais sejam incorporados pelos peixes em locais de poluição à jusante mais distantes, tal como as localidades de Barra Mansa e Volta Redonda, pólos industriais localizados cerca de 20 km(só?) à jusante da barragem do reservatório da UHE do Funil, ou que as fontes de contaminação poderiam ser outras, como o sedimento transportado à jusante junto com as operações de limpeza das turbinas, que são descartados à jusante da barragem através do canal de fuga.

Os peixes analisados neste estudo têm hábitos alimentares diferentes, tendo o cascudo uma alimentação diretamente associada ao fundo da coluna d'água, indicado pela boca em forma de ventosa que adere às pedras e/ou ao substrato, sugando o mais material vegetal em decomposição e algas epilíticas (perifíticas). Enquanto o mandi possui a boca em posição frontal e se alimenta nas proximidades do fundo, porém menos diretamente dependente do substrato e com hábitos onívoros com tendência à carnivoría, ingerindo uma maior gama de alimento tanto de origem animal como de origem vegetal, com tendência à carnivoría.

A tendência à carnivoría do mandi faz com que tenda a acumular metais transferidos ao longo da cadeia alimentar enquanto o cascudo tem uma dieta mais dependente do sedimento (onde os metais se acumulam) ingerindo os metais, presentes no material vegetal e no sedimento junto com porções do sedimento ou matéria orgânica do fundo. Espera-se, portanto, que o cascudo tenha acumulado mais metais se os mesmos estiverem mais disponíveis nas camadas mais superiores do sedimento. Por outro lado, o mandi poderia acumular mais outros metais pela sua posição trófica mais elevada e os metais que estiverem sendo acumulados e transferidos ao longo da cadeia alimentar.

Estudo envolvendo concentrações de metais como o cádmio (Cd), cobre (Cu), chumbo (Pb), manganês (Mn), mercúrio (Hg), níquel (Ni), zinco (Zn) em parte comestível de peixes visando para avaliar possíveis riscos à saúde têm sido amplamente realizados. O sedimento é o depósito principal de poluentes nos ambientes represados. CHANG *et al.*, (1998) demonstraram claramente a relação entre contaminação de sedimento e diminuição da saúde de peixes bentônicos e demersais

A entrada de poluentes nestes sistemas aquáticos tem várias origens; não só dos esgotos industriais e domésticos que são lançados diretamente nos rios, mas também da água de lixiviação dos solos e dos fertilizantes pesticidas e outros produtos químicos utilizados na agricultura. A entrada destes poluentes pode ser contínua ou sazonal, com tendência a ser maior no período de chuvas, quando uma maior quantidade de material alóctone é introduzida no sistema. Neste caso, deveria haver uma tendência de maior concentração de metais na biota durante o período do verão, quando maiores cargas desses poluentes seriam introduzidas no sistema.

Dois tecidos têm especial importância quando se avalia eventuais exposições dos peixes a poluentes como os metais pesados: o fígado e o músculo. O acúmulo de metais no fígado indica uma exposição mais recente, uma vez que este órgão está associado com processos metabólicos desses poluentes e outros vários processos fisiológicos. Os metais que não são capturados pelo fígado permanecem no sangue e são acumulados com vários tecidos, incluindo o muscular que é um indicador de exposição de médio a longo prazo de acumulação e representa uma importante fonte de exposição de metais para as populações humanas. Foram analisados os principais metais com maior probabilidade de estarem incluídos nos principais poluentes desta região: Hg, Cd, Cu, Mn, Pb, Ni e Zn.

**HIPOTHESES E FATORES A SEREM TESTADOS:** A hipótese a ser testada de que o reservatório funciona como “filtro de poluentes” será examinada, através da avaliação da concentração de metais em peixes do reservatório e em peixes do trecho de rio à jusante do reservatório. Adicionalmente, serão avaliadas para cada espécie, variações na possível acumulação de metais em função da sazonalidade, do hábito alimentar (carnívoro-próximo do fundo vs. iliófago/algívoro- diretamente associado ao fundo).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Determinar os níveis de metais no tecido muscular e hepático de *H. auroguttatus* e *P. maculatus* e eventuais variações sazonais e espaciais (reservatório da UHE do Funil vs. rio Paraíba do Sul à jusante do reservatório).

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar os níveis de metais cádmio, cobre, chumbo, manganês, mercúrio, níquel e zinco no tecido muscular e hepático;
2. Comparar a concentração destes poluentes entre as espécies, os sistemas reservatório/rio, e entre as estações do ano.

## **3 - MATERIAL E MÉTODOS**

Os peixes foram coletados trimestralmente entre o inverno de 2003 e primavera de 2004, usando redes de espera. Duas espécies em dois diferentes níveis tróficos foram examinados estudados: *H. auroguttatus* – iliófago/algívoro e *P. maculatus* – onívoro com tendência à carnivoría.

Dois tecidos foram examinados para avaliar a eventual concentração dos seguintes metais: Cd, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn: 1) Músculo – tecido onde o metal se acumula e via de acesso ao homem através da alimentação; e 2) Fígado – para verificar exposições recentes efeitos do ambiente e associações com processos metabólicos. Os tecidos foram retirados dos peixes em campo, acondicionados em sacos plásticos zipado, transportados em isopor com gelo para o laboratório, onde foram mantidos congelados até o momento da análise. A análise de mercúrio total e análise das concentrações totais de cádmio, cobre, chumbo, manganês, mercúrio, níquel e zinco estão no protocolo do ANEXO 3.

### **3.1 Análises Estatísticas**

As comparações das concentrações de metais para cada espécie de peixe entre os dois sistemas (reservatório e rio) e estações do ano, foram feitas com Análise de Variância mono fatorial. Utilizou-se o teste “a posteriori” de Tukey toda vez que foram encontradas diferenças significativas.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Músculo

#### 4.1.1. Peixes analisados

O número total de amostras de músculo de peixes foi feito considerando o somatório dos machos e fêmeas de cada espécie em conjunto, tanto para o ambiente de reservatório como o ambiente de rio à jusante da barragem, embora o número de fêmeas tenha sido sempre bem superior ao número de machos (Tabela 1). Também o número de amostra variou de acordo com o tipo de metal analisado e com o ambiente, tendo sido amostrado muito mais peixes do reservatório do que do rio. Um número mínimo de 9 indivíduos de *H. auroguttatus* foi analisado para o rio (Cu, Mn, Ni e Zn), e de 22 para o reservatório (Hg). Foram analisados um mínimo de 11 indivíduos de *P. maculatus* para o rio e 23 para o reservatório, ambos para análise de Pb (Tabela 22).

**Tabela 22.** Número de amostras de tecido muscular examinados de *H. auroguttatus* e *P. maculatus* analisadas quanto a presença de metais pesados.

| <i>Hypostomus auroguttatus</i> |              |       |       |       |       |       |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                | Reservatório |       |       | Rio   |       |       |
| Metal                          | Macho        | Fêmea | Total | Macho | Fêmea | Total |
| Cd                             | 8            | 21    | 29    | 3     | 9     | 12    |
| Cu                             | 13           | 20    | 33    | 2     | 7     | 9     |
| Pb                             | 6            | 23    | 29    | 2     | 13    | 15    |
| Mn                             | 12           | 20    | 32    | 2     | 7     | 9     |
| Hg                             | 2            | 20    | 22    | 1     | 10    | 11    |
| Ni                             | 11           | 20    | 31    | 2     | 7     | 9     |
| Zn                             | 12           | 23    | 35    | 2     | 7     | 9     |

| <i>Pimelodus maculatus</i> |              |       |       |       |       |       |
|----------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                            | Reservatório |       |       | Rio   |       |       |
| Metal                      | Macho        | Fêmea | Total | Macho | Fêmea | Total |
| Cd                         | 5            | 22    | 27    | 3     | 12    | 15    |
| Cu                         | 4            | 22    | 26    | 3     | 10    | 13    |
| Pb                         | 3            | 20    | 23    | 2     | 9     | 11    |
| Mn                         | 3            | 25    | 28    | 3     | 17    | 20    |
| Hg                         | 2            | 30    | 32    | 1     | 12    | 13    |
| Ni                         | 2            | 22    | 24    | 2     | 13    | 15    |
| Zn                         | 5            | 28    | 33    | 4     | 15    | 19    |

#### 4.1.2. Comparações entre as espécies

Quando comparou-se as concentrações de metais do tecido muscular entre as duas espécies de peixes analisadas, foram detectadas apenas para o Cd, com valores significativamente maiores para *H. auroguttatus* e para o Cu, que apresentou maiores valores para *P. maculatus*. Os demais metais não apresentaram diferenças significativas entre as duas espécies (Tabela 23).

#### 4.1.3. Comparações entre ambientes e estações do ano

A Figura 40 e tabela 24 apresentam as concentrações médias dos metais analisados (cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco) no músculo das duas espécies estudadas e as comparações entre os sistemas (reservatório e rio) e entre as estações do ano. Apesar de terem sido feitas amostragens trimestrais do inverno de 2003 à primavera de 2004, em algumas estações do ano não foram obtidas amostras para análise, portanto as comparações sazonais nem sempre incluíram todas as estações, tendo sido feitas principalmente no ano de 2004.

**Tabela 23** Comparação dos níveis de metais pesados no tecido muscular das espécies. Os valores em negritos destacam as diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

| Variáveis | F (p)*             | Diferenças Significativas                    |
|-----------|--------------------|--|
| Cádmio    | <b>5,0 (0,02)</b>  | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
| Cobre     | <b>4,29 (0,04)</b> | <i>P. maculatus</i> > <i>H. auroguttatus</i> |
| Chumbo    | -                  | -----  |
| Manganês  | -                  | -----  |
| Mercúrio  | -                  | -----  |
| Níquel    | -                  | -----  |
| Zinco     | -                  | -----  |

\*p - denota estatisticamente diferença significativa de cada metal ( $p < 0,05$ )



**Cádmio:** Nenhuma das duas espécies apresentou diferenças significativas entre os dois sistemas (reservatório e rio). Sazonalmente, apenas o mandi apresentou diferenças significativas, com maiores concentrações na primavera e menores no outono.

**Chumbo:** Nenhuma diferença foi detectada no tecido muscular entre os dois ambientes nem entre as estações do ano, embora uma tendência de maiores valores tenham sido detectados para o mandi no reservatório na primavera.

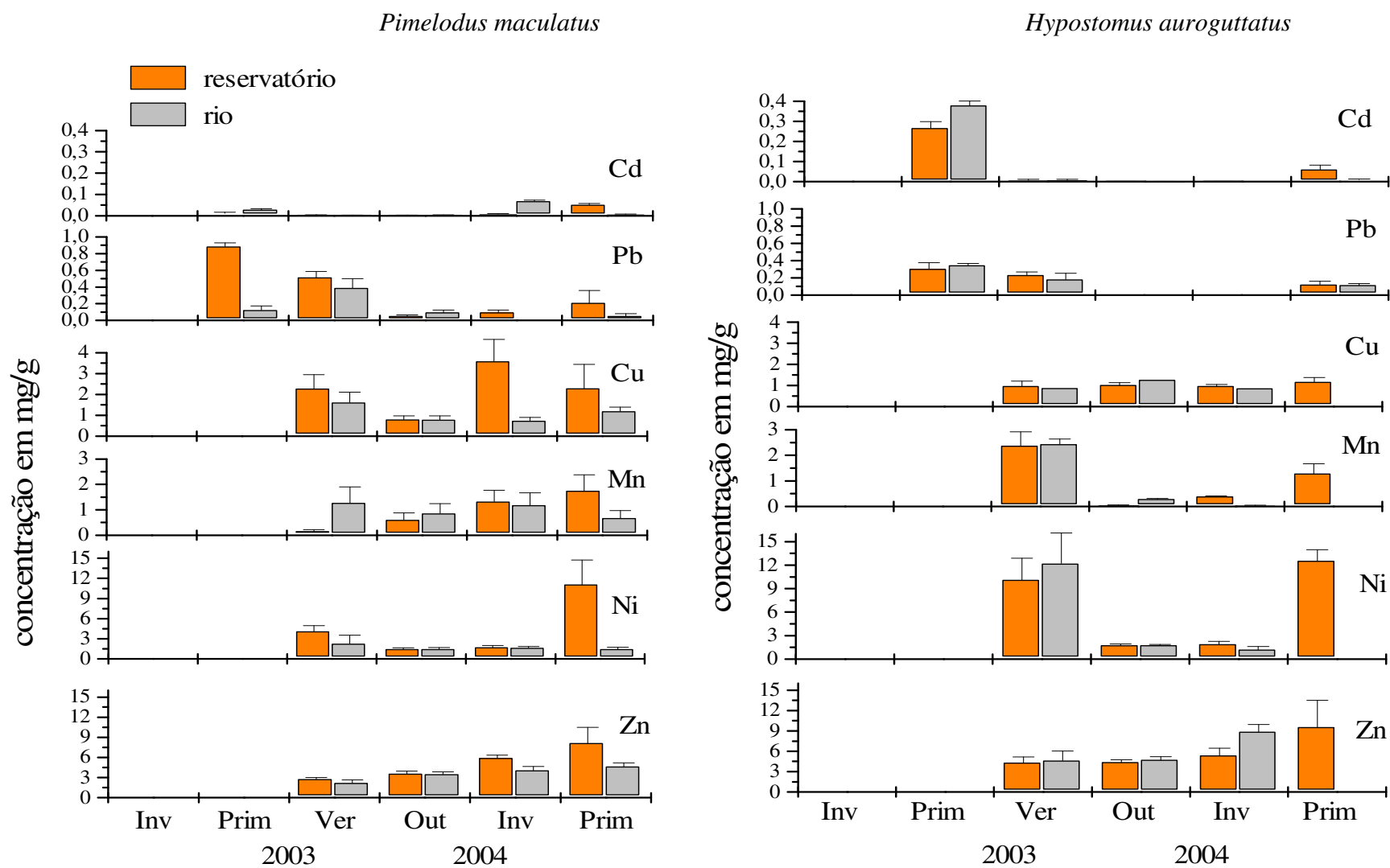
**Cobre:** Valores significativamente mais elevados foram encontrados apenas para o mandi no reservatório. Para o cascudo, foram encontrados concentrações de Cu em todos as estações do ano, com maiores valores na primavera, sem diferenças significativas entre os dois ambientes.

**Manganês:** *P. maculatus* apresentou diferenças entre os ambientes, com valores significativamente mais elevados no rio, sem diferenças entre as estações do ano. Por outro lado, *H. auroguttatus* não apresentou diferenças significativas entre os ambientes, porém foram registrados maiores valores no verão.

**Níquel:** Valores significativamente maiores foram encontrados para o mandi no reservatório. Sazonalmente, ambas as espécies apresentaram maiores concentrações na primavera.

**Zinco:** Em ambas as espécies não foram registradas diferenças nem entre os dois ambientes, nem entre as estações do ano.

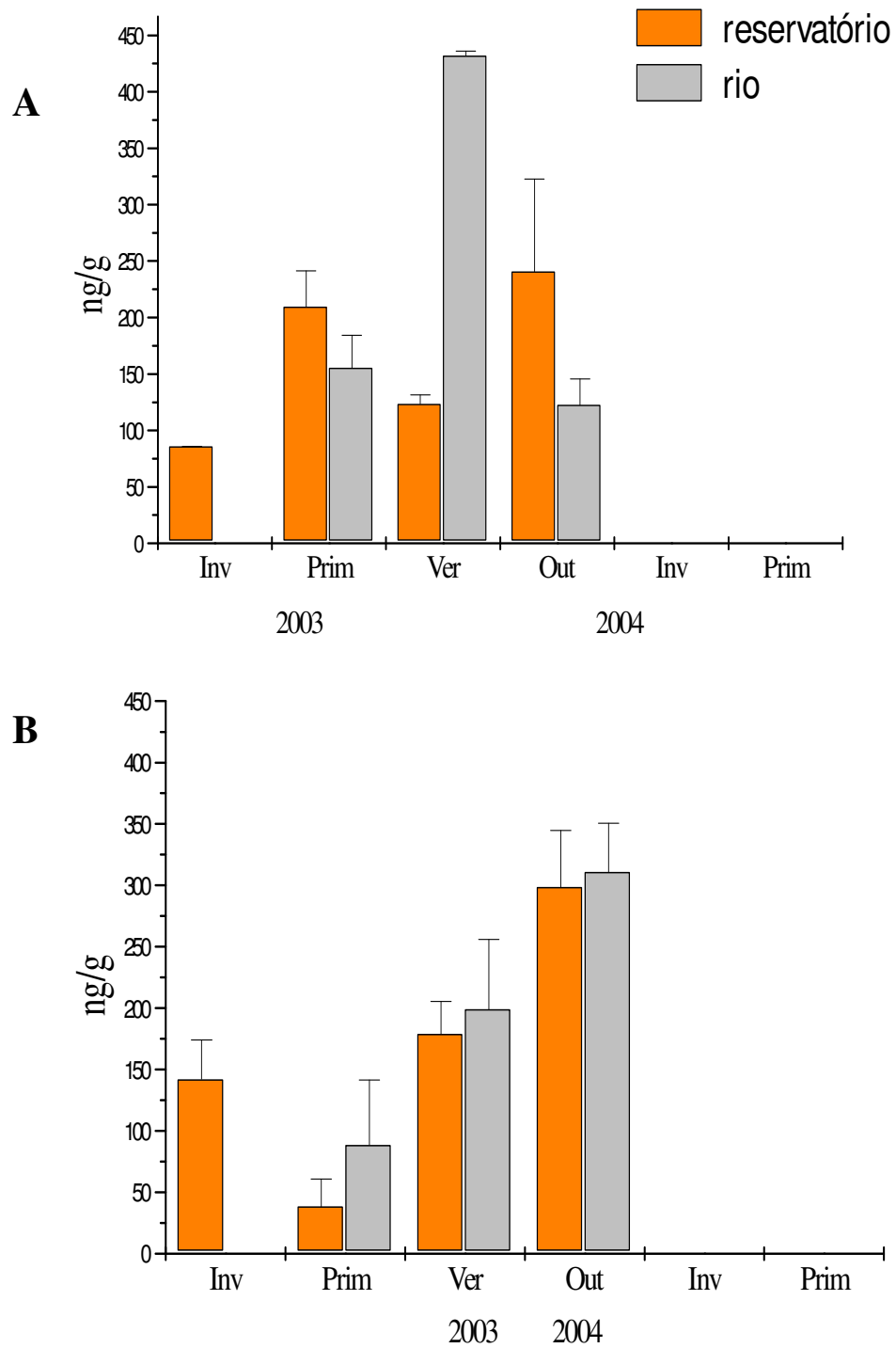
**Figura 40.** Análise de metais (cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco) em músculos de *Pimelodus maculatus* e *Hypostomus auroguttatus* na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil - RJ



**Tabela 24.** Valores de F e significância para comparações da concentração de metais pesados no músculo entre ambientes e estações do ano para as duas espécies de peixes. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

| <b>Siluriformes</b>                  | <b>Variáveis</b> | <b>F (p)</b>       | <b>Diferenças Significativas</b> |
|--------------------------------------|------------------|--------------------|----------------------------------|
| <b>Músculo entre Zonas</b>           |                  |                    |                                  |
| <i>Hypostomus auroguttatus</i>       | Cádmio           | -                  | -----                            |
|                                      | Cobre            | -                  | -----                            |
|                                      | Chumbo           | -                  | -----                            |
|                                      | Manganês         | -                  | -----                            |
|                                      | Mercúrio         | -                  | -----                            |
|                                      | Níquel           | -                  | -----                            |
|                                      | Zinco            | -                  | -----                            |
| <i>Pimelodus maculatus</i>           | Cádmio           | -                  | -----                            |
|                                      | Cobre            | <b>4,23 (0,04)</b> | reservatório > rio               |
|                                      | Chumbo           | -                  | -----                            |
|                                      | Manganês         | <b>4,21 (0,04)</b> | rio > reservatório               |
|                                      | Mercúrio         | -                  | -----                            |
|                                      | Níquel           | <b>5,40 (0,02)</b> | reservatório > rio               |
|                                      | Zinco            | -                  | -----                            |
| <b>Músculo entre Estações do Ano</b> |                  |                    |                                  |
| 1. <i>Hypostomus auroguttatus</i>    | Cádmio           | -                  | -----                            |
|                                      | Cobre            | <b>3,08 (0,03)</b> | Prim > Out > Ver = Inv           |
|                                      | Chumbo           | -                  | -----                            |
|                                      | Manganês         | <b>6,4 (0,00)</b>  | Ver > Prim > Inv > Out           |
|                                      | Mercúrio         | -                  | -----                            |
|                                      | Níquel           | <b>8,7 (0,00)</b>  | Prim > Ver > Inv = Out           |
|                                      | Zinco            | -                  | -----                            |
| 2. <i>Pimelodus maculatus</i>        | Cádmio           | <b>4,4 (0,0)</b>   | Prim > Inv > Ver > Out           |
|                                      | Cobre            | -                  | -----                            |
|                                      | Chumbo           | -                  | -----                            |
|                                      | Manganês         | -                  | -----                            |
|                                      | Mercúrio         | <b>8,4 (0,00)</b>  | Out > Ver > Prim > Inv           |
|                                      | Níquel           | <b>7,8 (0,00)</b>  | Prim > Ver > Inv = Out           |
|                                      | Zinco            | -                  | -----                            |

A figura 41 e a tabela 24 apresentam, as concentrações médias de mercúrio analisado no músculo das duas espécies e as comparações espacial e temporal. As diferenças significativas foram encontradas apenas entre as estações do ano para o mandi, cujos maiores valores foram registrados no outono.



**Figura 41.** Análise de mercúrio em músculos de *Hypostomus auroguttatus* (A) e *Pimelodus maculatus* (B) na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil - RJ

## 4.2. Fígado

### 4.2.1. Peixes analisados

O número de amostras do fígado dos peixes, a exemplo do músculo, foi obtido considerando o somatório dos machos e fêmeas de cada espécie em conjunto, tanto para o ambiente de reservatório como para o rio à jusante da barragem, embora que o número de fêmeas tenha sido sempre bem superior ao número de machos (Tabela 25). O número de amostra variou de acordo com o tipo de metal analisado e com o ambiente, tendo sido amostrado um número maior de peixes do reservatório do que do rio. Um número mínimo de 1 indivíduo de *H. auroguttatus* foi analisado para o rio (Pb), tendo esta amostra sido desconsiderada nas comparações, e um número mínimo de 8 para o reservatório (Hg e Ni). Foram analisados uns mínimos de 6 indivíduos de *P. maculatus* para o rio (Cd, Pb e Hg) e de 14 para o reservatório (Pb) (Tabela 25).

**Tabela 25.** Número de amostras do tecido hepático examinadas em *H. auroguttatus* e *P. maculatus* para análise de metais pesados.

| Fígado de <i>Hypostomus auroguttatus</i> |              |       |       |       |       |       |
|--|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|  | Reservatório |       |       | Rio   |       |       |
| Metal                                    | Macho        | Fêmea | Total | Macho | Fêmea | Total |
| Cd                                       | 3            | 7     | 10    | 1     | 1     | 2     |
| Cu                                       | 3            | 9     | 12    | 1     | 1     | 2     |
| Pb                                       | 3            | 7     | 10    | ---   | 1     | 1     |
| Mn                                       | 4            | 8     | 12    | ---   | ---   | -     |
| Hg                                       | ---          | 8     | 8     | 1     | 4     | 5     |
| Ni                                       | 4            | 4     | 8     | ---   | 2     | 2     |
| Zn                                       | 5            | 9     | 14    | 1     | 1     | 2     |

| Fígado de <i>Pimelodus maculatus</i> |              |       |       |       |       |       |
|--------------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                      | Reservatório |       |       | Rio   |       |       |
| Metal                                | Macho        | Fêmea | Total | Macho | Fêmea | Total |
| Cd                                   | 4            | 14    | 18    | 2     | 4     | 6     |
| Cu                                   | 4            | 14    | 18    | 1     | 6     | 7     |
| Pb                                   | 2            | 12    | 14    | 3     | 3     | 6     |
| Mn                                   | 2            | 18    | 20    | 1     | 7     | 8     |
| Hg                                   | 1            | 15    | 16    | ---   | 6     | 6     |
| Ni                                   | 3            | 18    | 21    | 1     | 7     | 8     |
| Zn                                   | 3            | 22    | 25    | 3     | 12    | 15    |

#### 4.2.2. Comparação entre as espécies

Diferenças significativas das concentrações de metais no tecido hepático das duas espécies estudadas foram detectadas apenas para o Cd, Cu e Hg, tendo o Cd apresentado valores significativamente maiores para *H. auroguttatus* enquanto o Cu e o Hg, que apresentaram maiores valores para *P. maculatus*. Os demais metais não apresentaram diferenças significativas entre as duas espécies (Tabela 26).

**Tabela 26.** Comparação dos níveis de metais pesados no tecido hepático entre as espécies. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

| Variáveis | F (p)              | Diferenças Significativas                    |
|-----------|--------------------|--|
| Cádmio    | <b>14,2 (0,00)</b> | <i>H. auroguttatus</i> > <i>P. maculatus</i> |
| Cobre     | <b>5,2 (0,02)</b>  | <i>P. maculatus</i> > <i>H. auroguttatus</i> |
| Chumbo    | -                  | -----  |
| Manganês  | -                  | -----  |
| Mercúrio  | <b>4,6 (0,03)</b>  | <i>P. maculatus</i> > <i>H. auroguttatus</i> |
| Níquel    | -                  | -----  |
| Zinco     | -                  | -----  |

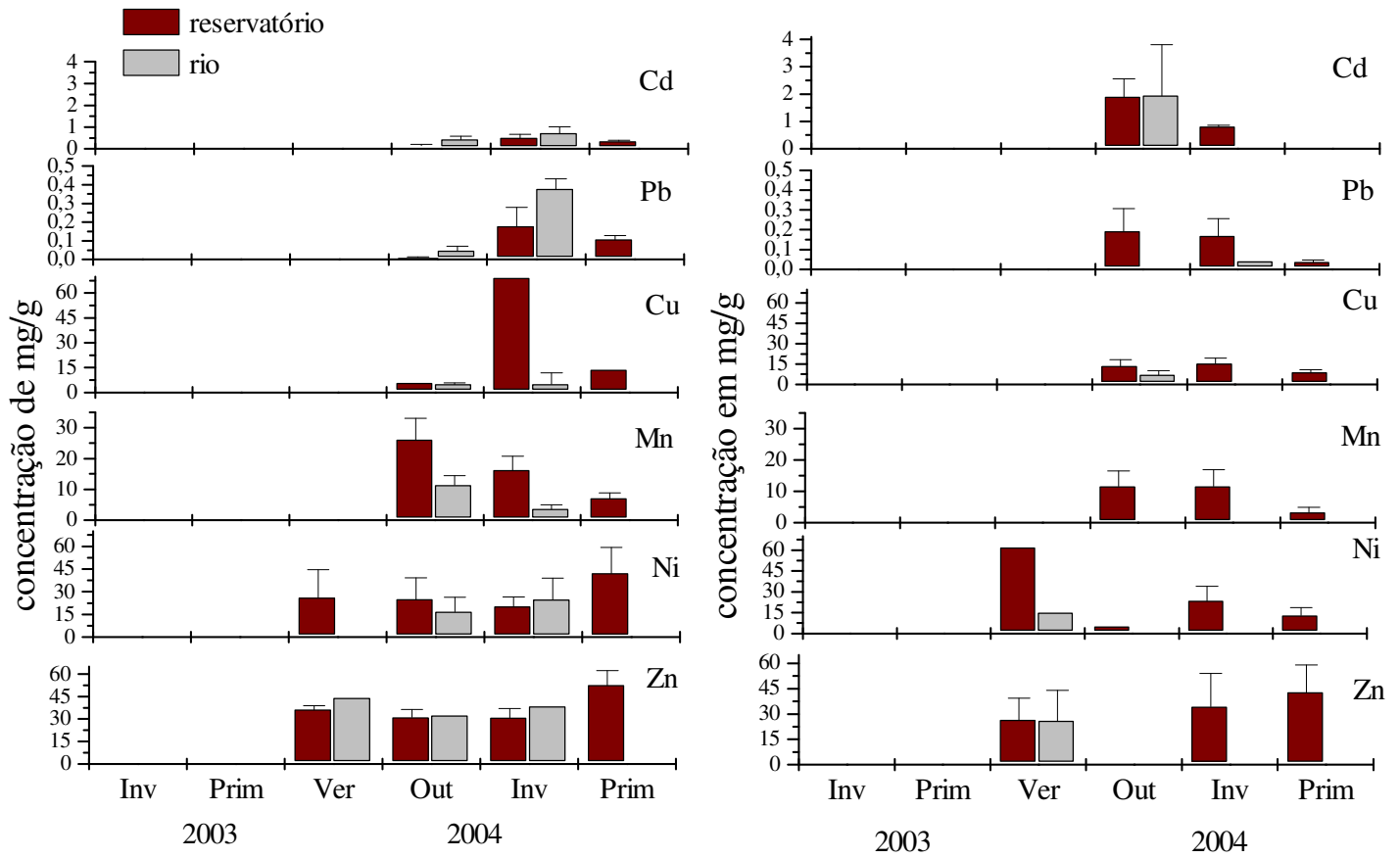
#### 4.2.3. Comparações entre ambientes e estações do ano

A Figura 42 / Tabela 27 apresentam as concentrações médias e as comparações entre os sistemas (reservatório e rio) e entre as estações do ano dos metais no músculo das duas espécies estudadas. Apesar de terem sido feitas amostragens trimestrais do inverno de 2003 à primavera de 2004, em algumas estações do ano não foram obtidas amostras para análise, portanto as comparações sazonais nem sempre incluíram todas as estações, tendo sido feitas principalmente no ano de 2004.

A grande maioria das comparações entre os ambientes e as estações do ano não apresentaram diferenças significativas nas concentrações dos metais estudados. Nenhum metal apresentou diferença significativa entre os dois ambientes (reservatório e rio) para ambas as espécies. Sazonalmente, apenas o cascudo apresentou diferenças significativas, com maiores valores no verão para Hg (Figura 43; Tabela 27), *P. maculatus* apresentou maiores valores no inverno para Cu e Pb.

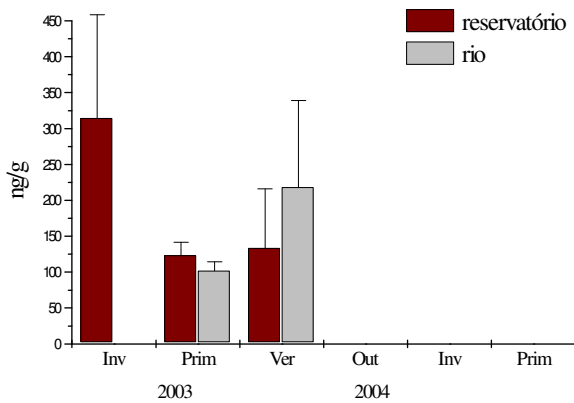
*Pimelodus maculatus*

*Hypostomus auroguttatus*

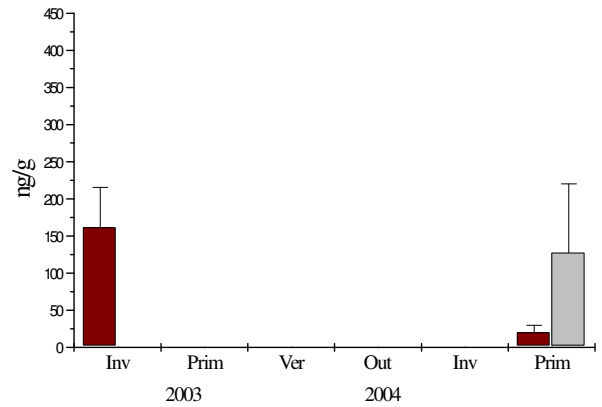


**Figura 42.** Análise de metais (cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel, zinco) em fígado de *Pimelodus maculatus* e *Hypostomus auroguttatus* na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil - RJ

**A**



**B**



**Figura 43.** Análise de mercúrio em fígado de *Pimelodus maculatus* (A) e *Hypostomus auroguttatus* (B) e na região lântica e lótica do reservatório da UHE do Funil - RJ

**Tabela 27.** Valores de F e significância para comparações da concentração de metais pesados no fígado entre os ambientes e as estações do ano para as duas espécies de peixes. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

| Siluriformes                           | Variáveis | F (p)               | Diferenças Significativas    |
|--|-----------|---------------------|------------------------------|
| <b>Fígado entre Ambientes</b>          |           |                     |                              |
| <i>Hypostomus auroguttatus</i>         | Cádmio    | -                   | -----                        |
|  | Cobre     | -                   | -----                        |
|  | Chumbo    | -                   | -----                        |
|  | Manganês  | -                   | só amostrado no reservatório |
|  | Mercúrio  | -                   | -----                        |
|  | Níquel    | -                   | -----                        |
|  | Zinco     | -                   | -----                        |
| 2. <i>Pimelodus maculatus</i>          | Cádmio    | -                   | -----                        |
|  | Cobre     | -                   | -----                        |
|  | Chumbo    | -                   | -----                        |
|  | Manganês  | -                   | -----                        |
|  | Mercúrio  | -                   | -----                        |
|  | Níquel    | -                   | -----                        |
|  | Zinco     | -                   | -----                        |
| <b>Fígado entre as Estações do Ano</b> |           |                     |                              |
| 1. <i>Hypostomus auroguttatus</i>      | Cádmio    | -                   | -----                        |
|  | Cobre     | -                   | -----                        |
|  | Chumbo    | -                   | -----                        |
|  | Manganês  | -                   | -----                        |
|  | Mercúrio  | <b>13,79 (0,00)</b> | Ver > Inv > Prim             |
|  | Níquel    | -                   | -----                        |
|  | Zinco     | -                   | -----                        |
| 2. <i>Pimelodus maculatus</i>          | Cádmio    | -                   | -----                        |
|  | Cobre     | <b>3,26 (0,05)</b>  | Inv > Prim > Out             |
|  | Chumbo    | <b>7,11 (0,00)</b>  | Inv > Prim > Out             |
|  | Manganês  | -                   | -----                        |
|  | Mercúrio  | -                   | -----                        |
|  | Níquel    | -                   | -----                        |
|  | Zinco     | -                   | -----                        |



#### 4.1. Comparações entre os tecidos

As concentrações dos metais, como era de se esperar foram sempre maiores no fígado do que no músculo, para quase todos os metais analisados, indicando uma exposição recente a esses poluentes. Exceção feita apenas para o Hg, em ambas as espécies estudadas e do Pb para o cascudo que não apresentaram diferenças significativas nas concentrações entre os dois tecidos analisados (Tabela 28).

**Tabela 28.** Valores de F e significância para comparações da concentração de metais pesados entre o fígado e o músculo das duas espécies de peixes. Valores em negritos – diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

| Siluriformes   | Variáveis | F (p)                | Diferenças Significativas |
|--|-----------|----------------------|---------------------------|
| <b>1. Entre Músculo e Fígado de <i>H. auroguttatus</i></b> |           |                      |                           |
|  | Cádmio    | <b>44,7(0,00)</b>    | fígado > músculo          |
|  | Cobre     | <b>8,4 (0,00)</b>    | fígado > músculo          |
|  | Chumbo    | -                    | -----                     |
|  | Manganês  | <b>30,4 (0,00)</b>   | fígado > músculo          |
|  | Mercúrio  | -                    | -----                     |
|  | Níquel    | <b>5,99 (0,01)</b>   | fígado > músculo          |
|  | Zinco     | <b>96,44 (0,00)</b>  | fígado > músculo          |
| <b>2. Entre Músculo e Fígado de <i>P. maculatus</i></b>    |           |                      |                           |
|  | Cádmio    |                      | fígado > músculo          |
|  | Cobre     | <b>12,52 (0,00)</b>  | fígado > músculo          |
|  | Chumbo    | <b>7,12 (0,00)</b>   | músculo > fígado          |
|  | Manganês  | <b>24,64 (0,00)</b>  | fígado > músculo          |
|  | Mercúrio  | -                    | -----                     |
|  | Níquel    | <b>5,07 (0,02)</b>   | fígado > músculo          |
|  | Zinco     | <b>158,50 (0,00)</b> | fígado > músculo          |

## 5 - DISCUSSÃO

O fígado, como era de se esperar, apresentou maiores concentrações de metais do que o músculo, sendo uma indicação de exposição recente das duas de peixes a esses poluentes. Embora poucas exceções tenham sido registradas, como o caso do Hg (ambas as espécies) e do Pb (cascudo) que não apresentaram diferenças nas concentrações entre os dois tecidos. Estes resultados estão bem dentro das expectativas e isto foi reportado por LAUREN & MCDONALD, 1987 *in* MAZON *et al.*, (2002) que afirmaram que a tendência de um músculo branco acumular metais só ocorre quando a capacidade máxima de armazenamento no fígado é alcançada; também foi reportado que o fígado é um órgão no qual as metalotioninas estão presentes, as quais são proteínas que se ligam aos metais, removendo-os da corrente sanguínea, o que pode resultar em acúmulo destes metais nas células dos tecidos desse órgão. Adicionalmente, WAGNER & BOMAN (2003) reportam que o fígado é um órgão cujas concentrações de metais são elevadas, uma vez que age como agente sequestrador de vários metais.

No presente estudo, indicações de variação sazonal nas concentrações de metais no músculo foram pouco evidentes, embora uma tendência de maiores valores na primavera tenham sido detectadas para níquel no músculo de ambas as espécies, para cobre no *H. auroguttatus* e para cádmio para o *P. maculatus*. PHILIP (1980) monitorando peixes em ambientes com altas concentrações metais reportou o inverno e início de primavera como pico das contaminações (período em que o crescimento diminui) e baixas concentrações no final do verão (período em que o crescimento aumenta). JOYEUX *et al.*, (2004) encontrou em peixes da Baía de Vitória, que as maiores concentrações de Cd e Pb ocorreram no verão, quando as águas são mais quentes e menos salgadas. De acordo com MANCE (1987) a entrada de metais não-bioacumulante que não se acumulam em organismos é geralmente positivamente correlacionada com a temperatura, devido o aumento da taxa de metabolismo. Outras variáveis importantes podem estar associadas à sazonalidade no reservatório da UHE do Funil, como as maiores entradas de material alóctone no verão devido à maior intensidade de chuvas. Águas de lixiviação poderiam neste período carrear maior quantidade de poluentes para o sistema, quanto a temperatura é mais elevada. As

tendências encontradas de maiores concentrações na primavera não corroboram esta hipótese.

Tanto para o tecido muscular como para o tecido hepático, as concentrações de Cd foram maiores para *H. auroguttatus* do que para *P. maculatus*, com o reverso desta situação ocorrendo para o Cu. Outros metais não apresentaram diferenças nos tecidos quando as duas espécies foram comparadas com exceção de maiores concentrações de Hg no fígado de *P. maculatus*. MAZON *et al.* (2002) reportou que concentrações de Cu no músculo de *Prochilodus scrofa*, uma espécie detritívora tem sido relativamente baixa, mesmo que outros órgãos mais expostos como brânquias e sangue tenham apresentado elevada concentração. No presente trabalho as concentrações de Cd foram maiores no *H. auroguttatus*, uma espécie iliófaga e de posição mais baixa na cadeia alimentar, sugerindo que este metal está sendo armazenado em algas epilíticas da zona mais alta do reservatório, onde esta espécie é mais abundante. E a principal fonte desse metal para o peixe deve ser a ingestão de sedimento. CROTEAU *et al* (2005) afirmaram que maiores concentrações deste metal ocorre em níveis tróficos mais elevados, pois os organismos comem presas ricas em Cd (CROTEAU, 2005).

O fígado foi menos eficiente do que o músculo para estabelecer comparações entre os ambientes e estações do ano, uma vez que nenhuma diferença na concentração de metais entre os ambientes foi encontrada através da análise do fígado. Por outro lado, as concentrações no músculo diferiram em vários metais, tanto entre os dois sistemas (reservatório e rio) e entre as estações do ano.

O Mn, que é um macroelemento apresentou concentrações mais elevadas no músculo de *H. auroguttatus* no verão e no ambiente de rio à jusante do reservatório em *P. maculatus* podendo estar associado a fontes de poluentes naturais (sedimento rico em Mn) e ações antrópicas (agricultura e manutenção das turbinas das usinas). Estas fontes de poluição de Mn foram encontradas por OYEWALE & MUSA (2006), em *Oreochromis niloticus* e *Chrysichthys auratus* em reservatórios africanos.

Não foram observadas diferenças evidentes na concentração de metais entre os ambientes do reservatório e do rio (jusante do reservatório) que pudesse corroborar o possível efeito de “filtro” pelo reservatório. Nenhuma diferença foi encontrada entre o ambiente de reservatório (maior expectativa de concentração) e o ambiente de rio à jusante do reservatório (menor expectativa de concentração) para metais no músculo ou

no fígado de *H. auroguttatus*. Também não foram detectadas diferenças em quais dos metais no fígado de *P. maculatus* entre os dois ambientes. Apenas o Cu e Ni foram maiores no músculo de *P. maculatus* no reservatório, e Mn foi maior no músculo de *P. maculatus* no ambiente de rio. Esta falta de padrões levam a sugerir que tanto o reservatório como o rio à jusante do reservatório apresenta condição ambiental semelhante no que se refere à concentração de metais nos tecidos dos peixes analisados.

## 6 – CONCLUSÃO

1.O fígado em geral apresentou maiores concentrações de metais do que o músculo, uma indicação de exposição recente dos dois peixes aos poluentes;

2. Indicações de variação sazonal nas concentrações de metais foram pouco evidentes embora uma tendência a maiores na primavera (final da estação de seca) tenham sido detectados para Níquel no músculo de ambas as espécies e Cu para o *H. auroguttatus* e Cd para *P. maculatus*;

3. O músculo e o fígado do cascudo apresentaram maiores concentrações de Cd, enquanto o mandi apresentou maiores concentrações de Cu e Hg, quando as duas espécies foram comparadas;

4. O fígado foi menos eficiente do que o músculo para estabelecer comparações entre os ambientes e estações do ano; 4.Não foram observadas diferenças evidentes na concentração de metais entre os ambientes do reservatório e do rio (jusante do reservatório) que pudesse corroborar o possível efeito de “filtro” pelo reservatório.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AB’SABER, A.N.& BERNARDES, N.Vale do Paraíba, serra da Mantiqueira e arredores de São Paulo. Rio de Janeiro, Conselho Nacional de Geografia, 303 pp. 1958.

BRITO, J.L.; AZEREDO, M.A.A.; MALM, O. Trace metals in liver and kidney of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from the northern coast of Rio de Janeiro State, Brazil 2002

CROTEAU, M.N., LUOMA, S.N., STEWART, A.R. Trophic transfer of metals along freshwater food web: evidence of cadmium biomagnifications in nature. *Limnology and Oceanography* n 50, v 5: 1511-1519, 2005.

CHANG, S.; ZDANOWICZ, V.S. & MURCHELANO, R. A.. Association between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes Americans*) and sediment chemical contaminant from northeast United States estuaries. *ICES J. Marine Science* , v 55: 954-969.1998.

FRANCO, G. *Tabela de composição química dos alimentos*. 9 Ed. São Paulo: Editora Atheneu. 1999.

JOYEUX, J.C.; CAMPANHA FILHO, E.A. & JESUS, H.C. Trace metal contamination in estuarine fishes from Vitória Bay, ES, BRASIL. *Brazilian Archives of Biology and Technology* v. 47 n.5, Curitiba. 2004.

MANCE, G. Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. New York: Elzier 123p ;1987

MAZON, A.F; PINHEIRO, G.H.D. & FERNANDES, M.N. Contaminação dos ecossistemas aquáticos pelo cobre e risco potencial à biodiversidade: estudo da toxicidade do cobre em Curimatá, *Prochilodus scrofa* (Teleostei, Prochilodontidae). *Ecotoxicologia Perspectivas para o Século XXI*. p 327-340.2002.

NI, I.H.; WANG, W.X.;TAM, Y.K. Transfert of Cd, Cr, and Zn from zooplankton prey to mudskipper *Periophthalmus cantonensis* and glassy *Ambassis urotaenia* fishes. *Marine Ecology Progress Series*, v. 194: 203-210. 2000.

OYEWALE, A. O. & MUSA, I. Pollution assessment of the lower basin of lakes Kainjii/Jebba, Nigéria: heavy metal status of the waters, sediments and fishes. *Envl Geochem Health* n.28, v. 3, p. 273-281.2006

SMITH, W.E. & SMITH, A.M. *Minamata* New York: Holt, Rinehart and Winston.1973

WAGNER, A. & BOMAN, J. Biomonitoring of trace elements in muscle and liver tissue of freshwater fish. *SPECTROCHIMICA ACTA Part B*, v. 58, 2215-2226. 2003.  
PHILIPS, D.J.H. *Quantitative aquatic biological indicators*. London: Applied Science Publishers. 1980

## V II - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dois peixes selecionados para realizar avaliação da qualidade ambiental do reservatório Funil, no rio Paraíba do Sul, são espécies Siluriformes de ampla distribuição na bacia, e com adaptações ao ambiente bentônico, sendo diretamente associado (*H. auroguttatus*) ou proximamente relacionado (*P. maculatus*) com o fundo, além de apresentarem a capacidade de suportar ambientes variáveis e estressados. Estas características fazem dos mesmos espécies aptas para estudos desta natureza.

*P. maculatus* foi a espécie mais abundante de toda a ictiofauna, distribuindo-se em todos as zonas do reservatório (superior, intermediário e inferior) bem como no trecho de rio à jusante do reservatório, onde apresentou as maiores abundâncias relativas. Também esta espécie, por sua ocorrência no reservatório de Santa Branca, um ambiente oligotrófico relativamente bem conservado, quando comparado com o eutrófico reservatório de Funil, serviu para estudos comparativos entre os dois reservatórios. Apresenta hábito alimentar oligotrófico.

*H. auroguttatus* é uma espécie mais associada ao substrato rochoso, ao qual adere através de sua boca em forma de ventosa e se alimenta de algas eplíticas e material orgânico, principalmente de origem vegetal. Foi mais abundante durante o período em que o reservatório apresenta melhores condições ambientais (outono/inverno), se concentrando nas formações rochosas da zona alta, com pequena representatividade na zona baixa (remanso). Apresenta estômago com função respiratória / digestiva e um dos mais longos intestino dentre todos os teleósteos. Apresenta hábito alimentar iliófago. Os Centros Melano-Macrofágicos-CMM, grandes e pouco numerosos, ocorreram em *H. auroguttatus* (melanina – cor marrom) independente da exposição a metais pesados (Cu, Cd e Zn), enquanto em *P. maculatus* (hemosiderina – cor amarela) coincidiram com maiores exposição e estes metais, principalmente o Zn.

Maior atividade enzimática ocorreu no intestino de ambas as espécies, quando comparado com estômago e fígado, sendo sempre maior em *H. auroguttatus*, um reflexo do intestino adaptado para digestão de material vegetal, apesar do baixo metabolismo desta espécie indicado por seu hábito residente. A elevada abundância do nível populacional e morfotipos de anaeróbios estritos possivelmente serve como barreira aos

patógenos (enterobactérias) permitindo uma boa adaptação desta espécie ao ambiente alterado do reservatório de Funil. Esta espécie apresentou maior atividade enzimática (glicosidase) no inverno, quando foram menores os níveis populacionais e morfotipos da microbiota, período de melhores condições ambientais no reservatório.

*P. maculatus* tendeu a apresentar maior atividade enzimática no verão no ambiente do reservatório, enquanto no rio apresentou maiores níveis populacionais e morfotipos, principalmente no outono. A glicosidase foi maior no fígado no ambiente alterado (reservatório de Funil) quando comparado com um ambiente oligotrófico (Reservatório de Santa Branca) enquanto a microbiota indígenas apresentou o padrão oposto, sendo maior no ambiente não alterado, coincidindo com maiores abundâncias de bactérias anaeróbias estritas, o que pode estar indicando microbiota mais desenvolvida nos ambientes menos alterados.

Estudos multidisciplinares como este, utilizando componentes da ictiofauna visando detectar padrões ao longo de gradiente ambientais em sistemas aquáticos represados, ainda são raros. Torna-se, portanto, necessário a continuidade de tais trabalhos visando detectar relações mais consistentes de causa-efeito, o que pode constituir importantes subsídios para os gerenciadores destes sistemas visando a conservação ambiental.

ANEXOS  
ANEXOS



## **ANEXO 1**

### **Capítulo II – Anatomo-histologia do sistema digestório de dois peixes Siluriformes no reservatório de Funil - RJ**

#### **Técnicas histológicas de rotina**

Os órgãos do sistema digestório (esôfago, estômago, intestino, fígado e pâncreas) foram desidratados em concentrações crescentes de álcool (70, 80, 95%, absoluto I e absoluto II); a região cefálica e o tubo digestivo foram diafanizados em xilol-álcool (50%) e xilol (I e II). Em seguida, impregnados e incluídos em parafina. Foram feitos cortes semi-seriados por meio de micrótomo Spencer, modelo CUT 4055 11, com 5 µm de espessura.

Os cortes foram submetidos às técnicas rotineiras de desparafinização e hidratação (HUMASON,1972), tendo sido corados pelos seguintes métodos:

- a) Técnica de coloração Hematoxilina-Eosina para estudos panorâmicos de rotina;
- b) Técnica de coloração Ácido periódico+Schiff – PAS, para descrever as células mucosas e caliciformes
- c) Técnica de coloração Azul de Alcian ou Alcian Blue que atua tanto em mucopolissacarídeos como em glicoproteínas (mucinas)
- d) Técnica de coloração Tricrômico de Gomori para visualizar as fibras da musculatura , fibras colágenas, tecido conjuntivo

#### **Descrição das técnicas de coloração**

Após a fixação em líquido de Bouin, inclusão em parafina e a microtomia, foram os cortes histológicos submetidos às seguintes técnicas:

##### **1. Técnica de coloração de Hematoxilina – Eosina (MALLORY, 1938)**

- 1) Desparafinização das lâminas em três banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 2) Hidratação em série decrescente de álcool (100%,95%,90%,80% e 50%) 2 minutos em cada

- 3) Hidratação em água destilada – 2 minutos
- 4) Coloração pela Hematoxilina de Delafield – 2 minutos
- 5) Lavagem em água corrente – 5 minutos
- 6) Lavagem rápida em água destilada
- 7) Coloração pela eosina - 1 minuto
- 8) Lavagem rápida em água destilada.
- 9) Desidratação em série crescente de álcool – 2 minutos em cada.
- 10) Diafanização em dois banhos de xilol – 2 minutos em cada.
- 11) Montagem das lâminas e lamínulas com Entelan (Merck).

**RESULTADO:** Núcleos celulares são corados em azul escuro; citoplasma, fibras colágenas, fibras musculares e eritrócitos corados em róseo.

## **2. Técnica de coloração pelo Ácido periódico Schiff –PAS (McMANUS, 1948)**

- 1) Desparafinização das lâminas em três banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 2) Hidratação em série decrescente de álcool (100% a 50%)- 2 minutos em cada
- 3) Hidratação em água destilada – 2 minutos
- 4) Ácido periódico a 1% – 10 minutos
- 5) Lavagem em água corrente – 5 minutos
- 6) Lavagem rápida em água destilada
- 7) Imersão em reativo de Schiff – 10 minutos
- 8) Lavagem em água corrente – 5 minutos
- 9) Coloração pela Hematoxilina de Delafield – 1 minuto
- 10) Lavagem em água corrente – 5 minutos
- 11) Lavagem rápida em água destilada
- 12) Desidratação em série crescente de álcool (90%, 95%, absoluto I, II e III) – 2 minutos em cada
- 13) Diafanização em dois banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 14) Montagem das lâminas e lamínulas com Entelan (Merck)

**RESULTADOS** - Esta reação indica a presença de hexoses, deoxioses e hexosaminas, constituintes de glicosaminoglicanas neutras; as glicosaminoglicanas ácidas não são revelados, embora possuam, em sua molécula, resíduos de ácidos urônicos com grupamentos vic-glicóis.

### **3. Técnica de coloração pelo Azul de alcian (LEV & SPICER, 1964)**

- 1) Desparafinização das lâminas em três banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 2) Hidratação em série decrescente de álcool - 2 minutos em cada
- 3) Hidratação em água destilada – 2 minutos
- 4) Lavagem em solução tampão fosfato pH 2,5 – 2 minutos
- 5) Coloração pelo azul de alcian pH 2,5 – 2 horas
- 6) Lavagem em dois banhos de solução tampão fosfato pH 2,5 – 2 minutos em cada
- 7) Lavagem em água corrente – 5 minutos
- 8) Lavagem rápida em água destilada
- 9) Desidratação em série crescente de álcool (90%, 95%, absoluto I, II e III) – 2 minutos
- 10) Diafanização em dois banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 11) Montagem das lâminas e lamínulas com Entelan (Merck)

RESULTADOS: O azul de alcian, que é uma ftalocianina cúprica, em pH=2,5 cora os grupamentos carboxilas e age como forte catíon, atraindo grupos aniônicos da molécula dos glicosaminoglicanas ácidas, através de forças eletrostáticas.

### **4. Técnica de coloração Tricrômico de Gomori (GOMORI, 1952)**

- 1) Desparafinização das lâminas em três banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 2) Hidratação em série decrescente de álcool (100%,95%,90%,80% e 50%) 2 minutos
- 3) Hidratação em água destilada – 2 minutos
- 4) Coloração pela Hematoxilina de Delafield - 3 minutos
- 5) 10) Lavagem em água corrente – 5 minutos
- 6) Lavagem rápida em água destilada
- 7) Coloração pelo Tricrômico de Gomori por 15 minutos
- 8) Diferenciação em água acidificada (ácido acético 0,2%)
- 9) Lavagem rápida em água destilada
- 10) Desidratação em série crescente de álcool (90%, 95%, absoluto I, II e III) – 2 minutos em cada
- 11) Diafanização em dois banhos de xilol – 2 minutos em cada
- 12) Montagem das lâminas e lamínulas com Entelan (Merck)

RESULTADOS: Fibras colágenas coradas em verde, núcleo em azul e fibras musculares em vermelho, epitélio cinza violáceo.

## ANEXO 2

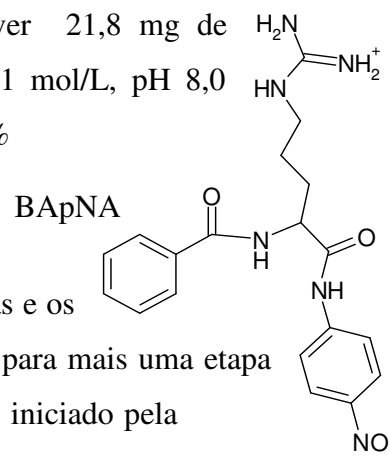
### Capítulo III – Atividade enzimática em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório de Funil, RJ

#### 1. Soluções de atividade com especificidade de tripsina

As soluções utilizadas para o teste de atividade amidásica (ensaio de especificidade para enzimas semelhantes à tripsina) foram: a) Solução de BApNA (*N*-benzoil-D,L-arginina-4-nitroanilida, PM= 435) a 5 mmol/L em dioxano (Dissolver 21,8 mg de BApNA em 10,0 mL de DMSO); b) Tampão Tris-HCl a 0,1 mol/L, pH 8,0 contendo CaCl<sub>2</sub> a 20 mmol/L; c) Solução de ácido acético a 60%

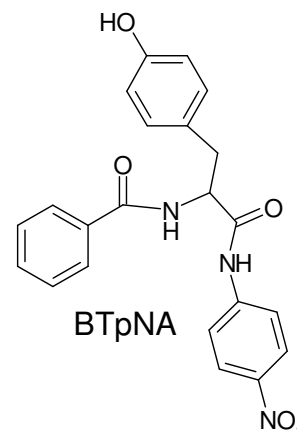
#### Ensaios

Antes do ensaio propriamente, as amostras foram descongeladas e os microtubos foram centrifugados durante 15 min a 14000 rpm para mais uma etapa de eliminação de material particulado. O ensaio enzimático foi iniciado pela adição de 900 microlitros de tampão Tris-HCl a 0,1 mol/L, pH 8,0 contendo CaCl<sub>2</sub> a 20 mmol/L a um microtubo do tipo Ependorf. Em seguida, adicionou-se 50 microlitros da solução de BapNA e procedeu-se a 37 °C durante 10 minutos. Foram então acrescentados 50 microlitros do extrato de tubo digestivo de peixe e incubado novamente a 37 °C durante 10 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 250 microlitros de solução de ácido acético a 60%; as amostras nos microtubos foram centrifugadas durante 15 min a 14000 rpm e conduzidas a leitura no espectrofotômetro a 410 nm.



#### 2. Soluções de atividade com especificidade de quimotripsina

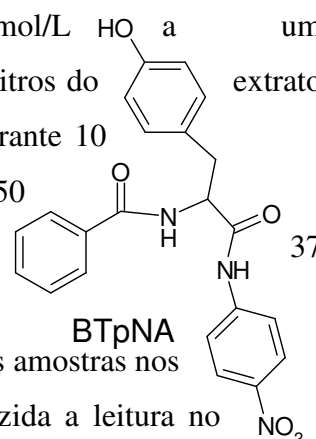
As soluções utilizadas para o teste de atividade amidásica (ensaio de especificidade para enzimas semelhantes à quimotripsina) foram: a) Solução de BTpNA (*N*-benzoil-L-tirosina-4-nitroanilida, PM= 405) a



1,0 mmol/L em dimetilsulfóxido-DMSO (Dissolver 2,03 mg de BTpNA em 5,0 mL de DMSO); b) Tampão Tris-HCl a 0,1 mol/L, pH 8,0 contendo CaCl<sub>2</sub> a 20 mmol/L; c) Solução aquosa de ácido acético a 60%.

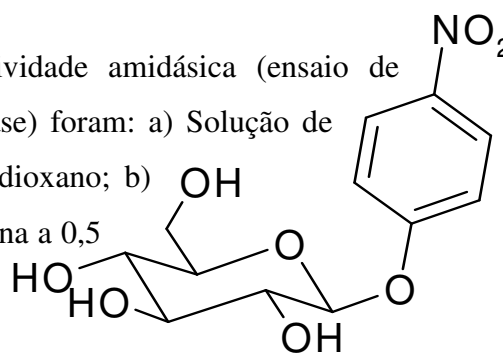
### Ensaio

Antes do ensaio propriamente, as amostras foram descongeladas e os microtubos foram centrifugados durante 15 min a 14000 rpm para mais uma etapa de eliminação de material particulado. O ensaio enzimático foi iniciado pela adição de 900 microlitros de tampão Tris-HCl a 0,1 mol/L, pH 8,0 contendo CaCl<sub>2</sub> a 20 mmol/L a um microtubo do tipo Ependorf. Em seguida, adicionar 50 microlitros do extrato de tubo digestivo de peixe e incubado novamente a 37°C durante 10 minutos (RETIRAR JD). Foram então acrescentados 50 microlitros do extrato de tubo digestivo de peixe e incubar a 37°C durante 10 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 250 microlitros de solução de ácido acético a 60%; as amostras nos microtubos foram centrifugadas durante 15 min e foi conduzida a leitura no espectrofotômetro a 410 nm.



### 3. Soluções de atividade com especificidade beta-glicosidásica

As soluções utilizadas para o teste de atividade amidásica (ensaio de especificidade para enzimas semelhantes à glicosidase) foram: a) Solução de glicopiranosídeo de 4-nitrofenila a 30 mmol/L em dioxano; b) Tampão Citrato a 0,2 mol/L, pH 6,0; c) Tampão glicina a 0,5 mol/L, pH 10,0.



### Ensaio

Antes do ensaio propriamente, as amostras foram descongeladas e os microtubos durante 15 min a 14000 rpm para mais uma etapa de eliminação de material particulado. O ensaio enzimático foi iniciado pela adição de 900 microlitros de tampão Citrato a 0,2 mol/L, pH 6,0 a um microtubo do tipo Ependorf. Em seguida, adicionaram-se 50 microlitros da solução de glicopiranosídeo de 4-nitrofenila e procedeu-se a 37 °C

durante 10 minutos. Foram então acrescentados 50 microlitros do extrato de tubo digestivo de peixe e incubou-se a 37 °C durante 10 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 500 microlitros de solução de tampão glicina a 0,5 mol/L, pH 10,0; 7) foram centrifugar as amostras nos microtubos durante 15 min a 14000 rpm e foi conduzida a leitura dos sobrenadantes no espectrofotômetro a 400 nm (absortividade molar de 1700 a pH6,0, 400 nm).

### **3.2.4 Dosagem de proteínas totais**

As proteínas totais dos extratos estomacais, intestinais e hepáticos foram medidas pelo método de Lowry (1953). Os valores de atividades enzimáticas foram obtidos pelas respectivas concentrações de proteína para a obtenção de resultados de atividade específica.

## **ANEXO 3**

### **Capítulo V – Análise de metal pesado em duas espécies de peixes Siluriformes no reservatório de Funil, RJ.**

#### **Análise de Mercúrio total**

Para a análise de mercúrio total foram pesados 0,4 g de tecido fresco em balança analítica (Mettler Toledo – AB 204) em tubos de ensaio apropriados e etiquetados. Paralelamente ao processo foram empregadas amostras com valores certificados (Dorm-2).

Os tubos com as amostras foram colocados em estantes e em banho-maria a 60°C e, em seguida adicionou-se 1ml de peróxido de hidrogênio. Após 15 minutos adicionou-se 3 ml de solução de sulfinítrica (ácido sulfúrico e ácido nítrico 1:1) para a mineralização total das amostras. Esperou-se por cerca de 1 hora até a completa digestão resultando em uma solução clara e transparente. Após a solução esfriar adicionou-se 5 ml de permanganato de potássio a (5%) e aqueceu-se novamente durante 15 minutos. Esta solução permaneceu em repouso por uma noite e no dia seguinte foi adicionada essa solução 1 ml de solução de cloridrato de hidroxilamina (12%) para se

iniciar o processo de redução dos reagentes oxidantes. Logo após as amostras foram colocadas em tubos de falcon de 15 ml , onde o volume final foi aferido para 10 ml com água Milli-Q.

A curva analítica foi construída a partir das seguintes concentrações: 10; 20; 30 ppm de Hg. A quantificação do Hg foi feita com um sistema de fluxo de injeção de mercúrio FIMS – 100 (Perkin Elmer). No espectrofotômetro, o mercúrio inorgânico  $Hg^{+2}$  é reduzida a  $Hg^0$ , onde o agente redutor é uma solução de borohidreto de sódio (0,3%) e hidróxido de sódio (0,5%), que circula pelo gerador de vapor frio.

### **Análise das concentrações totais de cádmio, cobre, chumbo, manganês, mercúrio, níquel e zinco.**

Uma quantidade de 2,5 - 3,0g de cada amostra, tomadas em duplicatas, foi pesada em balança analítica (Mettler Toledo – AB 204). Paralelamente a todo o processo foram analisadas amostras de padrão certificado (Dorm -2). Em seguida foram secas nas estufa (Fanem – Retilínea) a 100°C durante 24 horas e ao final deste processo foram novamente pesadas para obtenção da massa seca. A seguir, foram calcinadas em forno mufla T. Milley – Termotécnica a 420° C até a calcinação total. Colocou-se vidro de relógio para tampar os béqueres e evitar possíveis contaminações.

Ao término da calcinação, as amostras foram pesadas e levadas à placa quente a 100°C, dentro de uma capela, onde iniciou-se a digestão ácida com adição de 5 ml da solução de água régia (ácido nítrico e ácido clorídrico 3:1). Após evaporação da solução ácida, ressuspendeu-se o analito com 5 ml de ácido clorídrico fumegante concentrado (PA). Após a evaporação desta solução, ressuspendeu-se o analito com uma solução de ácido clorídrico 0,1 N em volume preciso (10 ml). As amostras foram armazenadas em geladeira até o momento de análise.

A leitura foi realizada no espectrofotômetro de absorção atômica com chama Varian – AA – 1475. Para determinação de cada um dos metais foi realizada uma curva-analítica ( $\mu\text{g/ml}$ ): a) chumbo: 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0; b) cobre, cádmio, manganês e níquel: 1; 2; 3 e 4; c) zinco: 0,4; 0,8; 1,2 e 1,6. Os padrões para curva foram diluídos em HCl 1N a partir de uma solução padrão estoque de 1000 ( $\mu\text{g/L}$ ) da Merck.