



**BIOMARCADORES GENOTÓXICOS E HISTOPATOLÓGICOS DE QUATRO ESPÉCIES
DE PEIXES DO MÉDIO RIO SÃO FRANCISCO COM DIFERENTES HÁBITOS
ALIMENTARES**

**GENOTOXIC AND HISTOPATHOLOGICAL BIOMARKERS OF FOUR FISH SPECIES
FROM THE MIDDLE SÃO FRANCISCO RIVER WITH DIFFERENT FEEDING HABITS**

**BIOMARCADORES GENOTÓXICOS E HISTOPATOLÓGICOS DE CUATRO ESPECIES
DE PECES DEL MEDIO RÍO SÃO FRANCISCO CON DIFERENTES HÁBITOS
ALIMENTARIOS**



10.56238/2ndCongressSevenMultidisciplinaryStudies-032

Lucélia Sandra Silva Barbosa Braga

Mestre em Biodiversidade e Uso dos Recursos Naturais

Instituição: Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES)

E-mail: lucelia.sandra@educacao.mg.gov.br

Marcílio Fagundes

Doutor em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre

Instituição: Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES)

E-mail: marcilio.fagundes@gmail.com

Wanderson Geraldo Lima

Doutor em Patologia Geral

Instituição: Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

E-mail: wanderson@ufop.edu.br

Maria Rosilene Alves Damasceno

Doutora em Bioquímica Estrutural e Biologia Molecular

Instituição: Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG)

E-mail: maria.damasceno@ifnmg.edu.br

RESUMO

Comparamos as variações na ocorrência de micronúcleos (MN), alterações morfonucleares (AMN) e a presença de diversos danos hepáticos entre quatro espécies de peixes, *Salminus franciscanus* (carnívoro), *Leporinus obtusidens* (onívoro), *Myleus micans* (herbívoro) e *Prochilodus argenteus* (iliófago-detritívoro), que ocupam diferentes níveis tróficos em uma área do médio rio São Francisco, Januária, Minas Gerais. Hipotetizamos que (i) peixes de níveis tróficos distintos apresentam variadas quantidades de MN e AMN, pois estes danos estão relacionados à presença de contaminantes ambientais, e (ii) peixes de níveis tróficos diferentes evidenciam múltiplos danos hepáticos, visto que o fígado é um importante órgão de depuração dos organismos, refletindo a presença de contaminantes aquáticos. Foram realizadas análises citogenéticas através do teste MN e histopatológicas com fotomicrografias dos tecidos do fígado. As espécies foram ordenadas por Análise de Componentes Principais (PCA) com base nas alterações genéticas e danos hepáticos. Os scores dos eixos principais



foram comparados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição gaussiana. A significância foi verificada com ANOVA (teste F), seguida de análises de contrastes para identificar variações estatísticas entre os grupos. Nossos resultados indicaram que *P. argenteus* apresentou o maior número de MN, enquanto *M. micans* e *S. franciscanus*, os maiores quantitativos de AMN. Os mais afetados pelas lesões degenerativas do fígado foram *S. franciscanus* e *L. obtusidens*. A necrose, lesão de morte celular, teve o maior score em *P. argenteus*. Tais achados indicam forte correlação entre os índices de danos citogenéticos e histopatológicos com os níveis tróficos ocupados pelas espécies ícticas avaliadas.

Palavras-chave: Alterações Morfonucleares. Histopatologia Hepática. Micronúcleos. Níveis Tróficos.

ABSTRACT

We compared variations in the occurrence of micronuclei (MN), morphonuclear alterations (AMN), and the presence of various liver damages among four fish species, *Salminus franciscanus* (carnivorous), *Leporinus obtusidens* (omnivorous), *Myleus micans* (herbivorous), and *Prochilodus argenteus* (iliophagous-detritivore), occupying different trophic levels in an area of the middle São Francisco River, Januária, Minas Gerais. We hypothesized that (i) fish from different trophic levels present varying amounts of MN and AMN, as these damages are related to the presence of environmental contaminants, and (ii) fish from different trophic levels show multiple liver damages, since the liver is an important organ for the purification of organisms, reflecting the presence of aquatic contaminants. Cytogenetic analyses were performed using the MN test and histopathological analyses with photomicrographs of liver tissues. Species were ranked using Principal Component Analysis (PCA) based on genetic alterations and liver damage. Principal axis scores were compared using Generalized Linear Models (GLM) with Gaussian distribution. Significance was verified with ANOVA (F-test), followed by contrast analyses to identify statistical variations between groups. Our results indicated that *P. argenteus* presented the highest number of MNs, while *M. micans* and *S. franciscanus* had the highest quantities of AMNs. *S. franciscanus* and *L. obtusidens* were the most affected by degenerative liver lesions. Necrosis, a cell death lesion, had the highest score in *P. argenteus*. These findings indicate a strong correlation between cytogenetic and histopathological damage indices and the trophic levels occupied by the evaluated fish species.

Keywords: Morphonuclear Alterations. Liver Histopathology. Micronuclei. Trophic Levels.

RESUMEN

Comparamos las variaciones en la ocurrencia de micronúcleos (MN), alteraciones morfonucleares (AMN) y la presencia de diversos daños hepáticos entre cuatro especies de peces, *Salminus franciscanus* (carnívoro), *Leporinus obtusidens* (omnívoro), *Myleus micans* (herbívoros) y *Prochilodus argenteus* (iliago-detritívoro), que ocupan diferentes niveles tróficos en un área del río São Francisco medio, Januária, Minas Gerais. Planteamos la hipótesis de que (i) los peces de diferentes niveles tróficos presentan cantidades variables de MN y AMN, ya que estos daños están relacionados con la presencia de contaminantes ambientales, y (ii) los peces de diferentes niveles tróficos muestran múltiples daños hepáticos, ya que el hígado es un órgano importante para la purificación de organismos, lo que refleja la presencia de contaminantes acuáticos. Se realizaron análisis citogenéticos utilizando la prueba de MN y análisis histopatológicos con fotomicrografías de tejidos hepáticos. Las especies se clasificaron mediante Análisis de Componentes Principales (ACP) con base en alteraciones genéticas y daño hepático. Las puntuaciones del eje principal se compararon mediante Modelos Lineales Generalizados (MLG) con distribución gaussiana. La significancia se verificó mediante ANOVA (prueba F), seguido de análisis de contraste para identificar variaciones estadísticas entre los grupos. Nuestros resultados indicaron que *P. argenteus* presentó el mayor número de MN, mientras que *M. micans* y *S. franciscanus* presentaron las mayores cantidades de AMN. *S. franciscanus* y *L.*



obtusidens fueron las más afectadas por lesiones hepáticas degenerativas. La necrosis, una lesión de muerte celular, presentó la puntuación más alta en *P. argenteus*. Estos hallazgos indican una fuerte correlación entre los índices de daño citogenético e histopatológico y los niveles tróficos ocupados por las especies de peces evaluadas.

Palabras clave: Alteraciones Morfonucleares. Histopatología Hepática. Micronúcleos. Niveles Tróficos.



1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade de peixes de água doce do mundo, correspondendo aproximadamente a 27,3% das espécies conhecidas (Reis et al., 2016, Almeida, 2019). Esta diversidade provavelmente está relacionada à sua localização geográfica tipicamente tropical, grandes dimensões territoriais e ao tamanho das suas bacias hidrográficas (Vieira; Alves; Pompeu, 2009). O rio São Francisco é o maior curso d'água inteiramente contido no território brasileiro. Sua área de drenagem abrange regiões semiáridas a áridas do país, exercendo forte influência sobre o seu desenvolvimento socioeconômico, favorecendo a agricultura irrigada, produção de energia, transporte hidroviário, além da pesca comercial e subsistência dos povos ribeirinhos (Pereira et al., 2007, Horodesky et al., 2020).

Contudo, nas últimas décadas, a escassez do pescado aponta os impactos significativos sofridos pela ictiofauna do rio São Francisco, decorrentes da poluição aquática oriunda dos resíduos provenientes da mineração, do esgotamento doméstico, industrial e agrícola. Somado a estes fatores, o represamento de suas águas interfere na rota migratória dos peixes, eleva o status de vulnerabilidade ambiental e o risco de extinção de diversas espécies ícticas (CBHSF, 2015, Souza-Shibatta et al., 2018, Gonçalves Júnior et al., 2019, Brandão et al., 2020, MMA, 2020).

Sabe-se que a contaminação do ambiente aquático pode acarretar distúrbios fisiológicos, reprodutivos e comportamentais na fauna aquática, contribuindo para a diminuição dos estoques naturais (Barbosa et al., 2017, MMA, 2020). Por esta razão, o monitoramento da qualidade ambiental de um ecossistema deve extrapolar as análises físico químicas de amostras ambientais, incluindo também avaliações de possíveis efeitos adversos dos contaminantes ambientais sobre a sua biota (Connon et al., 2012, Gupta, 2014).

Nesta perspectiva, os peixes são reconhecidos como bons indicadores de qualidade ambiental, pois acumulam substâncias tóxicas pela exposição direta a agentes contaminantes dissolvidos na água, ou indiretamente através das interações tróficas (Ribeiro & Américo-Pinheiro, 2018, Angheben et al., 2019, Trolly, 2019, Qiu et al., 2020, Gabiatti, 2021, Brandts et al., 2022, Hamidian et al., 2023). Além disso, são sensíveis a baixas concentrações de mutagênicos, a agentes teratogênicos e carcinogênicos (Grisolia, 2005, Deutschmann et al., 2016). A exposição aos xenobióticos pode desencadear desordens metabólicas, celulares, moleculares, histológicas e comportamentais. As referidas desordens podem ser mensuradas e constituem biomarcadores que podem indicar os impactos dos poluentes em diferentes níveis de organização biológica, sendo, portanto, de fundamental importância no monitoramento da integridade ecológica de um ecossistema aquático (El-SiKaily & Shabaka, 2024).

Entre os biomarcadores utilizados para avaliar as respostas biológicas da fauna aquática, o Teste de Micronúcleos (MN) em eritrócitos dos peixes é comumente recomendado, pois consiste em um ensaio simples, rápido e sensível à detecção de alterações cromossômicas estruturais e/ou numéricas (OCDE, 2016, Lopes, 2017, Aguiar et al., 2018, Qiu et al., 2020, Córdoba-Tovar et al., 2023). Os



eritrócitos dos peixes são normalmente mononucleados (Bueno et al., 2017). A presença de micronúcleos (MN) indica fragmentos cromossômicos, ou mesmo cromossomos inteiros, não agregados ao núcleo principal de células-filhas durante o processo de divisão celular (Al-Sabti & Metcalfe, 1995). Estes MN se caracterizam por (i) apresentarem tamanho inferior a 1/3 do núcleo principal; (ii) não ser refrativo; (iii) apresentarem coloração e intensidade equivalentes ao núcleo principal e (iv) composição intracitoplasmática sem tocar o núcleo principal (Grisolia, 2005, Oliveira et al., 2020). Ressalta-se que pode haver a ocorrência espontânea de MN entre as espécies de peixes, porém esta é considerada baixa e uniforme (Siu et al., 2004). Todavia, outros estudos sugerem uma relação positiva entre a poluição ambiental e a formação de MN em eritrócitos de peixes (Lopes, 2017, Pereira, 2019, Carmo et al., 2020, Oliveira et al., 2020, Gomes et al., 2021, Brandts et al., 2022, Caramello & Jorge, 2022, Noletto et al., 2022).

Neste estudo, avaliamos as variações na ocorrência de MN e AMN, assim como a presença de múltiplos danos hepáticos, em peixes que ocupam diferentes níveis tróficos, coletados de uma área do médio rio São Francisco. Especificamente, esperamos que: (i) peixes de diferentes níveis tróficos, apresentem diferentes quantidades de MN e AMN do tipo blebbed, lobed, notched e eightshaped, pois estes danos estão relacionados à presença de contaminantes ambientais (Brandts et al., 2022, Nyholt et al., 2022, Viana et al., 2022, Cruz-Esquivel et al., 2023) e (ii) peixes de níveis tróficos diferentes apresentem variados danos hepáticos, como degeneração hidrópica, esteatose, hemossiderose, hiperemia, inflamação e necrose, porque o fígado é um importante órgão de depuração dos organismos vivos refletindo a presença de contaminantes no ambiente aquático (Abalaka et al., 2020, Mladin et al., 2021, Jiang et al., 2022, Vieira et al., 2022, Hamidian et al., 2023).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

MN são correlacionados à instabilidade cromossômica, rearranjos do genoma e mutagênese (Krupina et al., 2021). São biomarcadores frequentemente associados a cânceres, senescência e estresse genotóxico (Krupina et al., 2021). O envelope nuclear dos MN tem comumente a integridade rompida. A ruptura do envelope micronuclear, quase sempre irreversível, compromete mecanismos de reparo do material genético, especialmente a via autofágica, o que consequentemente contribui para o acúmulo localizado de danos ao DNA (Terradas et al., 2016). Adicionalmente, ativam a cGAS, enzima sinalizadora de resposta imune celular, relacionada à progressão do câncer (Krupina et al., 2021).

Além das variações no número de MN, outras alterações morfonucleares (AMN) como blebbed, lobed, notched e eightshaped, também decorrentes de erros na divisão celular, podem ser indicadoras de citotoxicidade, sendo importantes biomarcadores de danos genotóxicos in vivo (OCDE, 2016, Lopes, 2017, Aguiar et al., 2018, Pereira, 2019, Carmo et al., 2020, Oliveira et al., 2020, Gomes et al., 2021, Brandts et al., 2022, Córdoba-Tovar et al., 2023, Cruz-Esquivel et al., 2023).



A avaliação de danos histopatológicos também tem sido utilizada como biomarcador para a verificação dos efeitos toxicológicos diretos e indiretos em tecidos de peixes (Lopes, 2017, Aguiar et al., 2018, Pereira, 2019, Ferreira, 2020, Peixoto, 2020, Shahid et al., 2021, Brandts et al., 2022, Hamidian et al., 2023). O fígado é um órgão importante para avaliar as alterações histológicas relacionadas à presença de contaminantes ambientais, pois reflete a ocorrência de poluentes aquáticos de maneira proporcional aos níveis encontrados no ambiente, desempenha inúmeras funções vitais e encontra-se diretamente relacionado com os mecanismos de desintoxicação, pela biotransformação de substâncias tóxicas (Lopes, 2017, Abalaka et al., 2020, Shahid et al., 2021, Brandts et al., 2022, Hamidian et al., 2023). Diversos danos hepáticos (e.g., perda do limite celular e da integridade citoplasmática, deformação nuclear, vacuolização do citoplasma, redução na densidade das células, centros melanomacrófagos, degeneração gordurosa, inflamação, congestão, hepatite e necrose) estão relacionados à exposição dos peixes a xenobióticos ambientais (Lopes, 2017, Pereira, 2019, Ferreira, 2020, Peixoto, 2020, Shahid et al., 2021).

Finalmente, a ocorrência destas alterações genotóxicas e histopatológicas, podem estar relacionadas aos níveis tróficos ocupados pelos peixes (Ribeiro & Américo-Pinheiro, 2018, Vreys et al., 2019, Peixoto, 2020, Viana et al., 2022, Córdoba-Tovar et al., 2023). Presume-se que espécies ícticas com diferentes hábitos alimentares podem absorver quantidades variáveis de poluentes ambientais, podendo ocorrer através da via respiratória, dérmica ou digestiva, sendo acumulados nos diversos tecidos (Campos et al., 2018).

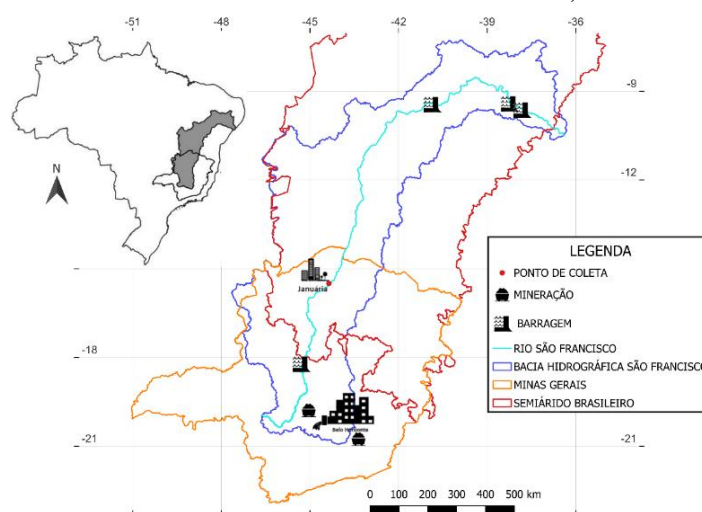
3 METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas dos peixes foram realizadas no rio São Francisco, próximo à zona urbana de Januária, Norte de Minas Gerais, Brasil. Este município possui uma população de 67.958 habitantes (IBGE, 2021) e situa-se na região do médio São Francisco, caracterizada por prolongados períodos de estiagem e aridez (Castro & Pereira, 2019). O local da amostragem é impactado por processos de erosão, assoreamento, agricultura irrigada, pesca, despejo de esgoto doméstico e contaminação por pesticidas e fertilizantes (Fig. 1) (CBHSF, 2015, IGAM, 2021).



Figura 1. Área de estudo e ponto amostral na região do médio rio São Francisco, município de Januária, Minas Gerais, Brasil. Estão evidenciados fatores de degradação do curso d'água (i.e., áreas de mineração, barragens e aglomerados urbanos como Januária e Belo Horizonte).



Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

3.2 ESPÉCIES ÍCTICAS AVALIADAS

Salminus franciscanus (Lima & Britski, 2007) (dourado) tem hábito alimentar carnívoro (Fig. 2A e 2E). Em média, os exemplares medem de 40 a 70 cm, com peso entre 0,5 e 3,5 kg. A espécie é migratória e reofílica. Preferencialmente habitam águas correntes com elevada concentração de oxigênio. Os dourados são muito apreciados para consumo e criação ornamental (Fig. 2A) (Lima & Britski, 2007, Flora et al., 2010, Campeche et al., 2011).

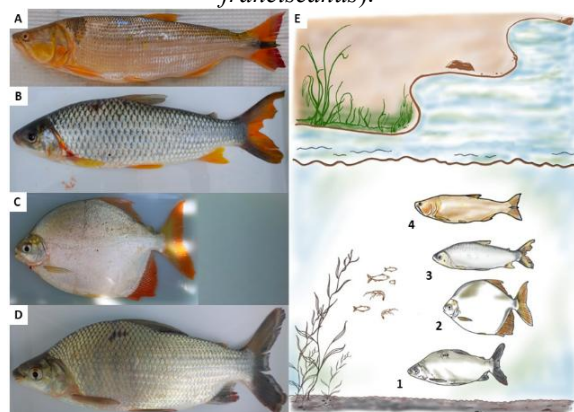
Leporinus obtusidens (Valenciennes, 1836) (piauí) são onívoros (Fig. 2B e 2E), alimentam-se de algas filamentosas, sobras de culturas submersas, moluscos e insetos. Podem atingir cerca de 8 kg e medir em torno de 22 a 40 cm de comprimento. Tem comportamento migratório e reprodução periódica. É uma espécie bastante apreciada pela pesca esportiva, extrativista e comercial devido à palatabilidade da sua carne (Campeche et al., 2011).

Myles micans (Lütken, 1875) (pacu) tem hábito alimentar preferencialmente herbívoro (Fig. 2C e 2E), alimentando-se de macrófitas aquáticas. Apresentam comportamento reofílico e podem atingir 50 cm de comprimento e aproximadamente 4 kg (Britski et al., 1988, Brasil-Sato & Santos, 2003, Da Luz et al., 2012, Andrade, 2013).

Prochilodus argenteus (Agassiz, 1829) (curimatã) é iliófago-detritívoro (Fig. 2D e 2E),ingere sedimentos do fundo dos rios, incluindo microrganismos e detritos. Devido a seu hábito alimentar, possui uma porção do estômago adaptado em forma de moela. O aparelho bucal apresenta lábios espessos e protráteis com denticulos. As fêmeas atingem maior peso que os machos podendo chegar a 15 kg e 80 cm de comprimento. Desempenham importante contribuição aos ambientes aquáticos porque fazem a ciclagem dos nutrientes e depuração dos cursos d'água (Campeche et al., 2011, Melo, 2011, Reis et al., 2018).



Figura 2. Espécies de peixes avaliadas neste estudo. Em (A) *Salminus franciscanus*; (B) *Leporinus obtusidens*; (C) *Myleus micans*; (D) *Prochilodus argenteus* e (E) Nível trófico ocupado na cadeia alimentar pelas espécies estudadas. 1) Detritívoro/Iliófago (*P. argenteus*), 2) Herbívoro (*M. micans*), 3) Onívoro (*L. obtusidens*) e 4) Carnívoro (*S. franciscanus*).



Fonte: Elaborada pelos autores.

3.3 COLETA DAS AMOSTRAS

As coletas dos exemplares de peixes das espécies *S. franciscanus*, *L. obtusidens*, *M. micans* e *P. argenteus* foram feitas no leito do rio São Francisco (-15°29.39' -044°21.31' Datum WGS 84 Lat e Long) com redes de arrasto em outubro/2021 (Fig. 1).

Foram amostrados um total de 10 exemplares adultos de cada espécie de peixe para avaliação de alterações genéticas e hepáticas. Após a coleta, todos os animais foram acondicionados em caixas térmicas contendo água do rio e posteriormente anestesiados com benzocaína através de imersão (0,1 g de benzocaína em 1 ml de álcool etílico para cada 100 ml de água deionizada) permanecendo por 10 minutos após cessarem os movimentos operculares e pelo método complementar de eutanásia por secção medular.

3.4 TESTE DE MICRONÚCLEOS (MN)

O teste de MN foi realizado conforme descrito por Rivero (2007), com modificação. Assim, o sangue periférico dos peixes foi coletado através de punção branquial com auxílio de seringas hipodérmicas, estéreis e descartáveis de 3 ml com agulha medindo 0,80 mm x 32 mm.

A extensão sanguínea de cada espécime foi feita no local da coleta, com aproximadamente 50 µl de sangue, sendo preparados três esfregaços por animal. As lâminas foram devidamente identificadas e expostas à secagem em temperatura ambiente por 24 horas. Depois de secas, foram coradas utilizando kit para coloração diferencial rápida em hematologia seguindo os procedimentos conforme recomendado pelo fabricante (Registro ANVISA 10097010105, código 620529, lote 90813007).

A análise citológica foi realizada em microscópio óptico de luz da marca Physis® com objetiva de imersão e aumento de 100x, considerando a contagem de 3.000 células sanguíneas por animal. Os registros foram feitos com auxílio de contadores estatísticos analógicos Lee Tools®680233. Os



eritrócitos totais e aqueles que apresentavam micronúcleos foram quantificados, bem como subgrupos de outras quatro alterações morfonucleares distintas sendo blebbed, lobed, notched e eightshaped (Fig. 3) (Rivero, 2007, Azevedo et al., 2012, Lopes, 2017, Aguiar et al., 2018).

3.5 HISTOLOGIA HEPÁTICA

Os peixes coletados, após eutanasiados, foram dissecados para retirada de amostra de tecidos hepáticos. Por exemplar, foram seccionadas duas porções do fígado medindo aproximadamente 3,0 x 2,0 x 1,5 cm e pesando em torno de 4 g. Estas frações de tecido foram lavadas em solução salina (0,9%) e fixadas em solução de formalina tamponada (10%, pH 7,2) durante 6 horas.

Após a fixação, os fragmentos teciduais foram transferidos para uma solução tampão de fosfato de sódio por 24 horas. Em seguida foi feita a desidratação do material em série crescente de álcoois (70%, 80%, 90% e 100%), diafanização em xilol e inclusão em blocos com parafina com ponto de fusão entre 56-62 °C. Posteriormente, os blocos foram cortados transversalmente com 4 µm de espessura com micrótomo rotativo (Lopes, 2017). As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (Paulete & Beçak, 1976). De cada exemplar foi confeccionada uma lâmina histológica permanente.

Foram registradas vinte fotomicrografias, por exemplar, considerando campos aleatórios dos tecidos hepáticos. Para isto, foi utilizado microscópio ótico da marca Zeiss® modelo Primo Star, câmera acoplada AxiocamERc5s®, resolução 2560(H) x 1920(V) e software Zen 2.5 lite®, aumento de 40x.

Para análise morfométrica das imagens, foi utilizado o software ImageJ (versão 1.32j). As fotomicrografias foram visualizadas e analisadas quanto às lesões com abordagem quantitativa ou semiquantitativa conforme a natureza do dano. As lesões avaliadas quantitativamente foram inflamação e necrose (Fig. 4, E, F), sendo as células inflamatórias de kupffer registradas numericamente, as áreas de necrose medidas em micrômetros quadrados e posteriormente convertidas em milímetros quadrados.

As lesões, degeneração hidrópica, hemossiderose, hiperemia, microesteatose, macroesteatose (Fig. 4, A, D, B, C) e esteatose total foram aferidas semiquantitativamente seguindo protocolo adaptado (Brunt et al., 1999). Os quadrantes com campos positivos, para as respectivas lesões, foram somados e, considerando o cálculo da mediana, foram atribuídos graus de severidade por cada exemplar amostrado. Na ausência do dano hepático, grau 0, para os intervalos de 0-3 (grau 1), 4-6 (grau 2), 7-10 (grau 3). Porém, foi conferido grau 1, quando se obteve a mediana zero, tendo sido observada lesão hepática.



3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferentes espécies de peixes foram ordenadas com base nas alterações genéticas (i.e., número de micronúcleos, blebbed, lobed, notched e eightshaped) e pelos danos hepáticos (i.e., degeneração hidrópica, esteatose, hemossiderose, hiperemia, inflamação e necrose) usando Análise de Componentes Principais (PCA) distintas. Assim, foram gerados dois gráficos biplot para mostrar a projeção dos eixos originais sobre um diagrama de dispersão. Estas análises foram realizadas no software Past (Paleontological Statistics Software) versão 4.03 (Hammer, 2001).

Finalmente, os scores dos dois eixos principais destas PCAs foram extraídos e comparados entre as quatro espécies de peixes. Estas comparações foram feitas usando Modelos Lineares Generalizados (GLM). Na construção destes modelos, as espécies de peixes foram as variáveis explicativas, e os scores das PCAs, referentes às alterações genéticas ou danos hepáticos dessas espécies, foram as variáveis resposta, seguindo a distribuição de Gaussian. Análises de Variância (Anova), com teste F, foram usadas para testar a significância dos modelos. Análises de contrastes foram usadas para agrupar níveis estatisticamente iguais e separar aqueles estatisticamente diferentes. Todos estes procedimentos estatísticos foram realizados no software R (R Core Team, 2023).

3.7 ASPECTOS LEGAIS DA PESQUISA

Esta pesquisa possui licenciamento ambiental emitido pelo Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO nº 79384-1, certidão de habilitação pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen nº AF728DB e permissão do Conselho de Ética em Experimentação e Bem-Estar Animal da Universidade Estadual de Montes Claros – CEEBEA/Unimontes protocolo nº 233.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram tomadas as medidas de comprimento e peso dos peixes coletados, cujos valores foram utilizados para o cálculo das médias morfométricas e do erro-padrão de cada parâmetro avaliado (Tab. 1). As fotomicrografias analisadas revelaram, nos eritrócitos dos espécimes, a ocorrência de MN e AMN com padrões morfológicos do tipo blebbed, lobed, notched e eightshaped (Fig. 3), assim como, nos tecidos hepáticos, a presença de lesões compatíveis com degeneração hidrópica, esteatose, hemossiderose, hiperemia, processos inflamatórios e necrose (Fig. 4).

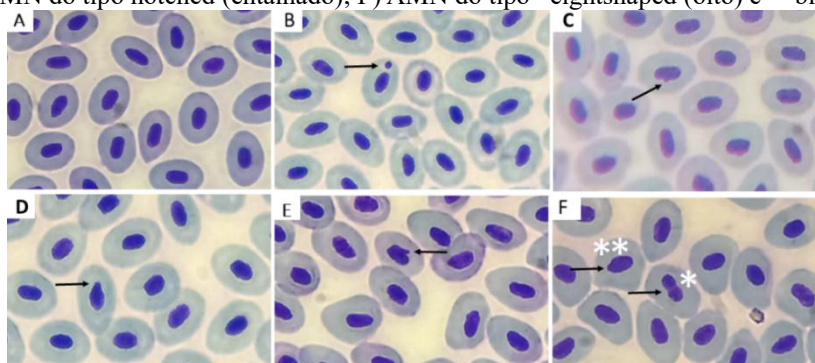


Tabela 1. Dados biométricos das espécies de peixes estudadas.

Espécies	Média Comprimento (cm)	Erro Padrão Comprimento	Média Peso (g)	Erro Padrão Peso
<i>Salminus franciscanus</i>	55,0	±0,9	1680,0	±81,8
<i>Leporinus obtusidens</i>	43,0	±1,9	1210,0	±147,0
<i>Myleus micans</i>	21,0	±0,7	260,0	±23,1
<i>Prochilodus argenteus</i>	37,5	±1,1	630,0	±67,5

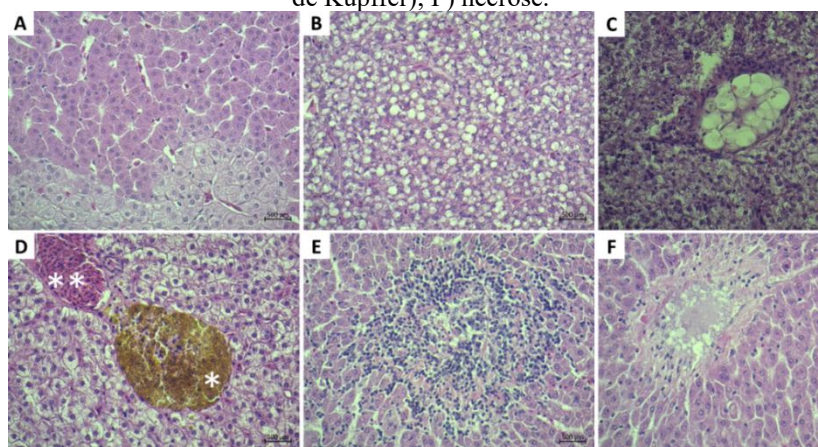
Fonte: Elaborada pelos autores.

Figura 3. Fotomicrografias de eritrócitos de peixes, corados com panótico rápido uso hematológico, aumento 100X; A) eritrócitos normais; B) eritrócito micronucleado (MN); C) AMN do tipo blebbed (bolha); D) AMN do tipo lobed (lóbulo); E) AMN do tipo notched (entalhado); F) AMN do tipo *eightshaped (oito) e **blebbed.



Fonte: Elaborada pelos autores.

Figura 4. Fotomicrografias de danos hepáticos em peixes, corados com hematoxilina-eosina, aumento 40X; A) degeneração hidrópica; B) microesteatose; C) macroesteatose; D) *hemossiderose e **hiperemia; E) inflamação (células de Kupffer); F) necrose.



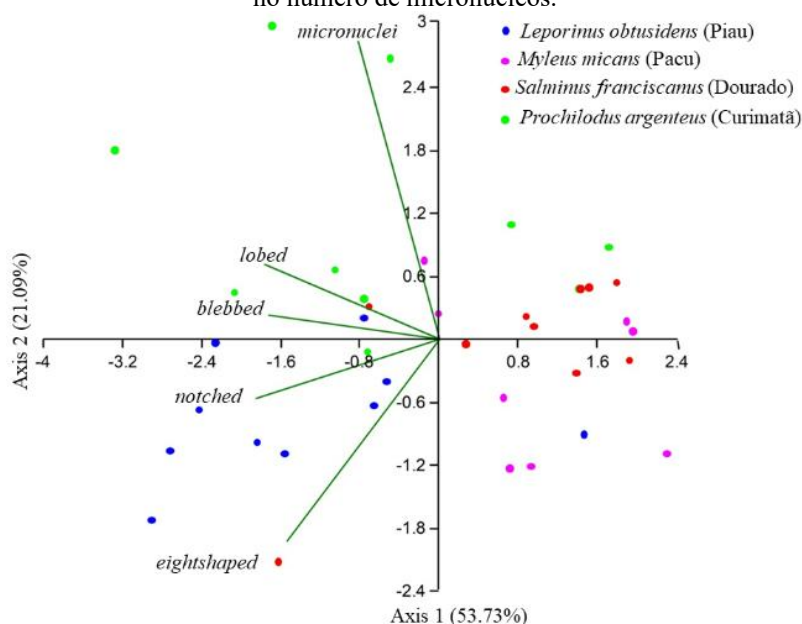
Fonte: Elaborada pelos autores.

4.1 VARIAÇÕES GENÉTICAS

Os dois primeiros eixos da PCA explicam juntos aproximadamente 75% de todas as alterações genéticas. O eixo 1 apresentou relação negativa com as alterações morfonucleares blebbed, lobed, notched e eightshaped. O eixo 2 apresentou relação positiva com micronúcleos. Portanto, esta distribuição sugere que o eixo 1 representa as alterações morfonucleares (i.e., blebbed, lobed, notched e eightshaped) e o eixo 2 as alterações no número de micronúcleos (i.e., micronúcleos) (Fig. 5).



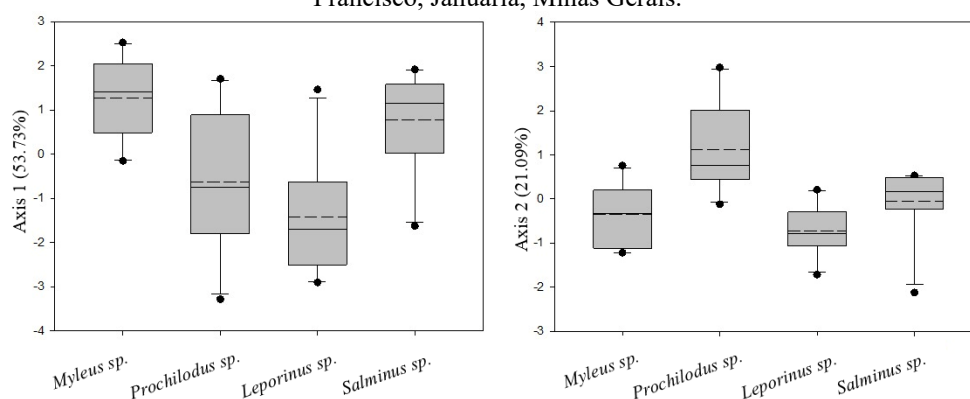
Figura 5. Biplot de análise de componentes principais com base na ocorrência de alterações genéticas nas quatro espécies de peixes amostradas. Eixo 1 Alterações morfonucleares do tipo lobed, blebbed, notched e eightshaped. Eixo 2 Variações no número de micronúcleos.



Fonte: Elaborada pelos autores.

As espécies *M. micans* e *S. franciscanus* correlacionaram-se positivamente com o eixo 1 enquanto *L. obtusidens* e *P. argenteus* apresentam correlação negativa com este mesmo eixo (Fig. 5). Além disto, os scores derivados de *P. argenteus* e *L. obtusidens* são menores que os scores derivados de *M. micans* e *S. franciscanus* (Fig. 6), sugerindo que estas duas últimas espécies apresentam maior número de alterações morfonucleares. O eixo 2 apresenta correlação positiva com a espécie *P. argenteus* que tem os maiores scores de micronúcleos comparada às demais espécies (Fig. 6).

Figura 6. Variação nos scores do primeiro (A) e segundo (B) eixo da Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nas variações morfonucleares das espécies *M. micans*, *P. argenteus*, *L. obtusidens*, *S. franciscanus*, coletados no rio São Francisco, Januária, Minas Gerais.



Fonte: Elaborada pelos autores.

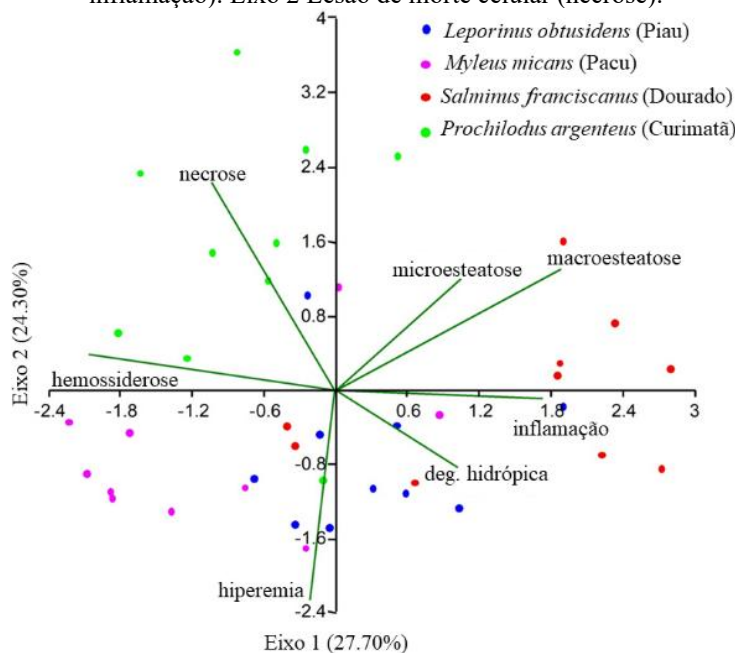
4.2 ALTERAÇÕES HEPÁTICAS

Os dois primeiros eixos da PCA explicam juntos aproximadamente 52% de todas as alterações hepáticas. O eixo 1 apresentou relação positiva especialmente com a macroesteatose e inflamação,



relação negativa com a hemossiderose. O eixo 2 apresentou relação positiva com a necrose e negativa com a hiperemia. Portanto, o eixo 1 deve representar as lesões degenerativas (i.e., degeneração hidrópica, esteatose, hemossiderose, hiperemia, inflamação) e o eixo 2, relação com a lesão de morte celular (i.e., necrose) (Fig. 7).

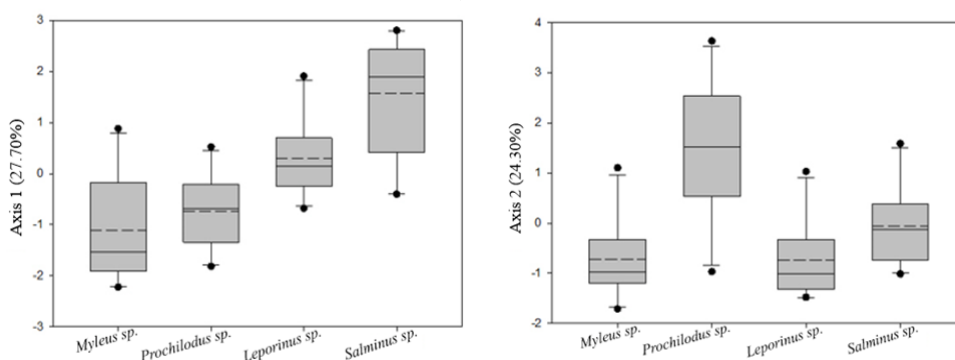
Figura 7. Biplot de análise de componentes principais com base na ocorrência de danos hepáticos nas quatro espécies de peixes amostradas. Eixo 1 Lesões degenerativas (degeneração hidrópica, esteatose, hemossiderose, hiperemia, inflamação). Eixo 2 Lesão de morte celular (necrose).



Fonte: Elaborada pelos autores.

O eixo 1 apresentou correlação positiva com as espécies *S. franciscanus* e *L. obtusidens* e negativa com a espécie *M. micans* (Figura 7). Os scores derivados de *M. micans* foram menores que os scores derivados de *S. franciscanus* (Fig. 8), sugerindo que esta última espécie apresenta maiores índices de degeneração hidrópica, esteatose e inflamação. O eixo 2, apresenta correlação positiva com *P. argenteus* que tem os maiores scores de necrose comparada às demais espécies (Fig. 8).

Figura 8. Variação nos scores do primeiro (A) e segundo (B) eixo da Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nas lesões hepáticas das espécies *M. micans*, *P. argenteus*, *L. obtusidens*, *S. franciscanus*, coletados no rio São Francisco, Januária, Minas Gerais.



Fonte: Elaborada pelos autores.



5 CONCLUSÃO

Comparamos as variações na ocorrência de MN, AMN e alterações histopatológicas hepáticas entre quatro espécies de peixes com hábitos alimentares distintos de uma mesma área do médio rio São Francisco. Nossos resultados indicaram que a espécie mais afetada por MN foi *P. argenteus*, e por AMN foram *M. micans* e *S. franciscanus*. Estes resultados corroboraram nossa hipótese inicial de que peixes de níveis tróficos diferentes, tendem a apresentar quantitativos diferentes de danos genéticos, devido aos hábitos alimentares, uma vez que as espécies *P. argenteus*, *M. micans* e *S. franciscanus* apresentam hábitos alimentares detritívoro, herbívoro e carnívoro, respectivamente.

A espécie *P. argenteus* sendo iliófaga-detritívora realiza forrageamento do substrato do rio, onde ingere sedimentos, microrganismos e detritos, desempenhando relevante função na ciclagem dos nutrientes e depuração dos cursos d'água (Campeche et al., 2011, Reis et al., 2018). Os sedimentos são as principais fontes de contaminação dos organismos aquáticos e podem induzir o aumento de MN e AMN (Córdoba-Tovar et al., 2023). Peixes detritívoros tendem a acumular maiores quantidades de contaminantes, porque concentram diretamente, ao longo do ciclo de vida, maiores quantidades de xenobióticos em seu corpo devido aos hábitos alimentares (Viana et al., 2022). Em estudo realizado anteriormente por este grupo de pesquisa, foi caracterizado pela primeira vez o metagenoma branquial e intestinal de *P. argenteus*, espécie iliófaga detritívora, endêmica do rio São Francisco, também avaliada neste trabalho. Foram notados nestes microbiomas um número expressivo de táxons bacterianos resistentes a metais pesados, pois os peixes iliófagos se alimentam do sedimento e provavelmente estão mais sujeitos à bioacumulação (Damasceno et al., 2022).

Em nosso estudo, as AMN tiveram os maiores scores em *M. micans* e *S. franciscanus* que são espécies respectivamente herbívoras e carnívoras. Outros estudos indicam que as AMN são respostas primárias que antecedem a formação dos micronúcleos (Ayllon & Garcia-Vazquez, 2000, Kirschbaum et al., 2009). Durante os mecanismos de reparo do material genético, que podem ter sido danificados devido à contaminação dos peixes por xenobióticos ambientais, a membrana nuclear apresentaria imperfeições que caracterizam as AMN (Gomes et al., 2021). Outra justificativa seria o estresse oxidativo, gerado pela provável presença de poluentes no ambiente aquático, que altera a permeabilidade e seletividade das membranas, tornando o núcleo mais vulnerável, favorecendo a formação de AMN e MN respectivamente (Silva de Assis et al., 2013, Gomes et al., 2021). Desse modo, os índices de AMN em *M. micans* podem ser explicados pela possível presença de contaminantes ambientais, que foram bioacumulados e transferidos pela cadeia alimentar, para os exemplares desta espécie.

A espécie *S. franciscanus* apresentou scores elevados de AMN. Esse resultado reforça o processo de biomagnificação, indicando que peixes em níveis tróficos superiores tendem a concentrar maiores quantidades de poluentes ao longo da cadeia alimentar, uma vez que ingerem numerosos



organismos já contaminados durante seu ciclo de vida (Gomes et al., 2021, Jiang et al., 2022, Nyholt et al., 2022, Córdoba-Tovar et al., 2023).

Sobre a ocorrência de danos hepáticos, a comparação entre as espécies de peixes de diferentes níveis tróficos mostrou que *P. argenteus* também foi a mais afetada. Estes peixes apresentaram elevada ocorrência de necrose, lesão irreversível. Como descrito anteriormente, *P. argenteus* está mais exposta às condições de contaminação com resíduos ambientais devido ao seu hábito alimentar iliófago-detritívoro. Corrobora ainda com o efeito da magnificação trófica a maior ocorrência de lesões degenerativas (i.e., degeneração hidrópica, esteatose e inflamação) encontradas em *S. franciscanus* e *L. obtusidens*, respectivamente carnívora e onívora, quando comparadas às demais espécies deste estudo. Sendo assim, espécies de hábitos carnívoros geralmente são mais afetadas por danos hepáticos do que espécies onívoras e herbívoras (Mladin et al., 2021) e pela mesma razão, espécies onívoras apresentam maiores ocorrências de danos hepáticos do que as herbívoras (Hamidian et al., 2023).

Ressalta-se que durante o período de coleta e no local de amostragem deste estudo, ocorreu a presença de um grande volume de moluscos mortos, alguns dos quais foram encontrados no conteúdo estomacal de determinadas espécies de peixes. As águas do rio, bem como o pescado, exalavam odor fétido, evidenciando um evidente desequilíbrio ambiental, provavelmente decorrente de processos de poluição e degradação do ecossistema (Cavalcante, 2021). O boletim trimestral do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM), referente ao último trimestre de 2021, identificou desconformidades nos parâmetros *Escherichia coli*, fenóis totais, fósforo total e cobre dissolvido no mesmo período e local de amostragem dos peixes deste estudo (COPAM, 2008, IGAM, 2021), sugerindo que a qualidade da água pode ter contribuído para as alterações genéticas e os danos hepáticos observados nos organismos. Diversos estudos já estabeleceram correlação positiva entre degradação ambiental aquática e as respostas fisiológicas de espécies ícticas (Abalaka et al., 2020, Peixoto, 2020, Mladin et al., 2021, Shahid et al., 2021, Jiang et al., 2022, Viana et al., 2022, Córdoba-Tovar et al., 2023, Hamidian et al., 2023).

Em resumo, nossos resultados indicam que peixes de diferentes níveis tróficos apresentam diferentes índices de danos genéticos e lesões hepáticas. A espécie iliófaga-detritívora, *P. argenteus*, foi a mais afetada pela ocorrência de MN e necrose, possivelmente porque seu habitat e dieta alimentar a exponha a concentrações mais elevadas dos contaminantes aquáticos. Apontamos os possíveis efeitos da bioacumulação ao longo da cadeia alimentar, visto que, *S. franciscanus* (carnívora) e *L. obtusidens* (onívora) apresentaram elevados índices de lesões degenerativas do fígado, dentre elas, a degeneração hidrópica, esteatose e inflamação.

Sugerimos que novos estudos correlacionem variáveis importantes como, por exemplo, a sazonalidade hídrica e a identificação de poluentes específicos aos hábitos alimentares das espécies ícticas já avaliadas por este trabalho, bem como de outras que possam ser investigadas, especialmente



as endêmicas. Tais pesquisas são fundamentais para preencher as lacunas de conhecimento ainda existentes sobre o médio curso do rio São Francisco.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), ao Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG) – Campus Januária e aos pesquisadores da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).



REFERÊNCIAS

- ABALAKA, Samson E. et al. Heavy metals bioaccumulation and health risks with associated histopathological changes in *Clarias gariepinus* from the Kado fish market, Abuja, Nigeria. *Journal of Health and Pollution*, v. 10, n. 26, p. 1–12, 2020.
- AGUIAR, Eugênia Miranda et al. Alterações genotóxicas como biomarcadores em peixes de uma área protegida do sul do Maranhão. *Rev. Bras. Eng. Pesca*, v. 11, p. 13–28, 2018.
- ALMEIDA, Thatyane Caetano de. Vieses espaciais em dados de ocorrência de peixes de água doce do Brasil. 2019.
- AL-SABTI, Kabil; METCALFE, Chris D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research*. [S.l.]: ELSEVIER, 1995.
- ANDRADE, Marcelo Costa. Revisão Taxonômica de Tometes Valenciennes, 1850 (Characiformes: Serrasalminae) das drenagens do Escudo das Guianas. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<https://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/5989>>. Acesso em: 24 maio. 2025.
- ANGHEBEN, Fernanda Marcon et al. Concentração de metais em peixes de diferentes níveis tróficos, ocorrentes no rio das Antas. *Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental RG&SA*, v. v. 8, n. 4, n. out/dez, p. 152–164, 2019.
- AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: An assessment of the fish micronucleus test. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 467, n. 2, p. 177–186, 2000.
- AZEVEDO, Juliana de Souza; BRAGA, Elisabete de Santis; RIBEIRO, Ciro Alberto Oliveira. Nuclear abnormalities in erythrocytes and morphometric indexes in the catfish *Cathorops spixii* (Ariidae) from different sites on the southeastern Brazilian coast. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 60, n. 3, p. 323–330, 2012.
- BARBOSA, JOSÉ MILTON; SOARES, EMERSON CARLOS; CINTRA, ISRAEL HIDENBURGO ANICETO; HERMANN, MARKO; ARAÚJO, Ana Rosa Rocha. Perfil da ictiofauna da bacia do rio São Francisco. v. 5, p. 70–90, 2017.
- BRANDÃO, Lucas de Esquivel Dias et al. Reproductive variables of *Brycon nattereri* Günther, 1864 (Pisces: Characidae), an endangered commercial species. *Animal Reproduction Science*, v. 213, 2020.
- BRANDTS, I. et al. Nanoplastics are bioaccumulated in fish liver and muscle and cause DNA damage after a chronic exposure. *Environmental Research*, v. 212, n. January, 2022.
- BRASIL-SATO, Mc; SANTOS, Md. Helminths of *Myleus micans* (Lütken, 1875) (Characiformes: Serrasalminae) do Rio São Francisco, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 12, n. 3, p. 131–134, 2003.
- BRITSKI, H.; SATO, Y.; ROSA, ABS. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias: com chaves de identificação para peixes da bacia do São Francisco. Câmara dos Deputados, v. 3a edição, p. 143, 1988.



BRUNT, Elizabeth M. et al. Disponível em: <1_5_12_Nonalcoholic steatohepatitis - a proposal for grading and staging the.pdf>. The American Journal of Gastroenterology, v. 94, n. 9, p. 2467–74, 1999. Acesso em: 24 maio. 2025.

BUENO, ANA PAULA MENDES; VASCONCELOS, MARIA DA GRAÇA; FRANCISCO, CARINE MENDONÇA; PAVANIN, Luiz Alfredo. Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais Micronucleus test in fish and physicochemical parameters in water at Cocais dam, Minas Gerais. v. 1, n. 3, p. 32–36, 2017.

CAMPECHE, D. F. B. et al. Peixes Nativos do Rio São Francisco Adaptados para Cultivo. Embrapa, p. 20, 2011.

CAMPOS, Sérgio Augusto Beirith; DAL-MAGRO, Jacir; DE SOUZA-FRANCO, Gilza Maria. Metals in fish of different trophic levels in the area of influence of the AHE Foz do Chapecó reservoir, Brazil. Environmental Science and Pollution Research, v. 25, n. 26, p. 26330–26340, 2018.

CARMELLO, CS; JORGE, LC. Avaliação da mutagenicidade do herbicida glifosato em *Prochilodus lineatus* através do teste de micronúcleos Teste MN em Curimatã Curimatã. p. 258–265, 2022.

CARMO, Kamilla Bleil do; SILVA, Tainan Filipe da; ARMILIATO, Neide. Análise dos efeitos do glifosato e sua formulação Roundup® nas células e gônadas dos peixes Danio rerio (Cyprinidae). Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 41, n. 2 Supl, p. 389, 2020.

CASTRO, César Nunes de; PEREIRA, Caroline Nascimento. REVITALIZAÇÃO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SÃO FRANCISCO. 1a ed. Brasília, DF: IPEA, 2019.

CAVALCANTE, Juciana. Cidades do Alto São Francisco se assustam com grande volume de moluscos mortos no. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<https://cbhsaofrancisco.org.br/noticias/novidades/cidades-do-alto-sao-francisco-se-assustam-com-grande-volume-de-moluscos-mortos-no-rio-sao-francisco/>>. Acesso em: 7 fev. 2026.

CBHSF, COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SÃO FRANCISCO. A Bacia. Disponível em: <<https://cbhsaofrancisco.org.br/a-bacia/>>. Acesso em: 13 nov. 2021.

CONNON, Richard E.; GEIST, Juergen; WERNER, Inge. Effect-Based Tools for Monitoring and Predicting the Ecotoxicological Effects of Chemicals in the Aquatic Environment. p. 12741–12771, 2012.

COPAM, CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL. Normativa Conjunta. Inciso I, da Lei n. p. 1–30, 2008.

CÓRDOBA-TOVAR, Leonomir et al. peixes em um rio tropical impactado pela mineração de ouro valor de referência para MN. v. 224, 2023.

CRUZ-ESQUIVEL, Ángel; DÍEZ, Sergi; MARRUGO-NEGRETTE, José Luis. Genotoxicity effects in freshwater fish species associated with gold mining activities in tropical aquatic ecosystems. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 253, n. February, 2023.

DA LUZ, Sandra C. S.; LIMA, Helder C.; SEVERI, William. Composição da ictiofauna em ambientes marginais e tributários do médio-submédio rio São Francisco. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 7, n. 2, p. 358–366, 2012.



DAMASCENO, Maria Rosilene Alves et al. Hatchery tanks induce intense reduction in microbiota diversity associated with gills and guts of two endemic species of the São Francisco River. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, 2 dez. 2022.

DEUTSCHMANN, Björn et al. Longitudinal profile of the genotoxic potential of the River Danube on erythrocytes of wild common bleak (*Alburnus alburnus*) assessed using the comet and micronucleus assay. *Science of the Total Environment*, v. 573, p. 1441–1449, 2016.

EL-SIKAILY, Amany; SHABAKA, Soha. Biomarkers in aquatic systems: Advancements, applications and future directions. *Egyptian Journal of Aquatic Research National Institute of Oceanography and Fisheries*, 1 jun. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687428524000347>>. Acesso em: 15 nov. 2025

FERREIRA, Susana Cristina da Rocha. Efeitos histopatológicos em fígado de pregado (*Scophthalmus maximus*) exposto cronicamente a concentrações ambientalmente realísticas de metais pesados. [S.l.: S.n.].

FLORA, Marco Aurélio Della Flora et al. Biologia e cultivo do dourado (*Salminus brasiliensis*). *Acta Veterinária Brasilica*, v. 4, n. 1, p. 7–14, 2010.

GABIATTI, Suelen. Avaliação da genotoxicidade do da formação de micronúcleos em Rio Caçador, Seara-SC através *Astyanax* sp. para análise da presença de contaminantes. In: OLIVEIRA, Robson José de (Org.). *Águas e Florestas Desafios para Conservação e Utilização*. 1a ed. Guarujá - SP: Científica, 2021. p. 400.

GOMES, Alex Rodrigues et al. Trophic transfer of carbon nanofibers among eisenia fetida, danio rerio and oreochromis niloticus and their toxicity at upper trophic level. *Chemosphere*, v. 263, 2021.

GONÇALVES JÚNIOR, Lucas Pedro et al. Temperature-induced changes in reproductive variables in the teleost fish *Lophiosilurus alexandri*. *Journal of Thermal Biology*, v. 80, p. 133–140, 2019.

GRISOLIA, Cesar Koppe. Agrotóxicos: mutações, reprodução & câncer; riscos ao homem e ao meio ambiente, pela avaliação de genotoxicidade, carcinogenicidade e efeitos sobre a reprodução. 1a ed. Brasília, DF: UnB, 2005.

GUPTA, Ramesh. Biomarcadores em Toxicologia. 2a ed. Kentucky, USA: Elsevier, 2014.

HAMIDIAN, Amir Hossein et al. Comparative assessment of human health risk associated with heavy metals bioaccumulation in fish species (*Barbus grypus* and *Tenualosa ilisha*) from the Karoon River, Iran: Elucidating the role of habitat and feeding habits. *Marine Pollution Bulletin*, v. 188, n. January, p. 114623, 2023.

HAMMER. National knowledge resource consortium-a national gateway of S&T on-line resources for CSIR and DST laboratories. *Current Science*, v. 105, n. 10, p. 1352–1357, 2001.

HORODESKY, Aline et al. Fish diversity in three tributaries of the São Francisco river, Brazil. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 8, n. 2, p. 052–064, 2020.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estimativas da população: 2021. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 14 fev. 2026.



IGAM, INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. Bacia do Rio Pandeiros - UPGRH-SF9: Panorama da Qualidade das Águas Superficiais 2021. v. Belo Horizonte, 2021.

JIANG, Xiaoming et al. Assessment of heavy metal accumulation in freshwater fish of Dongting Lake, China: Effects of feeding habits, habitat preferences and body size. *Journal of Environmental Sciences (China)*, v. 112, p. 355–365, 2022.

KIRSCHBAUM, Aline A. et al. Cytogenotoxicity Biomarkers in Fat Snook *Centropomus Parallelus* from Cananea and Sao Vicente Estuaries, SP, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, v. 32.1, p. 151–54, 2009.

KRUPINA, Ksenia; GOGINASHVILI, Alexander; CLEVELAND, Don W. Causes and consequences of micronuclei. *Current Opinion in Cell Biology*, v. 70, p. 91–99, 2021.

LIMA, Flávio C. T.; BRITSKI, Heraldo A. *Salminus franciscanus*, a new species from the rio São Francisco basin, Brazil (Ostariophysi: Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, v. 5, n. 3, p. 237–244, 2007.

LOPES, Vera Lúcia. Micronúcleos e alterações morfológicas em eritrócitos e hepatócitos de espécimes de *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) quando exposto a um herbicida a base de cianamida hidrogenada. [S.l.]: Universidade Estadual de Maringá, 2017.

MELO, Bruno Francelino de. *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* do médio São Francisco. 2011.

MLADIN, Bianca Onita et al. Correlation between heavy metal-induced histopathological changes and trophic interactions between different fish species. *Applied Sciences (Switzerland)*, v. 11, n. 9, p. 1–14, 2021.

MMA, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Espécies ameaçadas de extinção da fauna aquática da bacia do Rio São Francisco. Plano de Ação Nacional para Conservação das Espécies Ameaçadas, 2020.

NOLETO, K. S. et al. Machine Translated by Google Poluentes aquáticos estão associados a alterações reprodutivas e genotoxicidade *Sciades herzbergii* - Bloch, em peixes estuarinos (1794) da Costa Equatorial Amazônica Poluentes aquáticos estão associados a alterações reprodu. v. 82, n. Cd, p. 1–9, 2022.

NYHOLT, Kelsey et al. High rates of mercury biomagnification in fish from Amazonian floodplain-lake food webs. *Science of the Total Environment*, v. 833, n. August, p. 155161, 2022.

OCDE, ORGANIZAÇÃO PARA A COOP. E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO. Guideline 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. OCDE, n. July, p. 1–21, 2016.

OLIVEIRA, Dênio Garcia de; PAULA, Daniella Aparecida de Jesus; MURGAS, Luis David Solis. Genotoxicidade em *Danio rerio* expostos a concentrações crescentes da fração solúvel do Biodiesel. *Pubvet*, v. 14, n. 4, p. 1–6, 2020.

PAULETE, J.; BEČAK, W. *Técnicas de Citologia e Histologia*. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos, 1976.

PEIXOTO, Liliam da Silva Veiga. Efeitos de micro poluentes em fígado de peixes coletados em riachos de bacias que drenam para o reservatório da Itaipu Binacional (Brasil e Paraguai). [S.l.]: Universidade Federal da Integração Latino-Americana, 2020.



PEREIRA, Heveline Campos. Avaliação Genotóxica E Histológica Em Peixes (*Hyphessobrycon heterorhabdus*) Do Igarapé Cararazinho Expostos Ao Chorume Da Lixeira Pública De Santarém – Pa. p. 74, 2019.

PEREIRA, Silvio B. et al. Estudo do comportamento hidrológico do Rio São Francisco e seus principais afluentes. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 11, n. 6, p. 615–622, 2007.

QIU, Yichen et al. Induction of micronuclei, nuclear anomalies, and dimensional changes in erythrocytes of the rare minnow (*Gobiocypris rarus*) by lanthanum. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 25, p. 31243–31249, 2020.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria., 2023.

REIS et al. Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of fish biology*, v. 89, n. 1, p. 12–47, 2016.

REIS, Geuan Pereira et al. Evolução do trato digestório de *Prochilodus argenteus* de cultivo ao longo do desenvolvimento ponderal. *Nutri Time revista eletrônica*, v. 15, n. 05, p. 8282–8292, 2018.

RIBEIRO, Natasha Ulhiana Ferreira; AMÉRICO-PINHEIRO, Juliana Heloisa Pinê. Peixes como bioindicadores de agrotóxicos em ambientes aquáticos Fishes as bioindicators of pesticides in aquatic environments. *ANAP Brasil*, v. 11, n. 22, p. 846–856, 2018.

RIVERO, C. L. G. Frequência de Micronúcleos e de danos no DNA Espécies de peixes da lagoa Paranoá, Brasília–DF. [S.l.: S.n.].

SHAHID, S. et al. Histopathological alterations in gills, liver, kidney and muscles of *ictalurus punctatus* collected from pollutes areas of river. *Brazilian Journal of Biology*, v. 81, n. 3, p. 814–821, 2021.

SILVA DE ASSIS, Helena C. et al. Hematologic and hepatic responses of the freshwater fish *Hoplias malabaricus* after saxitoxin exposure. *Toxicon*, v. 66, p. 25–30, 2013.

SIU, William H. L; et al. Micronucleus induction in gill cells of green-lipped mussels (*Perna viridis*) exposed to mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons and chlorinated pesticides. *Environ Toxicol Chem.*, v. 23(5), p. 1317–25, 2004.

SOUZA-SHIBATTA, Lenice et al. Genetic diversity of the endangered neotropical cichlid fish (*Gymnogeophagus setequedas*) in Brazil. *Frontiers in Genetics*, v. 9, n. FEB, p. 1–10, 2018.

TERRADAS, Mariona; MARTÍN, Marta; GENESCÀ, Anna. Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis. *Archives of Toxicology*, v. 90, n. 11, p. 2657–2667, 2016.

TROLLY, Thais Sena de. Avaliação de genotoxicidade em peixes de duas áreas portuárias do rio Tapajós, no oeste do Pará. [S.l.: S.n.].

VIANA, Lucilene Finoto et al. Bioaccumulation, genotoxicity, and risks to native fish species from inorganic contaminants in the Pantanal Sul-Mato-Grossense, Brazil. *Environmental Pollution*, v. 314, n. May, 2022.



VIEIRA, Carlos Eduardo Delfino et al. Ecotoxicological impacts of the Fundão dam failure in freshwater fish community: Metal bioaccumulation, biochemical, genetic and histopathological effects. *Science of the Total Environment*, v. 832, n. May 2021, 2022.

VIEIRA, Fábio; ALVES, Carlos Bernardo M.; POMPEU, Paulo Santos. Diagnóstico do conhecimento de vertebrados: Peixes Diagnóstico do Conhecimento sobre Estado de Minas Gerais -. n. June 2014, 2009.

VREYS, N. et al. Effect of Landscape Changes on Water Quality and Health Status of *Heptapterus mustelinus* (Siluriformes, Heptapteridae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 76, n. 3, p. 453–468, 2019.