

IZABELLA ANDRADE BRITO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE TRÊS RESERVATÓRIOS DO RIO
PARAÍBA DO SUL ATRAVÉS DE BIOMARCADORES EM *Pimelodus maculatus*
(SILURIFORMES, PIMELODIDAE) E *Oligosarcus hepsetus* (CHARACIFORMES,
CHARACIDAE)**

**CURITIBA
2010**

IZABELLA ANDRADE BRITO

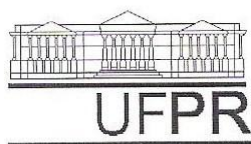
**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE TRÊS RESERVATÓRIOS DO RIO
PARAÍBA DO SUL ATRAVÉS DE BIOMARCADORES EM *Pimelodus maculatus*
(SILURIFORMES, PIMELODIDAE) E *Oligosarcus hepsetus* (CHARACIFORMES,
CHARACIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Ecologia e Conservação,
Departamento de Biologia Celular, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade Federal do
Paraná como requisito parcial à obtenção de
título de Mestre em Ecologia e Conservação

Orientador Professor Dr. Ciro Alberto de
Oliveira Ribeiro

Co-Orientadora Professora Dra. Helena
Cristina da Silva de Assis

**CURITIBA
2010**



Ministério da Educação e Desporto
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação

PARECER

Os abaixo-assinados, membros da banca examinadora da defesa da dissertação de mestrado, a que se submeteu **Izabella Andrade Brito** para fins de adquirir o título de Mestre em Ecologia e Conservação, são de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do trabalho de conclusão da candidata.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

Curitiba, 26 de março de 2010.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ciro Alberto de Oliveira Ribeiro
Orientador e Presidente

Prof.ª. Dra. Marisa Narciso Fernandes
Membro

Prof.ª. Dra. Marta Margarete Cestari
Membro

VISTO:

Prof.ª. Dra. Valéria Cunha Muschner
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação

*"O valor das coisas não está no tempo em que
elas duram, mas na intensidade com que
acontecem.*

*Por isso existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis".*

(Fernando Pessoa)

AGRADECIMENTOS

Creio que este trabalho possa ser comparado a uma travessia de barco, que passou por tempestades e calmarias... e hoje, quem sabe, se prepara para a próxima viagem...

Mas, antes mesmo deste barco partir, é preciso agradecer à algumas pessoas que mesmo não estando nele, contribuíram para soltar as amarras.

Agradeço às **professoras do Colégio Estadual Emílio de Menezes** com as quais pude compartilhar 2 anos de uma grande jornada em terra, pessoas maravilhosas que não se cansam de salvar náufragos.

Ao **professor Ciro** que ajudou a montar o barco, parte das velas, calibrar os equipamentos de navegação e me soltou ao mar, permitindo que eu mergulhasse neste oceano de conhecimento. Com quem espero construir outros barcos, ainda maiores para enfrentar travessias ainda mais longas.

Ao **Bruno Cherem** por navegar comigo por tantos lugares, mas acima de tudo por ser meu porto seguro, para onde desejo voltar sempre.

À **família Andrade & Brito**, em especial ao meu **pai**, que desde sempre, me ensinou a pilotar meus próprios barcos.

À **família Cherem**, por tornar esta travessia tão acolhedora.

Aos **laços sanguíneos e fraternos**, por compreenderem, ou não, minhas ausências.

A **professora Helena** e ao Departamento de Farmacologia, em especial a **Eliane Oba**, por me ensinarem a navegar por outras águas.

Aos companheiros de navegação do **Programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná** que mesmo à frente de seus próprios barcos nunca deixaram de colaborar.

Aos colegas do **Laboratório de Toxicologia Celular da Universidade Federal do Paraná**, por todo apoio oferecido, em especial à **Flávia Yamamoto**, que praticamente foi o piloto automático deste barco na minha ausência.

Ao **Flávio Osório** e **James Hoper** por me ensinarem a domar os ventos vindos da estatística.

À **Light** pela iniciativa e por disponibilizar todos os recursos que se fizeram necessários para a realização desta jornada.

Ao Instituto **Lactec**, em especial ao **Marcelo Cardoso**, por todo apoio logístico.

Aos Laboratórios de **Citogenética Animal** e **Fisiologia Comparativa da Osmorregulação** da Universidade Federal do Paraná por acompanharem tão próximo a execução deste trabalho.

Ao **Centro de Microscopia da Eletrônica** da Universidade Federal do Paraná, em especial a bióloga **Rosângela** por fotografar todo material com tanta disposição.

A **Capes** por financiar parte desta aventura.

A todas as **intempéries** ocorridas durante essa viagem, por me ensinarem a direcionar as velas deste barco.

Ao **Comandante** desta grande viagem chamada vida por sempre soprar as velas do meu barco e por carregá-lo Consigo toda vez que este atravessa tempestades.

SUMÁRIO

LISTA DAS ABREVIACÕES	10
LISTA DE TABELAS	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Balanço Hídrico Global: Disponibilidade e Conflitos	18
1.2. Reservatórios Públicos de Abastecimento de Água	20
1.3. Biomonitoramento	21
1.4. Bioindicadores	21
1.4.1. <i>Espécies Bioindicadoras</i>	22
1.5. Biomarcadores	24
1.5.1. <i>Biomarcadores Somáticos</i>	25
1.5.2. <i>Biomarcadores Morfológicos</i>	26
1.5.3. <i>Biomarcadores Bioquímicos</i>	27
2. ÁREA DE ESTUDO	29
2.1. Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul	29
2.2. Rio Paraíba do Sul	31
2.3.1. <i>Reservatório da Usina Hidrelétrica Ilha dos Pombos</i>	34
2.3.2. <i>Reservatório da Usina Hidrelétrica Santa Cecília</i>	34
2.3.3. <i>Reservatório da Usina Hidrelétrica Santa Branca</i>	35
2.4. Acidentes no rio Paraíba do Sul	35
3. JUSTIFICATIVA	40
4. OBJETIVOS	41
4.1. Objetivo Geral	41

4.2. Objetivos Específicos	41
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
5.1. Coleta.....	42
5.3. Parâmetros Físico-químicos da Água	42
5.4. Biomarcadores Somáticos	42
5.5. Biomarcadores Morfológicos	43
5.5.1. Avaliação histopatológica	43
5.5.2. Índice de Bernet.....	43
5.5.2. Contagem dos centros de melano-macrofágos.....	45
5.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	46
5.6. Biomarcadores Bioquímicos	46
5.6.1. Colinesterase	46
5.6.2. Catalase	47
5.6.3. Glutathione S-Transferase (GST).....	47
5.6.4. Lipoperoxidação (LPO) – microplaca	47
5.7. Tratamento Estatístico dos Dados	47
6. RESULTADOS	48
6.1. Indivíduos Coletados	48
6.2. Parâmetros Físico-químicos da Água	48
6.3. Biomarcadores Somáticos	53
6.4. Biomarcadores Morfológicos	54
6.4.1. Avaliação Histopatológica	54
6.4.2. Índice de Bernet.....	61
6.4.3. Contagem dos Centros de Melano-macrofágos	63
6.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	65
6.5. Biomarcadores Bioquímicos	68

6.5.1. <i>Acetilcolinesterase</i>	68
6.5.2. <i>Catalase</i>	68
6.5.3. <i>Glutathione S-Transferase (GST)</i>	69
6.5.4. <i>Lipoperoxidação (LPO) – microplaca</i>	69
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXOS	97
ANEXO I - Histologia para microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura.....	98
ANEXO II - Protocolos de análises bioquímicas	102
ANEXO III - Tabelas com características dos indivíduos coletados	111
ANEXO IV - Instrução normativa do IBAMA nº 195, de 02 de outubro de 2008	116
ANEXO V - Laudo técnico sobre os impactos na ictiofauna e no abastecimento público provocado pelo acidente ambiental ocorrido na indústria Servatis S/A.....	120

LISTA DAS ABREVIACÕES

- AChE** - Acetilcolinesterase
- ANA** - Agência Nacional de Águas
- CT** - Comprimento total
- CP** - Comprimento padrão
- CAT** - Catalase
- CMM** - Centro de melano- macrófagos
- DDT** - Diclorodifeniltricloroetano
- EDTA** - Ácido etileno diamino tetracético
- ERO(s)** - Espécie(s) reativa(s) de oxigênio
- FOX** - *Ferrous Oxidation / Xylenol Orange Method*
- GST** - Glutathione S-Transferase(s)
- H₂O₂** - Peróxido de hidrogênio
- IBAMA** - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis
- IHS** - Índice hepatossomático
- INEA** - Instituto Estadual do Ambiente
- IP** - Reservatório Ilha dos Pombos
- K** - Fator de condição
- K_F** - Fator de condição de Fulton
- L** - Comprimento corporal total em centímetros
- LPO** - Peroxidação lipídica
- MEV** - Microscopia eletrônica de varredura
- OD** - Oxigênio dissolvido
- PBS** - Tampão fosfato salino (*phosphate buffer saline*)
- PCBs** - Bifenilas policloradas (*polychlorinated biphenyls*)
- POPs** - Poluentes Orgânicos Persistentes
- SB** - Reservatório Santa Branca
- SC** - Reservatório Santa Cecília
- UHE** - Usina Hidrelétrica
- W** - Peso corporal em gramas

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Consumo de água por setor de atividade.	19
FIGURA 2. <i>Pimelodus maculatus</i>	23
FIGURA 3. <i>Oligosarcus hepsetus</i>	23
FIGURA 4. Representação esquemática da ordem sequencial de respostas as estresse causado por poluentes em um sistema biológico	24
FIGURA 5. Localização da bacia do rio Paraíba do Sul.	29
FIGURA 6. Usinas Hidrelétricas do Sistema Light S/A no rio Paraíba do Sul.	33
FIGURA 7. Reservatório da UHE Ilha dos Pombos/MG.....	34
FIGURA 8. Reservatório da UHE Santa Cecília/RJ	34
FIGURA 9. Reservatório da UHE Santa Branca/SP.	35
FIGURA 10. Empresa Servatis instalada no rio Paraíba dos Sul.....	37
FIGURA 11. Trecho do rio Paraíba do Sul atingido pelo acidente de novembro/2008.....	37
FIGURA 12. Acidente rio Paraíba do Sul	38
FIGURA 13. CSN instalada no rio Paraíba do Sul em Volta Redonda/RJ	39
FIGURA 14. Média parâmetros físico-químicos dos reservatórios Ilha dos Pombos (IP), Santa Cecília (SC) e Santa Branca (SB).....	50
FIGURA 15. Vazões medidas no reservatório Santa Cecília.....	51
FIGURA 16. Vazões medidas no reservatório Santa Cecília.....	52
FIGURA 17. Vista da barragem da UHE Santa Cecília.....	52
FIGURA 18. Fator de condição de <i>Pimelodus maculatus</i>	53
FIGURA 19. Fator de condição de <i>Oligosarcus hepsetus</i>	54
FIGURA 20. Microscopia óptica em fígado de <i>Pimelodus maculatus</i>	56
FIGURA 21. Microscopia óptica em fígado de <i>Oligosarcus hepsetus</i> . Erro! Indicador não definido.	

FIGURA 22. Microscopia óptica em brânquias de <i>Pimelodus maculatus</i>	60
FIGURA 23. Microscopia óptica em brânquias de <i>Oligosarcus hepsetus</i>	61
FIGURA 24. Médias encontradas para o Índice de Bernet para <i>Pimelodus maculatus</i>	61
FIGURA 25. Médias encontradas para o Índice de Bernet para <i>Oligosarcus hepsetus</i>	62
FIGURA 26. Índice de Bernet para <i>Pimelodus maculatus</i>	62
FIGURA 27. Índice de Bernet para <i>Oligosarcus hepsetus</i>	63
FIGURA 28. Microscopia óptica em fígado de <i>Pimelodus maculatus</i>	64
FIGURA 29. Ocorrência de centros de melano-macrofágos no fígado de <i>Pimelodus maculatus</i>	64
FIGURA 30. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) em brânquias de <i>Pimelodus maculatus</i>	66
FIGURA 31. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) em brânquias de <i>Oligosarcus hepsetus</i>	67
FIGURA 32. Resultados das análises bioquímicas para <i>Pimelodus maculatus</i> nos três reservatórios estudados.....	70
FIGURA 33. Resultados das análises bioquímicas para <i>Oligosarcus hepsetus</i> nos três reservatórios estudados.....	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Fator de importância (w) de cada lesão em fígado e brânquias.....	44
TABELA 2. Número de indivíduos coletados por espécie em cada reservatório na 1ª coleta, período de 17-24 de Junho de 2008.....	48
TABELA 3. Número de indivíduos coletados por espécie em cada reservatório na 2ª coleta, período de 10-19 de Fevereiro de 2009.....	48
TABELA 4. Resultados das médias dos parâmetros físico-químicos amostrados nos reservatório no período de junho/2008.....	49
TABELA 5. Resultados das médias dos parâmetros físico-químicos amostrados nos reservatórios no período de fevereiro/2009.....	49
TABELA 6. Valores máximos de vazão defluente médias diárias observadas em fevereiro/2009.....	53
TABELA 7. Ocorrência de lesões em fígado de <i>Pimelodus maculatus</i> e <i>Oligosarcus hepsetus</i> nos três pontos de coleta em junho/2008.....	55
TABELA 8. Ocorrência de lesões em fígado de <i>Pimelodus maculatus</i> e <i>Oligosarcus hepsetus</i> nos três pontos de coleta em fevereiro/2009.	55
TABELA 9. Ocorrência de lesões em brânquias de <i>Pimelodus maculatus</i> e <i>Oligosarcus hepsetus</i> nos três pontos de coleta em junho/2008.....	58
TABELA 10. Ocorrência de lesões em brânquias de <i>Pimelodus maculatus</i> e <i>Oligosarcus hepsetus</i> nos três pontos de coleta em fevereiro/2009.....	59

RESUMO

A bacia do rio Paraíba do Sul está situada em uma área de 56.500 km², drenando uma das regiões mais desenvolvidas do país, abrangendo São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Trata-se, portanto, de território totalmente antrópico com a vegetação original restrita a parques e reservas florestais. O rio Paraíba do Sul tem seu curso marcado por sucessivas represas, destinadas à provisão de água e eletricidade, sendo utilizado para abastecimento industrial, agropecuário e disposição final de esgotos. Para avaliar a qualidade da água do rio Paraíba do Sul foram utilizados os reservatórios das Usinas Hidrelétricas (UHEs) Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecília/RJ e Santa Branca/SP para o biomonitoramento utilizando biomarcadores em *Pimelodus maculatus* (Lacepède, 1803) e *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829). Os espécimes foram coletados à montante das UHEs em junho/2008 e fevereiro/2009. Para as análises bioquímicas, baseadas no estresse oxidativo celular foram coletadas amostras do fígado para determinação de atividade enzimática da Catalase (CAT), Glutathione S-transferase (GST) e quantificação da Lipoperoxidação (LPO); para análise neurotóxica, foi avaliada a atividade da Acetilcolinesterase (AChE) no músculo axial. Para as análises histopatológicas foram coletadas amostras do fígado e brânquias observadas em microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Dados biométricos foram mensurados para obtenção do Índice Hepatosomático (IHS) e Fator de Condição (K). Também foram avaliadas as condições ambientais dos reservatórios, através dos parâmetros físico-químicos da água, sendo: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade e turbidez. Nas três áreas amostradas foram constatadas variações nas condições oxidativas das espécies, sobretudo no período de fevereiro. A histopatologia revelou alterações em brânquias correspondentes a aneurismas, hiperplasias e fusões lamelares. No fígado as alterações apontam para elevada ocorrência de necroses e respostas inflamatórias para ambas as espécies. Em *Pimelodus maculatus* foi observada grande quantidade de centros de melano-macrófagos no tecido hepático. Uma maior incidência parasitária foi observada para as duas espécies no período de junho/2008 em fígado de *Pimelodus maculatus* e brânquias de *Oligosarcus hepsetus*. Os índices IHS e K foram similares para *Pimelodus maculatus* nos reservatórios das UHEs, indicando similaridade das condições fisiológicas entre as amostras, entretanto, *Oligosarcus hepsetus* apresentou menor IHS e K em fevereiro/2009 na UHE Santa Branca. Os parâmetros físico-químicos apresentaram inúmeras variações nas áreas amostradas, no entanto, foram consideradas normais para os padrões de qualidade

estabelecidos pela Resolução do CONAMA 357/2005. A avaliação conjunta dos biomarcadores morfológicos e bioquímicos sugere que as influências antrópicas nas áreas avaliadas podem estar afetando continuamente os indivíduos. Os dados reforçam a importância da utilização de diferentes biomarcadores em programas de biomonitoramento, essencialmente em áreas de relevante interesse.

ABSTRACT

The Basin of Paraíba do Sul river is situated in an area of 56.500 km², draining one of the most developed region of the country, covering Sao Paulo, Rio de Janeiro and Minas Gerais states. It is, therefore, a totally anthropic territory with original vegetation restricts to parks and forest reserves. The course of Paraíba do Sul river is marked by successive dams, providing water and electricity to industries, agro-business and it is also a recipient for sewage discharge. Therefore, a evaluation of the water quality of the river was conducted using the reservoir of the hydroelectric plants in Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecilia/RJ and Santa Branca/SP. During this study a bio-monitoring was developed using biomarkers and the species *Pimelodus maculatus* (Lacepède, 1803) and *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) in the reservoir of those three dams. . The specimens were collected during the months of June/08 and February/09. For biochemical analysis, based on cellular oxidative stress, samples from liver were collected to determinate the enzymatic activity of Catalase (CAT), Glutathione S-transferase (GST) and Lipoperoxidation quantification (LPO); for neurotoxic analysis, the activity of Acetylcholinesterase was evaluated on axial muscle. Samples from liver and gills were collected and observed in microscopic optic (MO) and microscopic electronic scanning (MEV). Biometric data was measured to obtain Hepatosomatic Index (IHS) and Condition Factor (K). The environmental condition of the reservoirs was also evaluated through physical-chemical parameters of the water, such as: temperature, pH, dissolved oxygen, salinity and turbidity. Variations on oxidative conditions of species were registered at the three areas collected, especially in February. The histopathology showed aneurism, hyperplasia and lamelle fusions in the gills. The liver shows high occurrence of necrosis and inflammatory responses in the tissue for both species. Great quantity of melano-macrophage on hepatic tissue was registered for *Pimelodus maculatus*. Presence of parasites was registered on both gills and livers. The HIS and K indexes were similar with *Pimelodus maculatus* at the three plants reservoirs, indicating similarities of physiologic conditions among the samples, however, that different results were observed for *Oligosarcus hepsetus*. The physical-chemical parameters showed several changes at the sample areas, however, they were considered normal for the established quality standard. The combined evaluation of morphologic and biochemical biomarkers suggests that the anthropic influence on the analyzed areas could be continuously affecting the individuals. These data reinforce the

importance in using different biomarkers in bio-monitoring programs, mainly in areas of highly interest.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Balanço Hídrico Nacional: Disponibilidade e Conflitos

A água pode ser considerada um recurso natural abundante no planeta. As reservas totais compreendem cerca de 1.265.000 trilhões de m³ (BOTKIN e KELLER, 2000). Porém, dos percentuais disponíveis, destaca-se a pequena parcela referente aos cursos d'água, que constituem no principal manancial de abastecimento e no corpo receptor mais usualmente empregado para o lançamento de esgotos.

O Brasil possui extensas redes fluviais, por onde flui cerca de 257.790 m³ s⁻¹ de água passível de utilização, correspondendo a aproximadamente 18% do potencial hídrico superficial utilizável no planeta (SETTI, 2000), além de possuir amplos aquíferos subterrâneos, com cerca de 112.000 km³ de volume de água (MOTTA, 1997 apud ANDREOLI et al., 2003). A maior parte da água disponível para o uso está concentrada nas regiões Norte e Centro-Oeste com cerca de 90% das águas superficiais do país. No entanto, estas regiões abrigam apenas 14,5% da população, com um consumo médio significativamente menor (9,2% da demanda hídrica nacional). Os 11% restantes do potencial hídrico superficial do país estão distribuídos entre 85% da população e 90,8% da demanda de água doce do Brasil (ANDREOLI et al., 2003).

Evidencia-se, que a quase totalidade da população brasileira (95%) habita as quatro regiões que respondem por aproximadamente 27% da disponibilidade hídrica do país. Essa constatação, somada ao fato dos mananciais das regiões Sul e Sudeste serem os mais fortemente impactados pelo lançamento de esgotos domésticos e industriais, torna a questão da prioridade do uso dos recursos hídricos progressivamente mais conflituosa.

Do volume total utilizado para o consumo humano, o abastecimento responde pela menor parcela quando comparada à agricultura e indústrias. Na Figura 1 são apresentados os percentuais concernentes a tais usos em nível nacional.

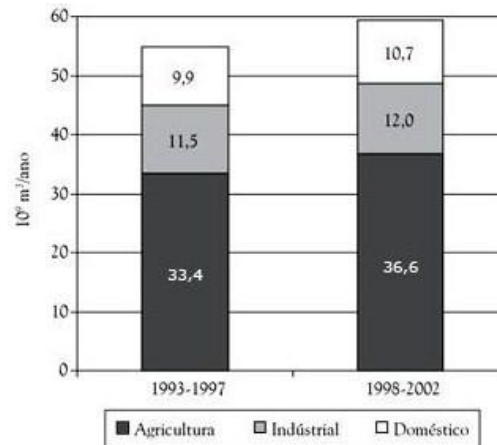


FIGURA 1. Consumo de água por setor de atividade Brasil 1993-1997 e 1998-2002.
Fonte: Food and Agriculture Organization (FAO), 2002.

A água constitui-se como solvente universal da maioria das substâncias, como meio de transporte – em escoamento superficial e subterrâneo – permitindo que as características de um mesmo curso d’água alterem-se temporal e espacialmente. Além disso, as características dos cursos d’ água naturais influenciam o metabolismo dos organismos aquáticos e são influenciadas por ele, conferindo estreita interação entre esses seres vivos e o meio ambiente, base da Ecologia (LIBÂNIO, 2005).

Em escala global, abundância média não apresenta o principal problema relacionado à disponibilidade de água. A grande capacidade de renovação natural deste líquido através do ciclo hidrológico torna a disponibilidade praticamente inesgotável. Porém, a distribuição irregular associada ao crescimento exponencial da demanda tem restringido severamente a disponibilidade deste recurso.

Dentro deste contexto, as alterações ambientais causadas pelo incremento populacional, utilização excessiva e indiscriminada de recursos naturais, interferências em ecossistemas, desenvolvimento tecnológico e globalização cada vez mais intensa (STRASKRABA e TUNDISI 1999), contribuem para maior deterioração da qualidade da água. Somado as atividades de abastecimento público, irrigação, uso industrial, navegação, recreação e aquicultura, implicam em condições futuras comprometidas. Embora essas atividades variem de acordo com a ocupação da bacia hidrográfica e com a organização econômica e social de cada região, todas elas geram impactos negativos sobre a área de drenagem.

O desenvolvimento econômico e social de qualquer país está fundamentado na disponibilidade de água de boa qualidade e na capacidade de conservação e proteção dos recursos hídricos. No entanto, para garantir conservação e proteção aos mananciais, em função

dos seus usos e ocupações, é necessário estender ações de monitoramento e manejo para toda bacia, que em primeira instância define a quantidade e qualidade da água (TUNDISI, 1999).

1.2. Reservatórios Públicos de Abastecimento de Água

Os reservatórios tanto têm a função de armazenamento de água, como também de regularização de vazões, ou ainda, proporcionar maior altura de queda d'água para a geração de energia. No entanto, estes têm sido utilizados para outras finalidades, destacando-se lazer, captação de água e navegação. Embora o Brasil tenha uma imensa área de reservatórios, em todas as suas regiões, as informações sobre qualidade de água ainda são escassas (VELINI et al., 1999).

Estudos realizados em diferentes regiões do Brasil (ANDREOLLI et al., 1999) demonstram que a demanda do consumo de água têm aumentado significativamente, em vista do crescimento populacional, e a disponibilidade hídrica em condição de utilização para fornecimento à população não tem crescido na mesma proporção.

A cada dia cresce a disputa pela utilização da água entre os setores da agricultura, indústria e abastecimento humano, gerando sérios conflitos entre seus usuários, com conseqüente crescimento pela demanda de água. A necessidade de aumentar a disponibilidade de água implica na construção de novos reservatórios.

É necessário, portanto, considerar que a contaminação de mananciais é um dos fatores mais importantes que comprometem a saúde humana, especialmente em regiões com condições inadequadas de saneamento e suprimento d'água, o que é observável tanto em regiões brasileiras de altas concentrações urbanas quanto em áreas rurais.

Quanto melhor a qualidade da água, maior seu potencial de uso pela sociedade. Recuperar a qualidade de águas deterioradas é um procedimento de alto custo. Segundo o Ministério de Ciência e Tecnologia, o tratamento da água deteriorada é quase 13 vezes mais caro que o custo de manter a água preservada. Recuperar 1.000 metros cúbicos de água de baixa qualidade custa aproximadamente 25 dólares. Manter a qualidade do mesmo volume de água apropriada para consumo custa dois dólares.

Os passivos ambientais provenientes de acidentes em reservatórios, efluentes domésticos e industriais sem prévio tratamento, de agrotóxicos e produtos químicos, permanecem por tempo indeterminado no ambiente. Os impactos negativos causados por

estes vazamentos compreendem, de maneira geral, não apenas a contaminação de solos, subsolos, corpos hídricos, mas danos à vegetação e aos animais, algumas vezes irreversíveis.

No Brasil, a Agência Nacional de Águas tem a atribuição de definir e fiscalizar as condições de operação de reservatórios por agentes públicos e privados, visando garantir o uso múltiplo dos recursos hídricos, conforme estabelecido nos planos de recursos hídricos das respectivas bacias hidrográficas.

1.3. Biomonitoramento

O monitoramento ambiental é uma importante ferramenta para a administração dos recursos naturais. Este oferece conhecimento e informações básicas para avaliar a presença de contaminantes, para compreender os sistemas ambientais e para dar suporte às políticas ambientais.

O monitoramento consiste em observações repetidas de uma substância química ou mudança biológica, com um propósito definido de acordo com um planejamento prévio ao longo do tempo e espaço, utilizando métodos comparáveis e padronizados (NEVES, 2006).

Quando organismos vivos são usados no monitoramento ambiental para avaliar mudanças no meio ambiente ou na qualidade da água o monitoramento é chamado de monitoramento biológico ou biomonitoramento. Neste tipo de monitoramento são, muitas vezes, utilizados biomarcadores (celulares, tecido, fluidos corporais, mudanças bioquímicas, entre outros) para indicar a presença e o efeito de poluentes ou para alertar sobre efeitos iminentes.

1.4. Bioindicadores

Bioindicadores são espécies vegetais e animais que por qualquer particularidade ecológica são indicadores precoces de modificações abióticas ou bióticas do ambiente devido a algum tipo de atividade antrópica (RAMADE, 1998). Portanto, os bioindicadores representam um modelo adequado para o estudo dos efeitos causados por um contaminante.

Um bioindicador ideal deve sobreviver em ambientes saudáveis, mas também apresentar resistência relativa ao contaminante que está exposto. Outros aspectos que podem facilitar o

uso de bioindicadores no desenvolvimento de um estudo são a abundância da espécie no ambiente e a facilidade em adaptar-se aos ensaios laboratoriais (AKAISHI, 2003).

1.4.1. Espécies Bioindicadoras

Pimelodus maculatus (LACEPÈDE, 1803), conhecido popularmente como mandi ou bagre é uma espécie endêmica subtropical. Habita áreas costeiras, estuários, mangues, lagoas, rios, cavernas, podendo ser encontrado em águas salobras, sendo considerado bentopelágico e potamódromo (Fishbase, 2009). Possui ampla distribuição geográfica, sendo uma das espécies mais abundantes na Bacia do Paraná (LIMA-JUNIOR, 2004), podendo ser encontrado também na Amazônia, Bacia do rio São Francisco, Guianas, Venezuela, Peru, Bolívia, Paraguai e Argentina (GODOY, 1987). A espécie apresenta grandes variações cromáticas e até estruturais (SANTOS, 1954), os adultos podem apresentar comprimento total máximo de 51 centímetros e peso máximo publicado de 2,3 quilogramas (Fishbase, 2009). É considerado importante para a pesca comercial (LOLIS et al., 1996), assim como um importante componente da fauna de peixes, tanto em águas correntes (LOLIS et al., 1996; LOBÓN-CERVIÁ et al., 2000) como águas lentas (BRAGA et al., 1997; ALVES et al., 1998). O mandi apresenta uma ampla plasticidade de dieta, hábito alimentar onívoro, incluindo algas e outras plantas, poríferos, moluscos, vermes, artrópodes e até alguns peixes (LOLIS et al., 1996; LOBÓN-CERVIÁ et al., 2000).

Taxonomia de *Pimelodus maculatus* (LACEPÈDE, 1803):

Classe OSTEICHTHYES

Subclasse ACTINOPTERYGII

Infraclasse TELEOSTEI

Ordem Perciformes

Família Siluriformes

Gênero Pimelodidae

Espécie *Pimelodus maculatus*



FIGURA 2. *Pimelodus maculatus*.

FONTE: Agência Nacional de Águas (ANA), 2009.

Oligosarcus hepsetus (CUVIER, 1829), espécie endêmica subtropical. Habita áreas de água doce, sendo considerado bentopelágico. Alimenta-se de insetos alóctones e peixes ósseos, tendo, portanto um hábito carnívoro. Esta espécie apresenta-se geograficamente distribuída na América do Sul, preferencialmente no sudeste brasileiro e na Bacia do Prata. Os adultos podem apresentar comprimento máximo de 23,8 centímetros publicado (Fishbase, 2009).

Taxonomia de *Oligosarcus hepsetus* (CUVIER, 1829)

Classe OSTEICHTHYES

Subclasse ACTINOPTERYGII

Infraclasse TELEOSTEI

Ordem Perciformes

Família Characiformes

Gênero Characidae

Espécie *Oligosarcus hepsetus*



FIGURA 3. *Oligosarcus hepsetus*.

FONTE: Fishbase, 2009.

1.5. Biomarcadores

Biomarcador é qualquer resposta ao nível de organismo ou sub-organismo que possa ser mensurada quando exposto ao estresse químico (RAMADE, 1998).

O uso de biomarcadores permite avaliar as condições em que o ambiente se encontra. Biomarcadores demonstram a organização biológica a níveis moleculares, celulares e teciduais, que indicam a exposição a compostos ou elementos específicos, ou os efeitos destas exposições (AMARAL et al., 2006)

A ordem sequencial de resposta aos efeitos causados por um poluente em um sistema biológico é visualizado na Figura 4. O efeito em nível hierárquico superior é sempre precedido por mudanças no processo biológico. Desta forma, o biomarcador é utilizado como um sinal prévio, refletindo a resposta biológica causada por uma toxina.

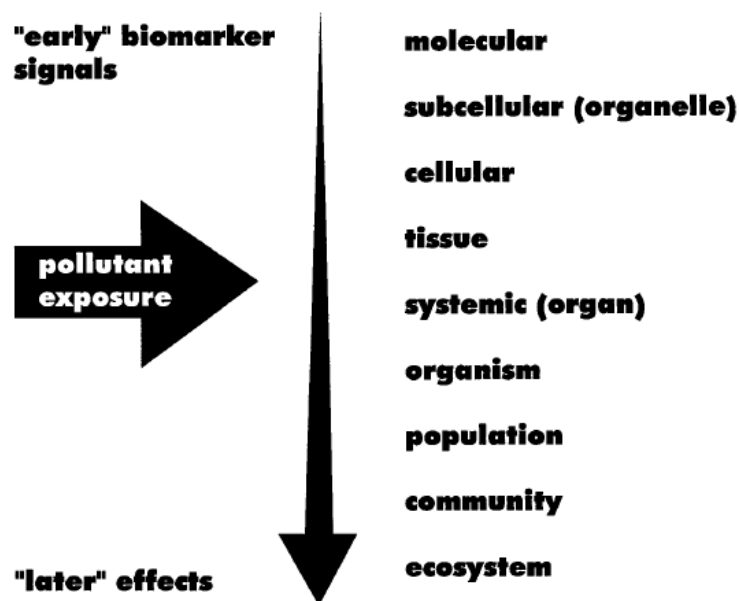


FIGURA 4. Representação esquemática da ordem sequencial de respostas à efeitos causados por poluentes em um sistema biológico (adaptado de Van der Oost *et al.*, 2003).

Biomarcadores podem ser divididos em três classes (Van der Oost *et al.*, 2003):

Biomarcadores de exposição: são aqueles que detectam e mensuram a quantidade de uma substância exógena, seus metabólitos ou o produto da interação entre o xenobiótico e a molécula ou célula alvo em um compartimento do organismo;

Biomarcadores de efeito: são aqueles que incluem alterações bioquímicas, fisiológicas ou outra alteração nos tecidos ou fluidos corporais de um organismo que podem ser reconhecidos e associados com uma doença ou possível prejuízo a saúde;

Biomarcadores de suscetibilidade: são aqueles que indicam a habilidade adquirida ou inerente de um organismo a responder a exposição a um xenobiótico específico, incluindo fatores genéticos e mudanças nos receptores que alteram a suscetibilidade de um organismo a uma dada exposição.

1.5.1. Biomarcadores Somáticos

O estado fisiológico de um peixe é condicionado pela interação de fatores bióticos e abióticos, sendo a variação nesse estado expressa através do Fator de Condição (K). Este é um indicador quantitativo do grau de higidez ou do bem estar do peixe, podendo ser usado para avaliar as diferentes condições de alimentação em espécies distintas e as interferências da densidade populacional, do clima e das condições ambientais (LE CREN, 1951; LIZAMA e AMBRÓSIO, 2002; GOMIERO e BRAGA, 2003 e FROESE, 2006 *apud* TAVARES-DIAS *et al.*, 2008).

A estimativa do fator de condição pode ser feita de três formas: Fulton, alométrico e o relativo ou de Le Cren, conforme Le Cren (1951).

O fator de condição de Fulton assume que o crescimento é isométrico ($b = 3,0$), sendo determinado pela relação: peso/ (comprimento corporal)³.

O fator de crescimento alométrico parte do princípio que nem todo crescimento é isométrico ($b = 3,0$) e, dependendo de cada população, o valor de b pode estar dentro da faixa de valores entre 2,5 a 4,0.

O fator de condição relativo ao de Le Cren, de acordo com Le Cren (1951), foi desenvolvido para resolver deficiências no valor do fator de condição de Fulton ($b = 3,0$). É determinado pela relação entre o peso atual do animal dividido pelo seu peso predito (ROCHA *et al.*, 2008).

O tamanho do fígado varia entre as diferentes espécies de peixes e a melhor medida estabelecida para avaliar o tamanho deste órgão pode ser obtido pela relação hepatossomática

(RHS)¹. A determinação dos valores padrão para RHS é de grande importância para a compreensão dos distúrbios que podem ocorrer em condições ambientais adversas (TAVARES-DIAS et al., 2008). Uma vez que o fígado é o principal órgão envolvido no processo de detoxificação num organismo.

1.5.2. Biomarcadores Morfológicos

A histologia representa uma ferramenta útil para se acessar os diferentes níveis de poluição, particularmente relacionados com efeitos sub-letais e crônicos. A vantagem da histopatologia como um biomarcador reside na sua localização intermediária no que diz respeito ao nível de organização biológica (ADAMS et al., 1989).

As mudanças histológicas aparecem como uma resposta em médio prazo aos estressores sub-letais, e a histologia fornece um método rápido para detectar efeitos de contaminantes, especialmente os crônicos, em vários tecidos e órgãos (JOHNSON et al., 1993)

As brânquias e a pele são os primeiros marcadores da poluição aquática, pois exibem grandes superfícies que estão em contato direto e permanente com potenciais contaminantes. Além disso, ambos os órgãos possuem células mucosas que desempenham um papel importante na resistência às doenças, patógenos e substâncias tóxicas (BERNET et al., 1999).

O fígado e rim representam órgãos alvos importantes adequados para análises histopatológicas na procura de danos aos tecidos e células (OLIVEIRA RIBEIRO et al., 2006). O fígado possui um papel chave no metabolismo e excreção subsequente excreção de xenobióticos (BERNET et al., 1999).

Centros de melano-macrófagos (CMM) têm sido utilizados em fígado como biomarcadores para a saúde dos peixes ou em estudos diagnósticos de contaminação em campo (LEKNES, 2001). Os CMMs são encontrados na derme, hipoderme, rim, baço, fígado e pequenos grupos de células nos vasos sanguíneos e linfáticos dos peixes (AGIUS e ROBERTS, 1981), removem partículas estranhas ao organismo ou produtos da degradação celular por fagocitose (WOLKE et al., 1985).

¹ Alguns autores consideram a relação hepatossomática (RHS), enquanto outros consideram o índice hepatossomático (IHS). Ambos analisam a relação entre peso corpóreo e peso hepático.

1.5.3. Biomarcadores Bioquímicos

A acetilcolina (Ach) é um dos principais neurotransmissores do sistema nervoso autônomo. É encontrada em gânglios autonômicos, junções neuroefetoras parassimpáticas e neuromusculares somáticas, na medula adrenal e também no SNC. Uma vez liberada na fenda sináptica, a Ach interage com receptores exercendo seus efeitos fisiológicos (ADAMS, 1992). A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável pela hidrólise da Ach, regulando a transmissão do impulso nervoso (ADAMS, 1992; GALGANI et al., 1992).

A atividade da acetilcolinesterase é conhecida por ser inibida por pesticidas organofosforados e carbamatos (STURM et al., 2000, OLIVEIRA RIBEIRO; SILVA DE ASSIS, 2005). Estudos comprovam que essa enzima pode ser inibida por outros poluentes como metais pesados, hidrocarbonetos e mesmo o endossulfano (ZINKL et al., 1991; PAYNE et al., 1996; DIAMANTINO et al., 2000).

A catalase (CAT) é uma das enzimas responsáveis pelo controle do estresse oxidativo celular (SILVA, 2007). É um antioxidante primário que elimina o peróxido de hidrogênio, espécie de radical de oxigênio não reativo que pode penetrar em diversas membranas biológicas e inativar enzimas. Respostas na atividade da catalase têm sido observadas em animais expostos a contaminantes orgânicos e metálicos (ROMEO et al., 2000; SANCHEZ et al., 2005).

A Glutathione S-Transferase (GST) é o principal grupo de proteínas solúveis do fígado, envolvidas na detoxificação celular de compostos eletrofílicos, geradas intracelularmente ou encontradas na forma de xenobióticos. Essas proteínas são encontradas em diferentes formas, chamadas de isoenzimas (HAYES e PULFORD, 1995; WINDERSTEN e MANNERVIK, 1995). Sua ação detoxificante é importante na proteção contra estresse oxidativo.

A atividade das GSTs está relacionada à hidroperóxidos lipídicos gerados por poluentes com metais pesados e contaminantes orgânicos (PALACE et al., 1996; TJALKENS et al., 1998)

A fluidez da membrana deve-se à presença de cadeias insaturadas dos fosfolípidios e do colesterol distribuído monocamadas lipídicas e danos nesta estrutura tendem a diminuir a fluidez da membrana. O ataque de espécies reativas de oxigênio (ROS) retira átomos de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, processo reconhecido como lipoperoxidação ou peroxidação lipídica (LPO).

Poluentes que desencadeiam a lipoperoxidação ou peroxidação lipídica (LPO) têm sido observados em peixes (RADI e MATKOVICS, 1988). O nível de LPO difere com entre as espécies, diferença atribuída aos diferentes mecanismos antioxidantes (AHAMAD et al., 2000).

2. ÁREA DE ESTUDO

2.1. Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul

A bacia do rio Paraíba do Sul está situada entre as latitudes 20°26' e 23°39'S e as longitudes de 41° e 46°30'W, com uma área de drenagem de 56.500 km². Estende-se pelos estados de São Paulo (13.900 km²), Rio de Janeiro (20.900 km²) e Minas Gerais (20.700 km²), abrangendo as regiões do Vale do Paraíba Paulista e Fluminense, o Noroeste Fluminense e grande parte da Zona da Mata Mineira (Figura 5).

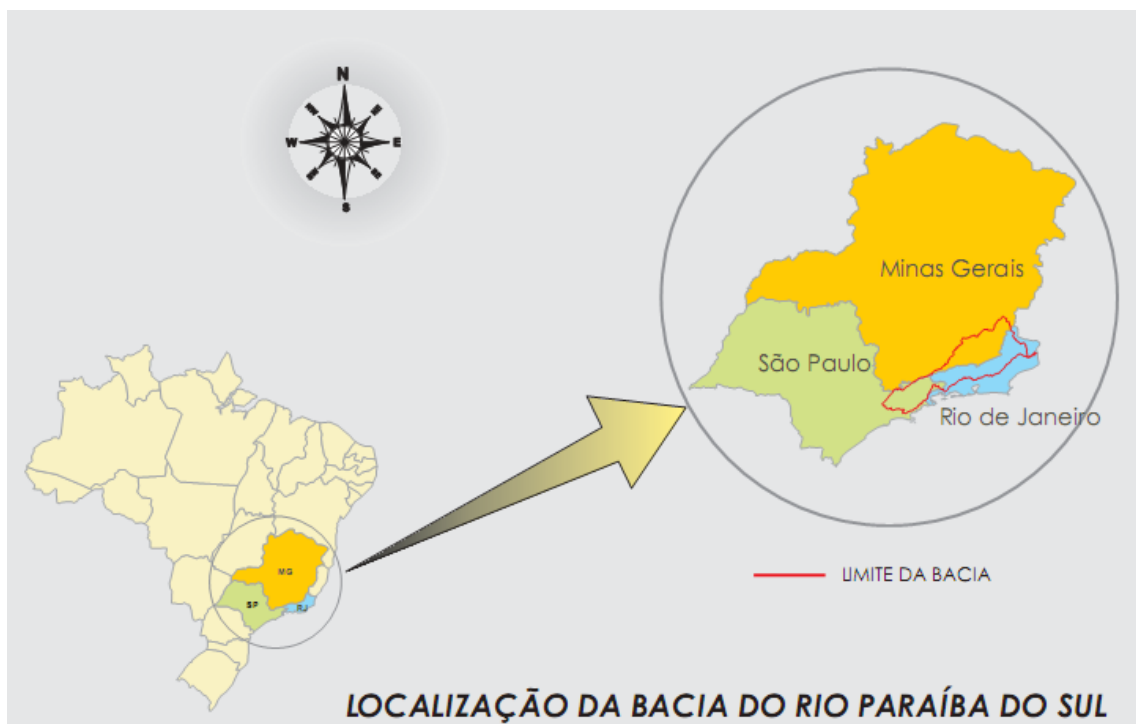


FIGURA 5. Localização da bacia do rio Paraíba do Sul.
Fonte: Laboratório de Hidrologia da COPPE/UFRJ.

Constam, atualmente, no cadastro do Sistema de Gestão Integrada da Bacia do Rio Paraíba do Sul (GESTIN), da Agência Nacional de Águas (ANA, 2000), outros 86 cursos d'água de domínio federal e 184 de domínio estadual. O cadastro, todavia, não esgota a relação de corpos hídricos da bacia.

Quatro unidades geográficas foram definidas por Ab'Saber & Bernardes (1958) *apud* Bizerril (1999) para o rio Paraíba do Sul, com base em características topográficas e ambientais: trecho superior, médio-superior, médio-inferior e inferior.

A bacia do rio Paraíba do Sul situa-se na região de abrangência da Mata Atlântica, bioma florestal mais destruído do país. De acordo com os dados disponíveis (Governo do Estado do Rio de Janeiro/GEROE, 1995), o que restou da Mata Atlântica na bacia ocupa hoje menos de 11% de seu território. Trata-se, portanto de um território quase completamente antrópico, com a vegetação original restrita a parques e reservas florestais. Cerca de 50% das florestas existentes na bacia do rio Paraíba do Sul encontram-se em Unidades de Conservação, como o Parque Nacional de Itatiaia (primeiro Parque Nacional criado no Brasil), o Parque Nacional da Serra dos Órgãos e a Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. Uma avaliação atualizada e detalhada da situação das Unidades de Conservação na bacia do Paraíba do Sul é de grande importância para a proteção dos recursos hídricos da bacia, tendo em vista que a maioria dessas unidades está situada em regiões montanhosas e cabeceiras ou margens de rios.

A bacia do Paraíba do Sul drena uma das regiões mais desenvolvidas do país. Em toda essa extensão há atualmente 180 municípios, sendo 39 no Estado de São Paulo, 53 no Rio de Janeiro e 88 em Minas Gerais. A população urbana aproximada da bacia é de 5.258.068 habitantes, sendo que desses, 2.264.070 vivem no Estado do Rio de Janeiro, 1.245.300 em Minas Gerais e 1.748.698 em São Paulo (IBGE, 2000). A tendência de concentração populacional nas áreas urbanas segue o mesmo padrão de outras regiões brasileiras e é um dos fatores responsáveis pelo aumento da poluição na bacia.

O médio vale do Paraíba foi a primeira grande região produtora de café no Brasil e a partir da fundação da Companhia Siderúrgica Nacional, por um processo de industrialização que fez do vale uma das maiores regiões industriais do país. A industrialização se concentrou na parte alta do vale, sendo mais relacionada à linha principal da Estrada de Ferro Central do Brasil, ligando o Rio de Janeiro a São Paulo.

Atualmente a gestão da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul é feita pelo Comitê de Integração da Bacia do Rio Paraíba (CEIVAP), dentro de uma política de participação instituída Lei Federal n.º 9.433/97 (Política Nacional de Recursos Hídricos).

O desenvolvimento da bacia do rio Paraíba do Sul vem proporcionando a degradação da qualidade de suas águas e redução de sua disponibilidade hídrica. Ao longo do Paraíba e de seus principais afluentes, indústrias se instalaram e cidades cresceram, lançando efluentes em suas águas, na maioria das vezes sem qualquer tipo de tratamento.

Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento do Ministério das Cidades (2004), no Rio de Janeiro, o abastecimento de água, incluindo captação, tratamento, reservação e distribuição, situa-se em torno de 88%, com consumos médios per capita da ordem de 250 l/hab/dia. Em esgotamento sanitário os índices de atendimento podem ser considerados: 66,9% das populações urbanas são atendidas por rede coletora, e, dessas, apenas 7,6% possuem tratamento de seus efluentes sanitários.

Em São Paulo, o índice de atendimento em abastecimento de água é de 94,6%. Em esgotamento sanitário os índices de atendimento podem ser considerados: 89,9% das populações urbanas são atendidas por rede coletora, das quais 32,3% possuem tratamento para seus efluentes sanitários.

Em Minas Gerais, o abastecimento de água, incluindo captação, tratamento, reservação e distribuição, são superiores a 95% e apresentam consumos médios per capita de 200 l/hab/dia. Em esgotamento sanitário os índices de atendimento podem ser assim considerados: 93,1% das populações urbanas são atendidas por rede coletora e apenas 12% possuem tratamento de seus efluentes sanitários.

2.2. Rio Paraíba do Sul

O rio Paraíba do Sul é formado pela confluência dos rios Paraibuna e Paraitinga, no estado de São Paulo, percorre um pequeno trecho do sudeste de Minas Gerais, fazendo a divisa natural deste com o estado do Rio de Janeiro, atravessa grande parte desse último e tem sua foz no Oceano Atlântico próximo à cidade de São João da Barra, ao norte do Estado do Rio de Janeiro. Seu percurso total é de 1.120 km, no sentido oeste para leste. Os principais afluentes do rio Paraíba do Sul são o Jaguari, o Buquira, o Paraibuna, o Piabanha, o Pomba e o Muriaé.

O rio tem seu curso marcado por sucessivas represas, destinadas à provisão de água e eletricidade para a população da bacia e também da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, área com significativo adensamento populacional, possuindo aproximadamente 3.000 hab/Km² e picos de 12.835 hab./Km² em São João de Meriti (ANA, 2009).

A elevada captação de água do rio Paraíba do Sul, devido à transposição das águas efetuada pelo Sistema Guandu e com a finalidade de gerar energia e abastecer grande parte do litoral do Rio de Janeiro, representa mais de 92% de toda a água captada no rio que, nos

períodos de estiagem, tem contribuído para agravar a redução da qualidade da água nos trechos à jusante devido à diminuição da capacidade de diluição de efluentes (Brasil das Águas, 2009).

O rio encontra-se hoje em estado ecológico crítico, com margens assoreadas, vazão desviada para captação de água seja para fins doméstico, industrial e agricultura, sendo ainda, a disposição final de esgotos.

2.3. Reservatórios da Concessionária de Energia Light S/A

Entre as décadas de 1930 a 1960 foram construídas as principais barragens ao longo do rio Paraíba do Sul. São elas: Paraibuna/Paraitinga, Santa Branca, Funil, Santa Cecília e Ilha dos Pombos. Além disso, deve-se destacar o sistema Paraíba do Sul/Guandu, que é composto por dois subsistemas:

- Paraíba: compreende a transposição das águas do rio Paraíba do Sul em Santa Cecília. Esse subsistema é composto pela estação elevatória de Santa Cecília, barragem de Santana, estação elevatória de Vigário, usinas hidrelétricas Nilo Peçanha e Fontes Nova, reservatório de Ponte Coberta e usina hidrelétrica Pereira Passos;
- Lajes: consiste das barragens de Tocos e Lajes e das Usinas Fontes Nova e Fontes Velha (Light S/A, 2009).

Ambos os subsistemas foram projetados para suprir de energia elétrica e água a cidade do Rio de Janeiro. O Complexo de Lajes, por exemplo, é responsável por 96% da água que abastece a Região Metropolitana do Rio de Janeiro.



FIGURA 6. Usinas Hidrelétricas do Sistema Light S/A no rio Paraíba do Sul.
FONTE: Adaptado Light S/A.

2.3.1. Reservatório da Usina Hidrelétrica Ilha dos Pombos

A Usina Hidrelétrica de Ilha dos Pombos situa-se no município fluminense do Carmo, divisa com o município mineiro de Além Paraíba, no trecho Médio – Inferior do Paraíba do Sul, localizada cerca de 180 km à jusante da Elevatória de Santa Cecília.



FIGURA 7. Reservatório da UHE Ilha dos Pombos/MG.

2.3.2. Reservatório da Usina Hidrelétrica Santa Cecília

A Usina Hidrelétrica de Santa Cecília situa-se na cidade de Piraí no estado do Rio de Janeiro, região do Médio - Superior. Possui unidades de bombeamento para encaminhamento da água para o reservatório de Santana, responsável pelo abastecimento de água.



FIGURA 8. Reservatório da UHE Santa Cecília/RJ

2.3.3. Reservatório da Usina Hidrelétrica Santa Branca

A Usina Hidrelétrica de Santa Branca situa-se na cidade de Santa Branca no estado de São Paulo à 79 km da capital, no Alto Paraíba, região do Médio – Superior do rio. Essa estrutura de barramento foi construída no rio Paraíba do Sul com a finalidade de regularização a vazão.



FIGURA 9. Reservatório da UHE Santa Branca/SP.

2.4. Acidentes no rio Paraíba do Sul

Os constantes acidentes ambientais que têm atingido o Rio Paraíba do Sul, nos últimos anos, vêm deixando consequências graves, influenciando diretamente perda de biodiversidade. Espécies de peixes, crustáceos, animais silvestres e mamíferos que vivem às margens do rio estão desaparecendo aos poucos, assim como a vegetação nativa (BARRETO, 2008).

Segundo Barreto, o que se vê é apenas uma repetição de acidentes que prejudicam o ambiente e o homem, comprometendo o abastecimento de água e a pesca, principal fonte de renda da população ribeirinha. No entanto, empresas com atividades potencialmente poluidoras continuam se instalando às margens do Paraíba do Sul.

Em 1982, o rompimento de um dique de contenção de rejeitos da Cia. Paraibuna de Metais carregou resíduos de metais pesados (cromo e cádmio) e outras substâncias tóxicas para o rio Paraíba do Sul, contaminando o rio Paraíba do Sul até a foz. Em 1984, um acidente rodoviário com um caminhão despejou 30 mil litros de ácido sulfúrico no rio Piabanha, afluente do Paraíba do Sul.

Em 1988, três mil litros de água misturada com óleo *Ascarel*, uma bifelina policlorada (PCB) muito utilizada no Brasil e proibida em 1988, vazaram dos transformadores da empresa Thyssen Fundições. Em 1989, mais um acidente rodoviário com um caminhão tanque, despejou metanol no rio Paraíba do Sul, na altura de Barra do Piraí.

Em março de 2003, a bacia do rio Paraíba do Sul sofreu um dos piores acidentes ambientais ocorridos no Brasil. O impacto ambiental provocado pelo vazamento de 1,2 bilhões de litros de soda cáustica, silício, ferro, alumínio e titânio, usado no branqueamento do papel de um reservatório da Indústria Cataguases de Papel foi incalculável. As substâncias atingiram o ribeirão Cágado e os rios Pomba e Paraíba do Sul, afetou não apenas o meio ambiente, mas toda a economia da região, deixando milhares de pessoas sem acesso à água para consumo. Acidentes de menores proporções, sob responsabilidade da mesma indústria ocorreram em 2006 com o vazamento de uma barragem de rejeito de bauxita e 2007 com o rompimento da barragem despejando dois bilhões de litros de lama de bauxita e sulfato de alumínio que soterraram parte da cidade de Mirai (MG) e poluiu importantes afluentes do rio Paraíba do Sul, principal fonte de água potável para o estado do Rio (FIPERJ, 2009).

Em novembro de 2008, 8 mil litros do agrotóxico *Endosulfan* (ciclodieno organoclorado) vazaram no rio Pirapitinga, afluente do Paraíba do Sul, proveniente da empresa *Servatis Agro & Fine Chemicals* (Figura 10) sediada em Resende/RJ e pertencente a BASF S/A. Segundo o Instituto Estadual do Ambiente (INEA), mais de 100 toneladas de peixes foram mortos, em período de desova². Não há medições sobre danos à saúde das populações atingidas, mas o produto é altamente tóxico, banido em diversos países.

² Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) é considerado período de defeso a paralisação obrigatória da pesca de um determinado recurso pesqueiro. A medida serve para proteger a espécie nas fases vulneráveis de seu ciclo de vida, ou seja, no período de pico da desova e do recrutamento da espécie. A época de defeso para a bacia leste, que inclui a bacia do rio Paraíba do Sul, conforme Instrução Normativa nº195 de 02 de outubro de 2008 refere-se ao início de novembro até o final de fevereiro.



FIGURA 10. Empresa Servatis instalada no rio Paraíba do Sul, responsável pelo acidente em novembro/2008 com o derramamento de 8.000 litros do pesticida *Endosulfan*.



FIGURA 11. Trecho do rio Paraíba do Sul atingido pelo acidente de novembro/2008. A seta vermelha indica o local do acidente ocorrido em novembro/2008. As setas verdes indicam os reservatórios da Light S/A, sendo Santa Cecília a principal área atingida do presente estudo.

FONTE. Adaptado da Fundação Centro de Informações e Dados do Rio de Janeiro (CIDE), 2007.

A passagem da pluma contaminante de Resende/RJ, local do acidente, até a foz do rio Paraíba do Sul no Distrito de Atafona/RJ, cerca de 800 km, alterou a rotina de vários municípios correspondente a um contingente populacional de centenas de milhares de habitantes, comprometendo a qualidade da água desse importante sistema hídrico e conseqüentemente, a fauna e flora aquática fluvial e estuarina (Figura 12).

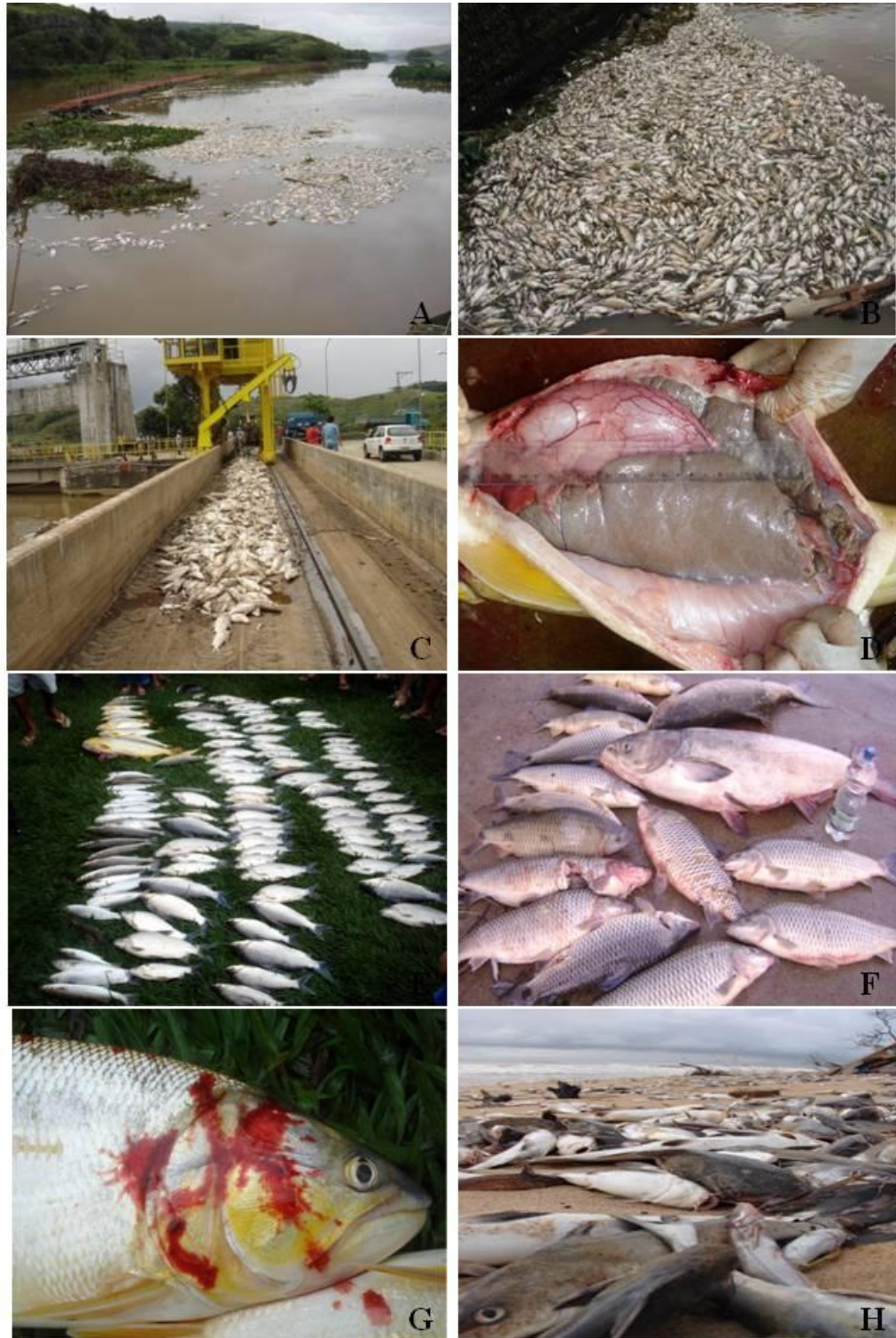


FIGURA 12. Acidente rio Paraíba do Sul. **A, B e C** – Peixes mortos na UHE Ilha dos Pombos. **D** – Fêmea ovada morta no acidente. **E** – Animais recolhidos pela população. **F** – Animais recolhidos pela Light. **G** – Hemorragia provocada pelo Endosulfan. **H** – Animais mortos na foz do rio Paraíba do Sul, Distrito de Atafona/RJ.

FONTE: Light S/A.

O último acidente registrado ocorreu em agosto de 2009, onde um vazamento de óleo da unidade carboquímica da Companhia Siderúrgica Nacional (CNS) em Volta Redonda/RJ, atingiu o rio Paraíba do Sul.



FIGURA 13. CSN instalada no rio Paraíba do Sul em Volta Redonda/RJ, responsável pelo acidente em agosto de 2009.

FONTE. Revista Fórum, 2009.

3. JUSTIFICATIVA

Considerando a necessidade crescente de monitoramento e avaliação dos sistemas hídricos, principalmente aqueles responsáveis por abastecimento de água à população, faz-se presente este estudo sobre o rio Paraíba do Sul, um dos sistemas lóticos mais utilizados do Brasil, situado entre os maiores centros urbano-industriais do país, sofrendo alterações de origem antrópica ao longo dos últimos séculos.

Quatro grandes reservatórios foram construídos para produção de energia hidrelétrica neste sistema, dois no trecho superior (Paraibuna e Santa Branca), um próximo do limite entre o trecho médio-superior e médio-inferior (Funil, inclui Santa Cecília), e o outro nas proximidades do limite entre o trecho médio-inferior e o trecho inferior (Ilha dos Pombos). Além de sua importância no suprimento de energia elétrica, o sistema é o maior responsável pela água que abastece o Rio de Janeiro. Através das usinas e reservatórios, passam 96% da água que é distribuída na Região Metropolitana.

A intensa urbanização e industrialização são grandes causadores dos efeitos negativos na água e nos habitats, onde a precariedade do saneamento básico (esgotamento sanitário e resíduos sólidos), o uso de efluentes para escoamento de resíduos industriais, o desmatamento da vegetação ripária e uso indiscriminado de insumos agrícolas contribuem para que, grande quantidade de material seja carregado, entre eles agentes químicos, diminuindo significativamente a qualidade dos recursos hídricos. Estes contaminantes podem permanecer ativos no meio ambiente por longos períodos, sendo conhecidos por Poluentes Persistentes Orgânicos (POPs), devido à alta resistência a degradação química e biológica. A combinação entre a baixa solubilidade em água e a alta capacidade de adsorção na matéria orgânica leva ao acúmulo desses compostos ao longo da cadeia alimentar, afetando ecossistemas e representando um grande risco para saúde pública.

Para indicar as possíveis causas dos impactos e propor medidas que amenizem futuramente os mesmos sobre a fauna íctia, são necessários estudos que demonstrem as implicações da ação sinérgica provenientes da contaminação ambiental, sobrepesca, perda de habitats, entre outros.

A Ecotoxicologia pode reforçar, aprofundar e apontar uma previsão sobre os potenciais efeitos dos poluentes dentro de um ecossistema, fornecendo resultados mais específicos do que aqueles presentes em monitoramento convencionais.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade da água dos reservatórios Ilha dos Pombos, Santa Cecília e Santa Branca, através do biomonitoramento, utilizando biomarcadores de contaminação ambiental em *Pimelodus maculatus* (Mandi) e *Oligosarcus hepsetus* (Bocarra).

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar biomarcadores somáticos para avaliar a condição de saúde dos peixes;
- Utilizar biomarcadores histopatológicos em órgãos alvos (fígado e brânquias) para avaliar os efeitos agudos e crônicos dos poluentes;
- Utilizar biomarcadores bioquímicos para avaliar o efeito neurotóxico e o equilíbrio óxido-redutor da célula;
 - Realizar análises físico-químicas na água e correlacioná-los aos fatores bióticos dos reservatórios;
 - Levantar os principais problemas de saúde das populações de peixes de reservatórios da concessionária de energia LIGHT S/A no Rio Paraíba do Sul;
 - Gerar dados para biomonitoramentos futuros.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. COLETA

Os espécimes foram coletados a montante das três UHEs, sendo Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecília/RJ e Santa Branca/SP, nos meses de Junho/2008 e Fevereiro/2009.

Utilizou-se, em média, 15 pontos de coleta em cada reservatório durante os dois períodos de campo, marcados com o auxílio do Sistema de Posicionamento Global (GPS).

O método de captura empregado foi redes de espera com malhas de 3 a 8 centímetros entre nós opostos, com comprimentos de 10 e 30 metros e alturas variando de 1,3 a 1,7 metros. Estas ficaram expostas durante 24 horas, com despescas a cada 8 horas, durante 3 dias em cada um dos reservatórios das UHEs.

5.2. PROCEDIMENTOS INICIAIS

Imediatamente após a coleta os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas, com constante aeração e transportados aos laboratórios das UHEs.

Os peixes foram anestesiados com Benzocaína, um éster etílico do ácido p-aminobenzóico (PABA). Em seguida, os indivíduos foram medidos (em 0,1cm) comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP), pesados (em 0,1 g) e determinado o sexo. O fígado de cada animal foi também pesado.

Foram coletados amostras de fígado, músculo axial e arcos branquiais para análises.

5.3. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

Os parâmetros físico-químicos foram obtidos durante as coletas através da Sonda YSI modelo 650 mds. Os dados coletados foram pH, temperatura, oxigênio dissolvido (em porcentagem e em miligramas), salinidade e turbidez.

5.4. BIOMARCADORES SOMÁTICOS

O fator de condição foi calculado segundo a fórmula: $K_F = (W / L^3) \times 100$. Sendo que:

K_F = Fator de condição de Fulton

W = Peso corporal em gramas

L = Comprimento corporal total em centímetros

O fator de condição utilizado neste estudo foi o Fulton (K_F), embora o fator mais preciso é o alométrico (θ). No entanto, para determinar o coeficiente de regressão alométrico, é necessário ter informações que acompanhe os peixes desde juvenis à fase adulta. Quando estas informações não estão disponíveis, recomenda-se utilizar o fator de condição de Fulton com coeficiente de regressão, em qualquer situação, fixo e igual a 3,0.

O índice hepatossomático foi calculado segundo a fórmula: **IHS = (P_{Fígado} / P_{Peixe}) x 100.**

Os dados foram logaritimizadas com o objetivo de homogeneizá-los.

5.5. BIOMARCADORES MORFOLÓGICOS

5.5.1. AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Fígado e brânquias dos animais coletados foram fixados em ALFAC (etanol, formol e ácido acético), desidratados e incluídos em Paraplast (Sigma®), o índice de lesões utilizado na avaliação do material foi descrito por Bernet et al. (1999).

As mudanças patológicas de fígado foram analisadas de acordo com a presença das alterações considerando: necroses, respostas inflamatórias, vacuolizações, centros de melano-macrófagos, neoplasias, diferenciações teciduais e parasitos para fígado. Para brânquias foram considerados: aneurismas, fusões lamelares, neoplasias, hiperplasias e parasitos.

5.5.2. Índice de Bernet

Fator de importância (w)

Cada alteração possui um fator de importância (w) que varia de 1 a 3 (Tabela 1). A relevância de uma lesão depende de sua importância patológica, ou seja, como afeta a função do órgão e a capacidade do peixe para sobreviver:

1- Importância patológica mínima, a lesão é facilmente reversível quando a exposição ao irritante é cessada;

2- Importância patológica moderada, a lesão é reversível na maioria dos casos se o estressor é neutralizado;

3- Importância patológica marcada, a lesão geralmente é irreversível, levando a perda parcial ou total da função do órgão.

TABELA 1. Fator de importância (w) de cada lesão em fígado e brânquias.

FÍGADO	Necrose	Resposta Infla.	Vacuol.	CMM	Neoplasia	Diferencia. Tecidual	Parasito
Fator de importância (w)	3	2	2	2	3	3	2

BRÂNQUIAS	Aneurisma	Fusões Lamelar	Neoplasia	Hiperplasia	Parasito
Fator de importância (w)	3	2	2	2	3

Valor de Pontuação

Cada indivíduo tem um valor de pontuação variando de 0 a 6, dependendo do grau de extensão da alteração:

- 0 - Sem mudanças;
- 2 - Leve ocorrência;
- 4 - Ocorrência moderada;
- 6 - Ocorrência severa (lesão difusa).

Cálculo Matemático dos Índices das Lesões

1) O fator de importância (w) é multiplicado pelo valor de pontuação de cada alteração.

Ex: Indivíduo 1 → Possui necrose (w = 3) x Pontuação (α = 2 leve ocorrência³) = Índice 6

³ Comparando indivíduos da mesma espécie coletados na mesma área.

2) Os valores obtidos da multiplicação de todas as alterações em cada indivíduo são somados.

Ex: Indivíduo 1 → *Necrose (I=6) + RI (4) + Vacuolização (4) + CMM (4) + Neoplasia (6) + Diferenciação tecidual (6) + Parasito (4) = Índice 34*

3) Indivíduos com maiores índices de lesões apresentam maiores alterações (quantidade e qualidade).

4) A média do somatório dos índices individuais aponta a ocorrência de alterações dentro de todos os animais de uma amostra, permitindo uma estimativa da ocorrência de alterações em uma área e/ou unidade populacional..

O Índice de Bernet (1999) é calculado segundo a fórmula:

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} w_{org\ rp\ alt})$$

Sendo:

I org = Índice do órgão avaliado (Fígado, brânquia, rim e pele);

rp = Padrão de reação (***rp1***: distúrbios circulatórios, ***rp2***: alterações regressivas (necroses), ***rp3***: mudanças progressivas (hiperplasias), ***rp4***: inflamações (infiltrações), ***rp 5***: tumor (neoplasia);

alt = Alterações encontradas;

a = Valor de Pontuação;

w = Fator de importância.

5.5.2. Contagem dos centros de melano-macrofágos

Os centros de melano-macrofágos foram contados através do sistema-teste quadriculado acoplado a uma das oculares do microscópio com área total de 1 mm², sendo que cada quadradinho possui 0,01 mm² de área. Foram analisados 15 campos aleatoriamente em cada uma das lâminas selecionadas (método RABITTO et al., 2005).

As lâminas selecionadas referem-se aos 6 primeiros indivíduos de cada ponto (reservatório Ilha dos Pombos, Santa Cecília e Santa Branca) da espécie *Pimelodus maculatus* nos dois períodos de coleta (junho/2008 e fevereiro/2009).

5.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As brânquias dos peixes foram fixados em Glutaraldeído 2,5%, Paraformaldeído 2%, CaCl_2 2,5 mM, NaCl em tampão cacodilato 0,1 M pH 7,2-7,4, lavadas, desidratadas em etanol (Merck®), submetidas ao ponto crítico (CO_2) e metalizadas (Protocolo Anexo I). Posteriormente, analisadas em microscópio eletrônico de varredura (*Scanninig Electron Microscope*) JEOL JSM – 6360LV.

5.6. BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS

Para as análises bioquímicas, utilizou-se, o seguinte procedimento para todas as amostras:

- 1) Descongelar as amostras;
- 2) Pesar e separar 100 mg de fígado de cada indivíduo. Para músculo, utiliza-se 50 mg do tecido.
- 3) Homogeneização das amostras em solução tampão pH 6,5 para catalase e GST. Tampão 7,0 para colinesterase. Para LPO, utiliza-se metanol.

5.6.1. Colinesterase

Fragmentos de músculo axial (50 mg) foram homogeneizados em 1 ml de tampão fosfato (pH 7,0) e centrifugados a 10 RPM (4°C) por 20 min. O sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. A atividade colinesterásica foi analisada de acordo com Ellman et al. (1961), com adaptações para a microplaca (Silva de Assis, 1998). A concentração de proteínas do músculo foi determinada segundo o método de Bradford (1976).

5.6.2. Catalase

Fragmentos de fígado (100 mg) foram homogeneizados em 1 ml de tampão fosfato (pH 6,5) e centrifugados a 10 RPM (4⁰C) por 20 min. O sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. A atividade da catalase foi analisada de acordo com Aebi, H. (1974). A concentração de proteínas do fígado foi determinada segundo o método de Bradford (1976).

5.6.3. Glutathione S-Transferase (GST)

Fragmentos de fígado (100 mg) foram homogeneizados em 1 ml de tampão fosfato (pH 6,5) e centrifugados a 10 RPM (4⁰C) por 20 min. O sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. A atividade da GST foi analisada de acordo com Kenn et al. (1976).

5.6.4. Lipoperoxidação (LPO) – microplaca

Fragmentos de fígado (100 mg) foram homogeneizados em 1 ml de 30% gelado (1:10) e centrifugados a 10 RPM (4⁰C) por 30 min. A LPO foi analisada de acordo com Jiang et al. (1992).

5.7. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

O tratamento estatístico dos dados foi realizado por ANOVA não-paramétrica de uma via para análises de variâncias para comparação entre as médias obtidas para as espécies e para os reservatórios, no caso dos parâmetros físico-químicos. Logo depois, os dados foram analisados pelo teste Bonferroni para comparar os grupos. O nível de significância considerado foi 0,05.

O software utilizado nas análises estatísticas foi o GraphPad Prism® versão 5.00 de 2007.

6. RESULTADOS

6.1. INDIVÍDUOS COLETADOS

Foram coletadas a montante das três UHEs Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecília/RJ e Santa Branca/SP, nos meses de Junho/2008 e Fevereiro/2009, um total de 79 espécimes, sendo 53 indivíduos na 1ª coleta (Junho/2008) e 26 indivíduos na 2ª coleta (Fevereiro/2009).

TABELA 2. Número de indivíduos coletados por espécie em cada reservatório na 1ª coleta, período de 17-24 de Junho de 2008.

PERÍODO	ÁREA (UHE)	ESPÉCIES	
		<i>Pimelodus maculatus</i>	<i>Oligosarcus hepsetus</i>
17-19	Ilha dos Pombos	10	7
20-22	Santa Cecília	16	9
23-24	Santa Branca	7	3

TABELA 3. Número de indivíduos coletados por espécie em cada reservatório na 2ª coleta, período de 10-19 de Fevereiro de 2009.

PERÍODO	ÁREA (UHE)	ESPÉCIES	
		<i>Pimelodus maculatus</i>	<i>Oligosarcus hepsetus</i>
17-19	Ilha dos Pombos	2	1
14-16	Santa Cecília	---	---
11-13	Santa Branca	20	3

6.2. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

As médias dos parâmetros físico-químicos obtidos durante as coletas através da sonda YSI nas duas fases de coleta estão apresentados na Tabela 4 e 5.

TABELA 4. Resultados das médias dos parâmetros físico-químicos amostrados nos reservatórios no período de junho/2008.

	T (°C)	pH	OD %	OD (mg/L)	Salinidade*	Turbidez
Ilha dos Pombos	20,94	7,43	68,50	6,12	0,03	109,70
Santa Cecília	21,43	7,60	42,58	3,76	0,04	13,54
Santa Branca	20,41	7,18	47,64	4,32	0,02	7,42

* Salinidade medida em partes por trilhão (ppt).

TABELA 5. Resultados das médias dos parâmetros físico-químicos amostrados nos reservatórios no período de fevereiro/2009.

	T (°C)	pH	OD %	OD (mg/L)	Salinidade	Turbidez
Ilha dos Pombos	24,02	7,72	118,47	9,97	0,00	6,59
Santa Cecília	--	--	--	--	--	--
Santa Branca	26,43	8,31	110,70	8,93	0,01	3,94

* Salinidade medida em partes por trilhão (ppt).

A temperatura média observada no período de junho/2008 foi aproximadamente 21^oC, apresentando uma diferença de 0,5^oC entre os reservatórios Ilha dos Pombos com média de 21^oC, Santa Cecília 21,5^oC e Santa Branca 20,5^oC (Tabela 4). O período de fevereiro/2009 apresentou médias de temperatura mais altas, em torno 24^oC no reservatório Ilha dos Pombos e 26,5^oC no reservatório Santa Branca (Tabela 5). As áreas amostradas apresentaram diferenças significativas para temperatura entre os períodos de coleta, onde $p < 0,05$ (Figura 13).

O Potencial Hidrogeniônico variou 7,4 a 7,7 entre os reservatórios e os períodos de campo (Tabela 4). Porém, o reservatório de Santa Branca apresentou a maior média em relação aos demais reservatórios no período de fevereiro/2009 com pH=8,3, levemente alcalino (Tabela 5), sendo estatisticamente significativo com $p < 0,05$ (Figura 13).

A condição de oxigenação da água, tanto em porcentagem quanto em miligramas, apresentou similaridades, indicando a segunda fase de campo com uma maior oxigenação da água nos dois reservatórios. A menor média de oxigênio (mg/L) foi encontrada em Santa Branca no período de junho/2008. A diferença de oxigenação dos reservatórios Ilha dos Pombos e Santa Branca entre junho/2008 e fevereiro/2009 foi significativa.

A salinidade da água apresentou médias mais baixas na segunda fase de campo (Tabela 5) para os reservatórios, sendo estatisticamente significativas no reservatório Ilha dos Pombos entre os períodos de junho/2008 e fevereiro/2009 (Figura 13).

A turbidez da água foi o parâmetro físico-químico que mais apresentou variações (Tabela 4 e 5), tanto entre os reservatórios, quanto para os períodos. As diferenças mais significativas apareceram novamente no reservatório Ilha dos Pombos ($p < 0,05$) (Figura 13), destacando-se a turbidez no mês de junho/2008 (média=109,7 UNTs).

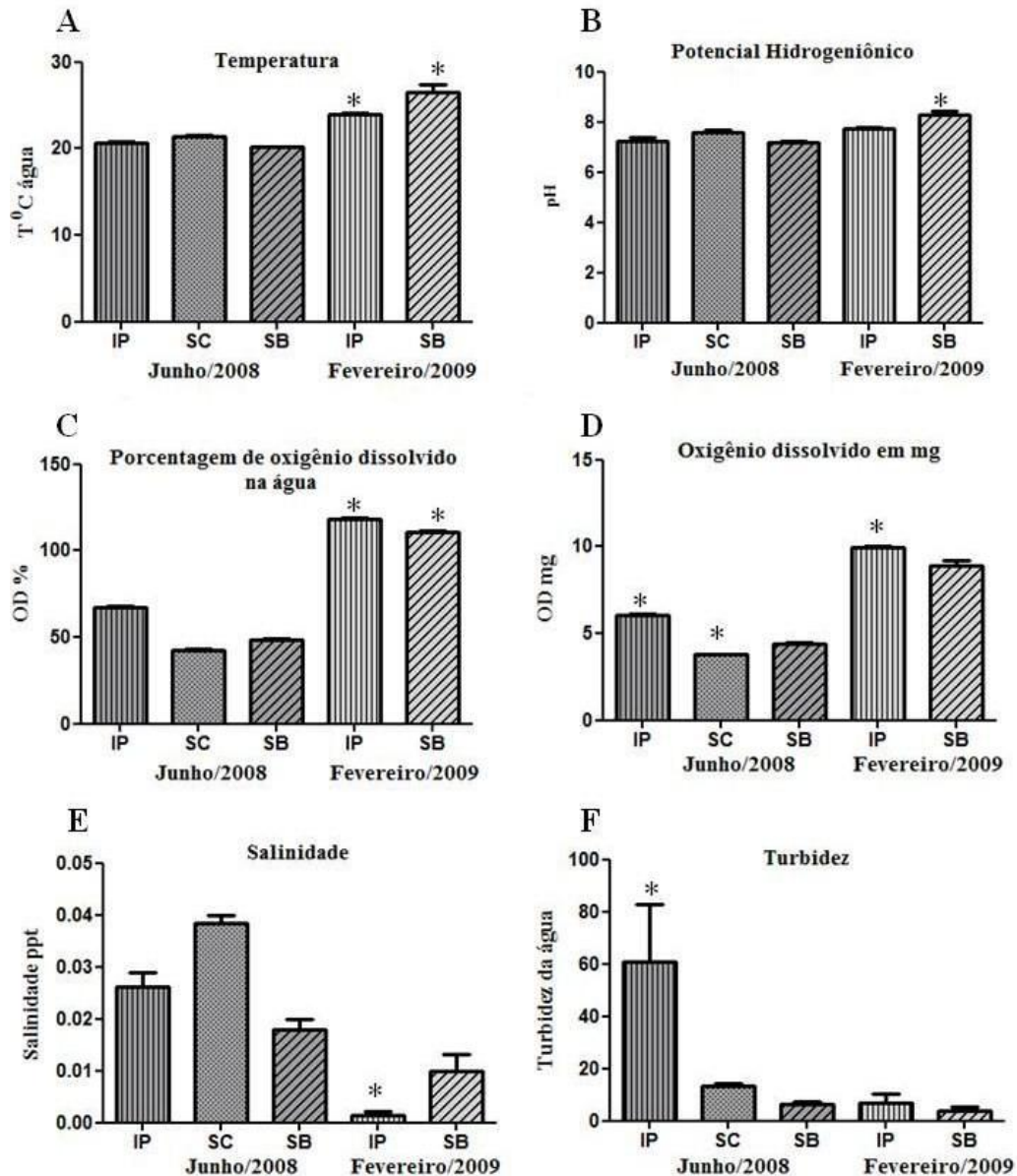


FIGURA 14. Média ± erro padrão. A - Temperatura. B - pH. C - Porcentagem de oxigênio dissolvido (%). D - Quantidade de oxigênio (miligramas). E - Salinidade. F - Turbidez da água nos reservatórios Ilha dos Pombos (IP), Santa Cecília (SC) e Santa Branca (SB) durante os períodos de coleta (junho/2008 e fevereiro/2009). (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$).

Segundo o Boletim de Monitoramento do Sistema Hidráulico do Rio Paraíba do Sul (ANA, 2009), as vazões naturais observadas em fevereiro de 2009 foram superiores a média histórica do período. No referente mês, houve um aumento de 9,9% do volume do Reservatório Equivalente da Bacia do Paraíba do Sul, que passou de 73,4%, no dia 31/01/2009, para 83,3%, no dia 28/02/2009. Houve aumento de volume útil em todos os reservatórios que compõem o Reservatório Equivalente da Bacia do Paraíba do Sul (Figura 16).

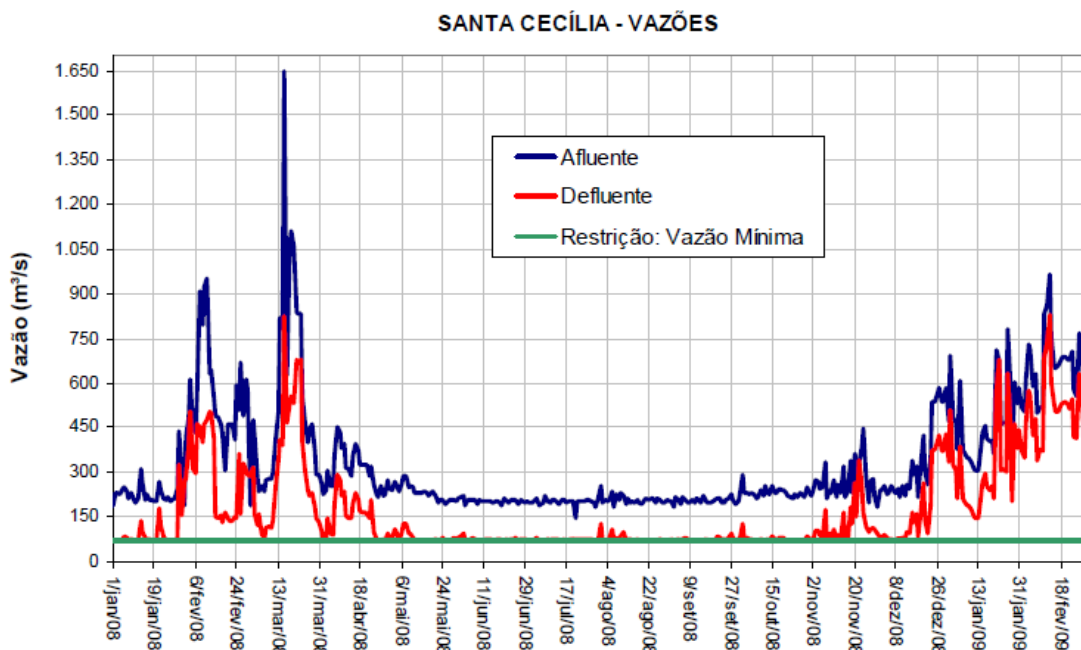


FIGURA 15. Vazões medidas no reservatório Santa Cecília nos períodos de janeiro/2008 a fevereiro/2009.

FONTE: Boletim de monitoramento dos reservatórios do sistema hidráulico do rio Paraíba do Sul da Agência Nacional de Águas, 2009.

Pode-se observar na figura 16 que houve picos de vazões no reservatório de Santa Cecília/RJ nos dias próximos a 14 de fevereiro/2009, coincidindo exatamente com a época de coleta deste estudo, registrados na figura 17.

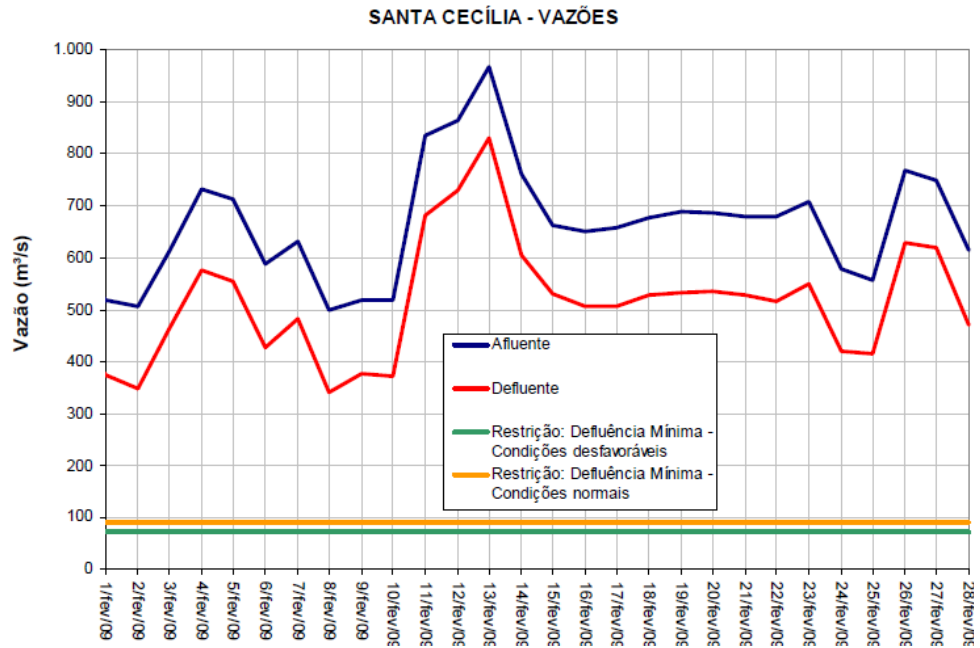


FIGURA 16. Vazões medidas no reservatório Santa Cecília no período de fevereiro/2009.

FONTE: Boletim de monitoramento dos reservatórios do sistema hidráulico do rio Paraíba do Sul da Agência Nacional de Águas, 2009.



FIGURA 17. **A.** Vista da barragem da UHE Santa Cecília em Junho/2008 (1ª coleta). **B -** Vista da barragem da UHE Santa Cecília em Fevereiro/2009 (2ª coleta). **C -** Vazão elevada em Santa Cecília obrigando a abertura das comportas para evitar enchentes à montante da UHE. **D -** Vazão do rio Paraíba dos Sul, notavelmente com a altura muito próxima à ponte.

Na Tabela 6, podem ser observadas as vazões dos reservatórios das UHEs do Sistema Light, que quando comparados, destaca-se Santa Cecília com as maiores médias de vazão em fevereiro/2009.

TABELA 6. Valores máximos de vazão defluente⁴ médias diárias observadas em fevereiro/2009.

	Paraibuna	Santa Branca	Jaguari	Funil	Santa Cecília	Pereira Passos
Vazão Natural	139	177	66	648	847	190
Média (m ³ /s)						

FONTES: Boletim de monitoramento dos reservatórios do sistema hidráulico do rio Paraíba do Sul da Agência Nacional de Águas, 2009.

6.3. BIOMARCADORES SOMÁTICOS

O fator de condição foi similar em *Pimelodus maculatus* entre as áreas amostradas e os períodos de coleta. O mesmo ocorreu para o índice hepatossomático (Figura 18).

Foi observada uma correlação positiva entre o peso corporal e o peso hepático dos exemplares de *Pimelodus maculatus* (n= 55, R²= 0,7316 e p<0,05).

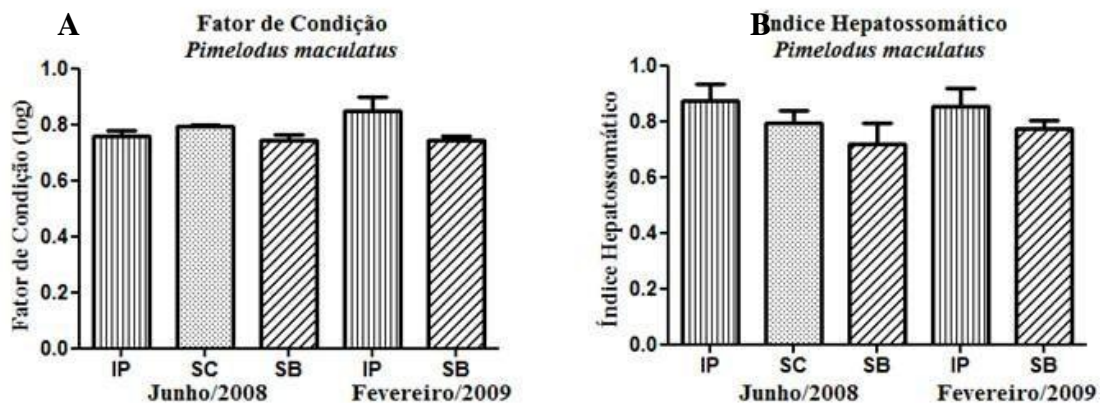


FIGURA 18. **A.** Fator de condição (FC) de *Pimelodus maculatus* coletados em junho/2008 e fevereiro/2009 em três reservatórios do rio Paraíba do Sul. Valores expressos em medianas e logaritimizados. **B** – Índice hepatossomático (IHS) médio de *Pimelodus maculatus* coletados em junho/2008 e fevereiro/2009 em três reservatórios do rio Paraíba do Sul. (*) indica diferença significativa (p<0,05).

⁴ Vazão defluente ou defluência é vazão total que sai de um reservatório em um determinado intervalo de tempo. A vazão defluente é igual à soma da vazão turbinada mais a vazão vertida e a vazão eventualmente existente. É utilizada para outras finalidades que não a geração de energia elétrica, sendo neste caso, para abastecimento de água.

O fator de condição da espécie *Oligosarcus hepsetus* apresentou diferenças nos indivíduos capturados, sendo o menor FC encontrado no reservatório Santa Branca/SP no período de fevereiro/2009.

O índice hepatossomático da espécie *Oligosarcus hepsetus* apresentou o maior IHS no reservatório Santa Cecília/RJ no período junho/2008 (Figura 19).

Foi observada uma correlação positiva entre o peso corporal e o peso hepático dos exemplares de *Oligosarcus hepsetus* ($n=23$, $R^2=0,4555$ e $p<0,05$).

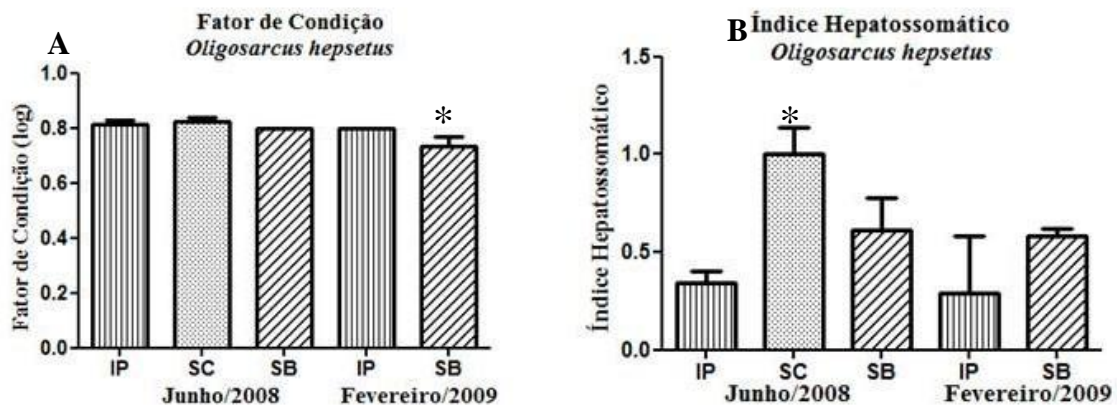


FIGURA 19. A. Fator de condição (FC) de *Oligosarcus hepsetus* coletados em junho/2008 e fevereiro/2009 em três reservatórios do rio Paraíba do Sul. Valores expressos em medianas e logaritimizadas. B – Índice hepatossomático (IHS) médio de *Oligosarcus hepsetus* coletados em junho/2008 e fevereiro/2009 em três reservatórios do rio Paraíba do Sul. (*) indica diferença significativa ($p<0,05$).

6.4. BIOMARCADORES MORFOLÓGICOS

6.4.1. Avaliação Histopatológica

A análise histopatológica de fígado e brânquias de *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* demonstrou que esses indivíduos encontram-se com o estado de saúde afetado, em nível morfológico, em função de substâncias potencialmente poluidoras presente nos três reservatórios.

Os resultados das análises microscópicas apresentaram lesões hepáticas na grande maioria dos animais, das duas espécies em estudo.

As lesões mais observadas no fígado foram as necroses, presentes em quase 100% dos indivíduos amostrados. Essas lesões afetaram consideravelmente o órgão e em alguns casos, houve a destruição quase total do tecido hepático.

Outras alterações foram encontradas, destacando-se as respostas inflamatórias, com grande incidência em todas as áreas e nas duas espécies. Foram observados focos neoplásicos em *Pimelodus maculatus* no reservatório Ilha dos Pombos no período de fevereiro/2009, indivíduos que sobreviveram à passagem da pluma contaminante de *Endosulfan*.

Oligosarcus hepsetus apresentou infestação parasitária no reservatório de Santa Cecília durante o período de junho/2008, com 100% dos indivíduos afetados (Tabela 6).

Os resultados da avaliação histopatológica das lesões encontradas no fígado são demonstrados nas tabelas 6 e 7 por ocorrência de cada lesão por espécie nas áreas amostradas nos períodos de coleta.

TABELA 7. Ocorrência de lesões em fígado de *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* nos três pontos de coleta em junho/2008.

Lesões encontradas em fígado na 1ª coleta/Junho 2008						
	<i>Pimelodus maculatus</i>			<i>Oligosarcus hepsetus</i>		
	IP	SC	SB	IP	SC	SB
Necrose	10(10)	13(16)	7(7)	6(7)	9(9)	3(3)
Resposta inflamatória	8(10)	13(16)	3(7)	4(7)	4(9)	1(3)
Vacuolização	0(10)	4(16)	0(7)	0(7)	0(9)	0(3)
Centro de melano-macrófago	9(10)	14(16)	7(7)	3(7)	3(9)	0(3)
Melano-macrófago livre	0(10)	0(16)	0(7)	0(7)	0(9)	0(3)
Neoplasia	1(10)	0(16)	0(7)	0(7)	1(9)	0(3)
Diferenciação tecidual	0(10)	6(16)	3(7)	0(7)	0(9)	0(3)
Parasito	0(10)	1(16)	0(7)	4(7)	9(9)	2(3)

IP= Ilha dos Pombos; SC= Santa Cecília; SB= Santa Branca.

TABELA 8. Ocorrência de lesões em fígado de *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* nos três pontos de coleta em fevereiro/2009.

Lesões encontradas em fígado na 2ª coleta/Fevereiro 2009						
	<i>Pimelodus maculatus</i>			<i>Oligosarcus hepsetus</i>		
	IP	SC	SB	IP	SC	SB
Necrose	3(3)	0(0)	20(20)	1(1)	0(0)	3(3)
Resposta inflamatória	3(3)	0(0)	12(20)	0(1)	0(0)	1(3)
Vacuolização	3(3)	0(0)	10(20)	0(1)	0(0)	1(3)
Centro de melano-macrófago	3(3)	0(0)	0(20)	0(1)	0(0)	0(3)
Melano-macrófago livre	3(3)	0(0)	0(20)	0(1)	0(0)	0(3)
Neoplasia	3(3)	0(0)	0(20)	0(1)	0(0)	0(3)
Diferenciação tecidual	3(3)	0(0)	0(20)	0(1)	0(0)	1(3)
Parasito	3(3)	0(0)	0(20)	1(1)	0(0)	0(3)

IP=Ilha dos Pombos; SC= Santa Cecília; SB= Santa Branca.

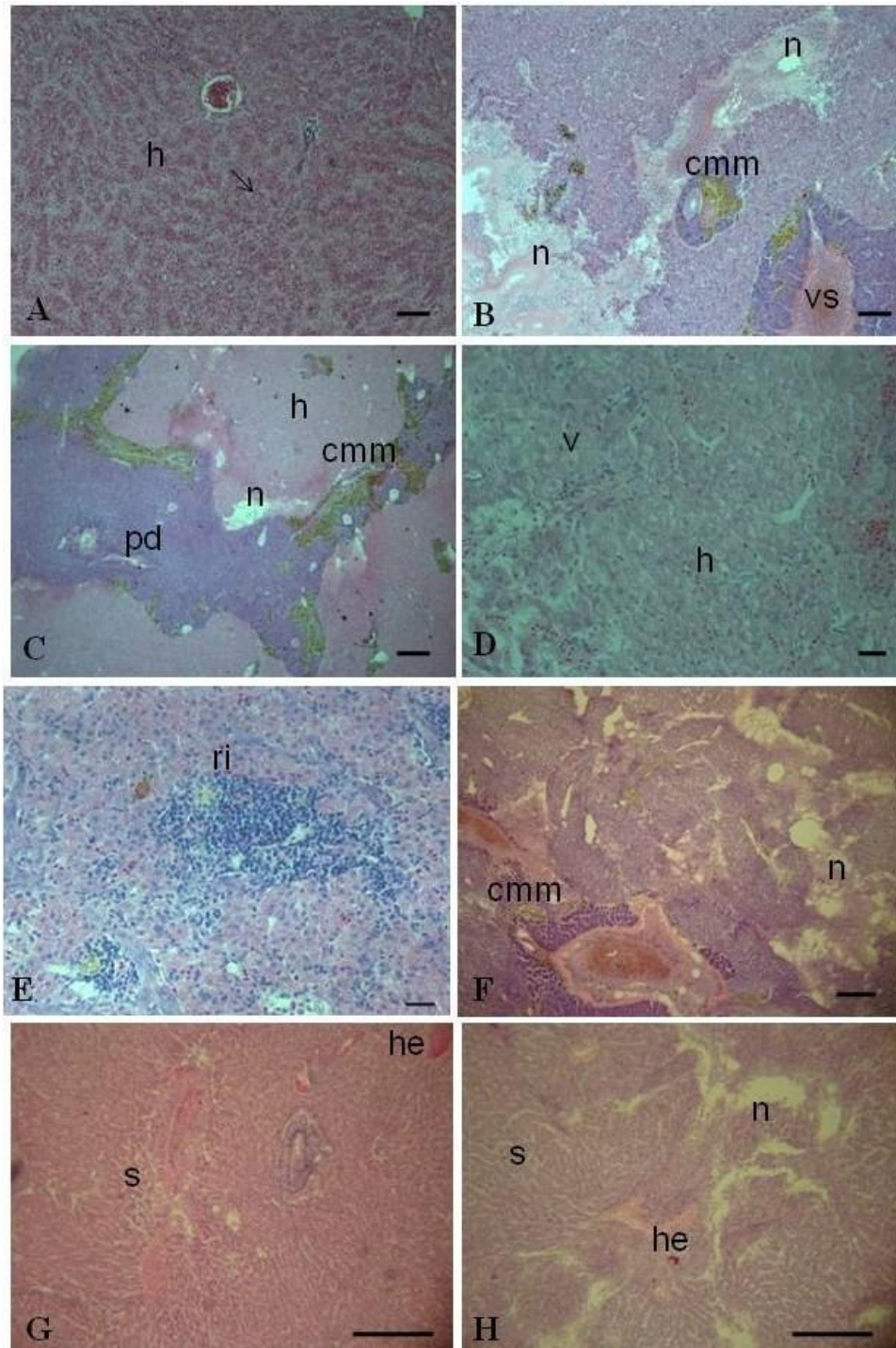


FIGURA 20. Microscopia óptica em fígado de *Pimelodus maculatus*. Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). Cortes com 5µm de espessura. **A** – Tecido sem alterações. Parênquima hepático (**h**). A seta indica o núcleo dos hepatócitos. **B** – Indivíduo muito comprometido do reservatório Ilha dos Pombos/MG (junho/2008). Necroses (**n**). Centros de melano-macrófagos (**cmm**). **C** – Tecido hepático com pâncreas difuso (**pd**). **D** – Vacuolização (**v**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). **E** – Resposta inflamatória (**ri**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). **F** – Indivíduo comprometido do reservatório Ilha dos Pombos/MG (fevereiro/2009). Grande incidência de necroses (**n**). **G** e **H** – Indivíduos comprometidos do reservatório Santa Branca/SP (fevereiro/2009). Cordões sinusóides dilatados (**s**). Hemorragia (**he**). (**ABCEGH**. Barra = 100µm. **DF**. Barra = 20µm).

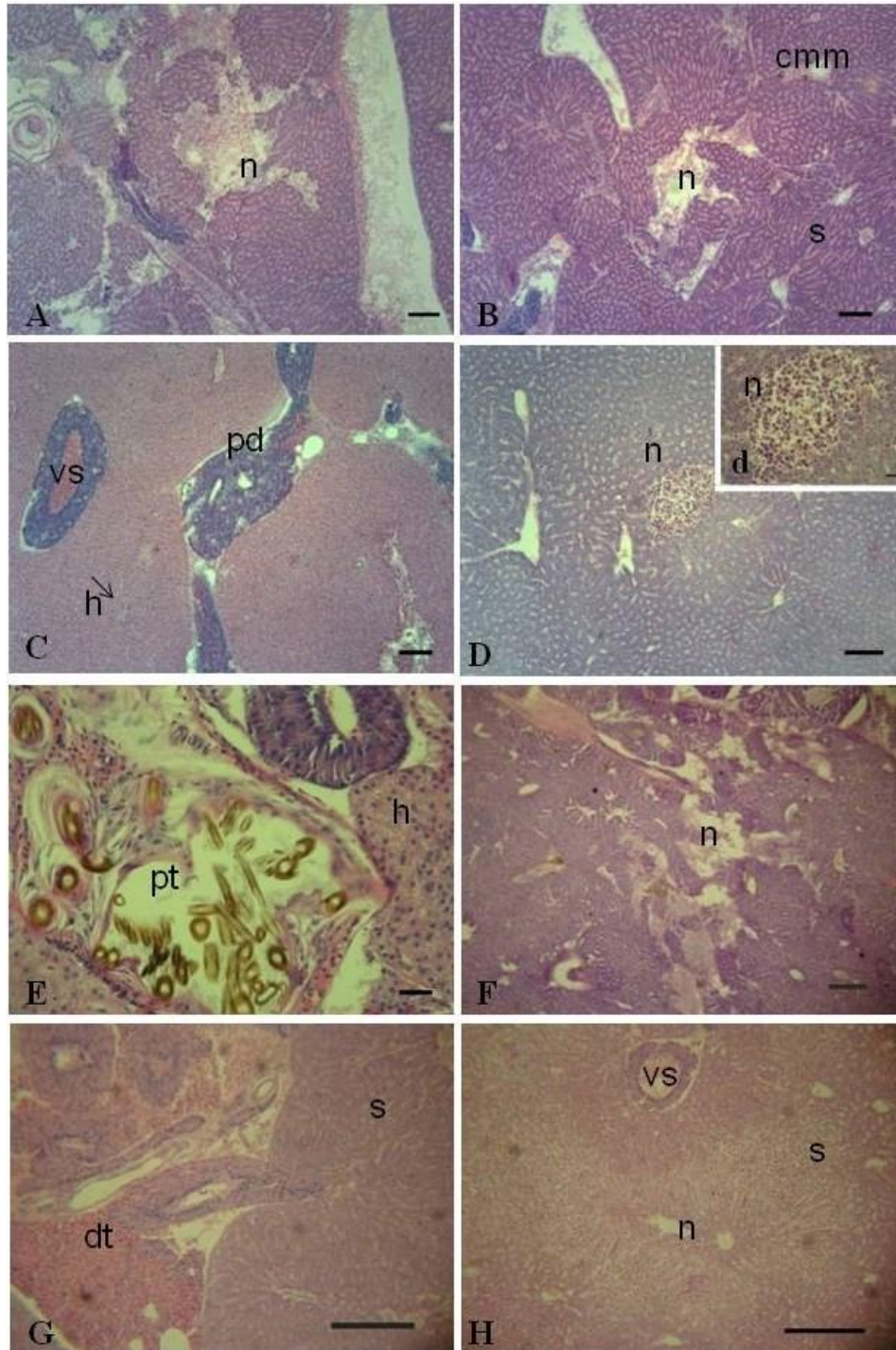


FIGURA 21. Microscopia óptica em fígado de *Oligosarcus hepsetus*. Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). Cortes com 5µm de espessura. **A** - Necroses (**n**) em indivíduo do reservatório Ilha dos Pombos (junho/2008). **B** - Necroses (**n**). Cordões sinusóides dilatados (**s**) em indivíduo do reservatório Ilha dos Pombos (junho/2008). **C** - Tecido hepático com pâncreas difuso (**pd**). Parênquima hepático evidente (**h**). A seta indica o núcleo do hepatócito. **D** - Neoplasia (**n**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília (junho/2008). **d** - Neoplasia (**n**). (Barra=20µm). **E** - Parasitos (**pt**) em indivíduos do reservatório Santa Cecília (fevereiro/2009). **F** - Necroses (**n**) em indivíduo do reservatório Ilha dos Pombos (fevereiro/2009). **G** - Diferenciação tecidual (**dt**) e cordões sinusóides dilatados. Barra = 100µm.

As lesões mais comumente observadas nas brânquias foram os aneurismas, dilatações de capilares sanguíneos nas extremidades das lamelas secundárias, presentes mais frequentemente no período de fevereiro/2009, destacando-se o reservatório Santa Branca, onde *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* apresentaram 100% dos indivíduos afetados.

Outras alterações foram encontradas, entre elas, as fusões lamelares em *Pimelodus maculatus* no período de fevereiro/2009. Foram observados focos neoplásicos em *Pimelodus maculatus* no reservatório Ilha dos Pombos no período de fevereiro/2009, indivíduos que sobreviveram à passagem da pluma contaminante de *Endosulfan* (Figura 22F). No entanto, no mesmo período, observou-se focos também no reservatório Santa Branca, entretanto, este encontra-se à montante do local de vazamento do pesticida.

Larvas de parasitas ocorreram em alta frequência nas brânquias dos indivíduos amostrados em todas as áreas. Fato que pode estar contribuindo para o comprometimento das funções branquiais.

Os resultados da avaliação histopatológica das lesões encontradas nas brânquias são demonstrados nas tabelas 8 e 9 por ocorrência de cada lesão por espécie nas áreas amostradas nos períodos de coleta.

TABELA 9. Ocorrência de lesões em brânquias de *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* nos três pontos de coleta em junho/2008.

Lesões encontradas em brânquias na 1ª coleta/Junho 2008						
	<i>Pimelodus maculatus</i>			<i>Oligosarcus hepsetus</i>		
	IP	SC	SB	IP	SC	SB
Aneurismas	2(10)	5(16)	1(7)	0(7)	3(9)	1(3)
Fusão Lamelar	1(10)	1(16)	0(7)	0(7)	0(9)	0(3)
Neoplasia	0(10)	2(16)	0(7)	0(7)	0(9)	0(3)
Hiperplasia	0(10)	6(16)	1(7)	0(7)	0(9)	0(3)
Parasitas	5(10)	6(16)	1(7)	0(7)	2(9)	0(3)

IP= Ilha dos Pombos; SC= Santa Cecília; SB= Santa Branca.

TABELA 10. Ocorrência de lesões em brânquias de *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* nos três pontos de coleta em fevereiro/2009

Lesões encontradas em brânquias na 2ª coleta/Junho 2008						
	<i>Pimelodus maculatus</i>			<i>Oligosarcus hepsetus</i>		
	IP	SC	SB	IP	SC	SB
Aneurismas	2(2)	0(0)	20(20)	1(1)	0(0)	3(3)
Fusão Lamelar	2(2)	0(0)	12(20)	0(1)	0(0)	1(3)
Neoplasia	2(2)	0(0)	10(20)	0(1)	0(0)	1(3)
Hiperplasia	2(2)	0(0)	0(20)	0(1)	0(0)	0(3)
Parasitos	2(2)	0(0)	0(20)	0(1)	0(0)	0(3)

IP= Ilha dos Pombos; SC= Santa Cecília; SB= Santa Branca.

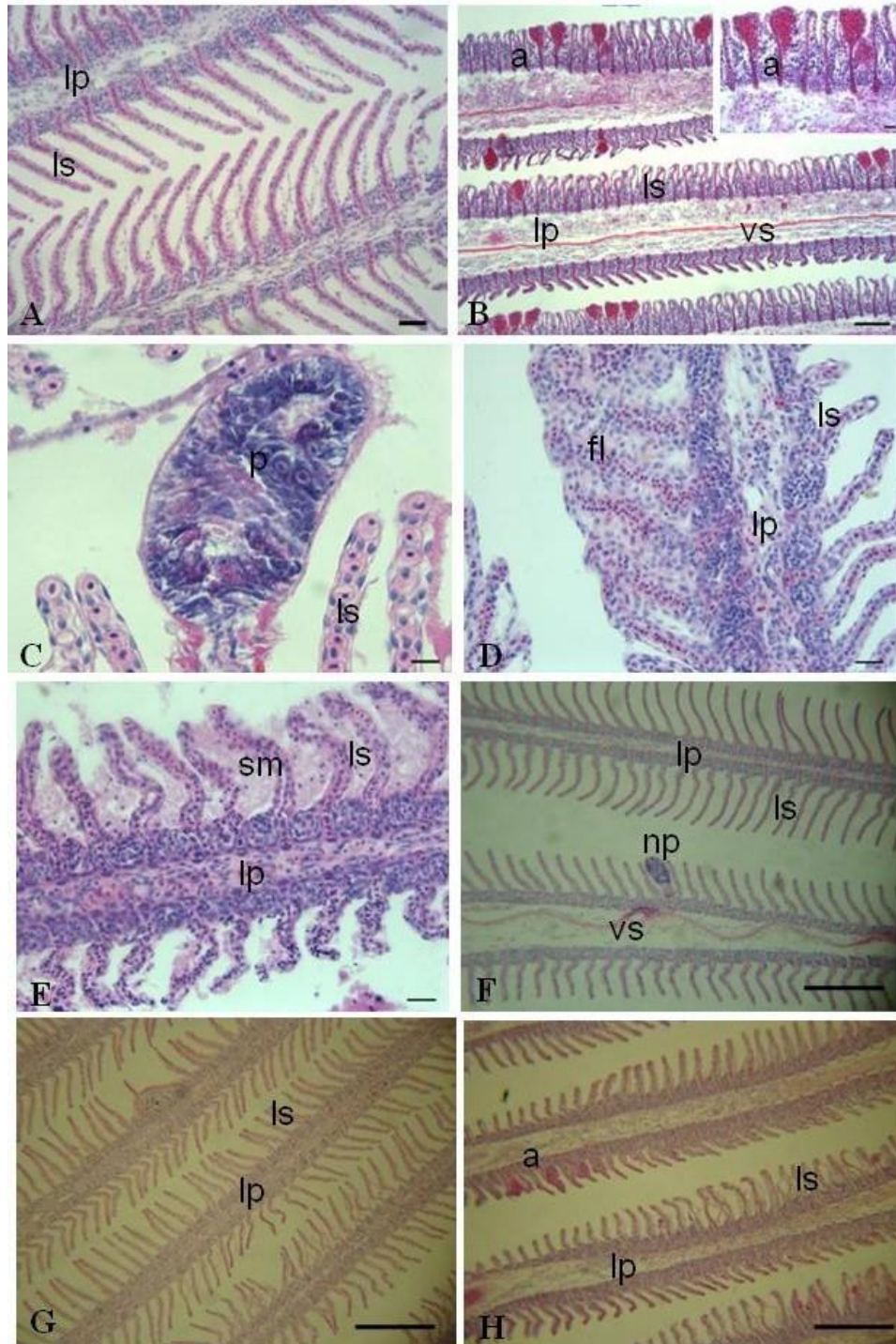


FIGURA 22. Microscopia óptica em brânquias de *Pimelodus maculatus*. Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). Cortes com 5µm de espessura. **A** – Tecido sem alterações (junho/2008. Lamela primária (**lp**) e lamelas secundárias (**ls**). **B** – Aneurismas (**a**) em indivíduo do reservatório Santa Branca/SP (junho/2008). Vaso sanguíneo (**vs**). **b** – Aneurismas (**a**) (Barra=20 µm). **C** – Parasita (**p**) em indivíduo de Santa Cecília/RJ (junho/2008). **D** – Fusão lamelar (**fl**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). **E** – Secreção de muco (**sm**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). **F** – Neoplasia (**np**) em indivíduo muito comprometido do reservatório Ilha dos Pombos/MG (fevereiro/2009). **G** - Tecido sem alterações (fevereiro/2009). **H** – Aneurismas (**a**) em indivíduo do reservatório Santa Branca/SP (fevereiro/2009). (**ABCG** Barra = 100µm. **DEF** Barra = 20µm).

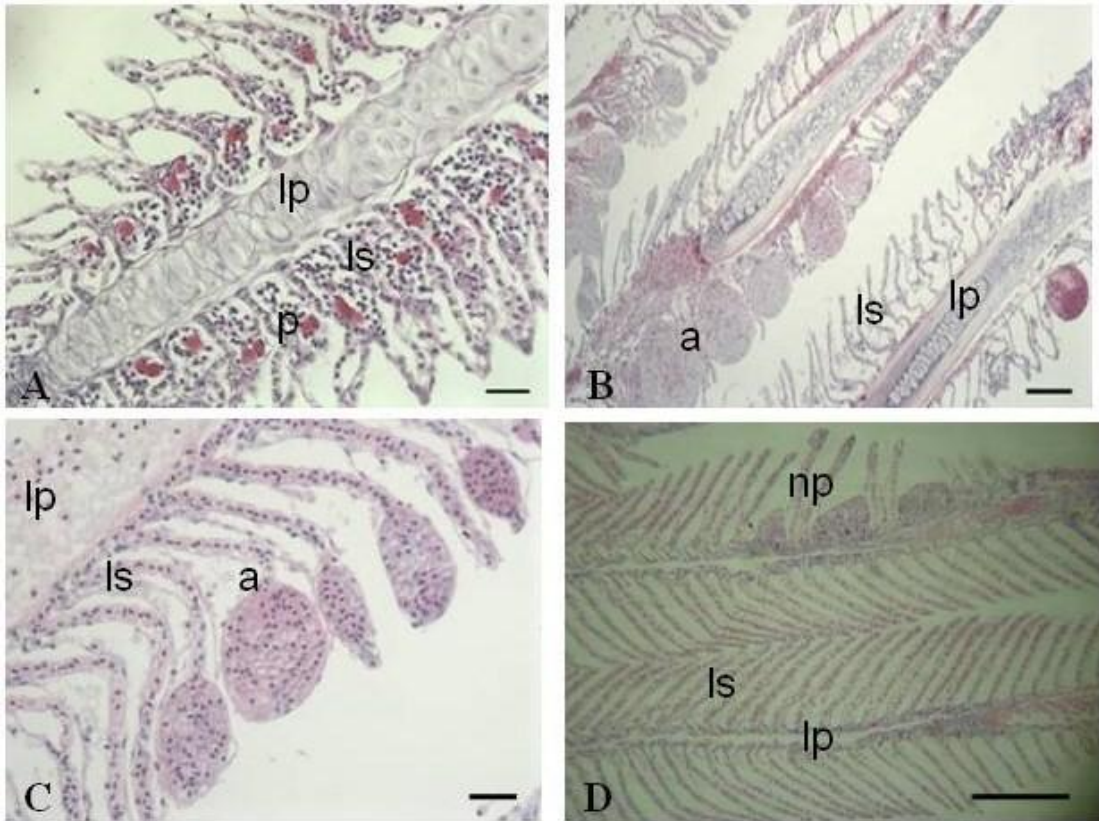


FIGURA 23. Microscopia óptica em brânquias de *Oligosarcus hepsetus*. Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). Cortes com 5µm de espessura. **A** – Parasitas (**p**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). Lamela primária (**lp**) e lamelas secundárias (**ls**). **B** – Aneurismas (**a**) em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). **C** – Aneurismas (**a**). **D** – Neoplasia (**np**) em indivíduo do reservatório Ilha dos Pombos/MG (fevereiro/2009). Barra = 100µm

6.4.2. Índice de Bernet

As médias encontradas nas lesões do fígado e brânquias das espécies *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* nas áreas amostradas durante os períodos de coleta são apresentadas nas figuras 24 e 25.

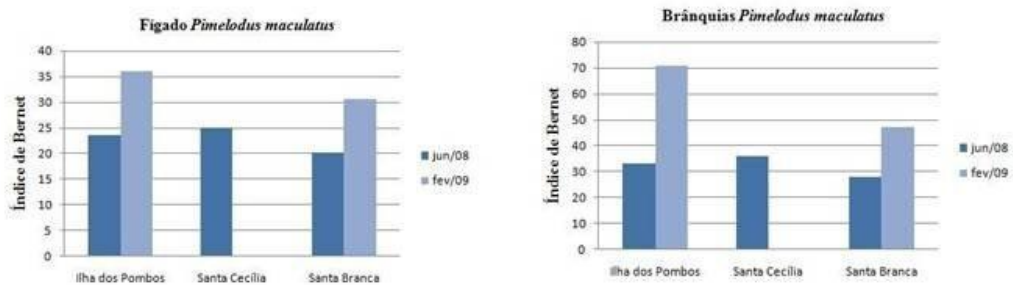


FIGURA 24. Médias encontradas para o Índice de Bernet nas coletas de junho/2008 e fevereiro/2009 para *Pimelodus maculatus* (Mandi).

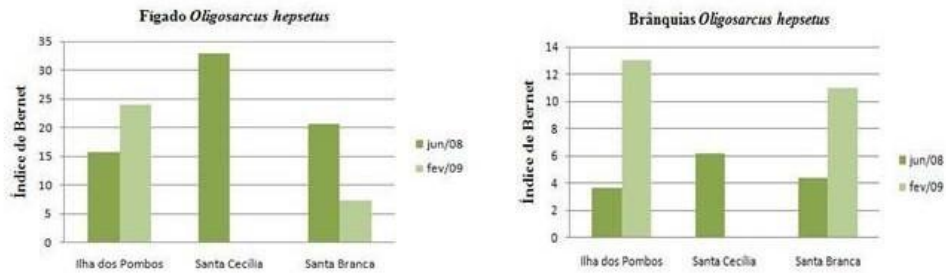


FIGURA 25. Médias encontradas para o Índice de Bernet nas coletas de junho/2008 e fevereiro/2009 para *Oligosarcus hepsetus* (Bocarra).

Estatisticamente não houve diferença significativa nas lesões encontradas no fígado de *Pimelodus maculatus* entre as UHEs e entre as coletas, indicando comprometimento semelhante da saúde desses animais. No entanto, diferenças significativas foram observadas nas lesões em brânquias de *Pimelodus maculatus* entre junho/2008 e fevereiro/2009 na UHE Ilha dos Pombos e UHE Santa Branca (Figura 26).

Diferenças significativas foram encontradas para a espécie *Oligosarcus hepsetus* em lesões do tecido hepático entre junho/2008 e fevereiro/2009 na UHE Ilha dos Pombos e UHE Santa Cecília.

Entretanto, não houve diferença significativa nas lesões encontradas nas brânquias de *Oligosarcus hepsetus*.

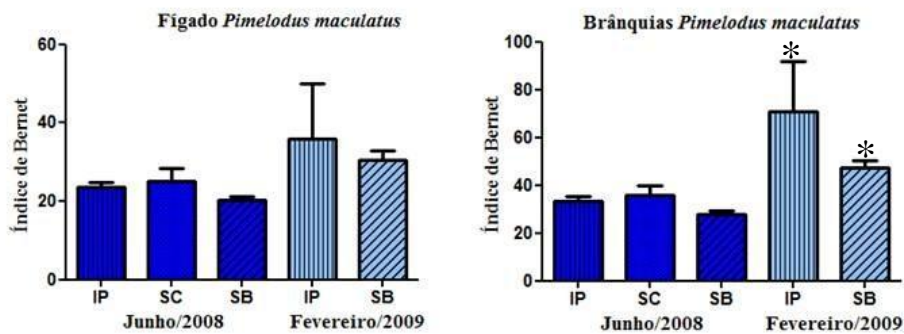


FIGURA 26. Índice de Bernet nas coletas de junho/2008 e fevereiro/2009 para *Pimelodus maculatus* (Mandi). (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$).

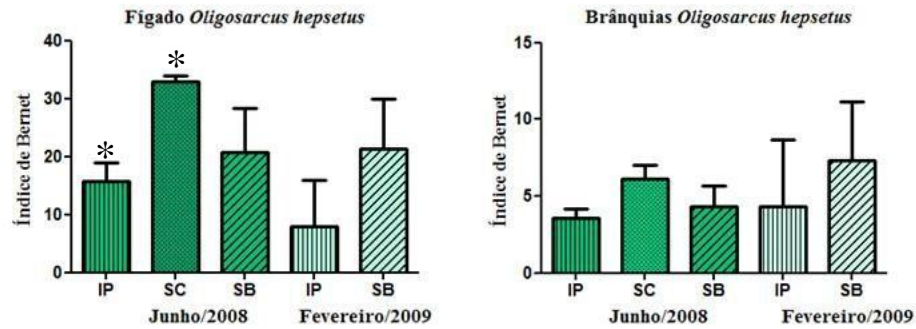


FIGURA 27. Índice de Bernet nas coletas de junho/2008 e fevereiro/2009 para *Oligosarcus hepsetus* (Bocarra). (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$).

6.4.3. Contagem dos Centros de Melano-macrofágos

O resultado da contagem de centros de melano-macrofágos no fígado de *Pimelodus maculatus* pode ser visualizado na Figura 28.

Na análise dos centros de melano-macrofágos em *Pimelodus maculatus* pode-se notar enormes áreas, normalmente não observados em outros animais, destacando os indivíduos da primeira fase de campo (Figura 28).

No fígado, os CMMs quando corados com HE apresentam uma coloração variando entre o marrom claro e o amarelo. Os dois pigmentos mais frequentes nas alterações patológicas são a melanina e a hemosiderina. No entanto, uma nova coloração foi sugerida como contraprova.

A nova coloração foi realizada no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no Departamento de Anatomia Patológica, Setor de Coloração Especial pelo técnico Maurício de Oliveira. O material foi corado com Tricômio de Masson e o resultado foi positivo para melanina.

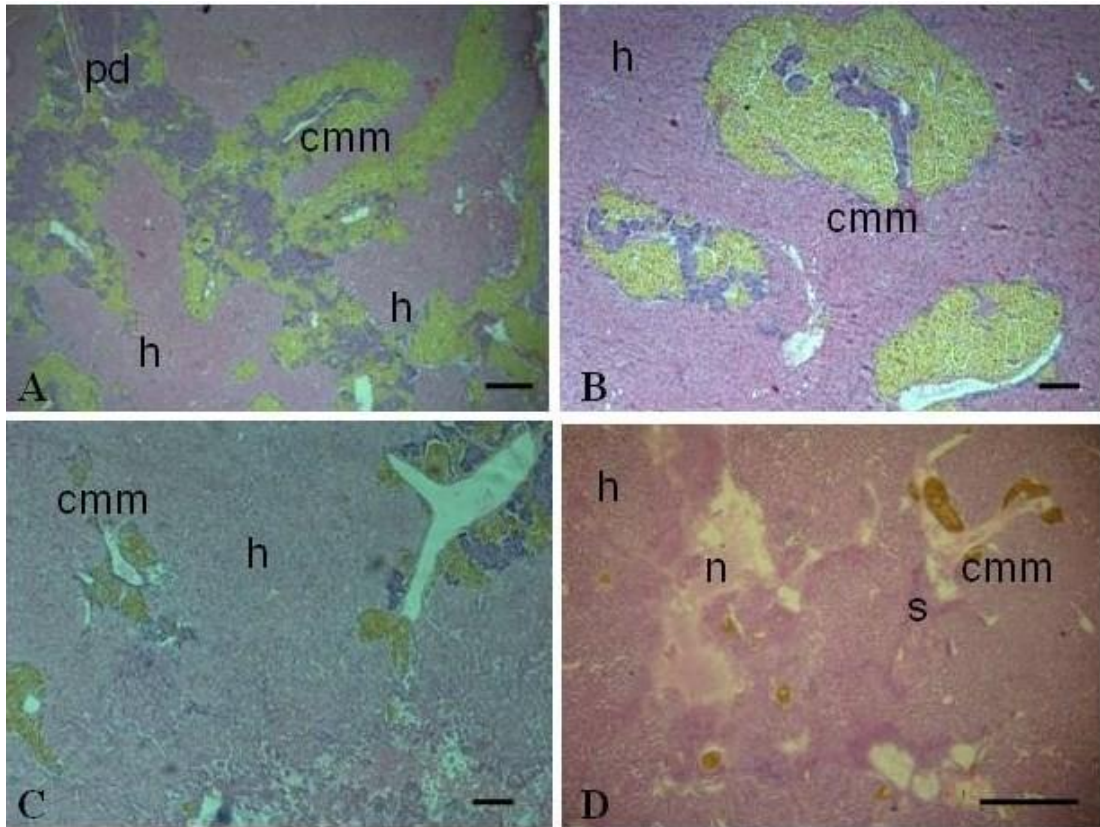


FIGURA 28. Microscopia óptica em fígado de *Pimelodus maculatus*. Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). Cortes com 5 μ m de espessura. **A** – Centros de melano-macrófagos (**cmm**) em indivíduo do reservatório Ilha dos Pombos (junho/2008). Tecido pancreático difuso (**pd**). Parênquima hepático (**h**). **B** – Centros de melano-macrófagos em indivíduo do reservatório Ilha dos Pombos (junho/2008). **C** – Centros de melano-macrófagos em indivíduo do reservatório Santa Cecília/RJ (junho/2008). **D** – Centros de melano-macrófagos em indivíduo organismo do reservatório Santa Branca/SP (fevereiro/2009). Necroses (**n**). Sinusóides (**s**). Barra = 100 μ m.

O reservatório de Santa Cecília (junho/2008) apresentou os indivíduos com as maiores áreas (mm^2) de centros de melano-macrófagos, entretanto diferenças estatísticas não foram encontradas.

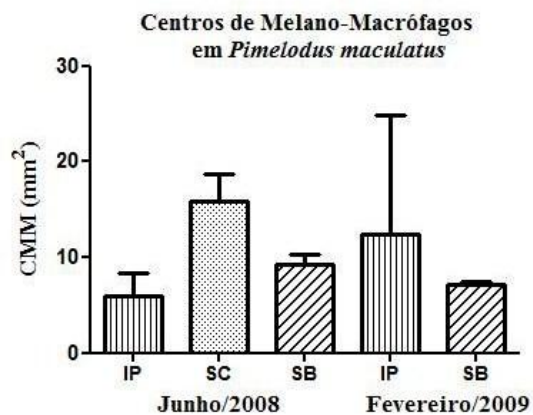


FIGURA 29. Ocorrência de centros de melano-macrófagos (CMM) no fígado de *Pimelodus maculatus* nos períodos de coletas de junho/2008 e fevereiro/2009 nas áreas amostradas. ($P = 0,0782$; $F = 2,446$).

6.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises ultraestruturais do tecido branquial das espécies *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* confirmaram as alterações observadas no estudo histopatológico.

Nos representantes da espécie *Pimelodus maculatus*, pode-se notar uma proliferação celular entre as lamelas secundárias (Figura 30A), a presença de parasito (Figura 30C) e neoplasia (Figura 30E). Além dessas alterações, também observadas em microscopia de luz, os resultados das análises a nível estrutural indicam grande incidência de alterações no epitélio branquial (Figura 30B/D).

Nos representantes da espécie *Oligosarcus hepsetus*, pode-se notar em maior intensidade a proliferação de células do epitélio e fusões lamelares (Figura 31B/C). Alterações essas, não verificadas em microscopia de luz.

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) também possibilitou a visualização de um tecido sem alterações, das lamelas primárias e secundárias bem definidas, bem como a superfície epitelial bem organizada para ambas espécies representadas pelas figuras 30F e 31A/D. A análise ultraestrutural permitiu ainda, observar as diferenças morfológicas no tecido branquial entre as espécies estudadas.

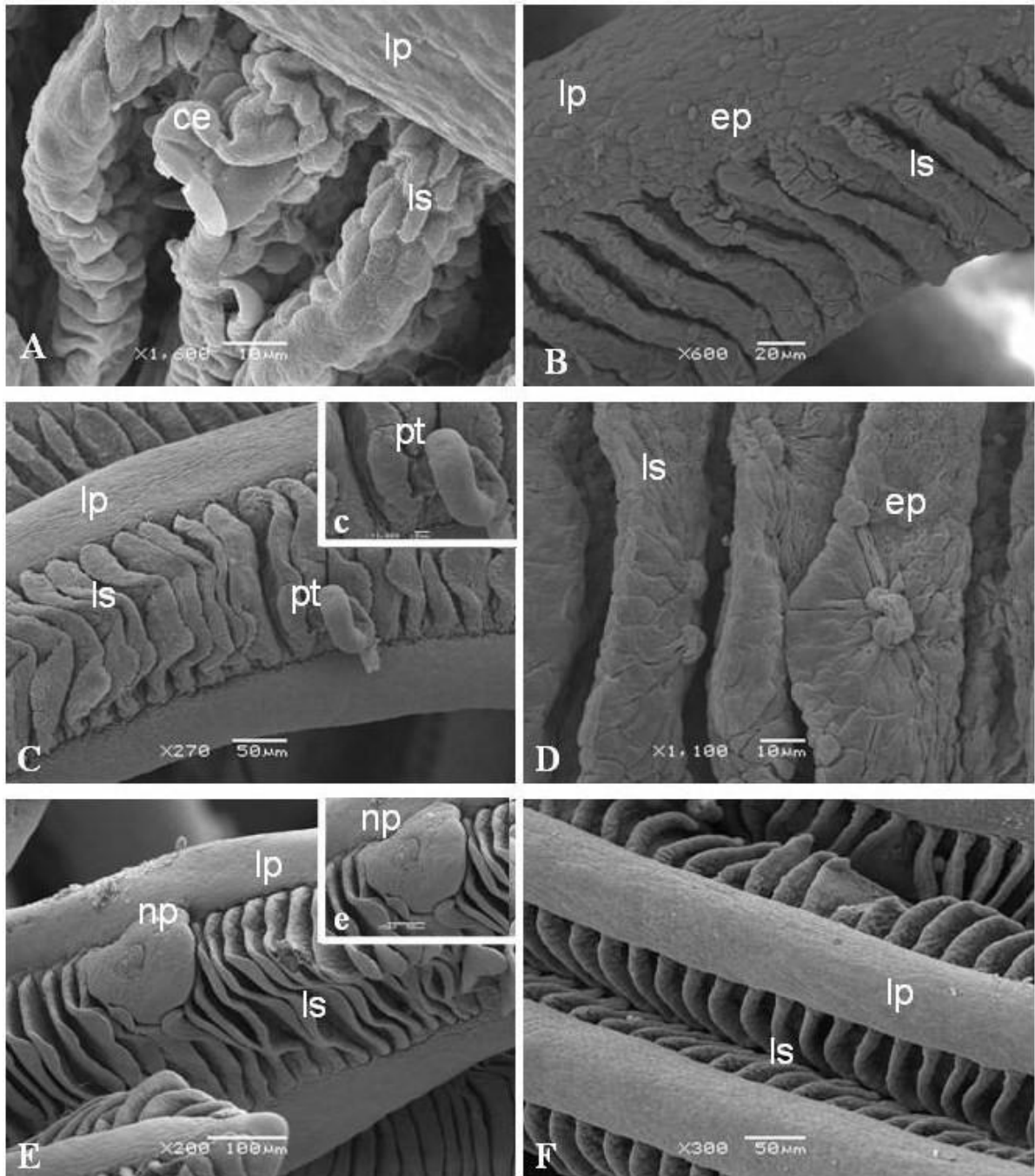


FIGURA 30. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) em brânquias de *Pimelodus maculatus*. **A** – Estrutura das lamelas secundárias (**ls**) e lamela primária (**lp**). Proliferação celular (**ce**). **B** – Alterações no epitélio (**ep**). **C** – Parasito (**pt**) nas lamelas secundárias (**ls**). **c** – Parasito (**pt**). **D** – Alterações no epitélio (**ep**). **E** – Neoplasia (**np**). **e** - Neoplasia (**np**). **F** – Tecido sem alterações (fevereiro/2009). Lamela primária (**lp**). Lamelas secundárias (**ls**).

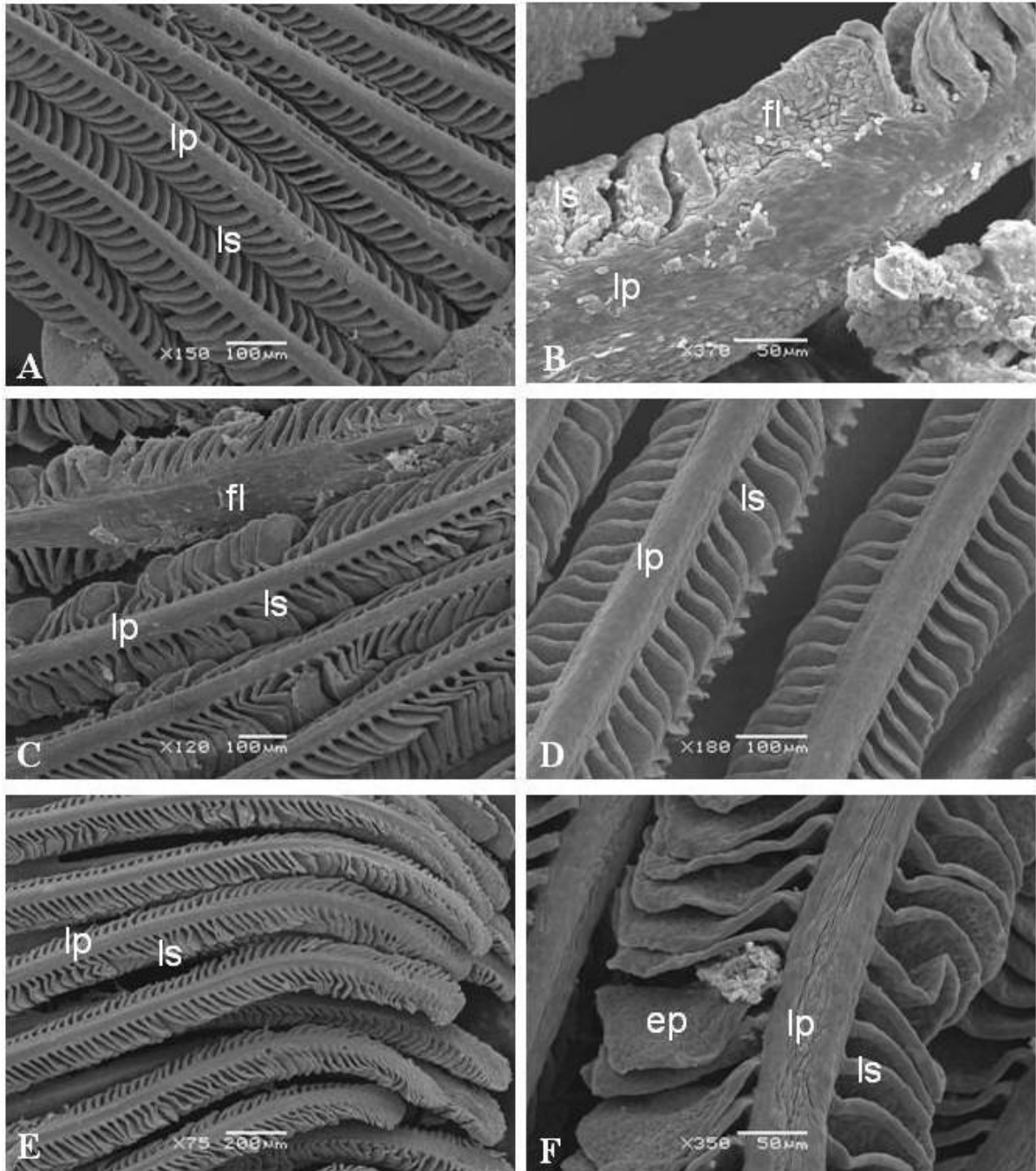


FIGURA 31. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) em brânquias de *Oligosarcus hepsetus*. **A** – Tecido sem alterações (junho/2008). Lamela primária (**lp**) e lamelas secundárias (**ls**). **B** – Proliferação do epitélio com fusão da lamelar (**fl**). **C** – Proliferação do epitélio com fusão da lamelar (**fl**). **D** – Tecido sem alterações (fevereiro/2009). Lamela primária (**lp**) e lamelas secundárias (**ls**). **E** – Panorâmica da estrutura branquial da espécie. **F** – Alterações do epitélio (**ep**).

6.5. BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS

6.5.1. *Acetilcolinesterase*

A atividade da acetilcolinesterase (AChE) medida no músculo axial de *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus* e apresentou-se similar entre os indivíduos nas áreas amostradas no período de junho/2008. Entretanto, um aumento significativo na atividade da enzima pode ser notado no período de fevereiro/2009, principalmente em *Pimelodus maculatus*, com a maior atividade identificada reservatório Ilha dos Pombos, no período posterior a passagem da pluma contaminante contendo *Endosulfan*. Porém, Santa Branca, reservatório à montante do local do vazamento, também apresentou acréscimo na atividade em relação ao período anterior.

Não foi observada correlação entre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em músculo e o comprimento total (CT) nos exemplares de *Pimelodus maculatus* ($n= 55$, $R^2= 0,001$ e $p= 0,8477$). (Figura 32).

Oligosarcus hepsetus também apresentou atividade enzimática superior no período de fevereiro/2009. Contudo, não houve diferença estatística para a espécie.

Foi observada correlação negativa entre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em músculo e o comprimento total (CT) nos exemplares de *Oligosarcus hepsetus* ($n= 55$, $R^2= 0,3367$ e $p<0,05$). (Figura 33).

6.5.2. *Catalase*

A atividade da catalase (CAT) medida em *Pimelodus maculatus* (Figura 32) e *Oligosarcus hepsetus* (Figura 33) apresentou-se similar entre os indivíduos nas áreas amostradas no período de junho/2008. Entretanto, um aumento significativo na atividade da enzima pode ser notado no período de fevereiro/2009, em ambas as espécies, com a maior atividade relatada no reservatório Santa Branca. Entretanto, o aumento da atividade foi significativo estatisticamente apenas para *Pimelodus maculatus* com $p<0,05$.

6.5.3. Glutathione S-Transferase (GST)

A atividade da glutathione s-transferase (GST) medida em *Pimelodus maculatus* apresentou-se muito semelhante entre os indivíduos e áreas amostradas para ambos os períodos (Figura 32).

Em *Oligosarcus hepsetus* (Figura 33) foi observado um declínio evidente na atividade da GST em Santa Cecília, Santa Branca (junho/2008) e Ilha dos Pombos e Santa Branca (fevereiro/2009) com diferenças significativas ($p < 0,05$).

6.5.4. Lipoperoxidação (LPO) – microplaca

A quantificação da lipoperoxidação (LPO) medida em *Pimelodus maculatus* (Figura 32) e *Oligosarcus hepsetus* (Figura 33) apresentou-se similar entre os indivíduos nas áreas amostradas no período de junho/2008. Entretanto, uma menor concentração da LPO pode ser notada para a espécie *Oligosarcus hepsetus* no período de fevereiro/2009, embora não sendo significativa estatisticamente.

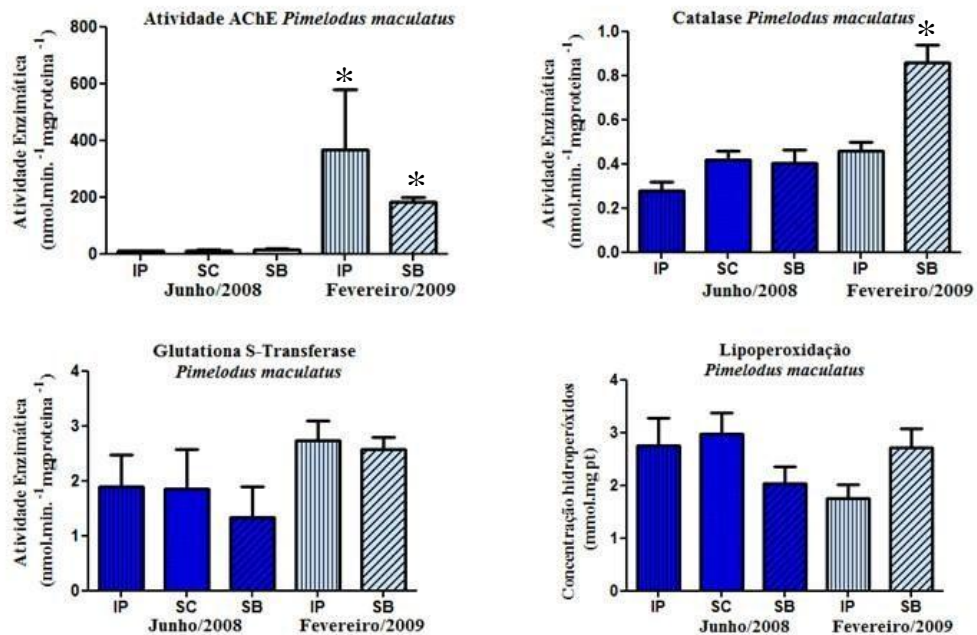


FIGURA 32. Resultados das análises bioquímicas para *Pimelodus maculatus* nos três reservatórios estudados, onde IP=Ilha dos Pombos, SC=Santa Cecília e SB=Santa Branca. **A.** Atividade da acetilcolinesterase. **B.** Atividade da catalase. **C.** Atividade da glutamina s-transferase. **D.** Concentração de hidroperóxidos. (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$).

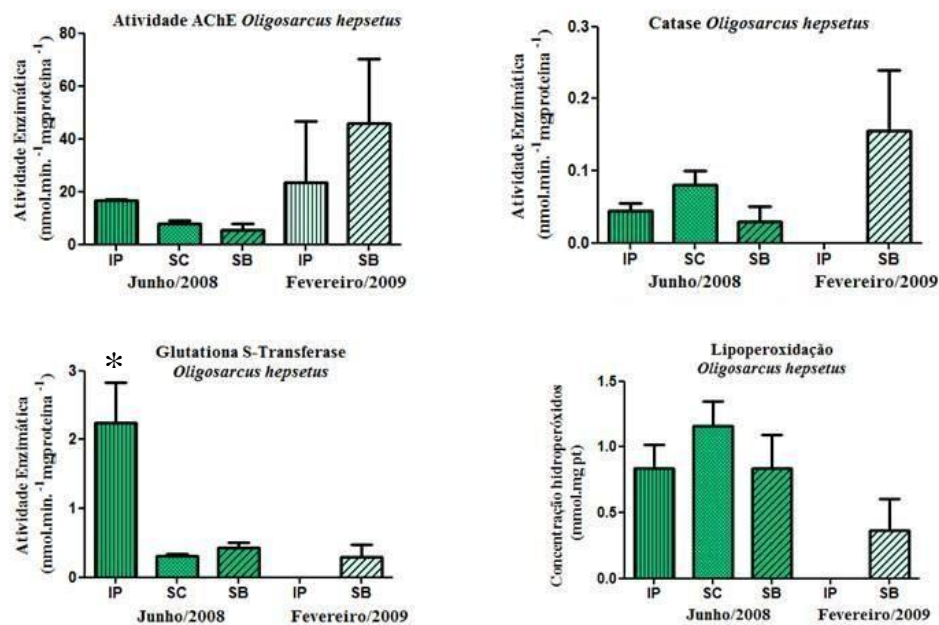


FIGURA 33. Resultados das análises bioquímicas para *Oligosarcus hepsetus* nos três reservatórios estudados, onde IP=Ilha dos Pombos, SC=Santa Cecília e SB=Santa Branca. **A.** Atividade da acetilcolinesterase. **B.** Atividade da catalase. **C.** Atividade da glutamina s-transferase. **D.** Concentração de hidroperóxidos. (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$).

7. DISCUSSÃO

O estudo da biota através de monitoramento e avaliação dos sistemas aquáticos vem alcançando grande importância na detecção de impactos de origem antrópica, pois apresenta-se como uma metodologia bastante aceita no gerenciamento de recursos aquáticos, segundo a hipótese que comunidades bióticas alteradas refletem impactos ou alterações causadas em seus habitats (LOEB, 1994; SCOTT e HALL, 1997). Existem estudos onde comunidades de peixes têm sido usadas neste sentido, pois à medida que seus habitats são modificados observam-se também alterações na composição da comunidade (ANGERMEIR e KARR, 1984). A vantagem deste método é que estas comunidades integram a totalidade de fatores ambientais de um rio e, portanto, representam uma ferramenta de avaliação de qualidade, rápida, econômica e compreensiva (PALLER et al., 1996).

Estudos sobre a composição da ictiofauna do rio Paraíba do Sul indicam Characiformes e Siluriformes com as famílias mais abundantes (BRITSKI, 1972; BIZERRIL, 1994 e 1995; ARAÚJO, 1983, 1995, 1996 e 2001). Segundo Bizerril (1994), os Siluriformes apresentam maior número de espécies no rio seguido pelos Characiformes, o que foi observado neste estudo, onde *Pimelodus maculatus* (Siluriformes, Pimelodidae) foi mais abundante e permitiu uma melhor avaliação da saúde dos indivíduos, enquanto a espécie *Oligosarcus hepsetus* (Characiformes, Characidae) foi menos abundante, dificultando a análise dos dados.

A diferença entre o número de animais capturados para as duas espécies não pode ser associada com a diferenciação do esforço amostral, pois para ambas as espécies, áreas amostradas (UHEs) e períodos (seca e cheia), o esforço de pesca pode ser considerado satisfatório com aproximadamente 15 redes de espera na água com três a quatro despescas diárias. Segundo o Instituto de Pesca/SP, dependendo da espécie objeto de captura, é empregado um ou vários apetrechos de pesca com diferentes malhagens, no entanto, o principal é a rede de espera, instalada na água no final da tarde e retirada no início da manhã.

O baixo N amostral encontrado neste trabalho, além de ser um reflexo das alterações ambientais características da área estudada, fato bastante descrito na literatura (ARAÚJO, 1983 e 1996; RAMALHO et al 1999), também pode ser explicada pelas amostragens terem sido restritas ao canal principal do rio, notadamente em suas margens, hipótese também relacionada no trabalho de Araújo et al, 2001.

Pimelodus maculatus pertence a um gênero de peixes que realiza migrações reprodutivas em vários sistemas lóticos brasileiros (GODOY, 1962) para amadurecimento de suas gônadas, reproduzindo-se durante grandes enchentes. Para um bom sucesso reprodutivo, faz-se necessário a ocorrência conjunta de fatores, destacando-se cheias grandes e prolongadas, temperatura elevada e permanente, e turbidez baixa (AZEVEDO, 1972). Esta espécie também apresenta fácil adaptação às águas represadas e possui resistência às variações ambientais.

Oligosarcus hepsetus foi caracterizada por ter um longo período reprodutivo, fecundidade relativamente baixa, comprimento de primeira maturação gonadal precoce e desova parcelada (GOMIERO et al., 2005). Ressalta-se a importância das matas ribeirinhas para o fornecimento e a manutenção das condições bióticas e abióticas favoráveis à espécie, que apresenta dieta carnívora com diferenciação ontogenética, sendo que os indivíduos menores são principalmente insetívoros e os maiores ictiófagos (BOTELHO et al, 2007).

Pimelodus maculatus apresenta maior plasticidade trófica em relação à *Oligosarcus hepsetus*. Espécies oportunistas podem ser vistas como uma expressão da capacidade de utilizar uma diversidade de recursos alimentares em condições adversas, onde espécies menos tolerantes não seriam capazes de utilizar (TEIXEIRA et al., 2005).

Segundo Odum (1969), quando os recursos naturais são alterados, as espécies especialistas são substituídas pelas oportunistas. Rougharden (1974) concorda com tal hipótese, quando afirma que peixes generalistas apresentam maior vantagem sobre os peixes especialistas, o que também foi mencionado por Krebs (1985), que afirma que a grande maioria das espécies tem pequena abundância, provavelmente, devido à limitada disponibilidade de alimento ou por não suportar a baixa qualidade da água causada por alterações antrópicas. Isto é uma indicação de que o ambiente embora bastante alterado pela presença de poluentes, não é fator limitante na ocorrência das espécies, porém provavelmente contribuiu para a baixa abundância encontrada neste estudo.

Outro fator relevante para a variação no número de animais coletados para cada espécie pode estar relacionado a hipótese de que, apesar de não ocorrer uma definida separação das unidades geográficas do rio Paraíba do Sul devido à ampla diferenciação de paisagens e dos habitats ao longo da bacia, é possível que algumas espécies apresentem habitats preferenciais e restritos (TEIXEIRA et al., 2005).

As variações das estações do ano também podem ser outro fator contribuinte para a diferença no número de indivíduos entre as duas espécies. Estudos apontam que durante o período chuvoso (verão), o número de indivíduos distribuídos ao longo dos trechos do rio é superior ao período de seca (inverno). Um estudo sobre as assembléias de peixes do rio Paraíba do Sul (TEIXEIRA et al., 2005) aponta maior abundância de espécies no período chuvoso. Outro estudo realizado por Alves *et al* (2009) no Rio Grande do Sul demonstrou que 65% das espécies analisadas foram capturadas no verão. A diferença pode ser atribuída às maiores temperaturas geralmente registradas no período, favorecendo o deslocamento da maioria das espécies para alimentação e reprodução, conforme o registrado por Cerdeira *et al.* (2000) que, estudando a pesca no baixo Amazonas afirmam que variações ambientais favorecem migrações para reprodução e alimentação.

As variações ambientais e inter-espécies podem estar contribuindo para o baixo número de animais coletados durante os períodos amostrais, mas também deve-se considerar o derramamento químico de *Endosulfan* que ocorreu em novembro/2008 durante o período de estudo.

Uma falha em uma conexão de um caminhão-tanque dentro da empresa Servatis Agro & Fine Chemicals provocou o vazamento de 8.000 litros do pesticida *Endosulfan* para o rio Paraíba do Sul, sendo este um organoclorado persistente e de toxicidade conhecida. Segundo a Light S/A foram retirados mais de 100 toneladas de peixes mortos no reservatório Ilha dos Pombos, a última UHE situada no rio Paraíba do Sul. Segundo o Laudo Técnico da Secretaria Estadual de Meio Ambiente do Rio de Janeiro (em Anexo), mais 75 toneladas de peixes foram incineradas no forno da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN). Em decorrência do acidente e como medida preventiva, foi recomendada suspensão da captação de água no Paraíba do Sul para as cidades imediatamente à jusante do local do acidente. Visando ainda prevenir a contaminação do Rio Guandu, foi determinado o fechamento da comporta onde ocorre a transposição de águas do Rio Paraíba para aquele importante manancial. Com o objetivo de mitigar os impactos do acidente, acelerando o processo de dispersão da pluma de contaminação, foi estabelecido a abertura das comportas da Represa de Funil, aumentando a vazão do Rio Paraíba do Sul. Após comprovado que as concentrações do *Endosulfan* encontravam-se abaixo dos limites estabelecidos pela Portaria nº 518, do Ministério da Saúde, foi liberada a transposição de água em Santa Cecília para abastecimento da Região Metropolitana do Rio de Janeiro.

Conforme constatado, entre os dias 18 e 28 de novembro/2008, a pluma contaminante migrou por mais de 400 km ao longo do Rio Paraíba do Sul, de Resende/RJ até sua foz, em São João da Barra/RJ, provocando, em toda a sua extensão, mortandade de espécies variadas de peixes, atingindo tanto as de interesse econômico como aquelas de interesse ecológico, associadas à cadeia trófica do ecossistema fluvial.

Além disso, registra-se o fato do acidente ter ocorrido no período reprodutivo da ictiofauna, atingindo milhares de indivíduos em estágio avançado de maturação gonadal, conforme Relatório do Projeto Piabanha (SOUZA, 2008), comprometendo a reposição dos estoques pesqueiros para os próximos anos. Fato também percebido pelos órgãos ambientais competentes, tais como Secretaria Estadual de Meio Ambiente do Rio de Janeiro e Instituto Estadual do Ambiente (Inea) que como medida de compensatória ambiental iniciaram o “Programa de Recuperação da Fauna do Rio Paraíba do Sul” como a reposição artificial de alevinos ao longo do canal.

Claramente, pode-se considerar o vazamento do pesticida um grande agravante e contribuidor para o N amostral muito baixo registrado em fevereiro/2009. Conforme consta no Relatório da Fundação Instituto de Pesca do Rio de Janeiro, com base em depoimentos de pescadores e ribeirinhos, foram coletadas nas margens do rio cerca de 40 espécies nativas e exóticas afetadas pelo *Endosulfan*, destacando-se *Pimelodus maculatus* e *Oligosarcus hepsetus*.

Os pesticidas clorados podem ser introduzidos no organismo através da via cutânea, digestiva e respiratória. Porém, se o organismo absorve, numa única dose, elevada quantidade de pesticida, a reação é imediata e os sintomas podem ser fatais (FLORES et al., 2004). A toxicidade para *Brachydanio rerio* a $CL_{50}/96h$ (concentração letal para 50% dos indivíduos no intervalo de 96 horas) é menor que 0,01 ppm (HASSANIE, 2008).

Além das diferenças fisiológicas e comportamentais de cada espécie, e o derramamento de endosulfan na área de estudo, também existem outros fatores ambientais e sociais que devem ser considerados na análise se monitoramento ambiental e que podem ajudar a explicar o baixo número de exemplares coletados para as duas espécies em estudo.

A variação sazonal do fluxo da água é outro fator estruturador das comunidades de peixe dos rios (WOOTTON, 1992). Os maiores fluxos correspondem ao período do verão (chuvoso) e os menores ao inverno (seco). O período chuvoso apresenta certa regularidade, iniciando-se geralmente em novembro e prolongando-se até o início do outono. Os máximos

ocorrem em janeiro e, ocasionalmente, em março (BARBIERE e KRONENBERG, 1994). Em um dos locais amostrados no trecho médio-inferior, as vazões naturais observadas em fevereiro/2009 foram superiores a média histórica do período, conforme o Boletim de Monitoramento do Sistema Hidráulico do Rio Paraíba do Sul (ANA, 2009). Pode-se observar picos de vazões no reservatório de Santa Cecília/RJ nos dias próximos a 14 de fevereiro/2009, época de coleta deste estudo, superando as médias de vazões de todos os reservatórios do Sistema Light. Durante o período de chuvas, tal área tornou-se difícil de ser amostrada em função da limitação de acessibilidade.

No verão, as maiores pluviosidades carregam para o rio maior quantidade de material alóctone, aumentando a disponibilidade de alimento. No entanto, em áreas de intensa atividade humana ocasiona aumento do material em suspensão e facilita a dispersão de poluentes (TEIXEIRA et al., 2005), pois as partículas em suspensão são os principais meios de transporte para metais pesados, por exemplo, dentro do sistema Paraíba do Sul (RAMALHO et al, 1999).

Tradicionalmente, a pesca na região, de acordo com Torloni (1990), era exercida sobre espécies abundantes, de grande e médio portes. Com a construção das grandes barragens, que provocaram profundas modificações no ambiente e nas comunidades aquáticas, a composição das capturas recaiu principalmente sobre espécies de pequeno e médio porte, algumas introduzidas e que melhor se adaptaram às novas condições oferecidas pelos ambientes de águas paradas, dentre elas: lambaris e mandi. No entanto, em razão dos barramentos dos rios, desmatamentos nas encostas, poluição agroindustrial e doméstica, assoreamento, introdução de espécies alóctones (de outras bacias) e também o excesso de pesca em determinadas áreas, os estoques de peixes têm se ressentido, ao longo dos anos, havendo diminuição em volume (Instituto de Pesca de São Paulo, 2009).

Para se avaliar a qualidade ambiental como um todo, é preciso obter informações que estejam integradas entre os fatores bióticos e abióticos que regem o funcionamento do ecossistema. Entretanto, as análises das condições físico-químicas apresentaram inúmeras diferenças, tanto entre os reservatórios das UHEs Ilha dos Pombos, Santa Cecília e Santa Branca como entre os períodos de coletas, o que era esperado. No entanto, deve-se destacar que o reservatório Ilha dos Pombos foi o que apresentou as maiores diferenças físico-químicas em relação aos demais reservatórios. Isto pode ser explicado pelo fato deste localizar-se à

jusante das demais UHEs, ao norte do Estado do Rio de Janeiro, no trecho inferior do rio Paraíba do Sul, mais próximo a foz do rio.

Ecoregiões têm sido definidas como unidades geográficas que geralmente exibem similaridades no mosaico dos recursos ambientais, ecossistemas e efeitos do homem (BAILEY, 1983). Embora este conceito ainda não tenha sido aplicado no Brasil, uma separação das condições ambientais parece ocorrer ao longo do rio Paraíba do Sul. O trecho superior, com altitude entre 500 e 1800 metros, onde se encontram as nascentes do rio, apresenta clima tropical de altitude, declividade elevada e variável, determinando o caráter dinâmico do sistema fluvial. Tais condicionantes ambientais diferem do trecho relativamente plano que compreende o médio-superior e médio-inferior. Estes dois trechos apresentam maior diversidade na fisiografia, com o rio apresentando desde meandros e áreas planas inundáveis. O clima é mesotérmico, com verões quentes e chuvosos e invernos secos. O trecho inferior caracteriza-se por apresentar um número elevado de sistemas lênticos com pequena declividade e temperaturas elevadas.

Nos ecossistemas aquáticos continentais, a quase totalidade da propagação do calor ocorre por transporte de massa d'água. As maiores médias de temperatura foram registradas em Santa Branca/SP no período de fevereiro/2009, favorecendo a reprodução das espécies, fato constatado por este estudo, onde dos 20 espécimes de *Pimelodus maculatus* amostrados, 80% apresentou estágio gonadal avançado.

A determinação do oxigênio dissolvido é de fundamental importância para avaliar as condições naturais da água e detectar impactos ambientais como eutrofização e poluição orgânica.

Do ponto de vista ecológico, o oxigênio dissolvido é uma variável extremamente importante, pois é necessário para a respiração da maioria dos organismos que habitam o meio aquático. Geralmente o oxigênio dissolvido se reduz ou desaparece, quando a água recebe grandes quantidades de substâncias orgânicas biodegradáveis encontradas, por exemplo, no esgoto doméstico e resíduos industriais. Estes se caracterizam como fontes pontuais, localizadas e bem identificadas, responsáveis por significativa depleção do oxigênio nos cursos d'água. No caso dos esgotos industriais em particular, ainda a contribuição de metais e de diversas substâncias potencialmente poluidoras (JORDÃO, 2006). As maiores médias de oxigênio (dissolvido e porcentagem) foram observadas na segunda fase de coleta, provavelmente atribuídas às grandes vazões registradas no período.

O Potencial Hidrogeniônico (pH) é usado para expressar o grau de acidez ou basicidade de uma solução, ou seja, é o modo de expressar a concentração de íons de hidrogênio. As medidas de pH são de extrema utilidade, pois fornecem inúmeras informações a respeito da qualidade da água. Geralmente um pH muito ácido ou muito alcalino está associado à presença de despejos industriais (JORDÃO, 2006). No entanto, o pH encontrado nos reservatórios das UHEs foi de aproximadamente 7,5 em média, valor considerado satisfatório segundo a Resolução do CONAMA 357/2005.

A turbidez é a quantidade de material particulado não dissolvido, encontrado suspenso no corpo d'água, composto por substâncias inorgânicas e orgânicas. Sua principal influência é na diminuição na transparência da água, impedindo a penetração da luz. Os sedimentos em suspensão podem carrear nutrientes e pesticidas, capazes de comprometer as funções branquiais dos peixes e até interferir na habilidade do animal se alimentar ou escapar de seus predadores. O aumento da turbidez pode ocorrer em períodos chuvosos em função do grande aporte de material que é carregado para o corpo d'água em questão, entretanto a maior média de turbidez encontrada neste estudo ocorreu no período de seca (junho/2008) no reservatório da UHE Ilha dos Pombos, fato que pode estar ligado à posição geográfica desta UHE, que recebe todo aporte vindo dos demais reservatórios, considerada uma área de planície e sistema lântico.

A salinidade total da água age sobre a biota aquática, interferindo no processo osmótico. A maior média de salinidade foi 0,03 ppt, observada no reservatório Santa Cecília no período de junho/2008, valor considerado normal dentro dos padrões da Resolução do CONAMA 375/2005.

Neste estudo foram medidos índices somáticos como uma forma de associar o estado geral de saúde dos organismos (DOMINGOS, 2006). Esse indicador pode ser utilizado em espécies distintas para avaliar diferentes condições ambientais (LE CREN, 1951; LIZAMA e AMBRÓSIO, 2002; GOMIERO e BRAGA, 2003 e FROESE, 2006 *apud* TAVARES-DIAS et al., 2008). A relação peso-comprimento permite a determinação indireta do peso através do comprimento e vice-versa; a análise do ritmo de crescimento, através do coeficiente alométrico e a indicação do estado fisiológico do peixe (AGOSTINHO e GOMES *apud* SANTOS et al., 2002).

A ocorrência de valores próximos no fator de condição de *Pimelodus maculatus* nas áreas amostrais (Ilha dos Pombos, Santa Cecília e Santa Branca), indica que o estado de saúde

destes animais é similar em cada um dos reservatórios avaliados. Entretanto, os baixos valores do fator de condição em *Oligosarcus hepsetus* no reservatório de Ilha dos Pombos no período de fevereiro/2009 sugerem um estado de saúde inferior desses peixes em relação ao período observado previamente. Diferenças também foram encontradas entre o reservatório Ilha dos Pombos e o reservatório Santa Branca no período de fevereiro/2009, no entanto, Santa Branca está localizada em São Paulo, ou seja, montante do local de vazamento do *Endosulfan*, embora esta não seja a única causa do impacto neste ecossistema.

Variáveis como a idade, condição fisiológica do peixe e o próprio ambiente, podem contribuir para a ocorrência de variações no tamanho do fígado desses animais (TAVARES et al., 2008). Em peixes este órgão pode estocar grande quantidade de gordura e glicogênio (GERMAM e KOZLOVSKAYA, 2001), ingredientes energéticos estratégicos para a manutenção da homeostasia, principalmente durante condições adversas. Assim como o índice de condição, o índice hepatossomático apresentou valores próximos em *Pimelodus maculatus* nas áreas amostrais (Ilha dos Pombos, Santa Cecília e Santa Branca), indicando que o estado de saúde destes animais é similar em cada um dos reservatórios avaliados. A espécie *Oligosarcus hepsetus*, no entanto, da mesma forma que para o índice de condição, apresentou o IHS inferior no reservatório de Ilha dos Pombos no período de fevereiro/2009 quando comparado com Santa Branca, sugerindo um estado de saúde comprometido naquela área.

Embora o fígado possa variar no formato e tamanho entre as espécies de peixes (TAVARES-DIAS et al., 2000; TAVARES-DIAS, 2004; RANZANI-PAIVA e TAVARES-DIAS, 2002), os exemplares das espécies em estudo apresentaram o peso do fígado em geral proporcional ao peso corporal do animal, corroborando estudos com algumas espécies, tais como *O. niloticus*, *P. mesopotamicus*, *L. macrocephalus* e o híbrido tambacu (TAVARES et al., 2008).

Entre os diversos biomarcadores utilizados em estudos de monitoramento ambiental, a histopatologia é uma ferramenta que vem sendo utilizada de forma cada vez mais frequente nos estudos de toxicologia para determinar os efeitos tóxicos causados por agentes estressores em nível de organismo, representando uma integração cumulativa de efeitos fisiológicos e bioquímicos (MYERS e FOURNIE, 2002).

Sendo assim, as alterações histológicas aparecem como uma resposta para avaliar o estresse após períodos de exposição subletal, subcrônica ou crônica, fornecendo um método

rápido para detectar efeitos de poluentes em vários tecidos e órgãos (JOHNSON, STEHR, OLSON, MYERS, PIERCE, WIGREN, MCCAIN e VARANASI, 1993). A exposição de peixe a contaminantes químicos pode induzir uma série de lesões em diferentes órgãos (SINDERMANN, 1979; BUCKE, VETHAAK, LANG e MELLERGAARD 1996), e os órgãos alvos preferenciais para este tipo de estudo são especialmente as brânquias, fígado e rins (BERNET, 1999).

As alterações histopatológicas observadas neste estudo apresentaram variações entre as áreas amostradas, sugerindo que estas são sensíveis indicadores de qualidade de água. A ocorrência de lesões histopatológicas foi frequente nos três reservatórios estudados, sendo Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecília/RJ e Santa Branca/SP, sugerindo que os contaminantes, embora em níveis diferentes, estão presentes em todas as áreas estudadas. A sensibilidade aos poluentes, bem com as lesões induzidas por estes pode variar de acordo com a suscetibilidade da espécie, a idade dos animais, o sexo e o estágio de maturidade sexual, a sazonalidade e a capacidade de migração (BERNET, 1999). Fatores diretamente envolvidos neste estudo.

Algumas alterações encontradas no tecido hepático das espécies podem ser consideradas irreversíveis, levando a perda parcial ou total do órgão, como as necroses presentes em quase todos os espécimes amostrados. A resposta inflamatória também foi muito observada neste estudo, através da infiltração de leucócitos, células capazes de penetrar nas paredes dos vasos sanguíneos e atingir o tecido. Alterações inflamatórias podem estar associadas em processos de contaminação mais específicos. A vacuolização celular foi observada, especialmente em *Pimelodus maculatus*, podendo estar relacionado ao acúmulo fisiológico intra-específico de lipídeos ou um mecanismo de defesa contra contaminantes lipossolúveis (BIAGIANTI – RISBOURG et al., 1997).

Lesões neoplásicas e pré-neoplásicas foram identificadas tanto no tecido hepático quanto no tecido branquial, sendo consideradas mais específicas para detecção de exposição a substâncias contaminantes como Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), Bifenilas Policloradas (PCBs), Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT), Dieldrin e outros organoclorados (JOHNSON et al.,1993; MYERS et al.,1994; VETHAAK, 1994).

As brânquias apresentam-se como marcadores primários ou agudos de poluição por possuírem grandes superfícies de contato direto e permanente com a água, conseqüentemente com substâncias potencialmente poluidoras. O tecido branquial possui células produtoras de muco que desempenham um papel importante na resistência às doenças, patógenos e

substâncias tóxicas, bem como uma vasta gama de outras funções (SHEPHARD, 1994). O aumento na atividade secretora de muco provavelmente está associado como resposta ao estresse causado pela presença de contaminantes (DOMINGOS, 2006). Outras lesões foram observadas nas brânquias, sobretudo os aneurismas, encontrados na maioria dos espécimes amostrados. Estas lesões estão associadas às condições anormais de fluxo sanguíneo no tecido, onde os vasos apresentam-se extremamente dilatados.

Foi observada uma infestação parasitária na primeira fase de campo durante o período de junho/2008. Akaishi (2003) avaliou a frequência de parasitos em estudo em peixes, entretanto, não foi possível relacionar a distribuição destes com a ação direta de contaminantes. Sabe-se que a infecção por parasitas está relacionada não apenas as condições abióticas, mas também a eficiência imunológica dos animais, necessitando, portanto de mais investigação.

A incidência e a ausência de centros de melano-macrófagos são descritas como resultado da supressão do sistema imunológico sendo usado como biomarcador da poluição ambiental nos estudos com chumbo, TBT e mercúrio (MIRANDA, 2006; RABITTO et al., 2005; MELA et al., 2007). No entanto, os CMMs são citados na literatura não apenas relacionados com processos de defesa do organismo, mas, sobretudo com privação de alimento, envelhecimento, degradação de tecidos, condições alimentares, metabolismo do ferro e da hemoglobina (RABITTO, 2003). Outros trabalhos sugerem que o crescimento dos CMMs esteja relacionado com respostas inflamatórias, estocagem, destruição e detoxificação de substâncias exógenas e endógenas e na reciclagem do ion férrico (WOLKE, 1992). Neste estudo foi observado grandes extensões de CMMs no tecido hepático de *Pimelodus maculatus* acompanhados por um grande número de respostas inflamatórias em todas as áreas amostradas corroborando a literatura. Entretanto, a presença da melanina neste processo ainda não é esclarecida. O processo de formação da melanina ocorre em organelas especializadas denominadas melanossomos nos melanócitos. Agius, 1985 *apud* Rabitto, 2005, observou que s fagócitos dos CMMs não possuem maquinaria necessária para a síntese da melanina, sugerindo a síntese em outro local. Estudos futuros serão necessários para compreender a(s) função(ões) deste pigmento no tecido hepático e se este atua no sistema antioxidante do organismo, especialmente em *Pimelodus maculatus*, o que parece ser a hipótese mais aceitável.

Adicionalmente, o uso de biomarcadores bioquímicos demonstra ser uma ótima ferramenta para estudos de toxicologia ambiental. Através destes é possível detectar os efeitos tóxicos de contaminantes nos níveis basais de organização biológica, mesmo que estes estejam em baixa concentração no ambiente, uma vez que são bastante sensíveis (STEGEMAN et al., 1992 *apud* AKAISHI, 2003).

A AchE pode ser considerada como um dos mais antigos biomarcadores em peixes (STURM, 2000). Neste estudo, a atividade da AchE apresentou um grande incremento na segunda fase de campo ocorrida em fevereiro/2009, após um vazamento de *Endosulfan* no rio Paraíba do Sul. Estudos comprovam que essa enzima pode ser inibida por outros poluentes como metais pesados, hidrocarbonetos e mesmo o endosulfano (ZINKL et al., 1991; PAYNE et al., 1996; DIAMANTINO et al., 2000). Porém, a capacidade do endosulfano em causar inibição da acetilcolinesterase é tema de controvérsia na literatura. Um estudo avaliou o efeito da exposição de ratos a este pesticida por via oral por um período de 30 dias. A atividade da AchE de tecido cerebral sofreu um incremento nos grupos em tratamento com endosulfano em relação ao grupo controle (MALLIK et al., 2000). No entanto, resultados provenientes de trabalhos com ratos não podem ser simplesmente extrapolados para peixes (SILVA DE ASSIS, 2005).

Gill et al. (1990), estudando os efeitos do endosulfano, de organofosforado e de carbamato sobre a modulação enzimática em tecidos do peixe *Puntius conchoniis*, observaram que o endosulfano causou inibição da AchE em tecido cerebral e indução desta enzima em músculo esquelético e no fígado. Os autores atribuíram esta indução à pseudocolinesterase, enzima sintetizada no fígado.

Vários estudos indicam que a atividade acetilcolinesterásica muscular esquelética obedece a uma relação inversa do comprimento total das espécies. Ocorre que neste estudo, as duas espécies apresentaram tamanhos médios maiores na 2ª coleta acompanhadas pelo aumento na atividade da AchE, contrariando a literatura, porém indicando a ocorrência de um mecanismo neurotóxico, tanto no reservatório Ilha dos Pombos, atingido pelo organoclorado *Endosulfan*, quanto no reservatório Santa Branca, à montante do vazamento.

A atividade da catalase observada neste estudo apresentou-se similar entre os organismos e as áreas amostradas, entretanto, no reservatório Santa Branca (fevereiro/2009) nota-se um acréscimo da atividade enzimática pra ambas espécies. A catalase vem sendo considerada um biomarcador de contaminação importante, mas alguns estudos demonstraram

que essa enzima pode ser influenciada também pela variação da temperatura, salinidade e luz (POWER e SHEEHAN, 1996), podendo interferir na interpretação dos dados, especialmente em estudos de campo. A alta produção de H_2O_2 pode causar danos às células, tais como alteração do balanço redox, inativação de enzimas, degradação de proteínas, peroxidação de lipídio, danos no DNA e até morte celular (LIVINSGTONE et al., 1990). Altos níveis de catalase podem significar que o sistema antioxidante da célula está ativo e eficaz, no entanto a baixa atividade da catalase pode significar também uma inibição neste sistema de defesa, o que poderia ser corroborado por análises químicas nos tecidos destes animais.

A atividade da glutathione S-transferase (GST) apresentou uma inibição na segunda fase de campo. A toxicidade dos metais pesados é relatada como causa da depleção da GST, resultando na produção de espécies reativas de oxigênio e consequentemente induzindo LPO (COMPANY et al., 2004), no entanto, para o mesmo período não foi observada aumento da LPO mas sim uma diminuição se comparado com o outro período. Novamente a falta de análises químicas dificulta uma interpretação adequada, principalmente dos dados bioquímicos, além disso não pode-se descartar uma associação com as condições climáticas atípicas no ano de 2009 como relatadas no Boletim de Monitoramento do Rio Paraíba do Sul. Estudos demonstram que as atividades enzimáticas diferem na sazonalidade, fator presente neste estudo, considerando a alta pluviosidade e vazão constatadas para o mês de fevereiro/2009 nos reservatórios.

As atividades enzimáticas também podem estar relacionadas às diferenças fisiológicas entre as espécies estudadas, como estágio de desenvolvimento gonadal e níveis hormonais, uma vez que a GST é uma importante enzima envolvida na degradação dos hormônios esteróides (BALDWIN e LEBLANC, 1994).

Uma melhor compreensão dos dados sobre os biomarcadores bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo com os peixes da bacia do rio Paraíba do Sul faz-se extremamente necessária. Estudos futuros que utilizem mais espécies, em substituição ao *Oligosarcus hepsetus* que apresentou baixa abundância neste trabalho, incluindo mais fases de campo, outras áreas a serem amostradas, como do reservatório de captação de água para o consumo no Rio de Janeiro, são importantes para avaliações mais conclusivas. Além disso, o uso de exposição controlada de indivíduos como o uso de gaiolas pode ser um desenho experimental eficiente e mais favorável a uma avaliação mais conclusiva quanto à qualidade da água destes reservatórios.

Embora as áreas no entorno dos reservatórios apresentem-se parcialmente protegidas de ocupações habitacionais, todo percurso do rio Paraíba do Sul é marcado por grandes núcleos urbanos, conseqüentemente o rio é utilizado como depositário de grande recarga de efluentes na maioria das vezes sem o tratamento adequado. Com o incremento populacional ao longo dos anos, as tendências para ocupações irregulares, ou seja, muito próximas ao leito do rio, não só aumentam descarga de esgotos não-tratados, mas principalmente promovem a retirada de toda vegetação ripária no trecho longitudinal do rio, potencializando a entrada de poluentes no sistema provenientes do solo sem a proteção da cobertura vegetal.

Grandes complexos industriais foram estabelecidos ao longo desta região, incluindo metalúrgicas de ferro e produtoras de aço, fábricas de papel, plástico, borracha e produtos químicos, somando cerca de 600 indústrias (Governo do Estado do Rio de Janeiro, 1999). Contudo, em alguns trechos, é observado o maior nível de poluição, como entre os municípios de Barra Mansa e Barra do Piraí, local do reservatório Santa Cecília, onde o rio atravessa o complexo industrial de Volta Redonda e, um pouco mais à jusante, situa-se o local de captação da água para produção de energia pela Light S/A. Depois de utilizada na usina, a água é encaminhada para a CEDAE (Companhia de Águas e Esgotos do Estado do Rio de Janeiro), tratada de acordo com as normas técnicas vigentes e distribuída para suprimento da população do município do Rio de Janeiro.

A bacia do rio Paraíba do Sul é especialmente sujeita a acidentes, não só pela expressiva concentração de indústrias de grande potencial poluidor, como pela densa malha rodo-ferroviária, com intenso movimento de cargas perigosas que trafegam pelas rodovias Presidente Dutra (Rio-São Paulo) e BR-040 (Rio-Juiz de Fora), e acidentes ocorridos em outros estados chegam até o rio Paraíba através de seus vários afluentes.

O rio Paraíba do Sul é o maior fornecedor de água do sudeste do Brasil e é responsável pela drenagem de importante região industrial e banha a quinta maior área de produção de cana-de-açúcar do país. Entretanto, várias atividades antropogênicas, incluindo a descarga de diversos poluentes metálicos (MALM et al., 1989; LACERDA et al., 1993), têm causado grandes impactos ambientais a esse rio.

Os resultados encontrados neste trabalho tornam-se relevantes no desenvolvimento de novos e contínuos programas de monitoramento ambiental, onde investigações mais detalhadas necessitariam de serem realizadas para avaliar os efeitos residuais de contaminantes na ictiofauna, principalmente aqueles provenientes de acidentes, tais quais

ocorridos no rio Paraíba do Sul. Além disso, e não muito distante desta discussão o risco para populações humanas é iminente. Os reservatórios estudados, apesar dos dados limitados gerados neste trabalho, apresentam um grande potencial na exposição humana a diversos tipos de xenobióticos.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os biomarcadores histopatológicos são importantes respostas no diagnóstico de ecossistemas aquáticos impactados, pois evidenciam através da severidade das lesões, o comprometimento da qualidade de vida dos organismos expostos.

O grau de extensão e a presença de alterações morfológicas para ambas as espécies nos reservatórios do rio Paraíba do Sul indicam que a qualidade da água está comprometida nos três UHEs e vem sofrendo impacto pela ação de contaminantes, seja de forma crônica ou aguda, visto que o rio atravessa um dos maiores complexos industriais do país.

O uso de espécies em diferentes níveis tróficos é interessante para a melhor interpretação dos dados, no entanto deve-se assegurar que estas sejam amostradas de formas equivalentes.

Pimelodus maculatus comportou-se como um excelente indicador das condições ambientais, tanto pela abundância nos reservatórios quanto pela biologia já bastante discutida na literatura.

A ocorrência de valores próximos no Fator de Condição e Índice Hepatosomático de *Pimelodus maculatus* nas áreas amostrais, indica que o estado de saúde destes animais é similar em cada um dos reservatórios avaliados, fato diferentemente observado para *Oligosarcus hepsetus*, reforçando a importância da utilização de diferentes biomarcadores.

A alta incidência de Centros de Melano Macrófagos em *Pimelodus maculatus* indica que esta estrutura pode ser utilizada como um bom biomarcador imunológico nos estudos de toxicologia ambiental.

As análises físico-químicas apresentaram variações tanto entre as UHEs como entre os períodos de campo, no entanto, todas as amostras estavam de acordo com a Resolução do CONAMA 357/05, indicando mais uma vez, a necessidade de ensaios ecotoxicológicos, fato hoje apenas sugerido na Legislação Ambiental vigente.

Os biomarcadores bioquímicos de estresse oxidativo apresentaram-se bastante diversificados nos indivíduos e áreas amostradas, no entanto pode-se considerar que todos os pontos é sugestivo a presença de estresse oxidativo.

A atividade da AChE muscular também apresentou oscilações, aumentando na segunda fase de campo, sugerindo efeitos neurotóxicos nos organismos.

Dado o esforço amostral do presente trabalho, a baixa abundância das espécies aqui estudadas é um reflexo do impacto que ecossistema vem sofrendo ao longo dos anos, sobretudo após o acidente com o pesticida organoclorado *Endosulfan* em novembro/2008, ocorrido entre as duas fases de campo. Este acidente comprometeu o período de desova das espécies, o estudo em questão e os estoques futuros das populações de peixes do rio Paraíba do Sul. Mas, por outro lado, possibilitou de forma quase única um estudo pretérito que pudesse ser utilizado posteriormente para verificar os danos do acidente.

Estudos *in situ* aliados a histopatologia tem um grande valor na compreensão dos efeitos nocivos de poluentes orgânicos dentro de ecossistemas fluviais e devem servir de suporte para que órgãos competentes estabeleçam normas mais rigorosas para utilização de pesticidas, bem com padrões de qualidade da água.

Os resultados encontrados neste trabalho tornam-se relevantes no desenvolvimento de novos e contínuos programas de monitoramento ambiental direcionados a este importante corpo hídrico, que drena a região mais populosa do país. Entretanto, medidas de prevenção devem ser tomadas em relação à bacia do rio Paraíba do Sul, com levantamento por parte dos órgãos gestores de áreas prioritárias para contenção de riscos, evitando acidentes com compostos altamente tóxicos, que comprometem não apenas o abastecimento de água da região metropolitana do Rio de Janeiro, mas principalmente à saúde de uma população de 10 milhões de pessoas que fazem uso da água proveniente deste rio.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, H. R. Drogas que Atuam Sobre os Sistemas Nervosos Somático e Autonômico. In: BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 57-109.

ADAMS, S.M.; SHEPARD K.L.; GREELEY M.S.; JIMENEZ, B.D.; RYON, M.G.; SHUGART, L.R.; MCCARTHY, J.F. The Use of Bioindicators for Assessing the Effects of Pollutant Stress on Fish. **Marine Environmental Research**, v. 28, p. 459-464, 1989.

AEBI, H. (1974). **Catalase in vitro**. Meth. Enzymol., 105, 121–126.

Agência Nacional de Águas (Brasil). **Boletim de Monitoramento dos Reservatórios do Sistema Hidráulico do rio Paraíba do Sul** / Agência Nacional de Águas, Superintendência de Usos Múltiplos. Brasília: ANA, 2009. Mensal.

Agência Nacional de Águas, 2009. Disponível em: <<http://www.ana.gov.br/>>. Acesso em Junho de 2009.

AGIUS, C., ROBERTS, R.J. Effects of starvation on the melanomacrophage centres of fish. **J. Fish. Biol.** v.19, p. 161–169, 1981.

AHMAD, I.; MARIA, V.L.; OLIVEIRA, M.; PACHECO, M.; SANTOS M.A. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to α -naphthoflavone. **Mutation Research**. 608:16–28. 2006.

AKAISHI, F.M. Avaliação do Potencial Tóxico da Fração Solúvel de Petróleo em Água (FSA) em *Astyanax sp* Utilizando Biomarcadores de Contaminação. Dissertação de Mestrado – UFPR, 141p. 2003.

ALVES, C.B.M.; GODINHO, A.L.; GODINHO, H.P.; TORQUATO, V.C. 1998 A ictiofauna da represa de Itutinga, rio Grande (Minas Gerais – Brasil). **Rev. Brasil. Biol.** v.58, p. 121-129, 1998.

AMARAL, A.; SOTO, M.; CUNHA, R.; MARIGÓMEZ, I.; RODRIGUES, A. Bioavailability and cellular effects of metals on *Lumbricus terrestris* inhabiting volcanic soils. **Environmental Pollution**, v. 142, p. 103-108, 2006.

ANDREESCU S, MARTY JL. Twenty years research in cholinesterase biosensors: from basic research to practical applications. **Biomol Eng**; v.23, p.1–15, 2006.

ANDREOLI, C.V.; CARNEIRO, C. **Gestão Integrada de Mananciais de Abastecimento Eutrofizados**. Editora da Sanepar. Curitiba, PR, 2005.

ANGERMEIER, P.L. & J.R. KARR. Relationships between woody debris and fish habitat in a small wannwater stream. **Trans. Amel' Fish. Soe.** (113): 716-726. 1984.

ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL – AGEVAP. **Plano de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Paraíba do Sul**. Diagnóstico dos Recursos Hídricos: Relatório Final. Fundação COPPETEC. Resende, RJ, 2006.

ARAÚJO, J.R.S. Projeto de biodeteção de tóxicos em sistemas fluviais de utilização em captação de água para sistemas públicos de abastecimento. Cadernos FEEMA, Série Congressos, Rio de Janeiro, 17/83 (OEPEAIDNH). 1983.

ARAÚJO, F.G. Composição e estrutura da comunidade de peixes do médio e baixo rio Paraíba do Sul, RJ. Rev. Brasil. Biol. 56 (1): 111-126. 1996.

ARAÚJO, F.G.; A.C.A. SANTOS & M.R.F. SIMONI. Variação espacial e temporal da comunidade de peixes do Médio e baixo rio Paraíba do Sul, RJ. Rev. Univ. Rural. Sér., Ciênc. da Vida, Rio de Janeiro, 17 (2) 61-73. 1995.

ARAÚJO F.G. Variações espaciais na assembléia de peixes no Rio Paraíba do Sul (Barra Mansa, Barra do Piraí), Rio de Janeiro, Brasil. Revta bras. Zool. 18 (2): 483 - 492, 2001

AZEVEDO, P. 1972. Principais peixes de água doce interiores de São Paulo, hábitos de vida. In: Poluição e Piscicultura. São Paulo, CIBPU, Faculdade de Saúde Pública USP, Instituto de Pesca, p. 109-112.

BAILEY, R. G. 1983. Delineation of ecosystems regions. **Environmental Management** 7:365-373.

BALDWIN, W.S. E LEBLANC, G.A. In vivo biotransformation of testosterone by phase I and II detoxication enzymes and their modulation by 20-hydroxyecdysone in *Daphnia magna*. **Aquatic Toxicology**. 29 (1-2), 103-117. 1994.

BARBIERE, E. B. & KRONEMBERG, D. M. P. 1994. Climatologia do litoral sul sudeste do Estado do Rio de Janeiro. **Cadernos de Geociências** 12:57-73.

BARRETO, L. **O perigo que segue o curso dos rios e mares**. Rio de Janeiro, ano 175, nº 324, 2008.

BERNE, R.M.; LEVY, M.N.; KOEPPEN, B.M.; STANTON, B.A. **Fisiologia**. Rio de Janeiro, ed. 5, 2004.

BERNET, D.; SCHIMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARD-HOLM, P.; WAHLI, T. **Histopathology in Fish: Proposal for a Protocol to Assess Aquatic Pollution**. Journal of Fish Diseases. V.22, p. 25-34.1999.

BIAGIANTI-RISBOURG, S., PAIRAULT, C., VENET, G., BOULEKBACHE, H. Effect of lindane on the ultrastructure of the liver of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immune cells: head kidney phagocytes and peripheral blood leucocytes. **Toxicology**. v. 145, p. 203-215, 1997.

BIZERRIL, C.R.S.F. Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biológica Leopoldensia*, São Leopoldo, 16 (I): 51-80, 1994.

BIZERRIL, C.R.S.F. Estrutura quantitativa de comunidades de peixes em um rio costeiro do sudeste brasileiro. *Acta Biológica Leopoldensia*, São Leopoldo, 17 (2): 57-80, 1995.

BIZERRIL, C. R. S. F. The ichthyofauna of the Rio Paraíba do Sul watershed. **Biodiversity and biogeographic patterns. Brazilian Archives of Biology and Technology** 42:233-250, 1999.

BOTKIN, D. B. ; KELLER, E. A. **Environmental Science: Earth as a Living Planet.** 4TH edition.USA, 2000.

BOTELHO, M.L.L.A.; Gomiero, L.M.; Braga, F.M.S. **Alimentação de *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) (Characiformes) no Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia, São Paulo, Brasil.** *Braz. J. Biol.* vol.67 n°.4 São Carlos Nov. 2007

BRADFORD, M. A **Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding.** *Anal. Biochem*, v.72, p.248-254, 1976.

BRAGA, F.M.S. and GOMIERO, L.M. 1997 Análise da pesca experimental realizada no reservatório de Volta Grande, rio Grande (MG-SP). **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 24, p. 131-138, 1997.

Brasil das águas, 2009. Disponível em: <<http://www.brasildasaguas.com.br/>>. Acesso em junho de 2009.

BRITSKI, H.A. Peixes de água doce do estado de São Paulo – Sistemática. p. 79- 108. *In: Comissão Interestadual da Bacia do Paraná-Uruguai* (Ed). **Poluição e piscicultura.** São Paulo, Faculdade de Saúde Pública USP, Instituto de pesca, 216p. 1972.

CERDEIRA, R. G. P.; RUFFINO, M. L.; ISAAC, V. J. 2000. Fish catches among riverside communities around Lago Grande de Monte Alegre, Lower Amazon, Brazil. **Fisheries Management & Ecology**, 7 (4): 355-374.

COMPANY, R.; SERAFIM, A.; BEBIANNO, M.J.; COSSON, R.; SHILLITO, B.; FIALAMEDIONE, A. Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. **Marine Environmental Research**. 58: 377–381. 2004.

Conselho Nacional de Meio Ambiente/CONAMA, 2009. Disponível em: <http://www.conama.gov.br/>. Acesso em setembro de 2009.

BUCKE, D., VETHAAK, D., LAN, T. e MELLERGAARD, S. Common Diseases and Parasites of Fish in North Atlantic :Training Guide for Identification. International Council for the Exploration the of the Sea Techniques in Marine Environmental Sciences. Copenhagen, 1996.

DIAMANTINO, T. C. et al. Toxicity of sodium molybdate and sodium dichromate to *Daphnia magna* straus evaluated in acute, chronic and acetylcholinesterase inhibition tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 45, p. 253-259, 2000.

DOMINGOS, F. X. V. **Biomarcadores de Contaminação Ambiental em Peixes e Ostras de Três Estuários Brasileiros e Cinética de Derivados Solúveis de Petróleo**. Tese de doutorado em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 116f, 2006.

ECOBICHON, D.J. Toxic effects of pesticides. In: Amdur MO, Doull J, Klaassen CD, editors. **Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons**. 4a ed. New York: Mc Graw-Hill; 1991.

Fishbase, 2009. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/>>. Acesso em março de 2009.

FLORES *et al.* Organoclorados: Um problema de saúde pública. *Ambiente & Sociedade* Vol. VII nº. 2 jul./dez. 2004.

FREIRE, A. G. & AGOSTINHO, A. A. 2000. Distribuição espaço temporal de oito espécies dominantes da ictiofauna da bacia do Alto Paraná. **Acta Limnológica Brasiliensis** 12:105-120.

Fundação Centro de Informações e Dados do Rio de Janeiro (CIDE), 2007. Disponível em: <<http://www.cide.rj.gov.br/>>. Acesso em outubro de 2009

Fundação Instituto de Pesca do Rio de Janeiro (FIPERJ), 2008. Disponível em: <<http://www.fiperj.gov.br/>>. Acesso em agosto de 2009.

GALGANI, F.; BOCQUENÉ, G.; CADIOU, Y. Evidence of variation in cholinesterase activity in fish along a pollution gradient in the North Sea. **Marine Ecology Progress Series**, v. 91, p. 72-82, 1992.

GERMAM, A. V. e KOZLOVSKAYA, V. I. 2001 Hepatosomatic index e the biochemical composition of the liver in *Abramis brama* in the Sheksna Stretch of the Rybinsk reservoir at different levels of toxicant accumulation. *Journal of Ichthyology*, New York, 41:160-163.

GILL, T. S.; JAISHREE, P.; TEWARI, H. Enzyme modulation by sublethal concentrations of aldicarb, phosphamidon, and endosulfan in fish tissues. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 38, p. 231-244, 1990.

GODOY, M. P. 1962. Marcação, migração e transplantação de peixes marcados na bacia do rio Paraná Superior. **Arquivos do Museu Nacional** 52: 105-113.

GODOY, M.P.D.E. Peixes do Estado de Santa Catarina. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1987. 572p

GOMIERO, L. M.; GARUANA, L.; BRAGA, F. M. S. **Reproduction of *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) (Characiforms) in the serra do mar state park, São Paulo, Brazil.** Fevereiro de 2008. Braz. J. Biol.

GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 1999. Análise Ambiental. Projeto BRA/96/017 – PS-RE-074-R0. Disponível em: <http://www.hidro.ufrj.br/pqarji>. Acessado em agosto de 2009.

HASSANIE, A. Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico. Rio Grande do Sul, 2008.

HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. Glutathione Transferase. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, [S.l.], v. 45, p. 51-88, 2005.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis/IBAMA, 2009. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/>. Acesso em agosto de 2009.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística/IBGE, 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/>. Acesso em março de 2009.

Instituto de Pesca de São Paulo, 2009. Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br/>. Acesso em outubro de 2009.

J. F. G. P. RAMALHO et al. **Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação.** R. Bras. Ci. Solo, 23:971-979, 1999.

JIANG, Z-Y.; HUNT, J.V.; WOLFF, S.P. **Ferrous Ion Oxidation in the Presence of Xylenol Orange for Detection of Lipid Hydroperoxide in Low Density Lipoprotein.** Anal. Biochem., v.202, p.384-389, 1992.

JIANG, Z-Y.; WOOLLARD, A.C.S.; WOLFF, S.P. **Lipid Hydroperoxides Measurement Byoxidation of Fe²⁺ in the Presence of Xylenol Orange. Comparison with the TBA Assay and Aniodometric Method.** Lipids, v.26, p.853-856, 1991.

JOHNSON, L.L.; STEHR, C.M., OLSON, O.P.; MYERS, M.S.; PIERCE, S.M.; WIGREN, C.A.; MCCAIN, B.B.; VARANASI, U. Chemical Contaminants and Hepatic Lesions in Winter Flounder (*Pleuronectes americanus*) from the Northeast Coast of the United States. **Environmental Science and technology**, v. 27, p. 2759-2771, 1993.

JORDAO, E. P. Água - Uso Racional. Engenharia Sanitária e Ambiental. v. 1, p. 30-31, 2006.

KEEN, J.H.; HABIG, W.H.; JAKOBY, W.B. **Mechanism for Several Activities of the Glutathione Stransferases.** J. Biol. Chem., v.251, p.6183-6188, 1976.

KLEMZ, C.; SILVA DE ASSIS, H.C. Efeitos do endosulfano na atividade da acetilcolinesterase de cascudo (*ancistrus multispinnis*, fish, Teleostei). **Rev. Acad., Curitiba**, v.3, n.4, p. 51-58, out/dez. 2005.

KREBS, C.L. 1985. Ecology. Harper & Row, New York, 800p.

LEKNES, I.L. The uptake of foreign ferritin by macrophages in the spleen, trunk kidney and liver of platy. **J. Fish Biol.** v. 59, p.1412–1415, 2001.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água**. Editora Átomo. Campinas, SP, 2005.

LIGHT Energia, 2009. Disponível em: <http://www.lightenergia.com.br/>. Acesso em março de 2009.

LIMA-JUNIOR, S.E.; GOITEIN R. Diet and feeding activity of *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes, Pimelodidae) in the Piracicaba river (state of São Paulo, Brazil) – The effect of seasonality. **B. Inst. Pesca, São Paulo**, v. 30, p. 135 - 140, 2004.

LIVINGSTONE, D. R., GARCIA MARTINEZ, P., MICHEL, X., NARBONNE, J. F., O'HARA, S., RIBERA, D.; WINSTON, G. W. Oxyradical production as a pollution-mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L., and other mollusks. **Funct. Ecol.** v. 4, p. 415-424, 1990.

LOBÓN-CERVIÁ, J. e 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). **Arch. Hydrobiol**, v. 149, p. 285-306, 2000.

LOEB, S.L. 1994. An ecological context for biological monitoring, p. 3-7. In: S.L. LOEB & A. SPACIE (Ed.). **Biological monitoring of aquatic systems**. Boca Raton, Lewis Publishers, 381p.

LOLIS, A.A.; ANDRIA, I.F. Alimentação de *Pimelodus maculatus* Lacépède 1803 (Siluriformes, Pimelodidae), na planície de inundação do Alto Rio Paraná, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 23, n.único, p.187-202, 1996.

MELA, M.; RANDI, M.A.F.; VENTURA, D.F.; CARVALHO, C.E.V.; PELLETIER, E. OLIVEIRA RIBEIRO, C.A. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2007

Ministério de Ciência e Tecnologia, 2009. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/>. Acesso em novembro de 2009.

MYERS, M. S.; FOURNIE, J. W. Histopathological Biomarkers as Integrators of Anthropogenic and Environmental Stressors. In: Adams, S. M **Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress**. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, p 221-287, 2002.

NEVES, R.L.S. **Avaliação da contaminação de óleo no ambiente estuarino da Baía de Guanabara (RJ) pela determinação fluorimétrica de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) na bÍlis de peixes *Mugil liza***. Dissertação de Mestrado. PUC/RJ, 120p. 2006.

ODUM, E.P. 1969. Ecologia. São Paulo, Pioneira, 20 I p.

OLIVEIRA RIBEIRO, C.A., FILIPACK NETO, F., MELA, M., SILVA, P.H., RANDI, M.A.F., COSTA, J.R.A., PELLETIER, E., Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead and tributyltin chloride. **Environ. Res.**, v. 101, p. 74–80, 2006.

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; SILVA DE ASSIS, H. C. AChE inhibition as a biomarker for pollutants contamination in tropical aquatic ecosystems. In: PARVEEN, M.; KUMAR, S. (Eds). **Recent Trends in the Acetylcholinesterase System**. Netherlands:[s.n.], 2005. p.103-124.

Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), 2002. Disponível em: <<http://www.fao.org.br> />.

PALACE VP, DICK TA, BROWN SB, BARON CL, KLAVERKAMP JF. Oxidative stress in Lake Sturgeon *Acipenser Ful_escens*. orally exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran. **Aquatic Toxicology**. 35: 79-92. 1996.

PALLER, M.H. 1996. Use of Fish Communities to Assess Environmental Impacts in South Carolina Coastal Plain Streams. **Trans. Amer. Fish. Soc** 125: (5): 633-644.

PAYNE, J.F.; MATHIEU, A.; MELVIN, W. & FANCY, L.L. Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in new found land. **Marine pollution bulletin**, v. 32, p.225-231, 1996.

Plano de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Paraíba do Sul. Fundação COPPETEC Laboratório de Hidrologia e Estudos de Meio Ambiente. Rio de Janeiro, 2006.

POWER, A., SHEENAN, D. Seasonal variation in the antioxidant defence system of gill and digestive gland of the blue mussel, *Mytilus edulis*. **Compar. Biochem. And Physiol.** Part 114C, v. 2, p. 99-103, 1996.

RABITO, I.S. ; COSTA, J.R.M.A. ; ASSIS, H.C.S. ; PALLATIER, É. ; AKAISHI, F.M. ; ANJOS, A. ; RANDI, M.A.F; RIBEIRO, C.O. Effects of dietary PB (II) and tributyltin on tropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. *Ecotoxicology na Environmental Safety*. V. 60 p. 147 – h 156.2005.

RADI, A.A.R. E B. MATKOVICS, Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein content and lipid peroxidation of carp tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 90: 69-72.1988.

RAMADE, François. **Dictionaire Encyclopédique Des Sciences De L' Eau**. Ediscience International. 2ª Edição. Paris, 1998.

Revista Fórum, 2009. Disponível em: <<http://www.revistaforum.com.br/casoservatis/>>. Acesso em agosto de 2009.

ROCHA, M. A.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I.Y.; Julian Cristina BOROSKY, J.C.; ANTUNES, M.I.P.P. Comparações entre famílias de meio irmãos paterno através do fator de condição de Fulton, alométrico e a taxa de crescimento em curimatá (*Prochilodus lineatus*). Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 29, n. 4, p. 947-954, out./dez. 2008.

ROMEO, M., BENNANI, N., GNASSIA-BARELLI, M., LAFAURIE, M., GIRARD, J.P. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Aquatic Toxicology**, 48:185–194. 2000.

ROUGHGARDEN, J. 1974. Species packing and the competition function with illustrations from coral reef fish. *Theoretical Pop. Bio.*, San Diego, 5: 163- 186.

SANTOS, E. **Peixes de água doce**. Rio de Janeiro: Briguít, 270p, 1954.

SCOTI, M.C. & L. W. HALL JR. 1997. Fish Assemblages as Indicators of Environmental Degradation in Maryland Coastal Plain Streams. **Trans. Amer. Fish. Soc.** 126 (3): 349-359.

SIDERMAN, C. J. Pollution-associated diseases and abnormalities of fish and shellfish : a review. **Fishery and Bulletin**.76, 717-749, 1979.

SILVA, G.S. Avaliação do efeito de exposição crônica ao mercúrio em *Hoplias malabaricus* (BLOCK, 1974) coletados na usina hidrelétrica de Samuel – Rondônia. Dissertação de mestrado em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 89f, 2007.

SILVA DE ASSIS, H. C. **Der Einsatz Von Biomarkern zur summarischen Erfassung Von Gewässerverschmutzungen**. Berlim, 1998. 98 f. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) – Universidade Técnica de Berlim, 1998.

SOUZA, G. Relatório Preliminar Sobre a Mortandade de Peixes Provocada Pelo Produto Endosulfan no Curso Médio Inferior Rio Paraíba do Sul. Dezembro, 2008.

STENESH, J. Biochemistry. New York: Plenum. 1998. In: Bioindicadores de Contaminação em Peixes de Água Doce, por Exposição ao Chumbo (II): ensaios laboratoriais e estudos de caso preliminar no Rio Ribeira (SP/PR) (COSTA, J. R. M. A).

STURM, A. et al. Different sensitivity to organophosphates of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase from Three-spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) application in biomonitoring. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, p. 1607-1615, 2000.

SANCHEZ, W., PALLUEL, O., MEUNIER, L., COQUERY, M., PORCHER, J.M., AITAÏSSA, S. Copper-induced oxidative stress in three-spined stickleback: relationship with hepatic metal levels. **Environmental Toxicology Pharmacology**. 19: 177–183. 2005.

SANTOS, A.F.G.N. et al. **Relação peso-comprimento e fator de condição do Acará; *Geophagus brasiliensis*, no Reservatório de Lajes, RJ.** Revista Universidade Rural, Rio de Janeiro, V.22, n.2, p115 – 121, 2002.

SETTI, A. A. Introdução ao Gerenciamento dos Recursos Hídricos. Agência Nacional de Energia Elétrica/ Agência Nacional de Águas. Brasília, 2001.

SILVA, G. S. **Avaliação dos Efeitos de Exposição Crônica ao Mercúrio em *Hoplias malabaricus* (BLOCK, 1974) Coletados na Usina Hidrelétrica de Samuel – Rondônia.** Dissertação de mestrado em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 89f, 2007.

TAVARES-DIAS *et al.* **Índices de condição corporal em juvenis de *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829) e *Colossomona macropomum* (Cuvier, 1818) na Amazônia.** B. Inst. Pesca, São Paulo, 34(2): 197 – 204, 2008.

TEIXEIRA *et al.* **Diversidade das assembléias de peixes nas quatro unidades geográficas do rio Paraíba do Sul.** Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre, 95(4): 347-357, 30 de dezembro de 2005.

TJALKENS R.B.; VALERIO J.R.L.G.; AWASTHI Y.C.; PETERSEN D.R. Association of glutathione S-transferase isozyme-specific induction and lipid peroxidation in two inbred strains of mice subjected to chronic dietary iron overload. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 151: 174-181. 1998.

TORLONI, C. E. C. 1990 **Pescador-Aquicultor: uma necessidade.** Série Divulgação e Informação, CESP, São Paulo.

TUNDISI, J. G. **Limnologia no século XXI: perspectivas e desafios.** Instituto Internacional de Limnologia, São Carlos, SP, 24 p., 1999.

VAN DER OOST, R. *et al.* Bioaccumulation, biotransformation and DNA binding of PAHs in feral eel (*Anguilla anguilla*) exposed to polluted sediments: a field survey. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 13, n. 6, p. 859-870, 1994.

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

VELINI, E.D.; CAVENAGHI, A.L.; NEGRISOLI, E.; MARTINS, D.; ARRUDA, D.P.; TRINDADE, M.L.B.; SANTOS, S.C.; SIMIONATO, J.L.A. Avaliação da qualidade da água e sedimento de dez Reservatórios do rio Tietê, Grande, Pardo e Mogi-Guaçu. 1999.

WIDERSTEN, M.; MANNERVIK, B. Glutathione transferase with novel active sites isolated by phase display from a library of random mutants. **Journal Molecular Biological**, [S.l.], v. 250, p. 115-122, 1995.

WOLKE, R.E; MURCHELANO, R.A; DISKSTEIN, C. & GEORGE, C.J. Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates as fish health monitors. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 35, p.222-227, 1985.

WOOTTON, R. J. 1990. **Ecology of Teleost Fishes**. London, Chapman & Hall. 404 p.

ZINKL, J. G. et al. The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. In: **Cholinesterase inhibiting insecticides**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 233-254.

ANEXOS

ANEXO I

**PROTOCOLOS PARA MICROSCOPIA DE LUZ E MICROSCOPIA
ELETRÔNICA DE VARREDURA**

1. PROCESSAMENTO DAS PEÇAS DE FÍGADO E BRÂNQUIAS PARA A OBSERVAÇÃO POR MICROSCOPIA DE LUZ

- Fixador

ALFAC (álcool, formol 10% e ácido acético)
--

- Técnica de imersão

- Tempo de fixação de 16 hs

- Desidratação

Baterias de álcool 01h30min cada:
1º Álcool 80%
2º Álcool 90%
3º Álcool 95%
4º Álcool 100% (I)
5º Álcool 100% (I)

- Diafanização

Baterias:	
Xilol + Álcool 100%	1h
Xilol Puro	1h
Xilol Puro	15'

- Inclusão

O material deve ficar na estufa a 60 ⁰ C por 3h imerso em resina Paraplast Plus©.
--

- Trimagem

Retirada do excesso de resina Paraplast Plus© do material.
--

- Microtomia

*Cortes de 5µm *Os cortes devem ser distendidos sobre as lâminas previamente cobertas com Albumina 20%.
--

1.1. MONTAGEM DE LÂMINAS PERMANENTES

▪ Desparafinização (Diafanização)

Baterias:	
1º) Xilol (I)	5'
2º) Xilol (II)	5'

▪ Hidratação

Baterias:	
Álcool 100%	5'
Álcool 90%	5'
Álcool 80%	5'
Álcool 70%	5'
Álcool 50%	5'
Água Destilada	5'

▪ Coloração

Baterias:	
1º) Hematoxilina	1'
2º) Água corrente	1'
3º) Eosina	30''
4º) Água corrente	1'

▪ Desidratação

Baterias:	
1º) Álcool 100%	5'
2º) Álcool 100%	5'
3º) Álcool 100%	5'
4º) Álcool 90%	5'
5º) Álcool 70%	5'
6º) Álcool 50%	5'
7º) Água Destilada	1'

▪ Montagem

Baterias:	
1º) Xilol (I)	5'
2º) Xilol (II)	5'
*Colocar lamínula sobre o corte	

2) PROCESSAMENTO DAS PEÇAS DE FÍGADO E BRÂNQUIAS PARA A OBSERVAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

▪ Fixação

Amostras fixadas em Glutaraldeído 2,5% dissolvido em tampão Cacodilato de Sódio 0,1M

Reagente	Concentração do reagente	Concentração final
Glutaraldeído	25	2,5
Caco	0,2M	0,1M
CaCl	100 mM*	5nm
*Utiliza-se 1,5 mL por tecido		
*Utiliza-se $C_1V_1 = C_2V_2$		
*Completa-se o volume necessário com água ultrapura ou destilada		

▪ Lavagem

Lavagem com tampão Cacodilato 100 mM (0,1 M)
1º) 10'
2º) 10'
3º) 10'

▪ Desidratação

Baterias de álcool MERCK®	
1º) Álcool 100%	15'
2º) Álcool 50%	15'
3º) Álcool 70%	15'
4º) Álcool 80%	15"
5º) Álcool 95%	15'
6º) Álcool 100% (I)	15'
7º) Álcool 100% (II)	15'

▪ Ponto crítico

O tecido desidratado é montado no suporte porta-amostras do microscópio e encaminhado à câmara do aparelho de ponto crítico no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR para secagem sem a ultrapassagem de nenhum limite de fases. Após a despressurização lenta da câmara até a pressão atmosférica, o tecido é removido seco da câmara, sem alterações sensíveis de forma.

▪ Metalização

As amostras secas são metalizadas com ouro em pó para observação sob o microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM – 6360 LV no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

ANEXO II
PROTOCOLOS DE ANÁLISES BIOQUÍMICAS

1. COLINESTERASE (ELLMAN et al, 1961)

1.1. Preparo das amostras de músculo

- Pesar 50 mg de amostra;
- Homogeneizar em 1 ml de tampão fosfato pH 7,0;
- Centrifugar a 10 RPM (4^oC) por 20 minutos;
- Manter as amostras no gelo.

1.2. Preparo do meio de reação

- **DTNB**

$$200\mu\text{l de DTNB} \times 4 \text{ (réplicas)} \times \text{N}^\circ \text{ de amostras} = V_2$$

DTNB (10 mM) → 0,75 mM

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$10V_1 = 0,75V_2$$

$$V_1 = 0,75V_2 / 10$$

- **ATC (Acetilcolina)**

$$200\mu\text{l de ATC} \times 4 \text{ (réplicas)} \times \text{N}^\circ \text{ de amostras} = V$$

ATC 0,0026 gr / 1 ml H₂O destilada

V ml ↔ X gr ATC

1 ml H₂O destilada ↔ 0,0026 gr ATC

X= quantidade de gramas de ATC que devem ser pesadas e diluídas em V de água destilada.

1.3. Para leitura de AchE

Diluição

Mandi = 1:5 → 50 μl amostra + 200 μl de tampão pH 7,0

Bocarra= 1:10 → 25 μl amostra + 225 μl de tampão pH 7,0

▪ **Na Microplaca:**

Branco:

50 µl tampão fosfato pH 7,0 + 200 µl DTNB + 50 µl ATC

Amostra:

50 µl amostra diluída + 200 µl DTNB + 50 µl ATC

Ler em ELISA 240 nm.

2. CATALASE (AEBI, 1984)

2.1. Preparo das amostras de fígado

- Pesar 100 mg de amostra;
- Homogeneizar em 1 ml de tampão fosfato pH 6,5;
- Centrifugar a 10 RPM (4^oC) por 20 minutos;
- Manter as amostras no gelo.

2.2. Preparo do meio de reação

- 2500 µL de tampão TRIS 1M, EDTA (5 mM) pH 8,0;
- 114 µL H₂O₂ 30% (20 mM) v/v (50 mL);
- 47,4 µL de água miliquê;
- Colocar o meio de reação em um frasco plástico envolto por papel alumínio, em Banho-Maria a 20 ^oC.

2.3. Para leitura de catalase no espectrofotômetro

Diluição

Mandi = 1:5 → 50 µl amostra + 200 µl de tampão pH 6,5

Bocarra = 1:10 → 25µl amostra + 225 µl de tampão pH 6,5

- **Na cubeta de quartzo (1,0 mL)**

10 µL amostra diluída + 990 µL meio de reação

2.4. Atividade da catalase

Atividade da CAT (mmol. min⁻¹. mg prot⁻¹)

$(\Delta \text{ Abs } \times \text{ Min}^{-1} \times \text{ Diluição } \times \text{ Volume total} / \text{ Volume da amostra} / \text{ Coeficiente extinção } \times [\text{Prot}])$

- [Prot] = mg/mL
- Volume total = volume amostra + volume do meio de reação
- $\Delta \text{ Abs } \times \text{ Min}^{-1}$ = variação absorvância no intervalo de 1 min.

Medir a absorbância a 240 nm a cada 2 segundos num intervalo de 45 segundos.

3. GLUTATIONA S-TRANSFERASE (GST) (KENN et al, 1976)

3.1. Preparo das amostras de fígado

- Pesar 100 mg de amostra;
- Homogeneizar em 1 ml de tampão fosfato pH 6,5;
- Centrifugar a 10 RPM (4⁰C) por 20 minutos;
- Manter as amostras no gelo.

3.2. Preparo das soluções para o meio de reação

$$180 \mu\text{l meio de reação} \times 4 \text{ (réplicas)} \times \text{N}^\circ \text{ de amostras} = V_2$$

- **GSH**

GSH (10 mM) → 3 mM (Concentração padronizada para *Pimelodus maculatus*)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$10V_1 = 3V_2$$

$V_1 = 3V_2 / 10$ → Volume em mL de GSH necessário para leitura das amostras.

$$307,3 \text{ g} \leftrightarrow 1 \text{ mol}$$

$$X \leftrightarrow 0,01 \text{ mol} \quad \rightarrow \quad X = 3,073 \text{ g} / 1 \text{ L}$$

$$3,073 \text{ g} \leftrightarrow 1 \text{ mL}$$

$X \leftrightarrow V_1 \text{ (mL)} \quad \rightarrow \quad X = \text{quantidade de gramas de GSH que devem ser pesadas e diluídas em } V_1 \text{ mL de tampão fosfato pH 6,5.}$

- **CDNB**

CDNB (40 mM) → 3 mM (Concentração padronizada para *Pimelodus maculatus*)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$40V_1 = 3V_2$$

$V_1 = 3V_2 / 40$ → Volume em mL de CDNB necessário para leitura das amostras

$$202,55 \text{ g} \leftrightarrow 1 \text{ mol}$$

$$X \leftrightarrow 0,04 \text{ mol} \rightarrow X = 8,102 \text{ g} / 1 \text{ L}$$

$$8,102 \text{ g} \leftrightarrow 1 \text{ mL}$$

$X \leftrightarrow V_1 \text{ (mL)}$ → $X =$ quantidade de gramas de GSH que devem ser pesadas e diluídas em V_1 mL de **etanol PA**.

3.3. Preparo do meio de reação

Misturar a solução de GSH com a solução de CDNB e completar o restante com tampão fosfato pH 6,5 para completar o V_2 .

3.4. Para leitura de GST

Diluição

Mandi = 1:5 → 50 μ l amostra + 200 μ l de tampão pH 6,5

Bocarra = 1:10 → 25 μ l amostra + 225 μ l de tampão pH 6,5

▪ Na Microplaca:

Branco:

20 μ l tampão fosfato pH 6,5 + 180 μ l meio de reação

Amostra:

20 μ l amostra diluída + 180 μ l meio de reação (já ao lado do leitor)

3.5. Atividade da GST

Medir absorbância a 340 nm durante 2 min em intervalos de 10 s (13 leituras, no total) – usar “GST Chico”. Selecionar 1-2 min de intervalo na curva para calcular o Δ

Abs x min⁻¹. Utilizar a seguinte fórmula para a atividade específica da enzima:

Atividade da GST (mmol. min⁻¹. mg prot⁻¹)

$$\frac{(\Delta \text{ Abs } \times \text{ Min}^{-1})}{(0,45 \times \epsilon \times [\text{Prot}])}$$

Onde:

Atividade da GST = $\mu\text{mol } \times \text{ min}^{-1} \times \text{ mg proteínas}^{-1}$

- $\Delta \text{ Abs } \times \text{ Min}^{-1}$ = variação da absorbância em 1 min;
- 0,45 = caminho óptico percorrido pelo feixe de luz;
- $\epsilon = 9,6 \text{ mM } \times \text{ cm}^{-1}$;
- $[\text{Prot}]$ = concentração de proteínas em $\text{mg } \times \text{ mL}^{-1}$.

4. LIPOPEROXIDAÇÃO (LPO) – Microplaca (JIANG et al, 1992)

4.1. Preparo das amostras de fígado

- Pesar 100 mg de amostra;
- Homogeneizar em 1 ml de metanol 30% ;
- Centrifugar a 10 RPM (4⁰C) por 30 minutos;
- Manter as amostras no gelo.

4.2. Preparo das soluções para o meio de reação

- Metanol 90% (43,875 mL metanol PA + 3 mL água destilada);
- 1 mL Xilenol Orange 100 μ M (0,0038 g Xilenol Orange em 1 mL água destilada);
- 125,1 μ L H₂SO₄ (H₂SO₄ 25 mM);
- 1 mL BHT 4 mM (0,0441 g BHT em 1 mL de metanol PA);
- 1 mL FeSO₄NH₄ 250 μ M (0,0049 g FeSO₄NH₄ em 1 mL de água destilada).

4.3. Para leitura de LPO

Diluição

Mandi = 1:5 → 50 μ l amostra + 200 μ l de metanol 30%

Bocarra= 1:10 → 25 μ l amostra + 225 μ l de metanol 30%

- **Na Microplaca:**

Branco:

30 μ l metanol 30% + 270 μ l solução reativa

Amostra:

30 μ l amostra diluída + 270 μ l solução reativa

Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente (cobrir para evitar evaporação). Ler a 560 nm. Realizar a curva de peróxido de hidrogênio.

4.4. Atividade da LPO

Atividade da LPO

$$\frac{(\text{Abs} \times \text{Diluição} \times 1000)}{(\epsilon \times 0,9 \times [\text{Prot}])}$$

- [LPO] em nmol hidroperóxido x mg prot⁻¹;
- Abs = a 560 nm (descontando o branco);
- ϵ = coeficiente de extinção para H₂O₂ = $4,3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ($43 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{mL} \cdot \text{cm}^{-1}$);
- Diluição = da amostra;
- 1000 = para conversão de μmol para nmol;
- 0,9 = fator de correção do volume de solução no poço;
- [prot] = em mg . mL⁻¹.

ANEXO III

TABELAS COM CARACTERÍSTICAS DOS INDIVÍDUOS COLETADOS

TABELA 1. Informações sobre os espécimes coletados, como peso, comprimento total e sexo da espécie *Pimelodus maculatus* coletados nas UHEs do Sistema Light, em Junho/2008.

Sp1 Mandi	Peso (g)	CT* (cm)	CP* (cm)	Fígado (g)	Gônada (g)	Sexo
IP1**	107	24	21	0,66	2,46	M
IP2	225	28	25	2,45	0,19	M
IP3	222,2	30	26	2,24	0,43	M
IP4	144,7	26,5	23	1,2	0,33	M
IP5	144,3	27	22	1,5	0,64	M
IP6	160	28	23	1,45	0,36	F
IP7	156,7	26	22	1,73	0,62	F
IP8	181,8	26	23	1,6	NI	M
IP9	100,4	23	20	0,66	NI	M
IP10	90,45	22	19	0,56	NI	M
SC1	100,5	23	20	0,5	1,21	M
SC2	245,3	28	24	2,48	0,66	F
SC3	138,4	26	23	1,63	0,23	F
SC4	91,75	24	21	0,72	1,16	M
SC5	155,3	26	22	1,42	11	F
SC6	95,7	23	19	0,76	1,46	M
SC7	118,31	23	20	0,95	1,14	M
SC8	110,7	24	20	0,98	1,48	M
SC9	230,3	28	25	1,81	0,28	F
SC10	106,4	23,5	20	0,91	1,33	M
SC11	215,2	26	23	2,05	0,26	F
SC12	105,22	23	20	0,65	0,84	M
SC13	125,32	25	22	0,9	1,7	M
SC14	124,39	23	20	0,92	1,35	M
SC15	110,25	24	20	0,56	1,12	M
SC16	128,64	24	20	0,85	1,18	M
SB1	136,4	26	23	0,85	1,6	M
SB2	73,85	23	18,5	0,83	0,93	M
SB3	281,93	32,1	27	1,51	3,67	M
SB4	99,6	24	20	0,72	1,3	M
SB5	146,96	28	22,5	0,97	1,85	M
SB7	136,1	27	22	0,93	1,5	M
SB8	159	27	24,5	1,1	2,23	M

CT= Comprimento total (até o fim da nadadeira caudal);
 CP= Comprimento padrão (até o início do pedúnculo caudal);
 P= Ilha dos Pombos, C= Santa Cecília e B= Santa Branca.

TABELA 2. Informações sobre os espécimes coletados, como peso, comprimento total e sexo da espécie *Oligosarcus hepsetus*, coletados nas UHEs do Sistema Light, em Junho/2008.

Sp 2 Bocarra	Peso (g)	CT* (cm)	CP* (cm)	Fígado (g)	Gônada (g)	Sexo
IP1**	22	16	13	0,12	0,57	F
IP2	16,35	14,5	11,5	0,03	0,09	M
IP3	21,2	15	12,2	0,1	0,11	M
IP4	24,2	16	13	0,06	0,19	M
IP5	21,3	15	12,5	0,11	0,39	F
IP6	19,6	15,5	12	0,06	0,19	M
IP7	96,6	20	17,5	0,11	NI	NI
SC1	87,65	22	19	0,95	3,93	F
SC2	94,66	22	18,5	0,69	2,82	F
SC3	85,7	21	18	1,12	6,18	F
SC4	50,8	18,5	15,5	0,32	1,45	F
SC5	65,71	20	17	0,65	0,26	M
SC6	51,77	18	15	0,57	0,79	M
SC7	114,21	23	20	1,04	5,4	F
SC8	104,9	23	15	0,53	1,07	F
SC9	46,43	17,5	15	0,83	1,57	F
SB1	65,2	20,5	11,5	0,6	0,75	F
SB2	103,56	23	21,5	0,36	0,86	F
SB3	23,15	16	13	0,13	0,19	M

CT= Comprimento total (até o fim da nadadeira caudal);
 CP= Comprimento padrão (até o início do pedúnculo caudal);
 P= Ilha dos Pombos, C= Santa Cecília e B= Santa Branca.

TABELA 3. Informações sobre os espécimes coletados, como peso, comprimento total e sexo da espécie *Pimelodus maculatus*, coletados nas UHEs do Sistema Light, em Fevereiro/2009.

Sp1 Mandi	Peso (g)	CT (cm)	CP (cm)	Fígado (g)	Gônada (g)	Sexo
IP1 1	261,3	29	25,5	2,4	1,64	F
IP1 2	26,7	15	11,5	0,21	NI	NI
SB1 41	70,46	23	18	0,74	8,61	F
SB1 42	68	21	17	0,55	4,81	F
SB1 43	300	33	27	2,86	28,91	F
SB1 44	284,8	31	25,5	1,95	48,61	F
SB1 45	90,25	22,5	19	0,59	15,67	F
SB1 46	270	29	23,5	1,8	62,1	F
SB1 47	64,2	21	17	0,46	6,27	F
SB1 48	222,4	30,5	24,5	1,75	30	F
SB1 49	247,3	30	25,5	1,85	36,95	F
SB1 50	129,3	27	23	1,08	5,83	F
SB1 51	189,82	30	25	1,33	10,78	F
SB1 52	259,75	30	23,5	2,47	56,44	F
SB1 53	287,2	32,5	28	2,38	51,02	F
SB1 54	278,85	32	28	1,96	42,23	F
SB1 55	340	33	26	3,15	62,12	F
SB1 56	310,2	31,5	27	2,2	51,13	F
SB1 57	292,1	32	25,5	2,54	57,47	F
SB1 58	121,66	21,5	17	0,56	19,26	F
SB1 59	91,25	21	17	0,7	20,66	F
SB1 60	83,59	20	16	0,57	14,58	F

CT= Comprimento total (até o fim da nadadeira caudal);
 CP= Comprimento padrão (até o início do pedúnculo caudal);
 P= Ilha dos Pombos, C= Santa Cecília e B= Santa Branca.

TABELA 4. Informações sobre os espécimes coletados, como peso, comprimento total e sexo da espécie *Oligosarcus hepsetus*, coletados nas UHEs do Sistema Light, em Fevereiro/2009.

Sp 2 Bocarra	Peso (g)	CT* (cm)	CP* (cm)	Fígado (g)	Gônada (g)	Sexo
IP2 1**	57,38	20	17	0,5	0,71	F
SB2 41	73,08	22,05	19	0,4	0,34	M
SB2 42	142	27	23	0,94	6,86	F
SB2 43	64	23	20	0,35	3,09	F

CT= Comprimento total (até o fim da nadadeira caudal);
 CP= Comprimento padrão (até o início do pedúnculo caudal);
 P= Ilha dos Pombos e SB= Santa Branca.

ANEXO IV

INSTRUÇÃO NORMATIVA DO IBAMA Nº 195, DE 02 DE OUTUBRO DE 2008



Ministério do Meio Ambiente

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 195, DE 02 DE OUTUBRO DE 2008

O PRESIDENTE DO INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA, no uso das atribuições que lhe confere o item V do art. 22, do anexo I ao Decreto No- 6.099, de 26 de abril de 2007; com fundamento no disposto no Decreto nº- 5. 583, de 16 de novembro de 2005, no Decretolei No- 221, de 28 de fevereiro de 1967 e na Lei No- 7.679, de 23 de novembro de 1998; que dispõe sobre a proibição da pesca de espécies em período de reprodução e dá outras providências; e considerando o que consta do Processo nº 02001.002135/2008- 91 resolve:

Art. 1º Estabelecer normas para o período de proteção à reprodução natural dos peixes, nas áreas de abrangência das bacias hidrográficas do Sudeste, nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná, excetuando-se as áreas das bacias hidrográficas dos rios Paraná e São Francisco, contempladas por instruções normativas específicas.

Art. 2º Para os fins desta Instrução Normativa, consideram-se:

- I - bacia hidrográfica: o rio principal, seus formadores, afluentes, lagos, lagoas marginais, reservatórios e demais coleções d'água;
- II - lagoas marginais: alagados, alagadiços, lagos, banhados, canais ou poços naturais situados em áreas alagáveis da planície de inundação, que apresentam comunicação permanente ou intermitente com o rio principal ou canais secundários;
- III - comprovante de origem: documento emitido pelos órgãos federal, estadual, municipal, colônia de pescadores ou pescador devidamente registrado.

Art. 3º Fica proibida a pesca, anualmente, no período de 1º de novembro a 28 de fevereiro para a proteção à reprodução natural dos peixes, nas seguintes áreas das bacias hidrográficas do Sudeste, com exceção das bacias dos rios Paraná e São Francisco:

- I - lagoas marginais;
- II - até um mil metros a montante e a jusante das barragens de reservatórios de usinas hidrelétricas, cachoeiras e corredeiras.

Art. 4º No período de defeso definido no art. 3º, fica vedada a realização de competições de pesca tais como torneios, campeonatos e gincanas.

Parágrafo único. Esta proibição não se aplica a competições de pesca realizadas em reservatórios, visando à captura de espécies não nativas (alóctones e exóticas) e de híbridos.

Art. 5º Fica permitida, em rios das bacias hidrográficas referenciadas no art. 1º, apenas a pesca desembarcada, por meio, tão somente, de linha de mão, caniço, vara com molinete ou carretilha, com o uso de iscas naturais ou artificiais providas ou não de garatéias, exceto pelo processo de lambada.

Parágrafo único. No estado do Espírito Santo, é permitido o uso de jiqui, jequi ou jequiá.

Art. 6º Permite-se, em reservatórios, a pesca embarcada e desembarcada, nos seguintes casos:

I - Quando realizada por pescador profissional, por meio de:

a) rede de emalhar com malha igual ou superior a cem milímetros (100mm), medida esticada entre ângulos opostos, cujo comprimento não ultrapasse 1/3 do ambiente aquático;

b) tarrafa com malha igual ou superior a setenta milímetros (70mm), medida esticada entre ângulos opostos;

c) linha de mão ou vara, linha e anzol, caniço simples, com molinete ou carretilha, iscas naturais e artificiais providas ou não de garatéias, exceto pelo processo de lambada.

II - Quando realizada por pescador amador, com a utilização de linha de mão ou vara, linha e anzol, caniço simples, com molinete ou carretilha, iscas naturais e artificiais providas ou não de garatéias, exceto pelo processo de lambada.

Art. 7º Fica proibido o uso de aparelhos, petrechos e métodos de pesca não mencionados nesta Instrução Normativa.

Art. 8º No período de defeso, ficam permitidos a captura e o transporte somente de espécies não nativas (alóctones e exóticas), de híbridos e de camarão gigante da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*), sem limite de cota ao pescador profissional, e com limitação, ao pescador amador, de 10kg mais um exemplar.

Art. 9º A pesca de espécies marinhas e estuarinas que migram para os rios durante o período referido nesta Instrução Normativa, permanece regada por normas específicas.

Parágrafo único. Excluem-se da previsão do caput as espécies de robalo (*Centropomus parallelus* e *Centropomus undecimalis*) que migram pelo Rio Ribeira de Iguape e demais rios contribuintes do complexo estuarino-lagunar de Iguape, Cananéia e Ilha Comprida, no estado de São Paulo.

Art. 10º O produto de pesca oriundo de locais com período de defeso diferenciado ou de outros países deverá estar acompanhado de comprovante de origem, sob pena de apreensão do pescado e dos petrechos, equipamentos e instrumentos utilizados na pesca.

Art. 11º Esta Instrução Normativa não se aplica ao pescado proveniente de aquículturas registradas no Registro Geral da Pesca - RGP, da SEAP/PR, cadastradas no Cadastro Técnico Federal - CTF, do IBAMA, que deverá estar acompanhado de nota fiscal.

Art. 12º Fica excluída das proibições previstas neste ato normativo, a pesca de caráter científico, previamente autorizada ou licenciada pelo IBAMA ou órgão estadual competente.

Art. 13° Os pescadores profissionais, frigoríficos, peixarias, entrepostos, postos de venda, hotéis, restaurantes, bares e similares devem entregar ao IBAMA ou ao órgão estadual competente declaração dos estoques de peixes in natura, resfriados ou congelados, provenientes de águas continentais, no prazo de dois dias úteis após o início do defeso.

Art. 14° Aos infratores da presente Instrução Normativa serão aplicadas as penalidades e sanções previstas na Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998 e no Decreto No- 6.514, de 22 de julho de 2008.

Art. 15° Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

ANEXO V

**LAUDO TÉCNICO SOBRE OS IMPACTOS NA ICTIOFAUNA E NO
ABASTECIMENTO PÚBLICO PROVOCADO PELO ACIDENTE AMBIENTAL
OCORRIDO NA INDÚSTRIA SERVATIS S.A. (Versão 22-12-08)**



GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
Secretaria de Estado de Meio Ambiente - SEA
Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente - Feema

Rua Fonseca Teles, 121 – 8º andar – São Cristóvão – Rio de Janeiro - CEP-20.940-903
Telefone: 3891-3332 / 3891-3333

1. DO ACIDENTE

A Servatis S. A., empresa do ramo químico, localizada na Rodovia Presidente Dutra, km 300,5, Município de Resende, Estado do Rio de Janeiro, protocolou junto a Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente - FEEMA, em 19 de novembro de 2008, o **Termo de Auto Denúncia** (anexo), dando conta da ocorrência de Acidente Ambiental, envolvendo – segundo estimativa inicial da empresa – o derrame de 1500 litros de produto químico, constituído pelos componentes ativos Endosulfan (20%) exileno. Conforme consta da Auto Denúncia, o acidente teria ocorrido na madrugada do dia 18/11/2008, por volta das 02h30min, atingindo imediatamente as águas do Rio Pirapetinga e, posteriormente, as águas do Rio Paraíba do Sul, nas proximidades da cidade de Resende, Estado do Rio de Janeiro. Conforme apurado, o acidente ocorreu durante a operação de descarregamento do Endosulfan, motivado pelo rompimento de um mangote de transferência do caminhão tanque para o tanque de estocagem do produto. Conforme relatado, o sistema de proteção, constituído por um dique de contenção, encontrava-se sobrecarregado pela água de chuva e não teve capacidade para conter o material derramado. Além disso, segundo relato de funcionários, o dreno do tanque de contenção encontrava-se parcialmente aberto o que permitiu o afluxo do Endosulfan para as águas do Rio Pirapetinga. Com base nos resultados obtidos por meio das análises laboratoriais, associados aos estudos de dispersão e diluição do poluente, estima-se que o volume derramado tenha atingido a cifra aproximada de 8.000 (oito mil) litros de Endosulfan, diluído em xileno, na proporção de 20%, o que equivale a 1.600 litros de Endosulfan puro. Tais estimativas foram, posteriormente, confirmados pela direção da empresa.

2. DAS CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DO PRODUTO QUÍMICO

A caracterização do resíduo líquido vertido por ocasião do acidente, tendo como ingredientes ativos o Endosulfan (características tóxicas) e Xileno (características nocivas), foi obtida por meio da ficha de **Informação de Segurança de Produtos Químicos**. O estado físico do produto é líquido; a coloração é amarelo claro e exala odor característico; o Potencial Hidrogeniônico é de aproximadamente 6,5 (upH), em solução 1% m/v em água; sua densidade é de 1,0530 g/cm³, a 20° C, portanto muito próxima da densidade da água; e, em termos de solubilidade e miscibilidade, o produto é emulsionável na água. Por outro lado, o Endosulfan (287) sofre hidrólise lentamente

tanto em meio aquático alcalino quanto em meio ácido, com a formação de diol e dióxido de sulfeto. Os efeitos/impactos ambientais e comportamentais do produto são descritos como: ingrediente ativo de baixa mobilidade no solo e a sua persistência e degradabilidade são avaliados como não biodegradável. O produto é avaliado como não mutagênico e o ingrediente ativo é considerado não carcinogênico, não teratogênico (deformações) e não indutor de efeitos nas funções reprodutivas. Estas são condições precípuas para o registro do produto no país. Ressalta-se que tais características são atribuídas ao **ingrediente ativo do Endosulfan** e, portanto, refletem o efeito do produto na sua forma mais ativa e agressiva. Tal biocida apresenta elevada toxidez para os organismos aquáticos e pode causar, por período prolongado, efeitos adversos no meio aquático, sobretudo em corpos d'água com pouca capacidade de renovação.

3. DO MONITORAMENTO E RESULTADOS DAS ANÁLISES

De modo a cobrir toda a área afetada pelo acidente, foi executado o monitoramento emergencial ao longo de aproximadamente 400 km do rio Paraíba do Sul, compreendendo os seguintes trechos: Resende - Barra do Pirai (Santa Cecília), Barra do Pirai - Itaocara e Itaocara -São João da Barra (Foz). O monitoramento estendeu-se ainda aos corpos hídricos que integram o Sistema Light, que envolve o desvio de parte das águas do Rio Paraíba do Sul, na altura de Santa Cecília (Barra do Pirai), os reservatórios de Santana - Vigário e o Rio Guandu (a montante da ETA da CEDAE). O processo de monitoramento intensivo, ocorrido entre o dia 19 e 27 de novembro do corrente ano, envolveu a coleta de aproximadamente 200 amostras, o que permitiu avaliar os níveis de concentração do Endosulfan nas águas, nos sedimentos e na biota (peixes). Informações detalhadas sobre o processo de monitoramento e sobre as conseqüências do acidente constam do relatório técnico (anexo 1) elaborado pela Divisão de Qualidade da Água, vinculada a Diretoria de Planejamento Ambiental da FEEMA, e que são apresentadas de forma resumida nos itens a seguir.

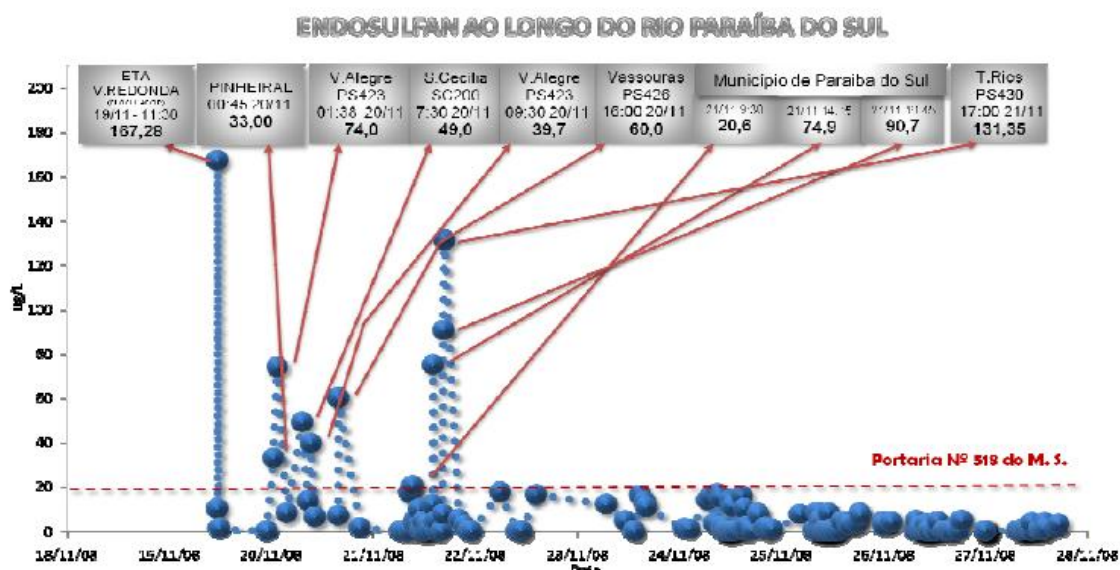
Contaminação da água

Conforme já descrito, o produto derramado possui, dentre diversas características físicas, uma coloração amarelada, o que dificulta a sua visualização nas águas do rio Paraíba do Sul, que possui naturalmente uma coloração amarronzada, com turbidez elevada, variando na faixa de 40 a 200NTU. Assim, sua percepção se dá por meio do olfato, de acuidade subjetiva, em especial, após o decorrer do tempo. Em contraponto, acidentes com derramamento de óleo, e outros produtos que de imediato modificam de forma visível as características físicas da água, são facilmente observados, e assim tem o seu acompanhamento facilitado. Nesse caso particular, a necessidade de atendimento as demandas quanto à proteção as captações e ao abastecimento público, e posterior informação sobre a qualidade química da água bruta passível de tratamento, considerou-se as variáveis abaixo relacionadas, para a orientação de um monitoramento voltado para a proteção das comunidades abastecidas pelas águas do rio Paraíba do Sul e, ainda, por transposição as abastecidas pela ETA - Guandu.

- Quilometragem entre os elementos de interesse;
- Vazão do rio Paraíba do Sul e tributários;
- O tempo estimado da chegada da pluma de contaminação a cada local de relevância.

Sendo assim, a passagem da “onda” de contaminação foi calculada entre pontos de extrema importância, como as tomadas d'água para abastecimento público. Baseado

em cálculos hidrológicos foi possível prever o transporte da pluma de contaminação ao longo do trecho entre Resende e o delta do Rio Paraíba do Sul, o que permitiu efetuar as coletas de amostras da água de forma sincronizada com o deslocamento da massa d'água contaminada pelo Endosulfan.



Com base nos resultados das análises laboratoriais e com o auxílio de ferramenta estatística observou-se que na coletânea de dados obtidos, 90% dos dados situam-se numa faixa de concentração de Endosulfan abaixo do que recomenda a Portaria Nº 518, do Ministério da Saúde, para águas de abastecimento público (20 µg/l), o que demonstrou a efetividade das medidas de estratégia de monitoramento adotada visando a avaliação da água bruta para posterior captação e proteção a saúde humana.

SUMÁRIO ESTATÍSTICO DOS DADOS DE QUALIDADE DA ÁGUA (MG/L)

Local	Nº Dados	Valor mínimo	Percentil 25	Percentil 50	Percentil 75	Percentil 90
ETA - Água Bruta	18	ND	2,17	3,95	5,36	10,2
Reservatórios	45	ND	0,34	0,85	2,12	5,0
Rio Paraíba do Sul	135	ND	0,37	3,78	8,21	17,4
Atafona	1	-	-	1,26	-	-
Total Amostras	199	ND	0,43	2,75	7,20	16,0

Com relação à qualidade de água dos rios Pirapetinga e Paraíba do Sul é possível afirmar, que as concentrações do Endosulfan, indicada pelos resultados obtidos por meio das campanhas de monitoramento, realizadas entre os dias 19 a 27 de novembro de 2008, sofreram uma redução tanto temporal quanto espacial, em função da dispersão e do aumento da vazão, atingindo a foz do Rio Paraíba do Sul em níveis de concentrações muito baixos. Todavia, os demais compartimentos (sedimentos e biota), podem sofrer efeitos negativos mais prolongados e que somente um monitoramento mais abrangente e prolongado poderá indicar as reais condições de recuperação. Nesse sentido, o monitoramento da qualidade ambiental - água, sedimentos e biota - é instrumento fundamental para garantir o conhecimento dos danos ambientais decorrentes de acidentes.

Contaminação de Sedimentos

As avaliações relativas à contaminação dos sedimentos foram efetuadas com base nas 20 amostras de sedimentos superficiais em áreas mais prováveis de sedimentação no trecho entre Resende e Floriano, imediatamente a jusante do local do acidente. Em 19 de novembro de 2008, foram coletadas três amostras de sedimentos no rio Pirapetinga, nas proximidades da SERVATIS e na foz do rio, junto ao Rio Paraíba do Sul. As concentrações obtidas para esses pontos foram as seguintes: margem esquerda (junto a Servatis) - 12,84 mg/kg; margem direita (oposta a Servatis) - 7,41 mg/kg; e foz do Rio Pirapetinga - 0,75 mg/kg. Novas amostras de sedimentos foram tomadas no rio Paraíba do Sul, nos dias 25 e 27, e o Endosulfan não foi detectado (ND) nos locais amostrados, a exceção, do ponto MD- 02 (0,01mg/kg), em Resende e ME-06 (0,13mg/kg) em Porto Real. Porém, tais resultados devem ser interpretados com cautela. É possível que os resultados obtidos por meio da coleta de amostras realizadas nos dias 25 e 27, no segmento do rio a jusante do acidente, não correspondeu completamente às expectativas da investigação. Infere-se que a liberação do volume de 170 m³ de água do Reservatório de Funil, e as condições climáticas – chuvas intensas -, carrou os sedimentos para regiões mais a jusante da origem do derramamento, o que será aclarado nas próximas amostragens. Na ausência de valor de referência para a concentração de Endosulfan no sedimento, admite-se, que para fins de avaliação, uma vez que o Endosulfan não é encontrado naturalmente no ambiente esse valor pode ser considerado como zero. Dessa forma, do total de amostras, conforme tabela abaixo, apenas 5 amostras revelaram a presença do Endosulfan, todas coletadas nas proximidades do acidente (entre Resende e Porto Real).

PONTOS DE COLETA DE AMOSTRAS DE SEDIMENTOS

RIO PARAÍBA DO SUL			
ESTAÇÃO DE COLETA	LOCALIZAÇÃO	COORDENADAS GEOGRÁFICAS	
		LATITUDE	LONGITUDE
ME1	Resende	22° 27' 55.48"	44° 24' 23.35"
MD2		22° 28' 22.37"	44° 23' 33.94"
ME2		22° 28' 20.65"	44° 23' 31.45"
MD3		22° 27' 52.19"	44° 22' 30.36"
ME3		22° 27' 50.30"	44° 22' 33.81"
MD4	Porto Real	22° 26' 59.03"	44° 21' 43.93"
ME4		22° 26' 56.75"	44° 21' 46.12"
MD5		22° 25' 02.52"	44° 21' 45.52"
ME5		22° 24' 59.72"	44° 21' 45.65"
MD6		22° 24' 09.31"	44° 17' 23.64"
ME6		21° 24' 06.31"	44° 17' 19.68"
MD7	Quatis	21° 25' 24.86"	44° 16' 58.21"
ME7		21° 25' 26.60"	44° 16' 54.82"
MD8	Floriano	21° 27' 03.95"	44° 17' 59.13"
ME8		22° 27' 00.97"	44° 17' 57.20"

MD=Margem Direita ME=Margem Esquerda

PONTOS DE COLETA DE AMOSTRAS DE SEDIMENTOS E RESULTADOS OBTIDOS

DATA HORA	PONTO DE AMOSTRAGEM	CONCENTRAÇÃO (mg/Kg)
19/11/08 10h30min	Rio Pirapetinga (Bico da Ilha - Margem Esquerda, próx. a foz)	0,75
19/11/08 11h00min	Rio Pirapetinga (Margem Direita - próx. ao local de lançamento)	7,41
19/11/08 11h30min	Rio Pirapetinga (Margem Esquerda - próx. ao local de lançamento)	12,84
25/11/08 12h20min	Santa Cecilia - Margem Esquerda	ND
25/11/08 12h30min	Santa Cecilia - Margem Direita	ND
27/11/08 09h08min	ME-01 - Resende	ND
27/11/08 09h40min	MD-02 - Resende	0,01
27/11/08 09h55min	ME-02 - Resende	ND
27/11/08 10h12min	MD-03 - Resende	ND
27/11/08 00h00min	ME-03 - Resende	ND
27/11/08 10h35min	MD-04 - Porto Real	ND
27/11/08 10h48min	ME-04 - Porto Real	ND
27/11/08 11h41min	MD-08 - Floriano	ND
27/11/08 11h53min	ME-08 - Floriano	ND
27/11/08 12h22min	MD-07 - Quatis	ND
27/11/08 00h00min	ME-07 - Quatis	ND
27/11/08 13h05min	MD-05 - Porto Real	ND
27/11/08 00h00min	ME-05 - Porto Real	ND
27/11/08 00h00min	ME-06 - Porto Real	0,13
27/11/08 00h00min	MD-06 - Porto Real	ND

Contaminação da Biota (peixes)

Os testes ecotoxicológicos consistem na utilização de organismos sensíveis, expostos as várias concentrações do agente supostamente tóxico, por um determinado período de tempo, mensurando, assim, o nível de toxicidade no meio aquático, ou seja, a dimensão qualitativa e quantitativa dos efeitos adversos das substâncias químicas, considerando suas interações no ecossistema e o efeito nos organismos vivos. O teste ecotoxicológico amplamente utilizado no Brasil, com *Brachidanio rerio*, espécie de peixe popularmente conhecido como paulistinha, aponta para uma concentração letal (LC50) correspondente a 10 mg/l. Referência mais restritiva considera uma concentração letal (LC50) correspondente a 2 mg/l, para as espécies mais sensíveis ao Endosulfan.

Quanto aos peixes capturados para a análise laboratorial pelo Projeto Piabanha destaca-se que foram capturados vivos, contudo, desorientados com alteração natatória e direcional, sintomas típicos de um processo de contaminação/envenenamento, infere-se, ainda que estes indivíduos poderiam estar expostos a concentrações sub-letais. Mesmo assim, as espécies coletadas apresentaram níveis de Endosulfan. Na tabela a seguir apresentam-se as concentrações obtidas a partir de amostras de músculo (filé dorsal).

A elevada toxidez para peixe teste *Brachidanio rerio* e a capacidade de acumulação nos tecidos dos peixes após a exposição ao pesticida são bem demonstrados por Viana, Alcianne; Martins, Ana Paula Camargo no artigo Alterações morfológicas em hepatócitos de *Brachidanio rerio* exposto a ação do Endosulfan em dose sub-letal.

Amostras coletadas em Itaocara - 24/11/2008

Especie	Tamanho (cm)	Peso (g)	Concentração (mg/Kg)
(A) Curimatã (Prochilodus Lineatus)	37	712	2,331
(B) Caximbau (Viola)	29	96	0,75
(C) Robalo (Centropomus sp.)	127	230	0,787
(D) Piau- Branco (Leporino conirostris)	49	1911	1,005
(E) Mandiaçu (Pimelodus maculatus)	29	347	2,233
(F) Dourado (Salminus maxillosus)	37	608	1,105

Amostras coletadas em Itaocara - 28-11-2008

Especie	Tamanho (cm)	Peso (g)	Concentração (mg/Kg)
(01) Cascudo	X	X	ND
(02) Curimatã (Prochilodus Lineatus)	X	X	0,016

Amostras coletadas em S. João da Barra - 27.11.2008

Especie	Tamanho (cm)	Peso (g)	Concentração mg/kg
Curimatã	30	298	0,103
Caximbau - cascudo	24	139	0,081
Robalo	27	81	0,068
Caranguejo	adulto	56	1,121
Cumbaca	14	10	0,049
Tainha	25	123	0,181
Cambotã	16	52	0,091
Bagre	19	81	0,101

4. DA AVALIAÇÃO PRELIMINAR DOS DANOS

Em termos de danos ambientais, pode-se classificar o acidente como de **grande e extensa proporção**, na medida em que implicou na interrupção da captação das estações de tratamento de água, e conseqüentemente, o desabastecimento de água potável nos Municípios localizados no trecho fluminense do Rio Paraíba, afetando uma **população de mais de 1,37 milhões de habitantes**, sem contar o risco de comprometimento da qualidade da água do Rio Guandu, que abastece mais de 10 milhões de pessoas. Além disto, **levou a morte dezenas de toneladas de peixes**, afetando sensivelmente a ictiofauna do rio Paraíba, em toda a sua extensão. Biocida de alta toxicidade, conforme análises laboratoriais, o Endosulfan atingiu níveis de concentração em torno 75 µg/l, enquanto que a concentração letal para peixes (LC50) é de 2 µg/l – concentração que pode atingir 50% dos indivíduos que compõem a amostra, após 96 horas de exposição. Conforme constatado, entre os dias 18 e 28 de novembro do corrente ano, a onda de contaminação migrou por mais de 400 km ao longo do Rio Paraíba do Sul, de Resende até sua foz, em São João da Barra, provocando, em toda a sua extensão, mortandade de espécies variadas de peixes, atingindo tanto as de interesse econômico como aquelas de interesse ecológico, associadas à cadeia trófica do ecossistema fluvial. Segundo a informação prestada, em 11 de dezembro de 2008, pela Coordenação de Meio Ambiente da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN) foram incinerados nos fornos daquela Empresa, cerca de **75 toneladas** de peixes. Registra-se,

todavia, que nem todos os peixes mortos tiveram esta mesma destinação, o que permite estimar cifras superiores para os danos causados à ictiofauna. Somente no gradeamento da Barragem da Ilha dos Pombos, no município do Carmo, foram recolhidas cerca de **50 toneladas** de peixes mortos e, conforme informações da Secretaria de Meio Ambiente, foram dispostos no próprio município. Soma-se a esta estimativa quantidade equivalente dispersa nas margens dos rios ou consumida por predadores, e que não foram destinadas aos fornos da CSN. Como agravante, registra-se o fato do acidente ter ocorrido no período reprodutivo da ictiofauna, atingindo milhares de indivíduos em **estágio avançado de maturação gonadal** (ovadas), o que compromete a reposição dos estoques pesqueiros para o próximo ano. Conforme consta do Relatório da FIPERJ (anexo 3), com base em depoimentos de pescadores e ribeirinhos, foram coletadas nas margens do rio cerca de 42 espécies nativas e exóticas afetadas pelo Endosulfan, destacando-se as seguintes: dourado, tilápia, pirarara, tambaqui, pacu, carpa-capim, carpa cabeça grande, pirapetinga, tucunaré, matrinxã, pintado, robalo, piau-vermelho, curimatã, caximbau, tainha, duiá, piaba, lambari, sarapoa, acará, piabanha, lagosta, piapara, peixe-rei, jundiá, mandiaçú, camarão, moréia, curimatá, carapeba, urutu, cambuatá, manjuba, cumbaca, caximbau-viola, corvina, peixe espada, piauçu e mandi. No Curso Médio Inferior e o Baixo Curso do rio Paraíba do Sul, com cerca de 250 km de extensão, existe uma grande diversidade de atributos ecológicos onde se destacam fatores hidrológicos e geomorfológicos e habitats exclusivos para espécies nativas. Na parte central deste trecho, na altura da cidade de Itaocara, tomando como referencia as informações prestadas no **Relatório do Projeto Piabanha**, de dezembro/2008 (anexo 2), “*seis espécies foram notadamente mais afetadas e registradas na seguinte ordem decrescente de capturas: a curimatã (Prochilodus lineatus, a cumbaca (Trachelyopterus striatulus), o mandi (Pimelodella lateristriga), o dourado (Salminus maxilosus), e dois representantes eurialinos: atainha (Mugil sp.) e o robalo (Centropomus sp.)*.” Segundo ainda o **Relatório Preliminar do Projeto Piabanha** “*dos 21 dourados analisados (13 machos e 8 fêmeas), uma fêmea se encontrava no estágio de maturação gonadal avançada (12,5%, Foto 9); quatro fêmeas no estágio de maturação gonadal intermediária (50%); e três fêmeas no estágio de maturação gonadal imatura (37,5%), uma vez que eram exemplares jovens e pertencentes ao lote de recrutamento reprodutivo ainda em formação*”. Em relação à curimatã (*P. lineatus*), foram analisados 16 exemplares (14 fêmeas e 2 machos), dos quais dez fêmeas se encontravam em estágio de maturação gonadal avançada (14%) e doze fêmeas em estágio intermediário de maturação gonadal (86%). Entre os representantes do gênero *Leporinus*, apenas o piau branco (*Leporinus conirostri*) estava em processo de migração reprodutiva. Dos dois exemplares capturados e analisados, a fêmea demonstrou estar em um estágio de maturação gonadal intermediária (Foto 12), enquanto que o exemplar macho possuía gônadas bem desenvolvidas e repletas de sêmem, ocupando, no mínimo, da cavidade abdominal (Foto 13), o que caracteriza um estágio adiantado de maturação gonadal, que ocorre quando o peixe está preparado sexualmente para o processo reprodutivo. No que diz respeito ao piau-vermelho (*Leporinus copelandii*), a fêmea capturada encontrava-se no estágio de maturação gonadal de repouso, uma vez que o pico de reprodução da espécie no rio Paraíba do Sul não acontece no período das cheias. Segundo Costa (1999), acompanhando os valores mensais da relação gonadossomática de *L. copelandii*, o pico de reprodução desta espécie ocorre no mês de setembro. Estágios de maturação gonadal de repouso também foram observados nas espécies eurialinas, como a tainha (*Mugil sp.*) e o robalo (*Centropomum sp.*).

5. DAS MEDIDAS ADOTADAS

Em decorrência do acidente e como medida preventiva, foi recomendada suspensão da captação de água no Paraíba do Sul, para as cidades imediatamente a jusante do local do acidente, nomeadamente: Porto Real, Floriano, Barra Mansa, Volta Redonda e Barra do Pirai. Visando ainda prevenir a contaminação do Rio Guandu, foi determinado o fechamento da comporta onde ocorre a transposição de águas do Rio Paraíba para aquele importante manancial. Ao mesmo tempo, com base em estudo de transporte/dispersão da pluma de contaminação ao longo do Rio, foi deflagrado um alerta a todos os municípios da região, informando o tempo estimado da chegada da pluma em cada ponto de tomada de água de abastecimento, ocasião em que deveria ser interrompida a captação para as Estações de Tratamento (ETA). Da mesma forma, foi veiculada mensagem através da mídia recomendando a suspensão da atividade pesqueira e do consumo de peixe por ocasião da passagem da pluma de contaminação em cada região do estado.

Como medida corretiva preliminar foi recomendado o recolhimento e disposição adequada de peixes mortos. Visando acompanhar os desdobramentos do acidente foi elaborado um programa de monitoramento intensivo, com base nos pontos de captação e das estações do monitoramento sistemático da FEEMA, o que permitiu subsidiar a tomada de decisão quanto ao restabelecimento do abastecimento nas cidades afetadas.

Como medida preventiva e de controle foi determinada pela Sra. Secretária de Estado do Ambiente, em 22/11/08, a interdição da Empresa Servatis e a realização de uma Auditoria Ambiental, efetuada por empresa independente, que deveria apontar as reais condições operacionais da atividade, nos seus diversos aspectos relativos à proteção ambiental. Essa Auditoria será acompanhada por técnicos especializados da FEEMA.

Com o objetivo de mitigar os impactos do acidente, acelerando o processo de dispersão da pluma de contaminação, foi estabelecido entendimentos com a ANA visando a abertura das comportas da Represa de Funil, aumentando a vazão do Rio Paraíba do Sul em 170 m³/s. Após comprovado que as concentrações do Endosulfan encontravam-se abaixo dos limites estabelecidos pela Portaria 518, do Ministério da Saúde, foi liberada a transposição em Santa Cecília, restabelecendo as condições de vazão do Rio Guandu. Como medida preventiva foi estabelecido um procedimento de monitoramento intensivo a montante da ETA Guandu.

6. DESDOBRAMENTOS PREVISTOS

1. Proposição e implementação de medidas de amparo às comunidades de pescadores afetadas, envolvendo a extensão do período de defeso aos meses de março, abril e maio/2009.

2. Suspensão da atividade pesqueira no período entre defesos (junho-outubro), e adoção de medidas de compensação monetária aos pescadores.

3. Avaliação do impacto na capacidade reprodutiva da ictiofauna, na sua cadeia trófica, no estoque pesqueiro, além da eventual necessidade de implementação de programa de repovoamento do Rio, em bases tecno-científicas seguras.

4. Veiculação de informações junto às comunidades ribeirinhas afetadas visando ampliar o entendimento sobre o problema e despertar atitudes colaborativas no processo de recuperação ambiental do Rio Paraíba do Sul.

5. Atualização de Estudo de modelagem de dispersão de poluentes ao longo do Rio Paraíba, considerando cenários múltiplos.

6. Levantamento das atividades de risco localizadas ao longo do Rio Paraíba e exigência de Auditorias Ambientais.

7. Elaboração/atualização de Plano de Emergência, considerando as atividades de risco localizadas nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, com o suporte do CEIVAP.

8. Implementação de estudos de alternativas e procedimentos emergenciais de abastecimento de água potável quando de eventual comprometimento da qualidade da água do Rio Paraíba do Sul em decorrência de acidentes.

9. Intensificação e aprimoramento dos procedimentos de monitoramento da água, dos sedimentos, da comunidade fitoplanctônica e da ictiofauna.

Rio de Janeiro, 22 de dezembro de 2008.

CLAUDIA GRAÇA

Analista Ambiental/Zootecnista – Matrícula 4230002-0

FÁTIMA DE FREITAS LOPES SOARES

Analista Ambiental/Bióloga – Matrícula 27/1492

JOÃO BATISTA DIAS

Analista Ambiental/Geógrafo – Matrícula. 27/1087

RESUMO

A bacia do rio Paraíba do Sul está situada em uma área de 56.500 km², drenando uma das regiões mais desenvolvidas do país, abrangendo São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Trata-se, portanto, de território totalmente antrópico com a vegetação original restrita a parques e reservas florestais. O rio Paraíba do Sul tem seu curso marcado por sucessivas represas, destinadas à provisão de água e eletricidade, sendo utilizado para abastecimento industrial, agropecuário e disposição final de esgotos. Para avaliar a qualidade da água do rio Paraíba do Sul foram utilizados os reservatórios das Usinas Hidrelétricas (UHEs) Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecília/RJ e Santa Branca/SP para o biomonitoramento utilizando biomarcadores em *Pimelodus maculatus* (Lacepède, 1803) e *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829). Os espécimes foram coletados à montante das UHEs em junho/2008 e fevereiro/2009. Para as análises bioquímicas, baseadas no estresse oxidativo celular foram coletadas amostras do fígado para determinação de atividade enzimática da Catalase (CAT), Glutathione S-transferase (GST) e quantificação da Lipoperoxidação (LPO); para análise neurotóxica, foi avaliada a atividade da Acetilcolinesterase (AChE) no músculo axial. Para as análises histopatológicas foram coletadas amostras do fígado e brânquias observadas em microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Dados biométricos foram mensurados para obtenção do Índice Hepatosomático (IHS) e Fator de Condição (K). Também foram avaliadas as condições ambientais dos reservatórios, através dos parâmetros físico-químicos da água, sendo: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade e turbidez. Nas três áreas amostradas foram constatadas variações nas condições oxidativas das espécies, sobretudo no período de fevereiro. A histopatologia revelou alterações em brânquias correspondentes a aneurismas, hiperplasias e fusões lamelares. No fígado as alterações apontam para elevada ocorrência de necroses e respostas inflamatórias para ambas as espécies. Em *Pimelodus maculatus* foi observada grande quantidade de centros de melano-macrófagos no tecido hepático. Uma maior incidência parasitária foi observada para as duas espécies no período de junho/2008 em fígado de *Pimelodus maculatus* e brânquias de *Oligosarcus hepsetus*. Os índices IHS e K foram similares para *Pimelodus maculatus* nos reservatórios das UHEs, indicando similaridade das condições fisiológicas entre as amostras, entretanto, *Oligosarcus hepsetus* apresentou menor IHS e K em fevereiro/2009 na UHE Santa Branca. Os parâmetros físico-químicos apresentaram inúmeras variações nas áreas amostradas, no entanto, foram consideradas normais para os padrões de qualidade estabelecidos pela Resolução do CONAMA 357/2005. A avaliação conjunta dos biomarcadores morfológicos e bioquímicos sugere que as influências antrópicas nas áreas avaliadas podem estar afetando continuamente os indivíduos. Os dados reforçam a importância da utilização de diferentes biomarcadores em programas de biomonitoramento, essencialmente em áreas de relevante interesse.

ABSTRACT

The Basin of Paraíba do Sul river is situated in an area of 56.500 km², draining one of the most developed region of the country, covering São Paulo, Rio de Janeiro and Minas Gerais states. It is, therefore, a totally anthropic territory with original vegetation restricted to parks and forest reserves. The course of Paraíba do Sul river is marked by successive dams, providing water and electricity to industries, agro-business and it is also a recipient for sewage discharge. Therefore, an evaluation of the water quality of the river was conducted using the reservoir of the hydroelectric plants in Ilha dos Pombos/MG, Santa Cecília/RJ and Santa Branca/SP. During this study a bio-monitoring was developed using biomarkers and the species *Pimelodus maculatus* (Lacepède, 1803) and *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) in the reservoir of those three dams. The specimens were collected during the months of June/08 and February/09. For biochemical analysis, based on cellular oxidative stress, samples from liver were collected to determine the enzymatic activity of Catalase (CAT), Glutathione S-transferase (GST) and Lipoperoxidation quantification (LPO); for neurotoxic analysis, the activity of Acetylcholinesterase was evaluated on axial muscle. Samples from liver and gills were collected and observed in microscopic optic (MO) and microscopic electronic scanning (MEV). Biometric data was measured to obtain Hepatosomatic Index (IHS) and Condition Factor (K). The environmental condition of the reservoirs was also evaluated through physical-chemical parameters of the water, such as: temperature, pH, dissolved oxygen, salinity and turbidity. Variations on oxidative conditions of species were registered at the three areas collected, especially in February. The histopathology showed aneurism, hyperplasia and lamelle fusions in the gills. The liver shows high occurrence of necrosis and inflammatory responses in the tissue for both species. Great quantity of melano-macrophage on hepatic tissue was registered for *Pimelodus maculatus*. Presence of parasites was registered on both gills and livers. The HIS and K indexes were similar with *Pimelodus maculatus* at the three plants reservoirs, indicating similarities of physiologic conditions among the samples, however, that different results were observed for *Oligosarcus hepsetus*. The physical-chemical parameters showed several changes at the sample areas, however, they were considered normal for the established quality standard. The combined evaluation of morphologic and biochemical biomarkers suggests that the anthropic influence on the analyzed areas could be continuously affecting the individuals. These data reinforce the importance in using different biomarkers in bio-monitoring programs, mainly in areas of highly interest.