

Biomarcadores histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma Unidade de Conservação de São Luís (MA)

[*Histopathological biomarkers in Hoplias malabaricus (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) species in a protected area of São Luís (MA)*]

J.S. Castro^{1,2}, J.S. Silva¹, L.C. Freitas¹, R.N.F. Carvalho-Neta¹

¹Universidade Estadual do Maranhão – Campus Paulo VI – Tirirical – São Luís, MA

²Bolsista de Iniciação Científica FAPEMA

RESUMO

Neste estudo objetivou-se validar dois órgãos (brânquia e fígado) de *Hoplias malabaricus* para análise de biomarcadores de contaminação aquática na Área de Proteção Ambiental (APA) do Maracanã em São Luís-MA. Exemplos de traíra foram capturados em uma lagoa de policultivo e no Rio Ambude, localizados na APA do Maracanã. A biometria foi realizada em laboratório. Brânquias e o fígado de cada espécime foram fixados em formol a 10% e mantidos em álcool a 70% até a execução da técnica histológica usual. Cortes de aproximadamente 5µm de espessura foram corados em hematoxilina e eosina (HE). Os resultados referentes à biometria dos peixes capturados durante o período de estiagem indicaram que o comprimento total e padrão dos exemplares foram maiores quando comparados com os indivíduos do período chuvoso. As alterações hepáticas identificadas foram: lipidose, necrose, infiltração leucocitária, vacuolização do citoplasma, hemossiderina e centro de melanomacrófagos. Constataram-se as seguintes lesões branquiais: fusão lamelar, aneurisma lamelar, deslocamento e necrose do epitélio, proliferações de células do muco e dilatação capilar. As respostas biológicas de *H. malabaricus*, registradas em nível branquial e hepático, podem ser caracterizadas como biomarcadores de contaminação aquática. As brânquias mostraram-se como os melhores órgãos para esse tipo de análise na espécie. Esses resultados indicam que os peixes da região apresentam a saúde comprometida por poluentes presentes nos ambientes analisados.

Palavras-chave: biomarcadores, lesões histológicas, monitoramento ambiental

ABSTRACT

The aim of the present work was to validate two organs (liver and gill) of Hoplias malabaricus for analysis of aquatic contamination biomarkers in the Maracanã Environmental Protected Area (APA) in São Luís-MA. Trahira animals were captured in a pond polyculture and Ambude River located in Maracanã APA. Biometric analysis was performed in the laboratory. Gills and liver of each specimen were fixed in 10% formalin and kept in 70% alcohol to running the usual histological technique. Cuts of approximately 5µm thick were stained with hematoxylin and eosin (HE). The results concerning the biometrics of the fish caught during the dry season indicated that the total and standard length were higher when compared to the rainy season. The liver changes identified were: lipodosis, necrosis, leukocyte infiltration, vacuolization of the cytoplasm, hemosiderin and melanomacrophages centres. We found the following gill lesions: melting lamellar, lamellar aneurysm displacement, necrosis of the epithelium, proliferation of mucous cells and capillary dilation. The biological responses of H. malabaricus, recorded in gill and liver level, can be characterized as biomarkers of aquatic contamination. The gills appeared as the best organs for this kind of analysis in the species. These results indicate that the fish have health problems caused by pollutants present in the analyzed environments.

Keywords: biomarkers, histological lesions, environmental monitoring

Recebido em 24 de fevereiro de 2014

Aceito em 4 de agosto de 2014

E-mail: jonatacastro@hotmail.com.br

INTRODUÇÃO

Os peixes são usados na alimentação humana e, devido ao seu potencial de acumular poluentes presentes na coluna d'água, bem como através da biomagnificação pela cadeia trófica, representam uma importante via de contaminação para populações humanas (Oliveira *et al.*, 2006). Nesse sentido, esses animais caracterizam-se pela grande sensibilidade aos poluentes de origem antrópica (Oliveira e Bennemann, 2005). Os vários poluentes presentes na água e no sedimento dos ambientes podem causar diversas alterações morfológicas em tecidos dos peixes, principalmente nas brânquias e no fígado (Sousa *et al.*, 2013).

As modificações nos diferentes níveis biológicos (celulares, teciduais e sistêmicos) são indicativas dos danos que os contaminantes podem provocar nos peixes (Nogueira *et al.*, 2008). Tais modificações são conhecidas como biomarcadores. As duas características mais importantes dos biomarcadores são: a) permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos; b) possibilitam a mensuração de efeitos subletais (Jesus e Carvalho, 2008).

As brânquias constituem um órgão “chave” para o estudo das ações dos poluentes no meio aquático porque estão continuamente em contato com a água e possuem uma superfície de contato relativamente grande (Arellano *et al.*, 1999). O fígado é responsável pelo processo de desintoxicação dos produtos exógenos e endógenos, tais como toxinas que podem ser ingeridas pelo animal no ambiente natural e ou de cultivo (Roberts, 2001).

Entre as espécies de peixes em que se pode analisar biomarcadores morfológicos, destaca-se *Hoplias malabaricus* (traíra), caracterizado por ser um animal que se encontra nos níveis superiores da cadeia alimentar, indicando respostas de efeitos crônicos, acumulativos e persistentes ao longo da cadeia trófica (Lins *et al.*, 2010). Além disso, essa espécie apresenta grande relevância na pesca brasileira, tanto para fins de subsistência quanto comercial (Barros *et al.*, 2007; Pessoa *et al.*, 2013).

O uso de biomarcadores de contaminação aquática em peixes em Unidades de Conservação

(UCs) é particularmente importante, uma vez que mostra respostas biológicas iniciais, podendo ser útil para subsidiar ações de monitoramento e de gestão ambiental (Carvalho-Neta, 2010). Não existem ainda estudos realizados com *H. malabaricus* em UCs no Maranhão. Dessa forma, neste trabalho objetivou-se validar as lesões branquiais e hepáticas como biomarcadores de contaminação aquática em *Hoplias malabaricus* da Área de Proteção Ambiental (APA) do Maracanã (São Luís- MA).

MATERIAL E MÉTODOS

Os 20 (vinte) exemplares de *Hoplias malabaricus* foram coletados com o auxílio de tarrafa em dois pontos distintos da APA do Maracanã, sendo o primeiro em uma lagoa de policultivo (A1 = 2°38'2.99"S/ 44°17'55.58"W) e o segundo no Rio Ambude (A2 = 2°37'45.01"S/ 44°17'44.87"W). As amostragens foram realizadas durante o período de estiagem de 2012 (outubro) e o período chuvoso (janeiro) de 2013. Os animais coletados foram acondicionados em sacos plásticos e colocados em caixas de isotérmicas com gelo para serem transportados ao Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática (LabPEA) da Universidade Estadual do Maranhão. Paralelamente à captura dos peixes aferiram-se os dados de amônia tóxica, temperatura, pH, oxigênio dissolvido, turbidez e nitrito em cada área de coleta.

No laboratório registraram-se os seguintes dados biométricos de cada exemplar de *H. malabaricus*: comprimento total (Lt), comprimento padrão (Lp) em cm, peso total (Wt) e o peso das gônadas (Wg) em g. Depois de pesados e medidos, retiraram-se as brânquias e o fígado de cada exemplar, os quais foram fixados em formol a 10% e mantidos em álcool a 70% até o processamento histológico usual.

O primeiro arco branquial direito e a região mediana do fígado de cada espécime foram desidratados em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Cortes transversais de aproximadamente 5µm de espessura foram corados com hematoxilina e eosina (HE). As alterações histopatológicas observadas nas brânquias e fígados foram fotomicrografadas e ordenadas, segundo o grau de severidade das

lesões, conforme escala sugerida por Bernet *et al.* (1999).

A observação das lâminas foi realizada em microscópio óptico utilizando-se as objetivas 10x e 40x, e as lesões encontradas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEISS.

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão. Diferenças estatísticas entre os períodos e locais amostrados foram analisadas por meio do teste de Student (teste t).

RESULTADOS

A média dos valores dos dados abióticos registrados nos dois pontos de coleta (Tab. 1) está de acordo com os dados indicados na Resolução CONAMA (Conselho..., 2005). Pode-se perceber valores maiores de amônia tóxica e turbidez na Lagoa Serena, devido à pouca circulação de água e pela utilização de ração em excesso no ambiente, já que esta se trata de uma lagoa de cultivo de peixes. Os valores de pH, nitrito e temperatura se mantiveram constantes em ambos os pontos.

Tabela 1. Parâmetros ambientais analisados nos dois pontos de coleta da região da APA do Maracanã, São Luís, Maranhão, no período de estiagem (outubro/2012) e na época chuvosa (janeiro/2013)

| Parâmetros | Lagoa Serena (A1) | Rio Ambude (A2) | Valores Recomendados |
|---------------------------------|-------------------|-----------------|---------------------------------------|
| Amônia Tóxica (ppm) | 0,5 | 0,25 | ≤3,7 mg/L (para pH ≤7,5) ^b |
| O ₂ Dissolvido (ppm) | 11 | 9 | >5 mg/L ^b |
| pH | 7,5 | 7,3 | 6,5-8,0 ^b |
| Nitrito (ppm) | 0 | 0 | ≤1 mg/L ^b |
| Temperatura (°C) | 30 | 30 | 28 - 32°C ^b |
| Turbidez (cm) | 23,5 | 17 | <100 UNT ^b |

UNT = Unidades Nefelométricas de Turbidez; ppm = partes por milhão; mg = miligramas; L = litros; ^bResolução n. 357 do CONAMA, de 17/03/2005.

As médias dos dados biométricos para os exemplares de *Hoplias malabaricus* estão apresentadas na Tab. 2. Os dados mostram que os peixes coletados no período de estiagem apresentam maiores valores de comprimento total (Lt) e padrão (Lp) em relação aos exemplares da coleta do período chuvoso ($p < 0.05$); o mesmo foi observado para peso total (Wt) e peso das gônadas (Wg).

A análise histopatológica realizada nos exemplares de *Hoplias malabaricus* coletados em dois pontos da APA do Maracanã mostrou alterações morfológicas no fígado e nas brânquias desses exemplares (Fig. 1). No tecido hepático de *H. malabaricus* foram encontradas as seguintes alterações: lipidose, área de necrose, infiltração leucocitária, vacuolização do citoplasma, hemossiderina e centro de

melanomacrófagos (Fig. 2). A análise branquial indicou as seguintes alterações: fusão lamelar, aneurisma lamelar, deslocamento do epitélio, proliferação de células do muco, dilatação capilar e necrose do epitélio (Fig. 3).

Tabela 2. Médias dos dados biométricos de *H. malabaricus* coletados em dois pontos da APA do Maracanã, São Luís, Maranhão

| Parâmetros | Média±Desvio-padrão | |
|------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| | Coleta 1 (período de estiagem) | Coleta 2 (período chuvoso) |
| LT (cm) | 25,62±6,16 | 17,2±1,29 |
| LP (cm) | 20,50±5,22 | 16,15±1,48 |
| WT (g) | 236,67±155,02 | 49,19±10,49 |
| WG (g) | 0,05±0,01 | 0,04±0,02 |

LT = comprimento total; LP = comprimento padrão; WT = peso total; WG = peso das gônadas.

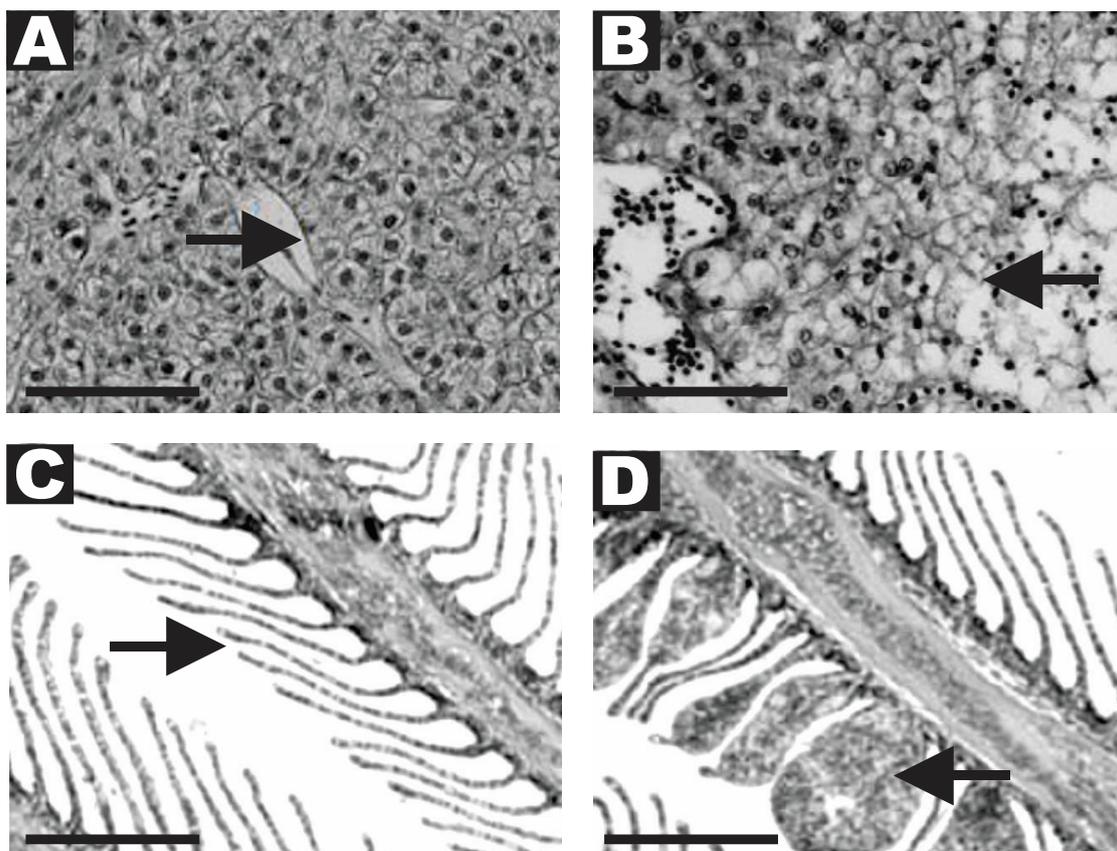


Figura 1. Morfologia do tecido branquial e hepático de *H. malabaricus*. A – tecido hepático normal (seta = veia hepática); B – lesão hepática (seta = lipídose) - Escala = 50 µm; C) tecido branquial normal (seta = lamelas secundárias); D) lesão branquial (seta = aneurismas) - Escala = 500µm.

DISCUSSÃO

As lesões encontradas nas brânquias de *H. malabaricus* foram variadas e em diferentes graus de severidade. Essas alterações podem ser em decorrência da poluição das águas dos locais de coleta dos peixes, que recebem efluentes rurais, domésticos e industriais, os quais podem ocasionar a diminuição do oxigênio dissolvido, perda de nutrientes e oscilação da temperatura. Esses fatores estressam os peixes e, conseqüentemente, causam mudanças na sua estrutura morfofisiológica (Rabitto *et al.*, 2005). Em pesquisa realizada por Romão *et al.* (2006), foram encontrados resultados para a espécie *H. malabaricus* que se assemelham com os dados obtidos neste trabalho. Winkaler *et al.* (2001), ao analisarem as brânquias de lambari (*Astyanax jacuhiensis*) coletados no córrego Capivara, Londrina-PR, este apresentando níveis elevados de metais e poluído por esgoto doméstico, identificaram lesões como aneurisma lamelar,

deslocamento do epitélio e dilatação dos canais sanguíneos. Nogueira *et al.* (2008), ao analisarem as brânquias de mandi (*Pimelodus maculatus*) coletados no reservatório UHE Furnas-MG, evidenciaram a presença de aneurisma, proliferação das células do muco, dilatação sanguínea no canal e fusão lamelar; segundo os autores, essas lesões indicam que os peixes estão respondendo aos efeitos de agentes tóxicos presentes na água e no sedimento.

O manejo inadequado no cultivo de peixes também é um fator determinante para a observação das lesões branquiais. De acordo com Macedo (2010), a falta de manutenção da qualidade da água dos viveiros e a utilização de produtos agrotóxicos aceleram o acúmulo de matéria orgânica e acarretam a eutrofização do ambiente; esses fatores dificultam o processo de respiração dos peixes, causando estresse nestes. As alterações nas brânquias, como a fusão das lamelas e a hiperplasia, visam à defesa em

Biomarcadores histopatológicos...

situações de estresse; no entanto, provocam um deslocamento na sua estrutura afetando diretamente os mecanismos de respiração e osmorregulação (Nogueira *et al.*, 2011). Roberts (2001) afirma que, quando muitas

lamelas são comprometidas pelas lesões, a função respiratória diminui consideravelmente, principalmente em temperaturas altas, quando o oxigênio dissolvido encontra-se em níveis baixos e a demanda metabólica está alta.

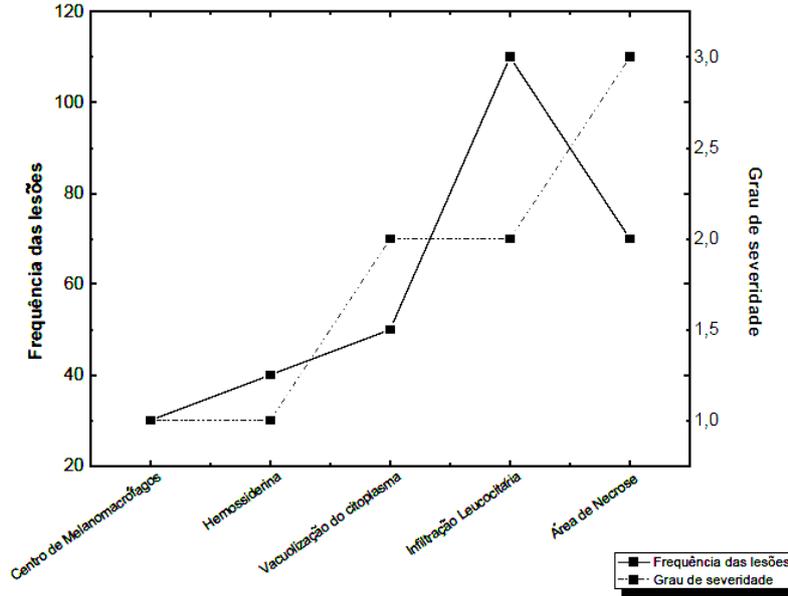


Figura 2. Frequência das lesões encontradas no tecido hepático de *H. malabaricus*, relacionada com a escala do grau de severidade das lesões.

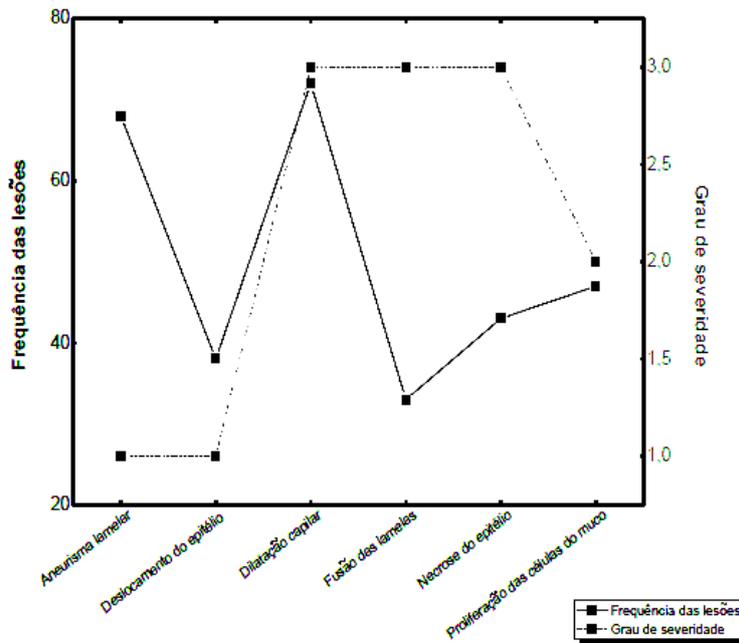


Figura 3. Frequência das lesões encontradas nas brânquias de *H. malabaricus*, relacionada com a escala do grau de severidade das lesões.

Alterações encontradas em brânquias podem ser utilizadas como meio de identificar a ação de compostos químicos nos peixes, além de servir como uma ferramenta do monitoramento ambiental. Essas alterações morfológicas proporcionam inferir a qualidade do ambiente aquático e quantificar as alterações fisiológicas dos organismos afetados (Lupi *et al.*, 2007). No caso de *H. malabaricus* da APA do Maracanã, observou-se a presença de muitas lesões branquiais, desde o grau I (leves e reversíveis) até o grau III (severas e irreversíveis), especialmente no rio Ambude. Esses dados indicam estresse causado por contaminação aquática (Nogueira *et al.*, 2011).

As lesões hepáticas mais frequentes nos peixes analisados na APA do Maracanã foram infiltração leucocitária e áreas de necrose. A abundância de poluentes e lesões encontradas nos fígados dos peixes está diretamente ligada ao nível de poluição do ambiente, seja por metais pesados ou pesticidas, provocando assim um aumento de reação inflamatória (infiltração de leucócitos) e de áreas de necrose (Flores Lopes e Malabarba, 2007). Camargo e Martinez (2007), ao analisarem os peixes do ribeirão Cambé, este contaminado por esgoto doméstico e por efluentes rurais, constataram a presença de área de necrose no tecido hepático do peixe. A mesma situação foi descrita por Campos *et al.* (2006) ao observarem a presença de necrose em peixes cultivados em locais contaminados por pesticidas agrícolas. Em um estudo realizado com os peixes oriundos das lagoas de estabilização do Polo Petroquímico do Sul, localizado no município de Triunfo (RS), Flores Lopes e Malabarba (2007) detectaram no fígado de Lambari alterações histopatológicas, sendo elas necrose, vacuolização de hepatócitos e centro de melanomacrófagos, sendo que essas lesões foram mais comuns em águas poluídas com efluentes do que em águas tratadas. Esses dados coincidem com os encontrados para *H. malabaricus* da APA do Maracanã, que ainda apresenta rios sem lançamento direto de esgotos domésticos, mas possui um distrito industrial nas suas proximidades. O manejo inadequado no cultivo, causando estresse ao peixe, é outro fator que pode estar contribuindo para o aparecimento das lesões identificadas nos peixes da região analisada.

Os parâmetros ambientais indicaram valores elevados de amônia tóxica e turbidez na lagoa de cultivo de peixes. Segundo Mercante (2012), quanto maior o pH do ambiente, maior será a taxa de amônia. Em lagoas de cultivo, as principais fontes de compostos nitrogenados incorporados ocorrem pela alimentação. As rações e fertilizantes utilizados nos viveiros contêm nitrogênio, principalmente na forma de amônia e nitrato. Esses elementos em excesso no ambiente de cultivo podem prejudicar o crescimento dos peixes, além de serem nutrientes utilizados pelo fitoplâncton, provocando o crescimento excessivo das algas, deixando o ambiente eutrofizado e dificultando a penetração de luz (Mercante, 2012).

Os resultados dos dados biométricos para os exemplares de *Hoplias malabaricus* indicaram que os peixes coletados no período de estiagem apresentam maiores valores de comprimento total (Lt) e padrão (Lp) em relação aos exemplares da coleta do período chuvoso, sendo que o mesmo padrão foi observado para peso total (Wt) e peso das gônadas (Wg). Essa variação de medidas pode estar relacionada ao período de desova dos peixes, já que estes geralmente atingem a maturidade sexual no período de estiagem e se preparam para liberar os ovos no período chuvoso (Petry, 2005). Os dados da presente pesquisa diferem das observações de Chaves *et al.* (2009), realizadas para *H. malabaricus* em um açude da Bacia do Rio Taperoá (Paraíba), em que foi possível verificar que as maiores médias para peso total (Wt) e comprimento padrão (Ls) ocorriam no período chuvoso. Por outro lado, os resultados das análises dos peixes da APA do Maracanã coincidem com estudos realizados na planície de inundação do alto rio Paraná, onde Bialezki *et al.* (2002) puderam verificar que *H. malabaricus* possui um período maior de desova durante o período de estiagem.

CONCLUSÕES

A ocorrência de lesões branquiais e hepáticas *Hoplias malabaricus* em dois locais diferenciados da APA do Maracanã indicou contaminação aquática, sendo que as brânquias mostraram-se como os melhores órgãos para esse tipo de análise na espécie. A falta de qualidade da água e o contínuo aumento no uso de produtos agrotóxicos nos ambientes próximos aos locais

analisados podem ser os causadores das alterações morfofisiológicas branquiais e hepáticas encontradas na espécie *Hoplias malabaricus*. O táxon *H. malabaricus* mostrou-se como um indicador biológico adequado para a análise de biomarcadores histopatológicos de contaminação aquática para analisar as condições ambientais na Área de Proteção Ambiental do Maracanã (São Luís- MA).

AGRADECIMENTOS

Os nossos agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), pela concessão da bolsa ao primeiro autor; ao Grupo de Pesquisa em Ecotoxicologia (GP-TOX) da Universidade Estadual do Maranhão; à equipe do Laboratório de Pesca e Ecologia Aquática (LabPEA), pelo suporte físico para as análises dos peixes.

REFERÊNCIAS

- ARELLANO, J.M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotox. Environ. Safe.*, v.44, p.62-72, 1999.
- BARROS, L.A.; MORAES FILHO, J.; OLIVEIRA, R.L. Larvas de nematoides de importância zoonótica encontradas em traíras (*Hoplias malabaricus* bloch, 1794) no município de Santo Antonio do Leverger, MT. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, p.533-535, 2007.
- BERNET, D.; SCHIMIDT, H.; MEIER, W. *et al.* Histopatology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish. Dis.*, v.22, p.25-34, 1999.
- BIALETZKI, A.; NAKATANI, K.; SANCHES, P.V.; BAUMGARTNER, G. Spatial and temporal distribution of larvae and juveniles of *hoplias* aff. *Malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) in the upper Paraná River Floodplain, Brazil. *Braz. J. Bio.*, v.62, p.211-222, 2002.
- CAMARGO, M.M.P.; MARTINEZ, C.B.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop. Ichthyol.*, v.5, p.327-336, 2007.
- CAMPOS, C.M.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.17, p.200-205, 2008.
- CARVALHO-NETA, R.N.F. (Org). *APA do Maracanã: subsídios ao manejo e à Educação Ambiental*. São Luís-MA: Café & Lápis/FAPEMA, 2010. 155p.
- CHAVES, M.F.; TORELLI, J.; TARGINO, C.H.; CRISPIM, M.C. Dinâmica reprodutiva e estrutura populacional de *Hoplias aff. Malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiforme, Erythrinidae), em açude da Bacia do Rio Taperoá, Paraíba. *Rev. Biotemas*, v.22, p.85-89, 2009.
- CONSELHO Nacional Do Meio Ambiente - CONAMA, RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005.
- FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L.R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do Lambarí *Astyanax jacuhiensis* (TELEOSTEI, CHARACIDAE) sob influência de efluentes petroquímicos. *Biociências*, v.15, p.166-172, 2007.
- JESUS, T.B.; CARVALHO, C.E.V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecologia Brasiliensis*, v.12, p.680-693, 2008.
- LINS, J.A.P.N.; KIRSCHNIK, P.G.; QUEIROZ, V.S.; CIRIO, S.M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Rev. Acad., Agrár. Ambient.*, v.8, p.469-484, 2010.
- LUPI, C. Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nasbrânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. *R. Fafibe On Line*, n.3, p.1-3, 2007.
- MACEDO, C.F.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. *Bol. Inst. Pesca*, v.36, p.149- 163, 2010.

- MERCANTE, C.T.J.; MARTINS, Y.K.; DO CARMO, C.F. et al. A. Qualidade da água em viveiro de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. *Bioikos*, v.21, p.79-88, 2012.
- NOGUEIRA, D.J.; CASTRO, S.C.; RIGOLIN-SÁ, O. Utilização das brânquias de *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000) (Teleostei, Characidae) como biomarcador de poluição ambiental no reservatório UHE Furnas-MG. *Rev. Bras. Zootec.*, v.11, p.227-232, 2008.
- NOGUEIRA, D.J.; CASTRO, S.C.; VIEIRA, R.C.A.; RIGOLIN-SÁ, O. Utilização das brânquias de *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (Siluriformes; Pimelodidae) como biomarcador de poluição no reservatório da UHE Marechal Mascarenhas de Moraes, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Biotemas*, v.24, p.51-58, 2011.
- OLIVEIRA, D.C.; BENNEMANN, S.T. Ictiofauna, recursos alimentares e relações com as interferências antrópicas em um riacho urbano no sul do Brasil. *Biota Neotropica*, v.5, p.1-13, 2005.
- OLIVEIRA RIBEIRO, C.A.; FILIPAK NETO, F.; MELA, M. et al. 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.
- PESSOA, E.K.R.; SILVA, N.B.; CHELLAPPA, N.T. et al. Morfologia comparativa do trato digestório dos peixes *Hoplias malabaricus* e *Hypostomus puarum* do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Bio. Amaz.*, Macapá, v.3, p.48-57, 2013.
- PETRY, A.C. A traíra *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794) na planície de inundação do alto rio Paraná: influência sobre as assembleias de peixes e aspectos da auto-ecologia. 2005. 70p. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá.
- RABITTO, I.S.; ALVES COSTA, J.R.M.; SILVA DE ASSIS, H.C. et al. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. *Ecotox. Environ. Safe*, v.60, p.147-156, 2005.
- ROMÃO, S.; DONATTI, L.; FREITAS, M.O. et al. Blood parameter analysis and morphological alterations as biomarkers on the health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. *Braz. Arch. Biol. Techn.*, v.49, p.441-448, 2006.
- ROBERTS, R.J. *Fish Pathol.* London: W.B. Saunders, 2001. 472 p.
- SOUSA, D.B.P.; ALMEIDA, Z.S.; CARVALHO-NETA, R.N.F. Biomarcadores histológicos em duas espécies de bagres estuarinos da Costa Maranhense, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.65, p.369-376, 2013
- WINKALER, E.U.; SILVA, A.G.; GALINDO, H.C.; MARTINEZ, C.B.R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Sci.*, v.23, p.507-514, 2001.