

FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM TILÁPIAS *OREOCHROMIS NILOTICUS* (PERCIFORMES, CICHLIDAE) DE PISCICULTURAS NO MUNICÍPIO DE MATUTINA (MG)¹

Hugo Wallace de Oliveira

Graduando do curso de Medicina Veterinária (UNIPAM).

E-mail: hugowallace1@outlook.com

Sady Alexis Chavauty Valdes

Docente do curso de Medicina Veterinária (UNIPAM).

E-mail: sadyacv@unipam.edu.br

RESUMO: Uma forma de detectar a presença dos agentes genotóxicos é o teste de micronúcleos, que é uma técnica confiável, rápida e tecnicamente menos exigente do que a pontuação de aberrações cromossômicas. Em razão da inexistência de trabalhos com biomonitoramento no município de Matutina (MG), o objetivo do presente estudo foi investigar a presença de alterações genotóxicas, através do teste de micronúcleos, em hemácias periféricas de peixes da espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) de duas pisciculturas desse município. Foram coletadas amostras de sangue periférico de 20 peixes de duas propriedades no município de Matutina (MG). Para a contagem de micronúcleos, examinou-se um total de dois mil (2.000) eritrócitos por peixe. As análises dos esfregaços sanguíneos foram realizadas no período de 6 a 30 de agosto de 2018, no laboratório de Parasitologia Animal do Centro Universitário de Patos de Minas e revelaram uma frequência de células micronucleadas muito reduzida em comparação com dados encontrados em literatura. Foram observados micronúcleos em duas células, dentre todas as amostras provenientes da piscicultura A, e micronúcleos em três células, dentre as amostras da piscicultura B. Foram observadas também anormalidades nucleares, as quais podem ser explicadas por uma ação de reparo da célula ao se detectar uma região cromossômica afetada iniciando um processo de reparação e/ou eliminação. Conclui-se que não há alterações genotóxicas em hemácias de tilápias (*Oreochromis niloticus*) das duas pisciculturas do município de Matutina (MG), avaliadas em agosto de 2018, indicando assim a ausência de xenobióticos em concentrações capazes de produzir danos ao material genético dessas células.

PALAVRAS-CHAVE: Xenobióticos. Genotóxicos. Biomonitoramento. Bioindicador.

ABSTRACT: A way to detect the presence of genotoxic agents is the micronucleus test, which is a reliable, rapid and technically less demanding technique than the score of chromosomal aberrations. Bon account of the lack of reports with biomonitoring in the municipality of Matutina (MG), the objective of this study was investigate the presence of genotoxic changes, through the micronuclei test in fish peripheral erythrocytes of

¹ Trabalho apresentado na área temática 2, comunicação oral, do XI Congresso Mineiro de Inovações Agropecuárias, realizado de 20 a 24 de novembro de 2018.

the *Oreochromis niloticus* species (Nile tilapia) from two fish farmings in this municipality. 20 fish peripheral blood samples were collected from two fish farmings in Matutina (MG). For micronucleus count, it was examined an amount of two thousand (2,000) erythrocytes per fish. The analysis of blood smears showed a frequency of micronucleated cells greatly reduced in comparison to data found in the literature. Two micronuclei were observed in samples of the fish farming A, and three in samples of the fish farming B. Nuclear anomalies were also observed, which may be explained due to cell repair action detected by an affected chromosome region initiating a process of repair and/or disposal. In conclusion, there are no genotoxic changes in erythrocytes of tilapias (*Oreochromis niloticus*) of the two fish farmings in the municipality of Matutina (MG) evaluated in August 2018, indicating the absence of xenobiotics in concentrations capable of producing damage to those cells genetic material of.

KEYWORDS: Xenobiotics. Genotoxics. Biomonitoring. Bioindicator.

INTRODUÇÃO

A conservação das águas, a sua utilização racional e a garantia de acesso são aspectos importantes na gestão dos recursos hídricos, para o bem-estar de todos, para a preservação do ambiente e para a resolução de conflitos relacionados à questão hídrica (VASCONCELOS, 2012). Dentre todos os ecossistemas, o aquático é o que tem sofrido mais impactos decorrentes da poluição, uma vez que a água acaba sendo o destino final de todo poluente (MANZANO, 2010). Nesse contexto, é crescente a preocupação em diagnosticar e monitorar a poluição ambiental aquática (CHRISTOFOLETTI, 2008).

A ação humana, por meio principalmente da expansão e intensificação das atividades econômicas e do adensamento populacional de forma desordenada, vem ocasionando crescentes problemas para os recursos hídricos, alterando o regime hidrológico, a qualidade e a quantidade das águas (VASCONCELOS, 2012).

Nessa perspectiva, ambientes aquáticos como rios, estuários, lagoas e oceanos, principalmente próximos às cidades, recebem, de forma crescente, inúmeros compostos poluentes como resultado da atividade antropogênica (GOUVEIA *et. al.*, 2014). Quase sem exceção, as maiores cidades do mundo estão localizadas próximas a grandes rios, lagos e estuários que servem como “esgotos gratuitos” (CHRISTOFOLETTI, 2008).

Além da contaminação direta, a qualidade da água pode ser reduzida de forma indireta, por substâncias lançadas no solo ou no ar que, em função das chuvas ou infiltração, atingem as águas, como fertilizantes, agrotóxicos, efluentes de aterros sanitários e poluentes atmosféricos (RIVERO, 2007).

Os agrotóxicos representam os produtos mais amplamente encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos do mundo todo, em função do amplo uso em áreas agrícolas e urbanas. Eles compreendem uma variedade de moléculas com distintas propriedades que lhes conferem diferentes graus de persistência ambiental, mobilidade e potenciais tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico ou algum

efeito endócrino a diversos organismos não-alvo, inclusive o ser humano (ARMAS *et al.*, 2007).

A Ecogenotoxicologia aquática estuda a exposição de espécies aquáticas aos compostos genotóxicos, os quais aumentam o risco de câncer, toxicidade a embriões e efeitos teratogênicos (RIVERO, 2007). Trabalhos com genotoxicidade em peixes são considerados uma importante ferramenta na avaliação da qualidade da água, dos efeitos de poluentes e da ação antrópica nos organismos aquáticos (GOUVEIA *et al.*, 2014).

No biomonitoramento, os bioindicadores são organismos como plantas, animais, fungos, bactérias, entre outros, que mostram respostas biológicas em longo prazo das condições ambientais e das mudanças súbitas dos fatores intrínsecos ao ambiente. Desses organismos, os peixes são frequentemente os mais convenientes para o monitoramento da poluição em ecossistemas aquáticos (BUENO *et al.*, 2017). Existem três principais situações que requerem biomonitoramento: (1) quando há razões para se acreditar que espécies nativas estão sendo ameaçadas; (2) quando há implicações para a saúde humana quanto ao consumo de organismos potencialmente afetados; (3) quando há o interesse em conhecer a qualidade ambiental (BENINCÁ, 2006).

Os peixes normalmente respondem aos compostos tóxicos em vias similares aos grandes vertebrados. Assim, podem ser utilizados como bioindicadores para testar substâncias químicas potencialmente teratogênicas e/ou carcinogênicas para o homem (RIVERO, 2007).

Uma forma de detectar a presença dos agentes genotóxicos é o teste de micronúcleos, que é uma técnica confiável, rápida e tecnicamente menos exigente do que a pontuação de aberrações cromossômicas (BUENO *et al.*, 2017). A avaliação das alterações nucleares e os micronúcleos são testes que vêm sendo utilizados, em muitas pesquisas, para estimar o nível de exposição a contaminantes ambientais, principalmente na investigação de efeitos genotóxicos. Esses testes medem o dano cromossômico estrutural ou numérico e são usados para avaliar a genotoxicidade, sendo recomendados para estudos ambientais tanto em condições laboratoriais quanto no campo (GOES *et al.*, 2016).

Os micronúcleos (MN) são corpos citoplasmáticos contendo cromatina, formados quando os fragmentos cromossômicos acêntricos se atrasam durante a anáfase e não se tornam incorporados nos núcleos das células filhas no processo de divisão celular. As alterações genéticas surgem como resultado de anormalidades cromossômicas ou do fuso, levando à formação de micronúcleos, que tendem a ser irreversíveis e continuam a se manifestar nas futuras gerações por meio da hereditariedade, podendo levar à redução na diversidade de espécies do ecossistema impactado (OBIAKOR *et al.*, 2012).

A presença de micronúcleo é um fenômeno natural, porém as exposições a compostos genotóxicos aumentam a sua frequência nas células (FRANCO, 2012). O teste de micronúcleos é empregado para estudos de análises ambientais, em que muitos trabalhos utilizam peixes, pela sensibilidade desses organismos às mudanças ambientais ou a agentes químicos dispersos na água (GOUVEIA *et al.*, 2014). Os eritrócitos de peixes são especialmente preferidos para o teste de micronúcleos, pois,

sendo nucleados, os micronúcleos são marcados facilmente como resultado de atividade clastogênica (quebra cromossômica) dos contaminantes (CHRISTOFOLETTI, 2008).

Entre os peixes de água doce do Brasil, as tilápias são espécies exóticas que têm sido usadas como organismos bioindicadores de poluição por apresentarem ampla distribuição geográfica e características ecológicas conhecidas (MOTA; BARBONI; JESUS, 2009). Em razão da inexistência de trabalhos com biomonitoramento no município de Matutina (MG), o objetivo do presente estudo foi investigar a presença de alterações genotóxicas, através do teste de micronúcleos, em hemácias periféricas de peixes da espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) de duas pisciculturas desse município. A fonte de captação de água para o abastecimento das pisciculturas é a mesma para o abastecimento de Matutina. Esse fato aumenta a importância de diagnosticar a qualidade ambiental nesses locais.

MATERIAL E MÉTODOS

CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Matutina é um município mineiro localizado na microrregião do Alto Paranaíba, próximo às cidades de São Gotardo (MG) e Patos de Minas (MG). Segundo informações oficiais do censo habitacional do IBGE, realizado em 2010, sua população é de 3.761 habitantes. O município pertence à bacia hidrográfica do rio São Francisco.

PONTOS DE COLETA

As coletas foram realizadas nos dias 5 e 12 de agosto de 2018 em tanques de duas pisciculturas no município de Matutina (MG). A piscicultura A está localizada em um pesque-pague local (19°13'44.4"S 45°58'52.7"W), e a piscicultura B, na Fazenda Campinho (19°13'40.1"S 45°58'47.0"W), localizada ao final da Rua Antônio Júlio, bairro Grama, em Matutina. Ambos os locais promovem atividades de integração social na cidade como a pesca recreativa. A água que abastece as duas pisciculturas é oriunda de uma nascente que fica a aproximadamente dois quilômetros das propriedades. Após passar pelos tanques das pisciculturas, a água é encaminhada para um córrego que se deságua no rio Borrachudo.

CAPTURA, COLHEITA DE SANGUE E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário de Patos de Minas, sendo aprovado e registrado sob análise final nº 04/18.

Utilizaram-se, nesse estudo, peixes da espécie *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae), conhecida popularmente como tilápia do Nilo (Figura 1). Definiu-se um número amostral de 20 animais com base em estudo realizado por Ferreira e Nepomuceno (2008). Foram capturados dez peixes por piscicultura, de um tanque por propriedade, totalizando uma amostragem de 20 peixes.

Figura 1- Exemplar de *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo).



Fonte: Arquivo pessoal.

A captura foi realizada com o auxílio de rede de pesca malha 8 (40 mm) e tarrafa malha 6 (30 mm). Todas as espécies capturadas que não pertenciam à espécie em estudo foram prontamente liberadas.

Após a captura, os peixes foram retirados dos tanques rapidamente com auxílio de um puçá, envoltos com pano úmido sobre o corpo para contenção e colocados sobre uma mesa. Para a colheita de sangue, seguiu-se a metodologia descrita por Silva e Nepomuceno (2010). A técnica consiste em fazer uma punção na região branquial, rica em vasos sanguíneos. O toque com o bisel da agulha nas lâminas branquiais provoca uma pequena hemorragia, da qual se obtém uma gota de sangue necessária para a confecção do esfregaço sanguíneo. A colheita foi realizada com o auxílio de seringas de 3 mL e agulha 25 x 7 mm sem anticoagulante. De cada peixe capturado efetuou-se a colheita de sangue periférico para confecção de dois esfregaços sanguíneos logo após a contenção e, em seguida, os peixes da piscicultura A foram devolvidos ao tanque de origem e os da piscicultura B, em outro tanque, pois este iria passar por reformas.

Vinte e quatro horas após as colheitas, no laboratório de Parasitologia Animal do Centro Universitário de Patos de Minas, as amostras foram coradas com Giemsa em tampão fosfato (pH 6,8) na proporção de 1:20, durante 10 minutos. Depois de seco, o material foi analisado em microscópio óptico em objetiva de imersão com aumento de 100 x (SILVA e NEPOMUCENO, 2010). Para a contagem de micronúcleos, foram examinados mil (1.000) eritrócitos por esfregaço sanguíneo, analisando um total de dois mil (2.000) eritrócitos por peixe.

RESULTADOS

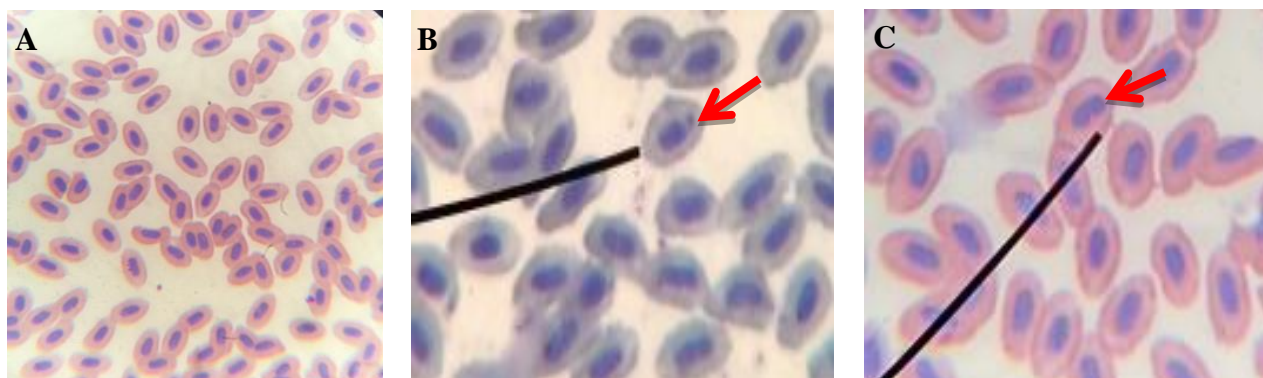
As análises dos esfregaços sanguíneos revelaram uma frequência de células micronucleadas muito reduzida em comparação com dados encontrados em literatura. Na Figura 2A, estão representados eritrócitos normais e, na Figura 2B, eritrócito micronucleado. Foram observados dois MNs nas amostras provenientes da piscicultura A (1 MN em cada lâmina de uma amostra), e três nas amostras da piscicultura B (1 MN em cada lâmina de uma amostra e 1 MN em outra amostra). Como pode ser observado na Figura 2C, foram evidenciadas anormalidades nucleares, as quais, ressalta-se, não

foram objeto deste estudo. Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Frequência de micronúcleos encontrada em eritrócitos periféricos de *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) de duas pisciculturas no Município de Matutina (MG).

Pontos de coleta	Nº de peixes	Total de lâminas analisadas	Total de células analisadas	Total MN
A	10	20	20.000	2
B	10	20	20.000	3

Figura 2- Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de *O. niloticus* proveniente de duas pisciculturas no Município de Matutina (MG). A. Eritrócitos normais (100 X). B. Seta indica presença de micronúcleo (1000 X). C. Seta indica núcleo morfologicamente alterado (1000 X).



Fonte: Arquivo pessoal.

DISCUSSÃO

Pesquisas de genotoxicidade em peixes não só demonstram a importância desses organismos como bioindicadores ambientais, avaliando riscos aos ecossistemas, mas também têm destacado o uso do micronúcleo (MN) como teste de avaliação do impacto da presença de agentes químicos na água ou danos ambientais e seus efeitos na integridade do DNA de peixes (GOUVEIA *et al.*, 2014).

São considerados MNs as partículas que, em relação ao núcleo principal, não excedem 1/3 do seu tamanho, estando nitidamente separadas, com bordas distinguíveis e com mesma cor e refringência do núcleo (GOES *et al.*, 2016). No presente estudo, o teste de MNs se mostrou eficiente na identificação de células micronucleadas em eritrócitos de *Oreochromis niloticus*. Contudo, não foi identificada uma frequência de MNs que alertasse para contaminação ambiental em reflexo à presença de compostos genotóxicos na água (2 MNs/ 2.000 eritrócitos (0,1%) e 3MNs /2.000 eritrócitos (0,15%). Nesse contexto, os valores obtidos nos dois pontos de coleta indicam uma situação normal.

De acordo com Thomé, Silva e Santos (2016), a ocorrência de MNs por origem endógena é amplamente relatada e não ultrapassa valores iguais a 1 MN por 1.000 células. De fato, os MNs aparecem devido a uma quebra cromossômica ou de

disfunções dos fusos mitóticos e eventualmente pode ser normal, mas o aumento da frequência é indubitavelmente influenciado pela exposição a substâncias clastogênicas (quebra cromossômica) e/ou aneugênicas (segregação cromossômica anormal), sendo assim um claro sinal de perturbação no ambiente. Essa informação permite considerar que, nos peixes avaliados no presente estudo, não houve influência da ação de xenobióticos, ou estes se encontravam em concentrações incapazes de produzir danos ao material genético dos organismos aquáticos. Sugere-se que as baixas frequências de MNs detectadas devem ser devidas à menor ação antropogênica exercida no entorno das pisciculturas.

Ainda segundo Thomé, Silva e Santos (2016), além dos micronúcleos, outras anormalidades nucleares presentes nos eritrócitos dos peixes, como as células binucleadas, invaginadas e lobuladas, são consideradas biomarcadores citogenéticos de impacto ambiental, podendo ser utilizadas numa análise complementar à frequência de micronúcleo. Essa correlação indica que as alterações nucleares podem ser respostas primárias, isto é, antes da formação de micronúcleos.

Resultados diferentes dos obtidos no presente estudo foram encontrados por outros autores em outros locais e datas. Santos (2015), em pesquisa semelhante, avaliou a frequência de MNs em tambaquis de quatro pisciculturas da região de Presidente Médici (RO) e verificou que em uma delas os animais apresentaram a maior frequência de MN: de 120.000 células analisadas foi encontrado um total de 3.070 MNs. O autor correlacionou o uso do agrotóxico ao número de eritrócitos micronucleados nesses peixes, cujos tanques recebiam, por lixiviação, água contaminada de culturas agrícolas, evidenciando que substâncias poluentes são capazes de causar dano ao material genético do tambaqui.

Para Rezende (2011), as tilápias do Nilo estão presentes no topo da cadeia alimentar. Portanto, o aumento da frequência de micronúcleos (média de 3,43 em 2.000 células avaliadas na estação do inverno) observada em amostras provenientes da Represa Billings indica uma bioacumulação de substâncias genotóxicas que podem causar mutagênese e até mesmo carcinogênese.

Utilizando parâmetros físico-químicos da água e teste de micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo), Bueno *et al.* (2017) avaliaram a qualidade da água da represa Cocais, em Patrocínio (MG). Material genético de vinte e oito indivíduos foi coletado em dois pontos, um na nascente e outro na represa. Os autores observaram uma maior frequência de MNs nas células dos peixes capturados na represa: período de seca, 33 MNs em 24.000 células analisadas e período chuvoso, 26 MNs em 24.000 células analisadas, sugerindo que a água está contaminada por genotóxicos que alteraram o material genético desses bioindicadores. O teste de MNs mostrou-se adequado para a avaliação da qualidade da água nesse estudo.

Segundo Goes (2016), o teste do micronúcleo mostrou-se rápido e prático para o monitoramento da poluição do Rio Tapajós, demonstrando que a presença de poluentes no rio provocou alterações genéticas nas células dos peixes, pela grande quantidade de micronúcleo encontrada. Em cada local de coleta, foram capturados 18 indivíduos e analisadas 1.000 células por lâmina. A partir da análise, constatou que os dois pontos de coleta localizados na orla da cidade de Santarém (PA) apresentaram um número significativamente superior de micronúcleos nas células analisadas (31 e 54

MNs) em comparação ao ponto adotado como controle (11 MNs).

Silva e Nepomuceno (2010) avaliaram os possíveis efeitos genotóxicos da poluição aquática em peixes da espécie *Pimelodus maculatus* (mandi-amarelo) do rio Paranaíba, na região de Patos de Minas (MG), por meio do teste do micronúcleo. O número de micronúcleos foi determinado a partir de 2.000 eritrócitos analisados por peixe. No grupo amostrado no córrego Caxambu, local de referência, de 22.000 células analisadas (11 indivíduos) foram encontrados 56 MNs. Nas amostras provenientes da montante do rio, foi encontrado um total de 144 MNs de 12.000 células analisadas (6 indivíduos) e à jusante, 226 MNs de 20.000 células analisadas (10 indivíduos). A frequência de micronúcleos, significativamente superior nos peixes do rio Paranaíba, evidencia a presença de substâncias poluentes capazes de causar dano ao material genético desses peixes.

Por meio do teste de micronúcleos, Mota, Barboni e Jesus (2009) buscaram contribuir para o conhecimento do impacto antrópico indesejável sobre os rios da Bacia do Paraguaçu, em Feira de Santana (BA). Os autores utilizaram tilápias do Nilo como bioindicadores de poluição ambiental. Do total de 20.000 células analisadas foram encontrados 119 MNs, indicando a ação de genotóxicos nas células dos peixes.

Ferreira e Nepomuceno (2008) seguiram a mesma metodologia da presente pesquisa quando avaliaram os possíveis efeitos genotóxicos da poluição aquática do rio Santa Catarina, região de Vazante (MG) utilizando peixes da espécie *Boulengerella spp* (bicuda). Os peixes foram capturados, e as amostras de sangue foram obtidas por meio de punção branquial mediante o uso de seringa e agulha. O número de eritrócitos micronucleados foi determinado a partir de 1.000 eritrócitos contados por lâmina, perfazendo um total de 2.000 eritrócitos por peixe. Foi analisado um total de 40.000 células, de 10 indivíduos em cada ponto de coleta. Os autores concluíram que os peixes avaliados à jusante da cidade de Vazante encontram-se, possivelmente, expostos a substâncias ou condições ambientais de potencial genotóxico, devido ao aumento da frequência de micronúcleos encontrados neles.

Frequências de micronúcleos significativamente superiores encontradas em literatura, divergindo dos resultados obtidos nesta pesquisa, possivelmente estão relacionadas com a escolha do ambiente de estudo, sabidamente impactado, número de amostras superior e, idade dos bioindicadores.

O presente estudo fornece dados inéditos de pesquisa pela avaliação de alterações genotóxicas em eritrócitos periféricos de *Oreochromis niloticus* de duas pisciculturas no Município de Matutina (MG), pela análise da frequência de MNs.

CONCLUSÃO

Não há alterações genotóxicas em hemácias de tilápias (*Oreochromis niloticus*) das pisciculturas do município de Matutina (MG), avaliadas em agosto de 2018, que indiquem presença de xenobióticos em concentrações capazes de produzir danos ao material genético dessas células.

REFERÊNCIAS

ARMAS, E. D. *et al.* Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do rio Corumbataí e principais afluentes. São Paulo, *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, 2007.

BENINCÁ, C. Biomonitoramento das lagoas estuarinas do Camacho – Jaguaruna (SC) e Santa Marta-Laguna (SC); utilizando *Geophagus bresiliensis* (Cichlidae). Dissertação – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2006.

BUENO, A.P. M. *et al.* Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais. *Acta Brasiliensis*, Campina Grande, Paraíba, v. 1, n. 3, p. 32-36, 2017.

CHRISTOFOLETTI, C. A. *Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas de um ambiente lântico, por meio dos sistemas-teste de Allium cepa e Oreochromis niloticus.* Dissertação - Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” – UNESP – Instituto de Biociências – Rio Claro, 2008.

FERREIRA, G. R.; NEPOMUCENO, J. C. Poluição do Rio Santa Catarina no município de Vazante (MG) detectada por meio do teste do micronúcleo em peixes. *Perquirere*, Patos de Minas: UNIPAM, v. 5, n. 1, p. 155-160, 2008.

FRANCO, M. F. *Avaliação de biomarcadores de contaminação em tilápias do nilo (oreochromis niloticus) expostas aos herbicidas combine* 500sc (tebutiurom) e velpar k® wg (diurom+ hexazinona).* Dissertação. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto. 2012.

GOES, I. M. C. *et al.* Avaliação da poluição do rio Tapajós, no Município de Santarém - PA, através do teste do micronúcleo, utilizando peixes como bioindicador. *Revista Em Foco*, Fundação Esperança/IESPES, Santarém (PA), v. 1, n. 23, p. 6-16, 2016.

GOUVEIA, J. G. *et al.* Impacto da ação antrópica sobre o DNA de *Astyanax* sp. de duas áreas do Córrego Ceroula, Campo Grande - MS, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Ambientais*, Campo Grande (MS), v. 31, p. 11-20, 2014.

MANZANO, B. C. *Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas do Ribeirão Tatu, região de Limeira/SP, após o recebimento de efluentes urbanos.* Dissertação. Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” – UNESP – Instituto de Biociências – Rio Claro, 2010.

MORAES, D. S. L; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. *Revista Saúde Pública*, São Paulo, v.36, p.370-374, 2002.

MOTA, G. G. P; BARBONI, S. A. V; JESUS, M. C. Tilápias (Actinopterygii: Cichlidae)

comercializadas em feira de Santana (Bahia) como bioindicadores de poluição ambiental em rios da bacia do Paraguaçu. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, Curitiba (PR), v. 19, 2009.

OBIAKOR, M. *et al.* Eco-ecotoxicology: micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ aquatic pollution. *JAnim Sci Adv*, v. 2, n. 1, p. 123-133, 2012.

REZENDE, K. F. O. *Alterações morfológicas de Tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus) (Linnaeus, 1758) expostas às águas da represa Billings*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

RIVERO, C.L.G. *Perfil da frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasília - DF, Brasil*. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular), Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SANTOS, V. T. F. *Frequência de micronúcleos em tambaquis de pisciculturas no município de Presidente Médici - RO: influência de agrotóxicos*. Monografia. Universidade Federal de Rondônia – UNIR, 2015.

SILVA, A. da C.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. *Perquirere*, Patos de Minas: UNIPAM, n. 7. vol. 1: 167-179, 2010.

THOMÉ, R. G.; DA SILVA, P. M.; DOS SANTOS, H. B. Avaliação de Genotoxicidade da Água de um Rio Urbano Utilizando Estudo de Células Sanguíneas de *Danio rerio*. *Conexão Ciência* (Online), v. 11, n. 2, p. 9-16, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/321790421_Avaliacao_de_genotoxicidade_da_agua_de_um_rio_urbano_utilizando_estudo_de_celulas_sanguineas_de_Danio_rerio. Acesso em: 20 out. 2018.

VASCONCELOS, M. G. *Avaliação integrada da qualidade da água do Rio Uberabinha – MG com base na caracterização química dos sedimentos e de espécimes da ictiofauna*. Tese (Doutorado em Química) – Programa Multi-institucional de Doutorado em Química da UFG/UFMS/UFU, Uberlândia, 2012.