



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ENGENHARIA

Campus de Ilha Solteira

YANE CAROLINE HORAS DO NASCIMENTO

**MORFOLOGIA HEPÁTICA DE *Plagioscion squamosissimus*
(PERCIFORMES, SCIAENIDAE) E SUAS VARIAÇÕES AO
LONGO DO ANO EM AMBIENTE NATURAL NO ALTO DO RIO
PARANÁ.**

Ilha Solteira - SP

2021

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
ANIMAL-CTA**

YANE CAROLINE HORAS DO NASCIMENTO

**MORFOLOGIA HEPÁTICA DE *Plagioscion squamosissimus*
(PERCIFORMES, SCIAENIDAE) E SUAS VARIAÇÕES AO
LONGO DO ANO EM AMBIENTE NATURAL NO ALTO DO RIO
PARANÁ.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como
parte dos requisitos para obtenção do título
de Mestre.

Profa Dra Rosicleire Veríssimo Silveira
Orientadora

**Ilha Solteira-SP
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Nascimento, Yane Caroline Horas.
N244m Morfologia hepática de *Plagioscion squamosissimus* (perciformes, sciaenidae) e suas variações ao longo do ano em ambiente natural no alto do Rio Paraná. / Yane Caroline Horas Nascimento. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2021
46 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Animal, 2021

Orientador: Rosicleire Veríssimo Silveira
Inclui bibliografia

1. Morfologia hepática. 2. Índice hepatossomático. 3. Sazonalidade. 4. Peixe.
5. Rio Paraná.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Morfologia hepática de *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes, sciaenidae) e suas variações ao longo do ano em ambiente natural no alto do rio Paraná.

AUTORA: YANE CAROLINE HORAS DO NASCIMENTO

ORIENTADORA: ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA

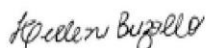
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP



Prof. Dr. ALAN PERES FERRAZ DE MELO (Participação Virtual)
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira / UNESP



Profa. Dra. HELLEN BUZOLLO (Participação Virtual)
Centro Universitário de Rio Preto-UNIRP / São José do Rio Preto-SP

Dracena, 24 de setembro de 2021

AGRADECIMENTOS

A Deus e as boas energias do universo que sempre me levam por caminhos que me permitem estar sempre aprendendo e evoluindo como pessoa.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por todas as oportunidades de crescimento e aprendizados desde 2012.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos membros da banca por terem aceitado meu convite e pela disponibilidade em me ajudar no meu trabalho.

A minha orientadora Rosicleire Veríssimo Silveira por sempre ter confiado na minha capacidade e pelos vários ensinamentos nesses últimos dois anos, com certeza eles serão essenciais para os caminhos que irei trilhar no futuro. Muito obrigada pela oportunidade que me foi dada e por fazer parte do meu crescimento.

A Amanda Pereira dos Santos pelas coletas e por me disponibilizar parte do seu material do doutorado.

Aos laboratórios LEFISA - Laboratório de Estudo em Fisiologia de Ilha Solteira e ao Pirá - Laboratório de Ecologia de Peixes pela ajuda na coleta do meu material.

Aos funcionários do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal por todo o auxílio e suporte ao longo do meu mestrado.

Agradeço à Bruna e à Yasmim, não só pela convivência como também por terem muitas vezes oferecido um ombro amigo para chorar nos momentos difíceis. A Pati e a

Luciane pelo compartilhamento de seus conhecimentos e experiências no laboratório e pela disposição em ajudar nos momentos de necessidade. E por fim, mas não menos importante, ao professor Alexandre Ninhaus Silveira e as demais meninas do laboratório: Maiara, Maria luiza, Crystal, Laicia, Malbelys, Jéssica, Lais, Stella e Evellyn, muito obrigada pela paciência e pelo carinho e amizade que levarei para o resto da vida.

A minha turma do mestrado e companheiros de longas viagens pra Dracena, Gabriela, Zé, Amário e Bruna, que foram fundamentais para tornar as disciplinas mais divertidas e leves.

A minha família, em especial minha mãe Adriana da Silva Barbosa Horas pelo apoio aos meus estudos e a todos os meus sonhos. Muito obrigada por sempre acreditar em mim e nunca duvidar do meu potencial. Te amo demais!

Ao meu namorado Gustavo Peres Mestriner por todo o amor e companheirismo dos últimos cinco anos, pelo apoio às minhas escolhas, pelas palavras motivacionais nos momentos de desânimo e pelos vários abraços à distância. Eu não chegaria aqui sem você <3.

E por fim, aos meus amigos, muito obrigada por sempre escutarem meus desabaços e pelos momentos de diversão que tanto me trazem equilíbrio. Em especial agradeço aos meus amores Ana Chiozzi e Dani Sabino, meu amor por vocês é incondicional.

RESUMO

O fígado é considerado um órgão básico da coordenação fisiológica devido às suas múltiplas funções. Em teleósteos, as alterações histológicas nesse órgão são utilizadas para detecção do status metabólico e alterações da qualidade da água nos rios. Deste modo, este estudo teve por objetivo caracterizar a morfologia hepática de fêmeas da espécie carnívora, *Plagioscion squamosissimus*, além de determinar alterações sazonais nesse órgão, disponibilizando caracteres que possam auxiliar no entendimento fisiológico da espécie bem como na sua possível utilização como um bioindicador. Para tal, 44 exemplares fêmeas de *P. squamosissimus* foram coletados bimestralmente no período de abril de 2015 a dezembro de 2016, no córrego Bosque (50°51'58.94"W e 20°0'13.71"S), tributário do rio Grande (SISBIO nº 42229-1) e eutanasiados de acordo com protocolo aprovado pela CEUA nº 001/2014. Após esse procedimento, foram aferidas as massas (g) totais, do fígado e da gônada, a fim de calcular os índices hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS). O índice hepatossomático (IHS) foi correlacionado com dados de precipitação (mm) e IGS. Para a análise histológica, fragmentos do fígado de 30 exemplares foram fixados em solução de paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2% e processados para microscopia de luz. Em *P. squamosissimus* os valores do IHS sofreram alterações com relação aos índices pluviométricos, pois nos meses com os menores níveis de chuva registrados, foram obtidos os maiores valores de IHS. Não houve diferença estatística nos valores de IHS entre as fases reprodutivas, já no IGS houve diferença na fase Apto à desova, porém não houve correlação entre esses dois índices. Entretanto, os menores valores de IHS estão relacionados à fase de Regeneração e os maiores valores de IGS à fase, Apto à desova. O epitélio do fígado de *P. squamosissimus* é composto por estruturas básicas como hepatócitos, ductos biliares, pâncreas intra-hepático, vasos sanguíneos, sinusóides hepáticas e a particularidade na formação da tríade portal. As alterações hepáticas, quando presentes (vacúolos citoplasmáticos e degeneração citoplasmática) foram associadas à fase do ciclo reprodutivo, principalmente com o avanço do desenvolvimento ovariano, reduzindo nos aptos à desova. A presença de vacúolos citoplasmáticos nos hepatócitos foi classificada como ausente nas fases de Regeneração, raros em Desenvolvimento 1, presentes em Desenvolvimento 2 e raros em Aptos a desova. A degeneração citoplasmática só foi observada em animais que estavam aptos à desova, classificados como raros. Deste modo podemos concluir que em *P. squamosissimus*, alterações hepáticas quando presentes, estão associadas às fases do ciclo reprodutivo e há uma correlação do IHS com os níveis pluviométricos, mas não em relação aos meses do ano.

Palavras-chave: Morfologia hepática, índice hepatossomático, sazonalidade, peixe, rio Paraná.

ABSTRACT

The liver it is considered a basic organ of physiological coordination due to it is multiple functions. In teleosts, histological changes in this organ are used to detect metabolic status and changes in water quality in rivers. Thus, this study aimed to characterize the liver morphology of females of the carnivorous species, *Plagioscion squamosissimus*, in addition to determining seasonal changes in this organ, providing characters that can help in the physiological understanding of the species as well as it is possible use as a bioindicator. Thus, 44 female specimens of *P. squamosissimus* were collected bimonthly from April of 2015 to December of 2016, in the Bosque creek (50°51'58.94"W and 20°0'13.71"S), tributary of the Rio Grande (SISBIO No. 42229-1) and euthanized in accordance with protocol approved by CEUA No. 001/2014. After this procedure the total, liver and gonad masses (g) were measured in order to calculate the hepatosomatic (IHS) and gonadosomatic (IGS) indexes. The indexes were correlated with each other and with precipitation data (mm). For histological analysis, liver fragments from 30 specimens were fixed in 4% paraformaldehyde and 2% glutaraldehyde solution and processed for light microscopy. In *P. squamosissimus*, the IHS values suffered changes with regard to the pluviometric indexes, because in the months with the lowest registered rain levels, the highest IHS values were obtained. There was no statistical difference in the IHS values, whereas in the IGS there was a difference in the stage, Suitable for spawning, but there was no correlation between these two indexes. However, the lowest IHS values are related to the Regeneration phase and the highest IGS values to the Suitable spawning phase. The liver epithelium of *P. squamosissimus* it is composed of basic structures such as hepatocytes, bile ducts, intrahepatic pancreas, blood vessels, hepatic sinusoids and the particularity in the formation of the portal triad. Liver alterations, when present (cytoplasmic vacuoles and cytoplasmic degeneration) were associated with the phase of the reproductive cycle, mainly with the advancement of ovarian development, reducing those able to spawn. The presence of cytoplasmic vacuoles in hepatocytes was classified as absent in the Regeneration phases, rare in Development 1, present in Development 2 and rare in suitable to spawning. Cytoplasmic degeneration was only observed in animals that were able to spawn, classified as rare. Thus, we can conclude that in *P. squamosissimus*, liver alterations, when present, are associated with the phases of the reproductive cycle and there is a correlation between the IHS and rainfall levels, but not in relation to the months of the year.

Keywords: liver morphology, hepatosomatic index, seasonality, fish, Paraná river

Sumário

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2 OBJETIVO GERAL.....	15
2.1 Objetivos específicos	15
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO I	20
VARIAÇÕES NA MORFOLÓGIA DO FÍGADO DE FÊMEAS DE CORVINA, <i>Plagioscion squamosissimus</i> (PERCIFORMES, SCIAENIDAE) RELACIONADO A EVENTOS SAZONAIS AO LONGO DO ANO.....	20
Resumo	20
Introdução	21
Material e métodos	23
<i>Coleta de campo e análise dos dados</i>	<i>23</i>
<i>Procedimentos histológicos</i>	<i>24</i>
<i>Análises estatísticas</i>	<i>24</i>
Resultados.....	25
<i>Índices Hepatosomático (IHS) e Gonadosomático (IGS)</i>	<i>25</i>
<i>Relação dos Índices e o desenvolvimento ovariano.....</i>	<i>25</i>
<i>Análise histológica.....</i>	<i>30</i>
Discussão.....	36
Conclusão	40
Referências	40

1 INTRODUÇÃO GERAL

Alterações ambientais podem ser detectadas utilizando análises químicas, físicas e biológicas (FOSSI; MARSILI, 1997; FOSSI, 1998; JORDANOVA et al., 2012). O uso de bioindicadores é caracterizado como uma espécie ou grupo de espécies que reflete o estado biótico ou abiótico de uma área ambiental (YANCHEVA et al., 2016). Diversos biomarcadores, como alterações histológicas nos rins, brânquias, músculos e fígado são utilizados para detecção de impactos aquáticos e status metabólico de peixes, pois esses órgãos tendem a acumular substâncias tóxicas a níveis mais elevados (YANCHEVA et al., 2016).

Estudos voltados para a compreensão dos mecanismos relacionados ao metabolismo do fígado são amplos. O interesse por esse órgão se dá devido às características, como respostas fisiológicas em nível tecidual à estímulos internos e externos. Tornando-se com isso uma ferramenta eficaz na identificação de alterações no mesmo (JORDANOVA et al., 2009; JORDANOVA et al., 2013; SAYED; YOUNES, 2016; CAPKIN et al., 2017; GILTRAP et al., 2017; KLIEMANN et al., 2018; LEE et al., 2019).

O fígado é considerado a maior glândula do corpo, está localizada na região abdominal e é dividido por fissuras em lobos que variam em números dependendo da espécie, a exemplo de quatro lobos em ruminantes, seis lobos em caninos e suínos e cinco lobos em equinos (STALKER, 2016). No caso dos peixes é mais comum que possuam três lobos (MOHKOTAR, 2018), a exemplo de *Hoplias malabaricus* (LEMES; BRACCINI, 2004), *Leporinus macrocephalus* (BOMBONATO et al., 2007) e *Astyanax lacustris* (BERTOLUCCI et al., 2008), porém há exceções pois em algumas ocorrem somente dois lobos a exemplo de *Hemisorubim platyrhynchos* (FACCIOLI et al., 2014) e *Oreochromis niloticus* (VINCENTINE et al. 2005).

A condição morfométrica desse órgão varia em tamanho, forma, volume e cor (COSTA et al. 2012). A cor marrom- avermelhada é indicativa de bom status nutricional e saúde do animal, pois demonstra a rica vascularização, fundamental para o processo de metabolismo das células do fígado (FACCIOLI et al., 2014).

A vascularização do fígado é composta por uma dupla circulação eferente, a artéria porta e a veia porta. A veia porta recebe de 70% a 80% do sangue advindo do trato digestivo (MENDONÇA, 2017) e graças à intensa vascularização é possível a

execução das funções de filtração e detoxificação do sangue advindo da absorção de nutrientes pelo intestino (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Além da filtração do sangue, o fígado também executa funções metabólicas como a estocagem e sintetização de nutrientes, — principalmente ácidos graxos e glicogênio — biotransformação de substâncias, produção de sais biliares e, a exemplo nas fêmeas de peixes, a produção de vitelogenina, uma proteína muito importante no processo de vitelogênese (COSTA et al., 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Histologicamente, seu parênquima é formado, em sua maioria, por hepatócitos, células que são as principais responsáveis pela execução das funções hepáticas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; BUZATO; ARANA; CARVALHO, 2016; MOHKAR, 2018). Considerando as funções dos hepatócitos, é visto que a sua integridade é de extrema importância para o funcionamento desse órgão. Algumas alterações causadas a essas células são indicativas de processos fisiológicos naturais ao organismo animal, a exemplo da reprodução de *Salmo letnica*, no qual as fêmeas apresentaram os hepatócitos mais vacuolarizados no período reprodutivo do que nos demais meses, indicando variações nas reservas nutricionais dentro dessas células ao longo do ano (JORDANOVA et al., 2013).

Contudo, alterações nos hepatócitos também podem ser causadas por influências externas. Estudos têm demonstrado que a poluição de mares e rios desencadeia a formação de adenoma hepático, alterações no plasma e degeneração lipídica em *Clarias gariepinus*, *Common dab* e *European plaice* (MARCHAND et al., 2009; GILTRAP et al., 2017). Contaminação por metais pesados foram capazes de evidenciar necrose dos hepatócitos em *Hoplias intermedius* e *Hypostomus affinis* (WEBER et al., 2020) e, no caso de infecções parasitológicas e mudanças na oferta de alimentos, foi evidenciado o aumento de esteatose hepática e alterações no arranjo do núcleo de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus*, *Pseudoplatystoma fasciatum* e *Geophagus sveni* (CAMPOS et al., 2008; KLIEMANN et al., 2018).

Os sais biliares produzidos nos hepatócitos são drenados por ductos biliares que ficam disperso no parênquima hepático e muitas vezes se associam aos vasos sanguíneos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; BUZATO; ARANA; CARVALHO, 2016; MOHKAR, 2018). O ducto biliar, veia e artéria hepática, quando encontradas juntas, — como é mais comum em mamíferos — são chamadas de *tríade portal* ou *espaço porta*, e todo o processo de distribuição sanguínea para as células e a drenagem do sangue metabolizado acontece graças à presença das sinusóides hepáticas, que se

entremeiam nos hepatócitos e fazem essa distribuição (BUZATO; ARANA; CARVALHO, 2016; MOHKAR, 2018).

Distúrbios nos componentes circulatórios também podem ser biomarcadores de comprometimento da vascularização desse órgão. Dentre as alterações relatadas, estão: hiperemia, congestão vascular e infiltração de leucócitos, que geralmente são indicadores de processos inflamatórios na região de ocorrência (YANCHEVA et al., 2016).

Localizada nas sinusóides, também se encontram as células fagocitárias chamadas de Células de Kupffer ou macrófagos, que formam os agregados de melanomacrófagos quando estão em atividade fagocitária e são responsáveis por eliminar células necróticas, além de serem elementos críticos para o sistema imune dos peixes (HARTLEY et al., 1996; AGIUS; ROBERTS, 2003; MELA et al., 2007). Essas células possuem diversas características, por isso sofrem influências de diversos fatores, como doenças, condições ambientais, idade e status nutricional (HARTLEY et al., 1996, GILTRAP et al., 2017).

Os macrófagos são comumente usados como biomarcadores da saúde do peixe e da poluição do ambiente aquático (AGIUS; ROBERTS, 2003; CAPKIN et al., 2017). Modificações em seu número e tamanho já se mostraram associados a vários tipos de modificações, como intoxicação por metais (SAYED; YOUNES, 2016) e agentes antimicrobianos (CAPKIN et al., 2017), além de estarem associados a lesões mais graves do parênquima hepático e a processos inflamatórios leves (CAMPOS et al., 2008; MARCHAND et al., 2009; GILTRAP et al., 2017; KLIEMANN et al., 2018; WEBER et al., 2020). Outros fatores importantes que influenciam na atividade de macrófagos no fígado são infecções por bactérias, vírus e protozoários (CAMPOS et al., 2008; STECKERT et al., 2018; WIDDICOMBE et al., 2020).

Em fêmeas de *Salmo letnica* o aumento de macrófagos está ligado ao período pós-desova, devido à remodelação do fígado, que ocorre por causa da perda de massa nesse período (JORDANOVA et al., 2008). Alguns indicativos das fases reprodutivas de peixes muito utilizados para fêmeas são o índice hepatossomático (IHS), que mostra a condição morfológica do fígado, e o índice gonadossomático (IGS), que mostra a condição morfológica das gônadas, pois é considerada no seu cálculo a massa desses órgãos e a massa do animal (VAZZOLER, 1996).

Os maiores picos de IHS em fêmeas de peixes são observados nos períodos que antecedem a desova e os maiores níveis de IGS estão relacionados aos períodos em que

os peixes estão aptos a espermiacção (apto a reprodução) (CASTRO; PIORSKY, 1998; QUEROL et al., 2002; NAHRGANG et al., 2010; WUNDERLICH et al., 2015).

Isso mostra o acúmulo de reservas energéticas que ocorrem no fígado durante a preparação para a desova (QUEROL, 2002). Com variações enzimáticas no órgão já relatadas para a espécie, evidenciando que, em fêmeas, as variações nesse órgão são mais expressivas e estão relacionadas ao período reprodutivo (WUNDERLICH et al., 2015).

O desenvolvimento do ciclo ovariano está relacionado à incorporação de vitelogenina sintetizada através do fígado, que refletirá em alterações histológicas de acordo com a fase reprodutiva (JORDANOVA et al. 2008; ROCHA et al. 2010; JORDANOVA et al., 2013). Em espécies de vertebrados, a vitelogenina é classificada como uma proteína associada a moléculas de cálcio (CALLARD; HO, 1987), e tem sua produção estimulada no fígado a partir da liberação de estrogênio (HECK, et al. 1997).

Com isso, essa proteína desempenha um papel essencial no processo de vitelogênese (QUEROL et al., 2002). Pois as condições morfológicas do fígado influenciam diretamente no epitélio ovariano, principalmente durante a maturação oocitária e consequentemente na eficiência da reprodução durante o período reprodutivo.

A alimentação do animal indica qual a fonte energética existente para o processo de maturação ovocitária e desencadeamento da reprodução nos peixes (VAZZOLLER, 1996). Portanto, sua capacidade de mobilização depende muito do estado nutricional do indivíduo (BAZZOLI et al., 1996).

Como exposto, as funções desse órgão e suas variações histológicas são inúmeras, assim como a organização das estruturas hepáticas. Ao contrário dos mamíferos, que possuem o parênquima hepático bem organizado (BUZATO; ARANA; CARVALHO, 2016), nos peixes não ocorre nenhuma padronização, o que significa que cada espécie possui suas próprias características (AKIYOSHI; INOUE et al., 2004; MOHKAR, 2017). Por isso a descrição morfológica de cada espécie é de fundamental importância para os estudos desse órgão como bioindicador.

A bacia do Paraná é alvo de diversos estudos sobre biodiversidade de peixes nativos e não nativos, porém ainda são escassos trabalhos utilizando alterações histológicas do fígado, havendo apenas um com a espécie onívora *Geophagus sveni*, que investiga o impacto da piscicultura nessa população (KLIEMANN et al., 2018). A partir disso, é visto como são necessários trabalhos que promovam a base de

conhecimento para a utilização do órgão como um bioindicador aquático em outras espécies e níveis tróficos.

Levando em conta a escassez de trabalhos, a espécie modelo escolhida foi a *Plagioscion squamosissimus*, popularmente conhecida como Corvina, uma representante da família Sciaenidae (CASATTI, 2003; SHIBATTA; DIAS, 2006), que se encontra distribuída nas bacias da América do Sul, e tem como parte da sua história a introdução de sua espécie em reservatórios de água doce, como, por exemplo, na Bacia do rio Paraná (TORLONI et al., 1993; CASATTI, 2005; LANGEANI et al., 2007), onde se encontra o maior aporte de trabalhos sobre a espécie em questão (QUEIROZ-SOUZA et al., 2018). E, por esse motivo, suas populações nesta região ocupam em sua totalidade, canais de rios influenciados por reservatórios (QUEIROZ-SOUZA et al., 2018).

A periodicidade e preferência alimentar diferem entre os ambientes e regiões, mas, no geral, seus hábitos alimentares são carnívoros, incluindo insetos, peixes e crustáceos (HAHN et al., 1999; QUEIROZ-SOUZA et al., 2018). No caso do rio Paraná, essa espécie tem na sua vida adulta preferência pelo crustáceo *Macrobrachium amazonicum*, apresentando mudanças nas diversidades alimentares entre os estágios de vida e a disponibilidade de alimento no ambiente (NEVES et al., 2015).

A espécie apresenta reprodução o ano inteiro, com fatores como precipitação, temperatura, fotoperíodo e sítios de alimentação como gatilhos reprodutivos, assim como as características da água influenciam diretamente nesses estímulos (NEVES et al., 2015). No entanto, ainda são escassos os trabalhos que utilizam o fígado dessa espécie como um bioindicador do ambiente aquático, o que mostra a necessidade desse tipo de estudo, principalmente na descrição da sua morfologia hepática e nas modificações existentes frente às variações como período do ano.

Considerando a importância dessa espécie na região de estudo, seus hábitos alimentares e as variações enzimáticas que o fígado de fêmeas sofre de acordo com a sazonalidade, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a morfologia hepática de fêmeas de *P. squamosissimus* em ambiente natural e identificar variações naturais na morfologia ao longo do ano.

2 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a morfologia hepática de fêmeas de *Plagioscion squamosissimus* em ambiente natural e determinar alterações hepáticas ao longo de dois anos.

2.1 Objetivos específicos

Determinar a organização e aspectos das estruturas hepáticas.

Correlacionar o índice hepatossomático com o índice gonadossomático.

Correlacionar o índice hepatossomático com os índices pluviométricos.

Determinar a frequência de alterações hepáticas de acordo com a fase reprodutiva.

REFERÊNCIAS

- AGIUS, C., ROBERTS, R.J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, [s.l.], v. 26, n. 9, p. 499–509, 2003.
- AKIYOSHI, H.; INOUE, A. Comparative Histological Study of Teleost Livers in Relation to Phylogeny. **Zoological Science**, [s.l.], v. 21, n. 8, p. 841-850, 2004.
- BAZZOLI, N. *et al.* Dinâmica da ovogênese de peixes forrageiros da Represa de Três Marias, Minas Gerais: estudo histológico e histoquímico, **Bios**, [s. l.], v.4, n. 4, p.5-10, 1996.
- BERTOLUCCI, B. *et al.* Light microscopy and ultrastructure of the liver of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, [s. l.], v. 30, n.1, p.73-6, 2008.
- BOMBONATO, M. T. S. *et al.* Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum - Biological Science**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 81-85, 2007.
- BUZATO, C. B. C.; ARANA, S.; CARVALHO, C. P. F. **Histologia do Fígado, Vias Biliares e Pâncreas**, In: Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica. São Paulo: Blucher, 2016.
- CALLARD, I. P; HO S. Vitelogênese e viviparidade. **Fundamentos da Endocrinologia Comparada de Vertebrados**. Boston,: Springer, 1987.
- CAPKIN E. *et al.* Antimicrobial agents, triclosan, chloroxylenol, methylisothiazolinone and borax, used in cleaning had genotoxic and histopathologic effects on rainbow trout. **Chemosphere**, Oxford, v.182, p. 720–729, 2017.
- CAMPOS, C.M. *et al.* Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no rio Aquidauna, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 200-205, 2008.
- CASATTI L. Check list of the freshwater of South and Central America. **Edipucrs**. Porto Alegre, p. 599-602, 2003.
- CASATTI, L. Revision of the South American freshwater genus *Plagioscion* (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae). **Zootaxa**, Auckland, v. 1080, n. 1, p. 39-64, 2005.
- CASTRO A. C. L; PIORSKI N. M. Curva de maturação, fator de condição e índice hepatossomático de *Plagioscion squamosissimus* (heckel, 1840) no reservatório de barra bonita – sp (osteichthyes, sciaenidae). Boletim do Laboratório de Hidrobiologia. [s.I], v. 11, n. 1, p. 1-14 ,1998.

- COSTA, G.M *et al.* Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. [s. l.], v.32, n.9, p. 947-950, 2012.
- FACCIOLI, C. K. *et al.* Morphology and histochemistry of the liver of carnivorous fish *Hemisorubim platyrhynchos*. **The International Journal of Morphology**. [s. l.], v.32, n.2, p. 715-720, 2014.
- FOSSI, M. C. *et al.* The use of non destructive biomarkers in the study of marine mammals. **Biomarkers**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 205-216, 1997.
- FOSSI, M. C. Biomarkers as Diagnostic and Prognostic Tools for Wildlife Risk Assessment: integrating endocrine-disrupting chemicals. **Toxicology And Industrial Health**, [s. l.], v. 14, n. 1-2, p. 291-309, 1998.
- GILTRAP, M. *et al.* Integration of biological effects, fish histopathology and contaminant measurements for the assessment of fish health: A pilot application in Irish marine waters. **Marine Environmental Research**. [s.l.], v. 129, p. 113-132, 2017.
- HAHN, N. S. *et al.* Atividade alimentar da curvina *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Perciformes, Scianidae) no rio Paraná. **Acta Scientiarum**. [s.l.], v. 21, n. 2, p. 309-314, 1999.
- HARTLEY, W.R. *et al.* Liver Lesions in Gar Fish (*Lepisosteidae*) as Biomarkers of Exposure. **Marine Environmental Research**. Oxford, v. 42, p. 217-221, 1996.
- HECK, J. D. S. M. *et al.* **General and Comparative Endocrinology**. [s.l.], v. 07, p. 280–288, 1997.
- JORDANOVA, M. *et al.* A qualitative and quantitative study of the hepatic pigmented macrophage aggregates during the breeding cycle of Ohrid trout, *Salmo letnica* Kar. (Teloestei, Salmonidae). **Microscopy Research And Technique**, [S.l.], v. 71, n. 11, p. 822-830, nov. 2008.
- JORDANOVA, M. *et al.* Crystalline inclusions in hepatocytes and associated interhepatocytic macrophages from female Ohrid trout (*Salmo letnica* Kar.). **Tissue Cell**. [s.l.], v. 41, p. 281–285, 2009.
- JORDANOVA M. *et al.* Variations in the volumes of parenchyma and stroma of the liver and in the cytology of hepatocytes are associated with gonadal stages in female Ohrid trout (*Salmo letnica*). **Ichthyological Research**. [s.l.], v. 60, p.26–35, 2013.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: Textos & Atlas**, 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.318- 332, 2013.
- KLIEMANN, B. C. K *et al.* Dietary changes and histophysiological responses of a wild fish (*Geophagus cf. proximus*) under the influence of tilapia cage farm. **Fisheries Research**. [s.l.], v. 204, p. 337-347, 2018.
- LANGEANI, F. *et al.* Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. **Biota Neotropica**. [s.l.], v. 7, n. 3, p. 181-197, 2007.

- LEE, J. *et al.* Toxicity of dietary selenomethionine in juvenile steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss*: tissue burden, growth performance, body composition, hematological parameters, and liver histopathology. **Chemosphere**. [s.l.], v. 226, p.755-765, 2019.
- LEMES, A. S; BRACCINI, M. C. Descrição e análise histológica das glândulas anexas do trato digestório de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794), (Teleostei, Erythrinidae). **Biodivers. Pampeana**. [s.l.], v.2, n. p. 33-41, 2004.
- MARCHAND, M. J. *et al.* Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa. **Environmental Toxicology**, [S.l.], v. 24, n. 2, p. 133-147, 2009.
- MELA, M. *et al.* Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. **Ecotoxicology Environmental Safety**. [s.l.], v.68, p. 426–435, 2007.
- MENDONÇA, A. P. A.. **Aspectos clínicos e histopatológicos do carcinoma hepatocelular (chc) em vaca: relato de caso**. 2017.
- MOKHTAR M. D. **Fish Histology**: from cells to organs. Oakville: Apple Academic Press, 2018. 264 p.
- NAHRGANG, J. *et al.* Seasonal baseline levels of physiological and biochemical parameters in polar cod (*Boreogadus saida*): implications for environmental monitoring. **Marine Pollution Bulletin**, [s.l.], v. 60, n. 8, p. 1336-1345, 2010.
- NEVES, M. P. *et al.* Carnivory during Ontogeny of the *Plagioscion squamosissimus*: a successful non-native fish in a lentic environment of the upper paraná river basin. **Plos One**, [S.l.], v. 10, p. 1-15, 2015.
- QUEIROZ-SOUSA, J. *et al.* Biology, ecology and biogeography of the South American silver croaker, an important Neotropical fish species in South America. **Reviews In Fish Biology And Fisheries**, [S.l.], v. 28, n. 4, p. 693-714, 2018.
- QUEROL, M. V. M. *et al.* Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (osteichthyes, loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do brasil. Iheringia, **Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 92, n. 03, p. 79-84, 2002.
- ROCHA M. R. Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (castelnau, 1855) da baía do Guajará, Belém, Pará. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 11, n. 1, p. 101-109, 2010.
- SAYED A.H.; YOUNES, H.A.M. Melanomacrophage centers in *Clarias gariepinus* as na immunological biomarker for toxicity of silver nanoparticles. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**. v.1, p. 1–8, 2016.

SHIBATTA, O.; DIAS A. J.H.P. **40 peixes do Brasil: CESP 40 anos.** : Doiis, 2006. 208 p.

STALKER, M.J. Liver and Biliary System. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER'S, N. **Pathology of Domestic Animals.** v.2, 6 ed. Canada: Saunders Elsevier, 2016.

STECKERT, Lilian Dordete *et al.* Investigation of farmed Nile tilapia health through histopathology. **Aquaculture**, [S.l.], v. 486, p. 161-169, 2018.

TORLONI, C. E. C. *et al.* A pescada-do- Piauí *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Osteichthyes, Perciformes) nos reservatórios da CESP – Companhia Energética de São Paulo. Série Pesquisa e Desenvolvimento 84, 1-23, 1993.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia Da Reprodução De Peixes Teleósteos.** 20. ed. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 1996.

VICENTINI, C. A. *et al.* Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology.** v.23, n.3, p.211-6, 2005.

YANCHEVA, V. *et al.* Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. **Applied Ecology And Environmental Research**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 47-75, 2016.

WEBER, A. A. *et al.* Effects of metal contamination on liver in two fish species from a highly impacted neotropical river: a case study of the Fundão dam, brazil. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 190, p. 110- 165, 2020.

WIDDICOMBE, M. *et al.* Relationship between Southern Bluefin Tuna, *Thunnus maccoyii*, melanomacrophage centres and *Cardicola* spp. (Trematoda: aporocotylidae) infection. **Fish & Shellfish Immunology**, [s.l.], v. 106, p. 859-865, 2020.

WUNDERLICH, A. C. *et al.* The influence of seasonality, fish size and reproductive status on EROD activity in *Plagioscion squamosissimus*: implications for biomonitoring of tropical/subtropical reservoirs. **Ecological Indicators**, [s.l.], v. 58, p. 267-276, 2015.

CAPÍTULO I

VARIAÇÕES NA MORFOLÓGIA DO FÍGADO DE FÊMEAS DE CORVINA, *Plagioscion squamosissimus* (PERCIFORMES, SCIAENIDAE) RELACIONADO A EVENTOS SAZONAIS AO LONGO DO ANO.

Resumo

O fígado de peixe é amplamente utilizado como bioindicador de impactos aquáticos, porém possuem configurações diferentes das estruturas de acordo com a espécie e em fêmeas existe uma constante modificação metabólica ao longo do ano, principalmente relacionada ao período reprodutivo, por isso o objetivo do trabalho foi descrever a morfologia hepática de *Plagioscion squamosissimus* e as alterações desse órgão relacionadas a eventos sazonais. Foram coletados 44 animais na bacia do alto do rio Paraná, no rio Grande, córrego Bosque e desses foram recolhidos dados biométricos (comprimento total, massa total, massa do fígado e massa das gônadas) para os cálculos do índice hepatossomático (IHS) e índice gonadossomático (IGS). Os índices calculados foram correlacionados entre eles e com dados de índices pluviométricos. Na análise do tecido, o fígado foi processado de acordo com protocolo histológico e as lâminas foram analisadas em fotos tiradas em microscópio ótico acoplado à uma câmera digital. As alterações foram agrupadas nas seguintes fases reprodutivas: regeneração, desenvolvimento inicial 1, desenvolvimento inicial 2 e apto à desova e classificadas em ausentes, raramente presentes, presente, frequente e muito frequente. O IHS de *P. squamosissimus* não mostrou correlação com o IGS, no entanto sofreu variações em seus valores ao longo do ano relacionadas com os períodos de seca e chuva. A histologia hepática relatou as estruturas básicas do fígado como hepatócitos, ductos biliares, pâncreas intra-hepático, vasos sanguíneos sinusóides hepáticas e a formação de tríade portal e relatou alterações nas fases reprodutivas como agregados de melanomacrófagos, hiperemia, congestão vascular, degeneração citoplasmática e necrose em baixa frequência. Apenas as variações nos vacúolos citoplasmáticos foram expressivas de acordo com a fase do animal. O trabalho permitiu descrever a morfologia hepática de *P. squamosissimus* para ser usado como base em outras pesquisas, além disso, o IHS sofreu influência sazonal da chuva e a nível tecidual foi identificado a influência das fases reprodutivas nas variações dos vacúolos citoplasmáticos

Palavras-chave: Morfologia hepática, índice hepatossomático, sazonalidade, peixe, rio Paraná.

Introdução

O fígado executa funções relevantes nos vertebrados e grande parte do conhecimento sobre esse órgão tem como base os estudos com mamíferos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; BUZATO; ARANA; CARVALHO, 2016). As funções desse órgão podem ser divididas nas categorias de funções vasculares (correspondente ao armazenamento e filtração do sangue), funções metabólicas (importantes na digestão) e função secretora e excretora (devido à formação de bile dentro dessas células) (GUYTON et al., 1997). Grande parte dessas funções metabólicas são executadas por células hepáticas, denominadas hepatócitos, que correspondem a 80% da massa total do órgão (TONON; BIANCHI, 2018).

Em teleósteos, descrições morfológicas do fígado já foram relatadas em espécies de água salgada como *Solea senegalensis* e *Salmo trutta* (ARELLANO et al., 1999; AKIYOSHI; INOUE et al., 2004; CARROLA et al., 2009) e de água doce como *Leporinus macrocephalus*, *Brachyplatystoma rousseauxii*, *Colossoma macropomum*, *Astyanax altiparanae* e *Hemisorubim platyrhynchos* (ARELLANO et al., 1999; BOMBONATO et al., 2007; ROCHA et al., 2009; ROCHA et al., 2010; COSTA et al., 2012; CHEHADE et al., 2014). Nesses estudos são relatadas diferenças nas organizações das estruturas hepáticas entre as espécies, possivelmente refletindo as relações filogenéticas de um grupo tão diverso, como os peixes (AKIYOSHI; INOUE et al., 2004; MOHKAR, 2018).

As descrições da morfologia hepática e das suas particularidades auxiliam na compreensão da fisiologia do animal e das alterações que esse órgão pode sofrer devido a estímulos externos, por exemplo, por danos causados ao animal por poluições aquáticas e intoxicação por metais pesados (MARCHAND et al., 2009; GILTRAP et al., 2017; WEBER et al., 2020). Do mesmo modo, também há investigações de impactos antropogênicos causados pela produção animal, como a piscicultura de tanque-rede, em espécies de peixes silvestre que estão associadas a essa atividade, como o caso do *Geophagus proximus* (KLIEMANN et al., 2018).

Além da importância do seu uso como bioindicador de impactos ambientais, há a necessidade da compreensão das alterações hepáticas frente aos processos fisiológicos, a exemplo da alimentação e reprodução. Mudanças sazonais no retículo endoplasmático, aparelho de Golgi, mitocôndrias e peroxissomos estão interligadas ao metabolismo de lipídeos e proteínas em fêmeas de *Brachyplatystoma rousseauxii* e *Salmi letnica*

(ROCHA et al., 2009; ROCHA et al., 2010; JORDANOVA et al., 2009). A alteração mais evidente é a mudança no aspecto dos hepatócitos, devido à variação de vacúolos citoplasmáticos, que indicam reservas de nutrientes (JORDANOVA et al., 2013).

Fêmeas de peixes produzem no fígado uma proteína chamada vitelogenina, fundamental para a incorporação de vitelo nos oócitos presentes nos ovários, no processo denominado por vitelogênese (QUEROL et al., 2002). Assim, mudanças sazonais são mais expressivas em fêmeas do que nos machos, principalmente quando consideradas as fases atreladas ao processo de preparação para a reprodução (JORDANOVA et al. 2009; ROCHA et al., 2009; ROCHA et al., 2010; JORDANOVA et al., 2013).

Em *Plagioscion squamosissimus*, a atividade da enzima Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD), produzida no fígado e usada para biomonitoramento aquático, mostrou variação sazonal maior em fêmeas do que em machos, apontando picos de produção dessa enzima nos períodos reprodutivos, enquanto em machos essa produção se mantém estável ao longo do ano (WUNDERLICH et al., 2015). No entanto, ainda são escassos os trabalhos relacionados a morfologia hepática dessa espécie, principalmente aqueles que abranquem os períodos sazonais, como chuvas, fases reprodutivas e período do ano.

A corvina *P. squamosissimus* é uma espécie carnívora que foi introduzida nos reservatórios de água doce e, atualmente, se encontra amplamente distribuída na Bacia do rio Paraná (TORLONI et al., 1993; HAHN et al., 1999; CASATTI, 2005; LANGEANI et al., 2007; NEVES et al., 2015; QUEIROZ-SOUZA et al., 2018). Ela representa alto valor econômico, visto que é uma das espécies não-nativa mais importante para a pesca artesanal nessa região (COSTA et al., 2009, CESP, 2014). Sua reprodução na Bacia do rio Paraná acontece ao longo do ano, com picos no período chuvoso e de temperaturas mais quentes, e necessitam de aporte alimentar adequado para ter eficiência reprodutiva (NEVES et al., 2015).

Diante do exposto acima esse estudo teve por objetivo a descrição morfológica do fígado de *P. squamosissimus* e suas alterações ao longo de dois anos, disponibilizando caracteres que possam auxiliar em estudos fisiológicos e de biomonitoramento da espécie.

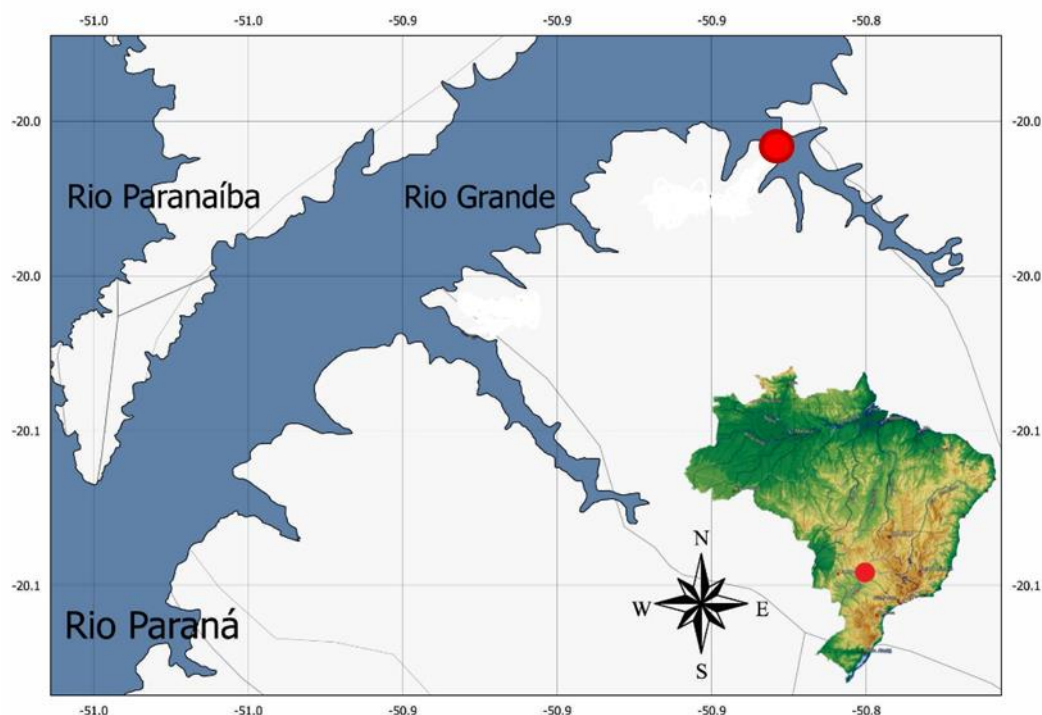
Material e métodos

Coleta de campo e análise dos dados

Coletas bimestrais foram realizadas no período de abril de 2015 a dezembro de 2016, no córrego Bosque (50°51'58.94"W e 20° 0'13.71"S), tributário do rio Grande (Fig. 1). As coletas foram realizadas com o auxílio de dois lotes de rede com 3, 4, 5, 6 e 7 centímetros, e um lote de rede com 7, 8, 10, 12 e 14 centímetros (autorização SISBIO nº 42229-1). A eutanásia dos animais foi executada pelo método de resfriamento, a fim de diminuir rapidamente a sua atividade metabólica até o óbito (protocolo de aprovação CEUA nº 001/2014).

Foram utilizadas 44 fêmeas de *P. squamosissimus*, das quais foi aferido a massa total (g), massa do fígado (g) e massa da gônada (g). Para determinação do índice gonadosomático (IGS) e hepatossomático (IHS) foram utilizadas as fórmulas: $IGS = (massa\ das\ gônadas / massa\ corpórea) \times 100$ e $IHS = (massa\ do\ fígado / massa\ corpórea) \times 100$. A média do IHS foi utilizada na relação com o IGS e os índices pluviométricos fornecidos pelo Canal Clima da Unesp de Ilha Solteira.

Figura 1. Localização da área amostral no reservatório de Ilha Solteira, Alto rio Paraná, Brasil.



Procedimentos histológicos

Para realização de análises histológicas foram utilizados 30 exemplares de *P. squamosissimus*, os fígados e ovários foram fragmentados, fixados em solução de glutaraldeído 2%, paraformaldeído 4% e tampão fosfato de Sorensen pH 7.2, incluídos em glicol metacrilato (Technovit® 7100/historesina) e seccionados em 3µm de espessura por meio de micrótomo semi-automático Leica® RM 2244. As lâminas histológicas foram coradas com Hematoxilina/Eosina.

As análises e fotodocumentação foram realizadas utilizando Microscópio óptico Zeiss Axio Scope A-1®, acoplado a uma câmera digital Axiocam Mrc5® e Microscópio óptico Olympus®, acoplado a uma câmera digital Motic 2500®.

As alterações hepáticas foram quantificadas utilizando cinco campos microscópicos por corte sendo quatro cortes por amostra ou animal. A incidência e a distribuição das lesões do fígado foram avaliadas segundo Paulino e colaboradores (2014) com base nos seguintes critérios: 0, ausência de lesões (ausência ou lesões em até 10% do total do tecido analisado); 0+, raramente presente (ocorrência de lesões de 11% a 25% do tecido analisado no total); +, presente (ocorrência de lesões em 26% a 50% do tecido analisado); ++, frequente (ocorrência de lesões de 51% a 75% do tecido analisado) e +++, lesões muito frequentes (ocorrência de lesões em 76% a 100% do tecido analisado).

As fases do desenvolvimento ovariano foram classificadas de acordo com Brown-Peterson e colaboradores (2011) e seguiram as análises de Silva (2018) para esses exemplares, sendo: Regeneração – ovários com presença de oogônias e oócitos perinucleolares; Desenvolvimento Inicial: subdividido em 1 e 2 – sendo 1 com a presença de oogônias, oócitos perinucleolares e raros oócitos alvéolo corticais e no 2 os oócitos alvéolo corticais são mais evidentes; Apto a Desova – além da presença de oogônias, oócitos perinucleolares e alvéolo corticais estão presentes os oócitos vitelogênicos finais. Os processamentos e a análise foram realizados no Laboratório de Ictiologia Neotropical, Departamento de Biologia e Zootecnia – UNESP/FEIS.

Análises estatísticas

O software R foi utilizado para as análises das variações do IHS e IGS nas fases reprodutivas e nos períodos de seca e chuva. Todos os dados foram previamente submetidos ao teste de homogeneidade de Bartlett e teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os que não apresentaram distribuição normal foram comparados utilizando

Kruskal-Wallis test, já os dados que apresentaram distribuição normal foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido da realização do teste de Tukey. A Correlação linear de Pearson para comparar a relação do IHS com o IGS e a relação do IHS com os índices pluviométricos foram gerados utilizando o Software BioEstat.

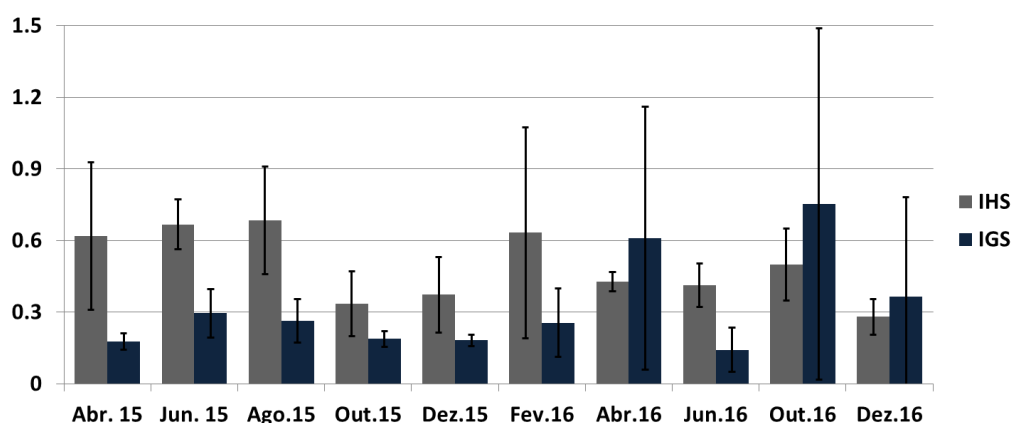
Resultados

Índices Hepatosomático (IHS) e Gonadosomático (IGS)

Em *P. Squamosissimus* foi visto que nos meses de abril a agosto de 2015 o IHS esteve mais alto ($\pm 0,66$) e no mês de outubro houve um decréscimo ($0,34 \pm 0,13$). Os valores de IHS aumentaram apenas no mês de fevereiro ($0,63 \pm 0,44$) e nos meses seguintes se mantiveram estáveis até ocorrer o decréscimo no mês de dezembro ($0,28 \pm 0,1$) (Gráf. 1).

Quanto ao IGS, esses se mantiveram parecidos durante o ano apresentando maiores valores apenas nos meses de abril de 2016 ($0,61 \pm 0,55$) e outubro de 2016 ($0,75 \pm 0,74$). Além disso, esses foram os meses que apresentaram maior variação no IGS dos animais coletados.

Gráfico 1. Valores médios do Índice hepatossomático e do Índice gonadosomático de *Plagioscion squamosissimus* nos meses de 2015 e 2016, n = 44 indivíduos.



Fonte: Próprio autor.

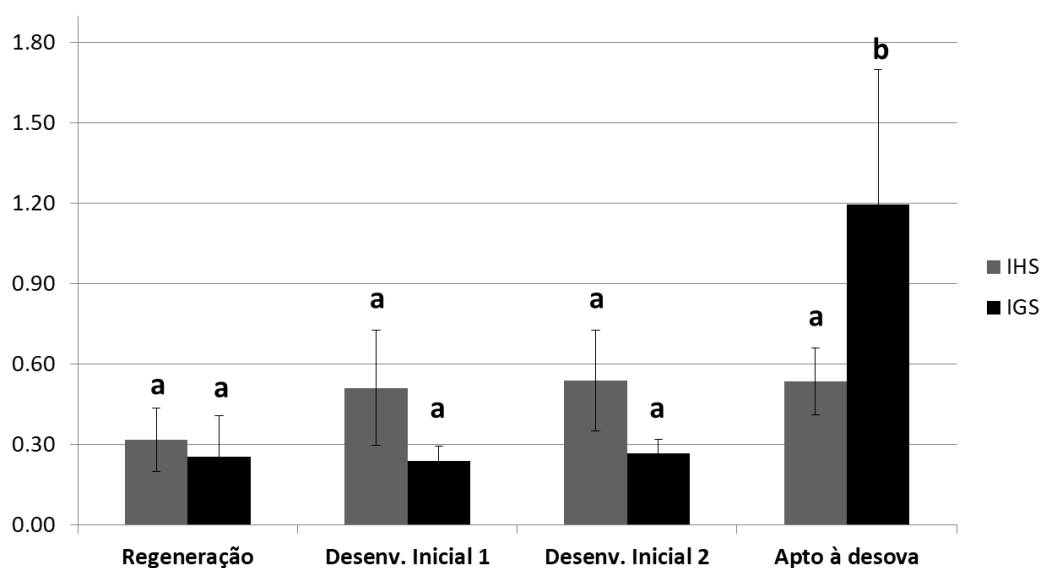
Relação dos Índices e o desenvolvimento ovariano

A média do IHS, de ambos os anos, calculado de acordo com a fase reprodutiva (Gráf. 2) evidenciou que na fase de regeneração o IHS foi menor ($0,32 \pm 0,12$) e nas

demais fases o IHS se manteve estável ($\pm 0,53$). Ao contrário, o IGS mostrou estabilidade nos valores nas três primeiras fases, Regeneração, Desenvolvimento Inicial 1 e Desenvolvimento Inicial 2 e um crescimento na fase de Apto à desova, demonstrando a maior diferença entre o IHS e IGS nessa fase. No entanto, a correlação entre essas duas variáveis, (Graf. 3 A-D) não mostrou nenhum resultado significativo.

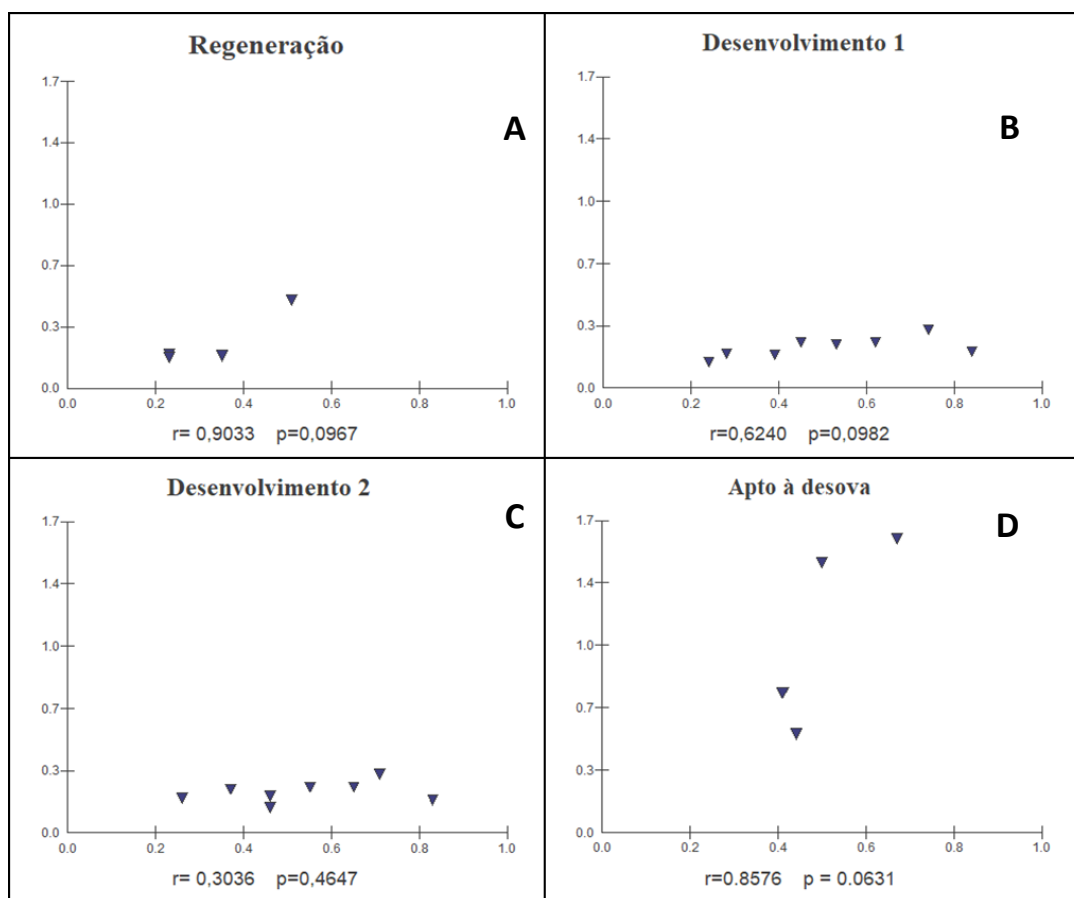
Na análise estatística da comparação do IHS entre as fases reprodutivas (Gráf.2) também não foi visto diferença significativa ($p = 0,181$), mesmo havendo diferença entre a média da fase de regressão com as demais fases, no entanto a comparação do IGS nas fases reprodutivas apontou diferenças significativas evidenciando aumento do IGS na fase de apto à desova.

Gráfico 2. Análise de variância (ANOVA) do índice hepatossômico e do índice gonadossômico de *Plagioscion squamosissimus* em cada fase reprodutiva. Letras diferentes (a,b), indicam diferenças significativas entre as fases reprodutivas, $n = 44$ indivíduos.



Fonte: Próprio autor.

Gráfico 3. Correlação linear de Pearson do índice hepatossômico e índice gonadosômático de *Plagioscion squamosissimus* em cada fase reprodutiva. Sem correlação entre os índices, $n = 44$ indivíduos.



Fonte: Próprio autor.

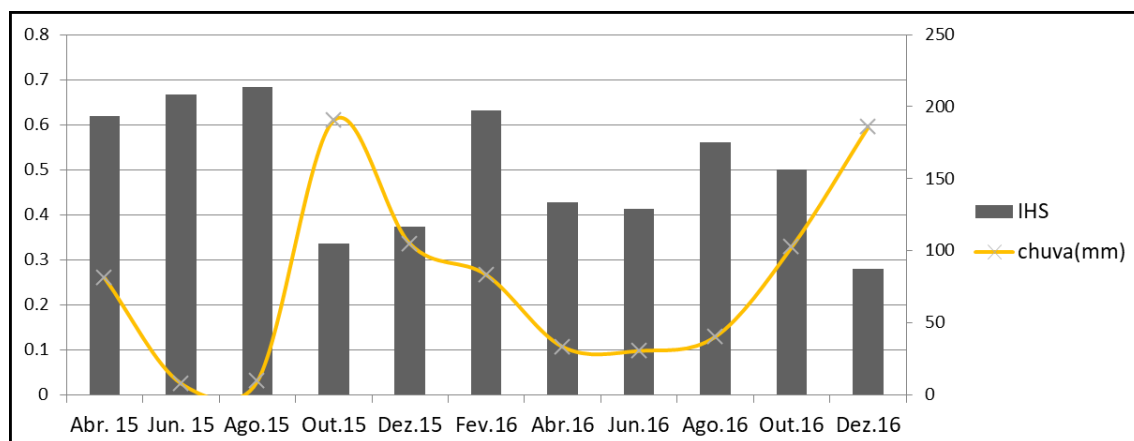
A relação do IHS com os índices pluviométricos evidenciaram valores inversos, pois nos meses no qual foram registrados os menores níveis de chuva, foram obtidos os maiores valores de IHS, o mesmo acontecendo com relação ao aumento dos níveis de chuva e redução dos valores de IHS (Gráf. 4). Todavia, nos meses de abril de 2015 e fevereiro de 2016 esse mesmo padrão não foi verificado, pois os índices pluviométricos foram maiores do que nos períodos de seca, porém não ocorreu uma queda no IHS (Gráf. 4).

No ano de 2016 ocorreu uma seca prolongada, do período de abril a agosto, tal fato possivelmente alterou o padrão de comportamento do IHS observado no ano anterior, a exemplo da redução do valor do IHS ter ocorrido em outubro de 2015 e em 2016, isso só foi evidenciado em dezembro. Considerando que esses menores valores de

IHS estão relacionados à fase de regeneração gonadal, observa-se que também houve diferenças no desenvolvimento ovariano quando comparado os dois anos.

No teste de correlação dos índices pluviométricos com o IHS (Gráf. 5) o resultado foi significativo ($p=0,0166$), porém a correlação foi considerada fraca devido aos meses que fugiram do padrão e quando comparado o IHS da seca e da chuva foi visto diferenças significativas entre os períodos nos dois anos (Gráf. 6 A-B).

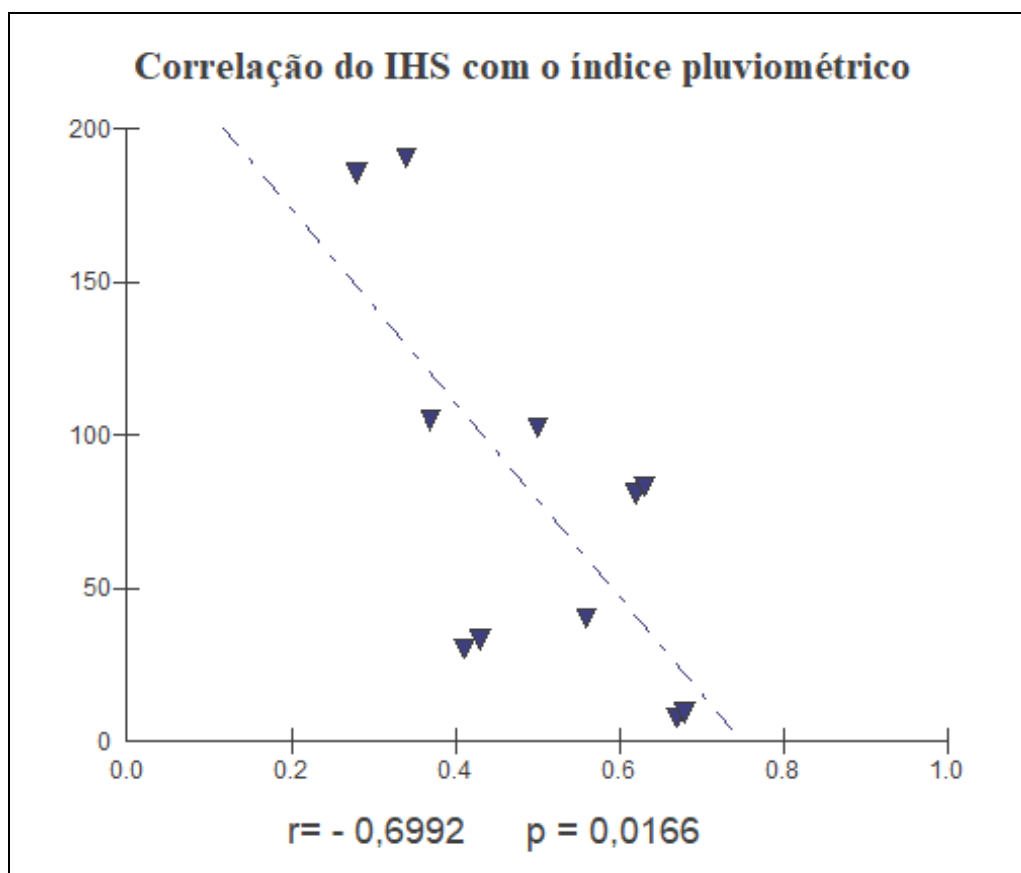
Gráfico 4. Relação das médias do índice hepatossomático de *Plagioscion squamosissimus* com os índices pluviométricos do município de Populina, nos anos de 2015 e 2016, n = 44 indivíduos.



Fonte: Próprio autor.

Fonte: Canal Clima da Unesp de Ilha Solteira.

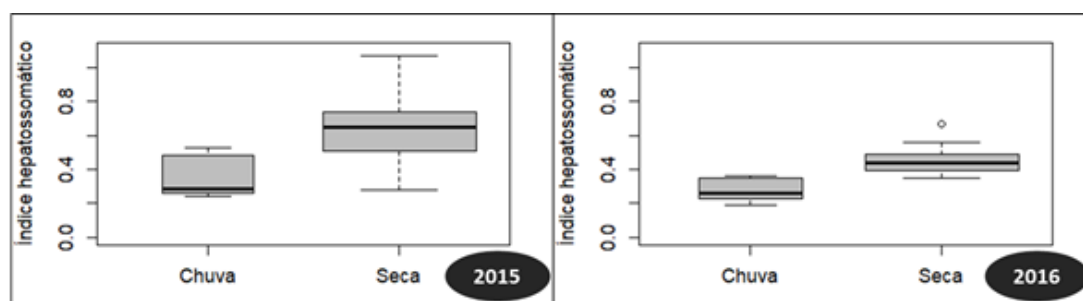
Gráfico 5. Correlação negativa do Índice hepatossomático de *Plagioscion squamosissimus* com os índices pluviométricos do município de Populina, nos anos de 2015 e 2016, n = 44 indivíduos.



Fonte: Próprio autor.

Fonte: Canal Clima da Unesp de Ilha Solteira.

Gráfico 6. Índice hepatossomático de *Plagioscion squamosissimus* nos períodos de seca e chuva nos anos de 2015 e 2016. **A.** $p = 0,00306$. **B.** $p = 0,0245$, n = 44 indivíduos.



Fonte: Próprio autor.

Análise histológica

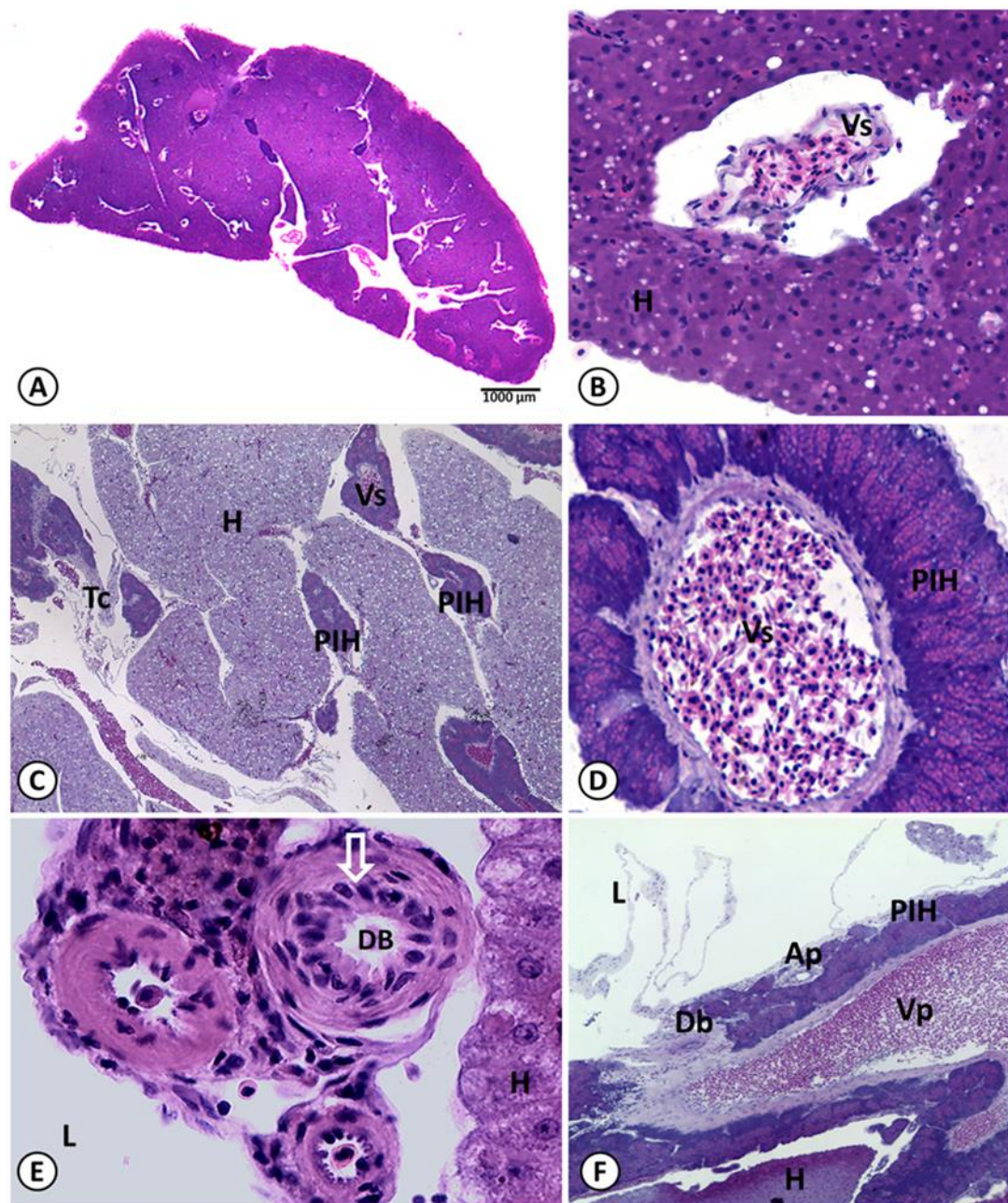
A morfologia hepática de *P. squamosissimus* é caracterizada pela predominância das principais células do parênquima, os hepatócitos, dispostas em cordões, formando placas agrupadas. Entre essas células, foi observada a presença das sinusóides hepáticas, por onde circula o sangue, que segue o sentido de fluxo ao centro dessas placas, no qual se encontra um vaso sanguíneo central (Fig. 1 B).

Os hepatócitos possuem formas e tamanhos variados, apresentam uma membrana plasmática de difícil definição na maior parte do tecido, porém há um núcleo bem demarcado e arredondado (Fig. 1 E).

Outras estruturas foram observadas no fígado de *P. squamosissimus*, como os ductos biliares (Fig. 1 E), pâncreas intra- hepático (Fig. 1 C- D) e os vasos sanguíneos (Fig. 1 D-F). Os ductos biliares foram identificados pela presença de tecido epitelial cúbico simples (Fig. 1E). Por vezes, eles são encontrados distribuídos livremente pelo órgão e, associados ou não ao pâncreas intra-hepático e aos vasos sanguíneos (Fig 1 E-F). Portanto, são encontrados dois tipos de ductos biliares: isolado (Fig. 1 E) e tipo portal (Fig. 1 F).

O pâncreas intra-hepático foi identificado pela presença de ácinos serosos com células bem definidas (Fig. 1D). O espaço porta é formado por uma veia circundada por pâncreas intra-hepático, associada a uma artéria e a um ducto biliar, formando assim a chamada tríade portal (Fig.1F). No espaço porta, todas as estruturas são bem evidentes e ramificam para o resto do órgão, se distribuindo entre as placas de hepatócitos (Fig. 1F).

Figura 1. Fígado de *Plagioscion squamosissimus*. **A.** Corte inteiro do fígado. **B.** Vaso sanguíneo (Vs) no centro do parênquima hepático (H). **C.** Pâncreas intra-hepático (PIH) circundando vaso sanguíneo (Vs) e distribuído pelo parênquima hepático (H), Tecido conjuntivo conectando o pâncreas intra-hepático com as placas de hepatócitos (Tc). **D.** Pâncreas intra-hepático (PIH) circundando vaso sanguíneo (Vs). **E.** Tecido epitelial cúbico simples (flecha branca) do ducto biliar (Db), lúmen (L). **F.** Espaço porta composto com artéria porta (Ap), Veia porta (Vp) e Ducto biliar (Db).



Fonte: Próprio autor.

Além das características morfológicas descritas acima para o fígado de *P. squamosissimus*, também foram evidenciadas algumas alterações hepáticas como vacúolos citoplasmáticos, agregados de melanomacrófagos, hiperemia, degeneração citoplasmática, congestão vascular e necrose (Quad. 1 e Fig 2). A maioria dessas alterações ocorreu em frequências baixas, sendo classificadas como ausência de lesões, ocorrendo em menos de 10% do total de tecido analisado, com exceção da presença de degeneração citoplasmáticas e vacúolos citoplasmáticos nos hepatócitos (Tab. 1), sendo essas alterações associadas às fases do desenvolvimento ovariano (Fig. 3).

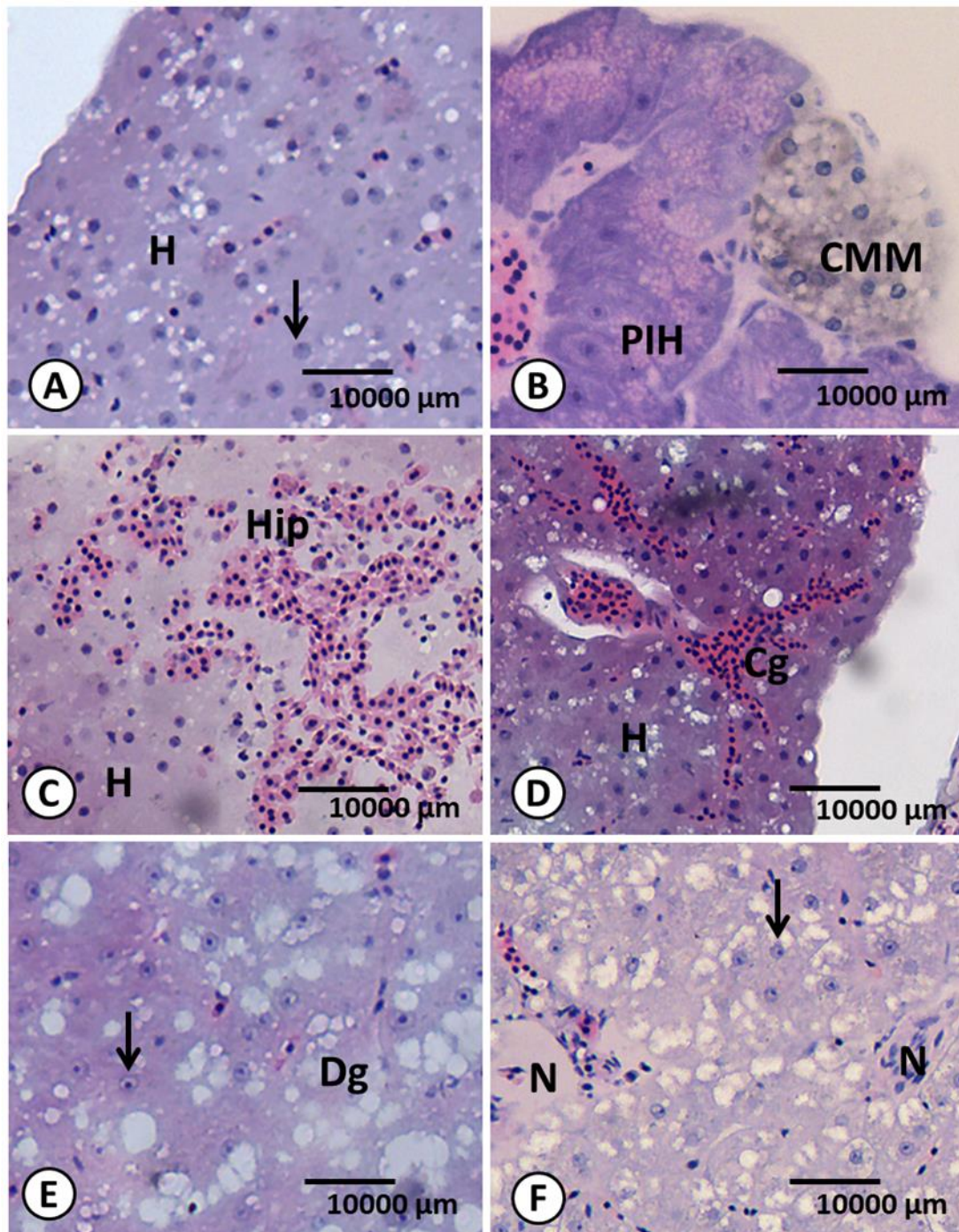
A vacuolização citoplasmática aumenta com o avanço do desenvolvimento ovariano, de Regeneração a Desenvolvimento 2, chegando a 50% de frequência nos tecidos dos exemplares analisados nesta fase, mas reduz para raramente presentes nas fêmeas aptas a desova (Tab. 1). O mesmo padrão foi observado em relação à degeneração citoplasmática, porém chegando a raramente presentes nessas fêmeas em Desenvolvimento 2 e ausentes nas aptas a desova (Tab. 1).

Quadro 1. Definições das alterações histológicas observadas em *Plagioscion squamosissimus* nos anos de 2015 e 2016.

Alteração histológica	Definição	Figura
Vacuolização Citoplasmática	Concentrações de material não corado dentro dos hepatócitos, que formam reservas indicando concentração de substância lipídica.	Fig. 2E
Agregados de melanomacrófagos	Caracterizado como aglomerado de células com pigmento escuro e variado que frequentemente estão fagocitando vasos sanguíneos ou o pâncreas intra-hepático.	Fig. 2B
Hiperemia	Concentração sanguínea no parênquima hepático, indicando maior fluxo sanguíneo nos hepatócitos do local.	Fig. 2C
Degeneração citoplasmática	Grande concentração de reservas lipídicas nos hepatócitos que causam o extravasamento desse material.	Fig. 2E
Congestão vascular	Acúmulo de conteúdo sanguíneo das sinusoides hepáticas.	Fig. 2D
Necrose	Tecido degradado, sem a presença de núcleos.	Fig. 2F

Fonte: Próprio autor.

Figura 2 – Fígado de *Plagioscion squamosissimus*. **A.** Parênquima hepático (H) e núcleo dos hepatócitos (flecha) sem alterações. **B.** Agregado de melanomacrófagos (CMM) fagocitando pâncreas intra-hepático (PIH). **C.** Hiperemia (Hip). **D.** Congestão vascular (Cg). **E.** Degeneração citoplasmática (Dg). **F.** Necrose (N).



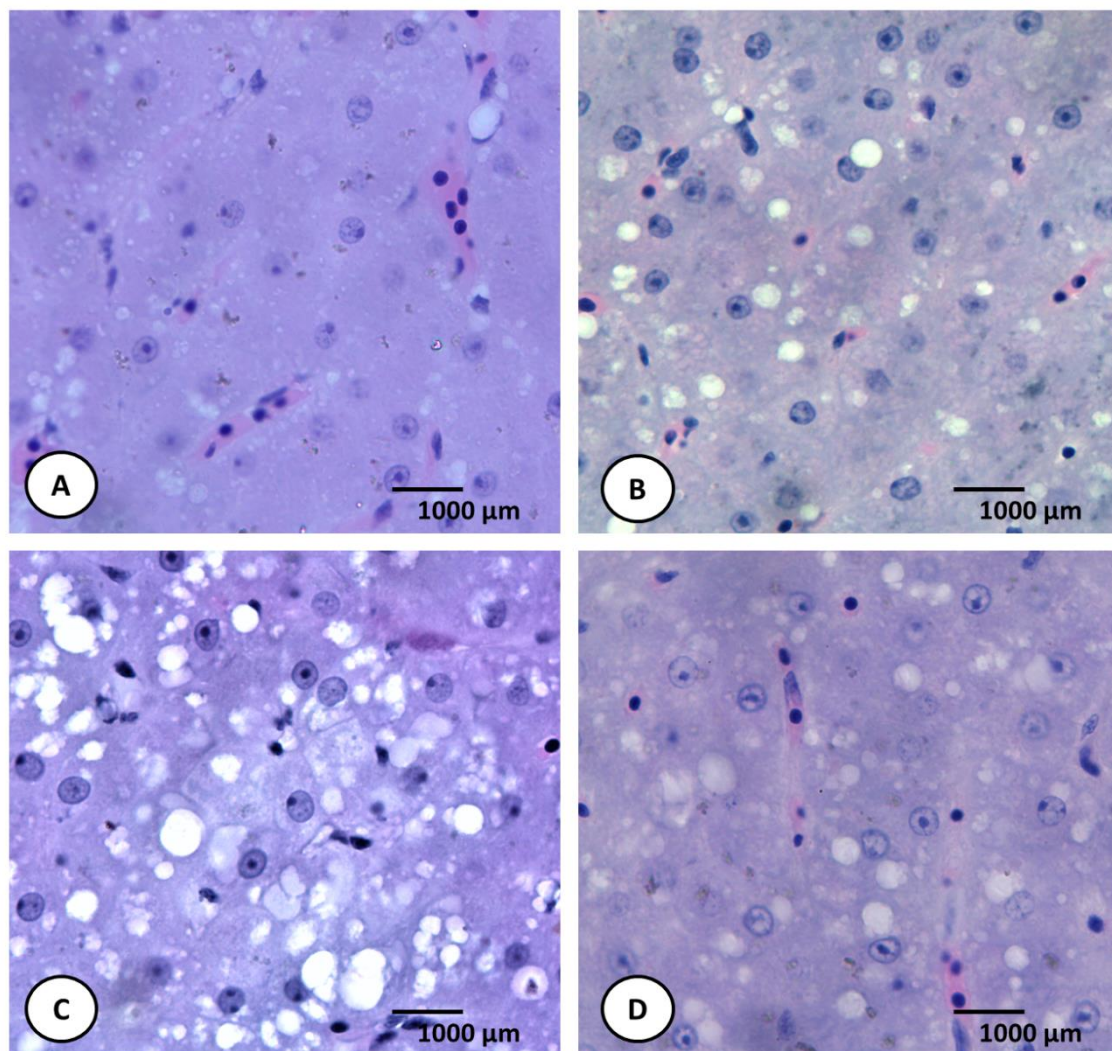
Fonte: Próprio autor.

Tabela 1. Alterações histológicas no fígado de *Plagioscion squamosissimus*, de acordo com a fase reprodutiva. 0 (0-10%); 0+ (11-25%); + (26-50%); ++ (51-75%); +++ (76-100%), n= 30 indivíduos.

Alterações	Regeneração	Desenvolvimento Inicial 1	Desenvolvimento Inicial 2	Apto à desova
Vacuolização citoplasmática	0 (8%)	0+ (13%)	+ (50%)	0+ (11%)
Agregados de melanomacrófagos	0 (1%)	0 (1%)	0 (0%)	0 (1%)
Hiperemia	0 (1%)	0 (0%)	0 (1%)	0 (0%)
Degeneração citoplasmática	0 (3%)	0 (4%)	0+ (11%)	0 (0%)
Congestão vascular	0 (0%)	0 (1%)	0 (3%)	0 (0%)
Necrose	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Fonte: Próprio autor.

Figura 3. Fígado de *Plagioscion squamosissimus*. **A.** Hepatócitos na fase de regeneração com poucos vacúolos. **B.** Hepatócitos na fase de Desenvolvimento 1 com aumento de vacúolos. **C.** Hepatócitos com grande quantidade de vacúolos na fase de Desenvolvimento 2. **D.** Diminuição da quantidade de vacúolos na fase de Apto à desova.



Fonte: Próprio autor.

Discussão

Nos resultados os valores de IHS e IGS de *Plagioscion squamosissimus* não evidenciou correlação estatística entre eles, tanto ao longo dos anos quanto agrupado em fases. É conhecido que a relação desses dois índices costuma ser inversamente proporcionais, pois a vitelogenina produzida no fígado e levada ao ovário influencia diretamente na dinâmica de mudança da massa desses órgãos durante as fases reprodutivas (CASTRO; PIORSKY, 1998; QUEROL et al., 2002; SANTOS et al., 2004; RIBEIRO et al., 2006; NAHRGANG et al., 2010; JORDANOVA et al., 2013). Apesar de não ter ocorrido correlação entre essas variáveis foi observado um contraste nos valores do IHS da fase de regeneração, onde foram menores em relação as outras fases e de IGS da fase apto à desova, onde foram maiores em relação as outras fases.

O IHS de 2015 mostrou padrão de comportamento no qual os maiores valores eram vistos nos primeiros meses do ano e no fim do ano os valores diminuía. Esse mesmo padrão também foi estabelecido para *P. squamosissimus* no rio Tiête em trabalhos relacionados às variações sazonais ligadas a reprodução dessa espécie, no entanto é importante constatar que esse efeito acontece com mais precisão em fêmeas (CASTRO; PIORSKY, 1998; WUNDERLICH et al., 2015). Visto que nesse trabalho foram utilizadas apenas fêmeas adultas, é confiável dizer que esse é o padrão de IHS estabelecido para *P. Squamosissimus* no rio Paraná e assim como os demais trabalhos a condição morfológica do fígado sofre influências sazonais.

Um dos parâmetros sazonais considerados foi a chuva que mostrou correlação fraca com o IHS, evidenciando o padrão de menores valores de IHS nos períodos de chuva e maiores valores de IHS nos períodos de seca. O desencadeamento metabólico da desova depende de fatores ambientais, principalmente, chuva, temperatura e fotoperíodo (BALDISSEROTTO et al., 2014). Portanto, ao analisar o IHS é visto que além da condição morfológica do fígado variar entre os meses, essas variações estão ligadas às precipitações e consequentemente aos períodos reprodutivos que em *P. squamosissimus* são desencadeados pela chuva (NEVES et al., 2015).

Outro fato observado foi que a seca prolongada no ano de 2016 influenciou na condição morfológica, que fez com que o menor valor de IHS fosse em dezembro ao invés de outubro como ocorreu em 2015. Os menores valores de IHS ocorrem devido às fases de regeneração onde o fígado perde massa (RINCHARD; KESTEMONT, 2003;

JORDANOVA et al., 2013), dessa maneira é possível ver que a seca prolongada possivelmente causou o atraso dos picos reprodutivos no ano de 2016.

Além de determinar a relação da condição morfométrica do fígado de *P. squamosissimus* com parâmetros sazonais, a descrição do tecido hepático também foi feita para servir como base na identificação das alterações. Na análise histológica foi observado hepatócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos, sinusóides, pâncreas intra-hepático e células fagocitárias, essas são estruturas básicas para a execução das principais funções do fígado e são encontradas tanto em mamíferos quanto em peixes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; MOKHTAR, 2018).

Hepatócitos íntegros predominando o tecido hepático, como foi observado em *P. squamosissimus*, está relacionado ao bom funcionamento do mesmo, pois são responsáveis pela filtração de substâncias, sintetização e armazenamento de nutrientes e produção de sais biliares (BUZATO; ARANA; CARVALHO, 2016). Danos graves as essas células como, esteatose, alterações no arranjo do núcleo e no citoplasma e necrose, podem comprometer todo o funcionamento do órgão, no entanto, esses danos são mais relatados em situações com altas poluições aquáticas ou contaminação por metais pesados (MARCHAND et al., 2009; GILTRAP et al., 2017; WEBER et al., 2020).

O pâncreas intra-hepático ou hepatopâncreas é uma característica vista na maioria dos peixes teleósteos e sua disposição ao redor da veia porta já foi descrita em diversos trabalhos, inclusive em *Micropogonias undulatus*, pertencente à mesma família da espécie do presente estudo (EURELL; HAENSLY, 1982; EPPLÉ; BRINN, 1986, BOMBONATO et al., 2007; ROCHA et al., 2010; COSTA, 2012; CHEHADE et al., 2014; FACCIOLOI et al., 2014; OLIVEIRA, 2015; KLIEMANN et al., 2018). Devido à clara visualização dos ácinos hepáticos pode ser estabelecido que em *P. squamosissimus* essa estrutura possui função exócrina, responsável pela produção de enzimas digestivas (FACCIOLOI et al., 2014) e assim como em seu parente marinho *Micropogonias undulatus*, foi possível diferenciar que os vasos sanguíneos circundados por pâncreas-intra hepático eram espaços portais e vasos sanguíneos sem associação com outras estruturas são veias que drenam o sangue pra fora do órgão (EURELL; HAENSLY, 1982).

O espaço porta nessa espécie mostrou característica rara de formação de tríades portais que consiste na associação de veia porta, artéria porta e ducto biliar (MOKHTAR, 2018). A maioria dos trabalhos descreve essa estrutura em animais marinhos (GONZÁLEZ, 1992; AKIYOSHI; INOUE, 2004; ROCHA et al., 2010). A

família Sciaenidae é bastante diversificada e são extensamente encontrados nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico (NELSON, 2006). Os ancestrais marinhos da espécie *P. squamosissimus*, invadiram a América do Sul pelo norte e se adaptaram à água doce do rio Amazonas, onde são nativas (COOKE; CHAO; BEHEREGARAY, 2012; BOEGER et al., 2015). Desde modo, a presença de triade portal em *P. squamosissimus*, pode ser uma característica herdada de seus parentes marinhos.

No Scianídeo *Micropogonias undulatus* levantou-se a hipóteses da presença de triade portal, no entanto isso não pôde ser afirmado pelo autor devido às limitações dos recursos para a sua visualização nítida (EURELL; HAENSLY, 1982). Visto que são escassos os trabalhos de descrição morfológica no uso de referência para essa espécie, percebe-se a necessidade de mais trabalhos que relatem estruturas hepáticas que sirvam como base científica.

Como visto na frequência de alterações de cada fase reprodutiva os vacúolos citoplasmáticos foram os que mais apresentaram variações. Os vacúolos são indicativos de conteúdo lipídico nos hepatócitos e assim como os resultados desse trabalho, foi relatado significativo aumento ao longo do desenvolvimento gonadal e significativa diminuição após desova em fêmeas da espécie carnívora *Salmo letnica* (JORDANOVA et al., 2013). O comportamento oposto foi relatado nas fases reprodutivas das espécies carnívoras *Anguila japonica* e *Clupea pallasii* (ELSTON et al. 1997; OKAMURA et al. 2001). Portanto, é comum fêmeas de peixes possuírem variações nos conteúdos lipídicos dos hepatócitos, no entanto não existe um padrão estabelecido para todas as espécies (ELSTON et al. 1997; OKAMURA et al. 2001; JORDANOVA et al., 2012).

Os resultados mostraram que o IHS não teve correlação com o IGS, no entanto à nível tecidual foi nítida a influência da fase reprodutiva nas características hepáticas da fêmea de *P. Squamosissimus*, apresentando o padrão de pouco conteúdo lipídico na fase de regeneração, aumento gradual ao longo das fases de desenvolvimento e diminuição quando os animais já estavam aptos à desova.

Grande parte dos trabalhos de descrição morfológica de peixes é feito com machos e fêmeas (EURELL; HAENSLEY, 1982; BOMBONATO et al., 2007; ROCHA et al., 2010; COSTA et al., 2012; CHEHADE et al., 2014; FACCIOLI et al., 2014). Esses trabalhos são muito importantes como base de pesquisa, no entanto vale salientar a importância de discriminar características de machos e fêmeas principalmente quando se trata de trabalhos com coleta durante todo o ano e que visa utilizar determinadas espécies como bioindicadoras de atividades antropogênicas e poluição aquática.

Quanto às demais alterações, a degeneração citoplasmática foi vista associada aos maiores números de vacúolos, portanto sua presença é justificada pela alta presença de lipídeos nas células. O fígado armazena lipídeos na forma de vacúolos, e em casos que a célula não é capaz de metabolizar esse nutriente, acaba ocorrendo degeneração citoplasmática como um efeito cascata (LEE et al., 2012; KUMAR et al., 2014). Existe uma grande dificuldade em padronizar nas espécies de peixes o que é uma degeneração citoplasmática e o que é uma esteatose, porém é conhecido que peixes possuem maior tendência que mamíferos a armazenar lipídeos nos hepatócitos (WOLF; WOLFE, 2005). Esta é classificada como uma alteração, com potencial para diminuir as funções do tecido, apenas se estiver em grande extensão do órgão, do contrário, como foi observado neste trabalho, pode existir a recuperação das células (BERNETT et al., 1999; WOLF; WOLFE, 2005).

A maioria das alterações hepáticas descritas em *P. squamosissimus* foi classificada como ausente devido à baixa frequência. A congestão vascular é caracterizada como uma obstrução dos vasos sanguíneos que diminui a velocidade de circulação e provoca o acúmulo de sangue na região (ROBERTS, 2002), apesar de essa ser uma alteração de maior capacidade de comprometimento do funcionamento do órgão, pois dificulta a circulação sanguínea, foi observado apenas em alguns animais e com baixa frequência, possivelmente não tendo potencial para causar danos ao órgão.

Os agregados de melanomacrófagos fagocitam produtos da degradação celular e substâncias estranhas no sangue, servindo como um filtro para o que vai ser metabolizado pelos hepatócitos (AGIUS; ROBERTS, 2003). Para que essa filtração ocorra é preciso que haja maior circulação sanguínea no local, por isso essa alteração pode estar associada à hiperemia e ocorrem normalmente em processos de desintoxicação do fígado (PAULINO et al., 2014).

Nos períodos de chuva analisado foi visto alta presença de agregados de melanomacrófagos, ao contrário do período de seca. Esse mesmo resultado foi relatado na quantificação dessa estrutura relacionado com o período reprodutivo de *Salmo letnica*, onde essa diferença foi atribuída ao processo de perda da massa que o fígado sofre nesse período (JORDANOVA et al., 2008). Logo, essa é mais uma alteração que indica relação com o período reprodutivo de fêmeas de *P. squamosissimus* e mostra variações ao longo do ano.

Conclusão

Em conclusão, o trabalho permitiu descrever o fígado de *P. squamosissimus* e de suas particularidades e isso poderá ser utilizada como base para outras pesquisas. Também foi visto que o fígado de fêmeas de *P. squamosissimus* sofre mudanças sazonais em sua massa e a nível tecidual ao longo do ano. O IHS sofreu variações entre os meses e esse comportamento é relacionado aos períodos de chuva, que também possivelmente influenciaram nas mudanças da dinâmica do período reprodutivo entre os dois anos de estudos. Histologicamente, pôde ser constatada a influência das fases reprodutivas nos aspectos dos vacúolos citoplasmáticos dos hepatócitos, indicando mudanças metabólicas relacionadas ao armazenamento de lipídeos ao longo do desenvolvimento gonadal de fêmeas dessa espécie.

Referências

- AGIUS, C., ROBERTS, R.J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, [s.l.], v. 26, n. 9, p. 499–509, 2003.
- AKIYOSHI, H.; INOUE, A. Comparative Histological Study of Teleost Livers in Relation to Phylogeny. **Zoological Science**, [s.l.], v. 21, n. 8, p. 841-850, 2004.
- ARELLANO J. M. Histological Changes and Copper Accumulation in Liver and Gills of the *Senegales Sole*, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. [s.l.], v.44, p. 62- 72, 1999.
- BALDISSEROTTO, B. et al. Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce. [S.l: s.n.], 2014.
- BERNET; D. H *et al.* Histopathology in fish: proposal for a protocol to asses aquatic pollution. **Journal Of Fish Diseases**, Suíça, v. 22, n. 1, p. 25-34, 1999.
- BOEGER, W. A. *et al.* Tracking the history of an invasion: the freshwater croakers (teleostei. **Zoologica Scripta**, [S.L.], v. 44, n. 3, p. 250-262, 22 dez. 2015.
- BOMBONATO, M. T. S. *et al.* Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus* . **Acta Scientiarum - Biological Science**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 81-85, 2007.
- BROWN-PETERSON, N. J. *et al.* A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, Bethesda, v. 3, n. 1, p. 52–70, 2011.

BUZATO, C. B. C.; ARANA, S.; CARVALHO, C. P. F. **Histologia do Fígado, Vias Biliares e Pâncreas**, In: Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica. São Paulo: Blucher, 2016.

CARROLA, J. *et al.* Liver Histopathology in Brown Trout (*Salmo trutta* f. fario) from the Tinhela River, Subjected to Mine Drainage from the Abandoned Jales Mine (Portugal). **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, [s.l.], v. 83, n. 1, p. 35-41, 24 abr. 2009.

CASATTI, L. Revision of the South American freshwater genus *Plagioscion* (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae). **Zootaxa**, Auckland, v. 1080, n. 1, p. 39-64, 2005.

CASTRO A. C. L.; PIORSKI N. M. Curva de maturação, fator de condição e índice hepatossômico de *Plagioscion squamosissimus* (heckel, 1840) no reservatório de barra bonita – SP (osteichthyes, sciaenidae). **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**. [s.l.], v. 11, n. 1, p.1-14 ,1998.

CESP, Companhia Energética de São Paulo. Programa de Manejo Pesqueiro. Relatórios nº GA/233/2014, 2014, 136p.

COOKE, G. M.; CHAO, N. L.; BEHEREGARAY, L. B. Marine incursions, cryptic species and ecological diversification in Amazonia: the biogeographic history of the croaker genus *Plagioscion* (Sciaenidae). **Journal of Biogeography**. [s.l.], v.39, p.724–738, 2012.

COSTA S. A. G. L. *et al.* Espectro alimentar e variação sazonal da dieta de *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Osteichthyes, Sciaenidae) na lagoado Piató, Assu, Estado do Rio Grande do Norte, **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. Maringá, v. 31, n. 3, p. 285-292, 2009.

COSTA, G.M. *et al.* Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. [s. l.], v.32, n.9, p. 947-950, 2012.

CHEHADE, C. *et al.* Morphologic study of the liver of lambari (*Astyanax altiparanae*) with emphasis on the distribution of cytokeratin. **Fish Physiology And Biochemistry**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 571-576, 2014.

EPPLE, A.; BRINN, J.E. **Pancreatic Islets**. In: PANG, P.K.T.; SCHEREIBMAN, M. (Ed.). Vertebrate endocrinology: fundamental and biochemical implications. New York: Academic Press, 1986. cap. 1, p. 279-317.

ELSTON, R. A. *et al.* Health and condition of pacific herring *Clupea pallasii* from Prince William Sound, Alaska, 1994. **Diseases Of Aquatic Organisms**. [s.l.], v. 31, n. 5, p. 109-126, 1997.

EUREL J.; HAENSL W. E. The histology and ultrastructure of the liver of Atlantic croaker *Micropogon undulatus* L. **J. Fish Biol**, Gainesville, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 113-125, 1982.

FACCIOLI, C. K. *et al.* Morphology and histochemistry of the liver of carnivorous fish *Hemisorubim platyrhynchos*. **The International Journal of Morphology**. [s. l.], v.32, n.2, p. 715-720, 2014.

GILTRAP, M. *et al.* Integration of biological effects, fish histopathology and contaminant measurements for the assessment of fish health: A pilot application in Irish marine waters. **Marine Environmental Research**. [s.l.], v. 129, p. 113-132, 2017.

GONZÁLEZ, G. *et al.* Histo-cytological study of the liver of the cabrilla sea bass, *Serranus cabrilla* (Teleostei, Serranidae), an available model for marine fish experimental studies. **J. Fish Biol.**, British Isles, v. 43, p. 363-373, 1993.

GUYTON A. C., **Tratado de Fisiologia Médica**, M, 9 ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, c. 70, p. 672, 1997.

HAHN, N. S. *et al.* Atividade alimentar da curvina *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Perciformes, Scianidae) no rio Paraná. **Acta Scientiarum**. [s.l.], v. 21, n. 2, p. 309-314, 1999.

JORDANOVA, M. *et al.* Um estudo qualitativo e quantitativo dos agregados de macrófagos pigmentados hepáticos durante o ciclo reprodutivo da truta Ohrid, *Salmo letnica* Kar. (Teloestei, Salmonidae). **Microscopy Research And Technique**. [s.l.], v. 71, n. 8, p. 22-830, 2008.

JORDANOVA, M. *et al.* Crystalline inclusions in hepatocytes and associated interhepatocytic macrophages from female Ohrid trout (*Salmo letnica* Kar.). **Tissue Cell**. [s.l.], v. 41, p. 281–285, 2009.

JORDANOVA M. *et al.* Variations in the volumes of parenchyma and stroma of the liver and in the cytology of hepatocytes are associated with gonadal stages in female Ohrid trout (*Salmo letnica*). **Ichthyological Research**. [s.l.], v. 60, p.26–35, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: Textos & Atlas**, 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.318- 332, 2013.

KLIEMANN, B. C. K *et al.* Dietary changes and histophysiological responses of a wild fish (*Geophagus cf. proximus*) under the influence of tilapia cage farm. **Fisheries Research**. [s.l.], v. 204, p. 337-347, 2018.

KUMAR,V. Robbins & Cotran: **Patologia -Bases Patológicas das Doenças**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

LANGEANI, F. *et al.* Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. **Biota Neotropica**. [s.l.], v. 7, n. 3, p. 181-197, 2007.

LEE, J. *et al.* Toxicity of dietary selenomethionine in juvenile steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss*: tissue burden, growth performance, body composition, hematological parameters, and liver histopathology. **Chemosphere**. [s.l.], v. 226, p.755-765, 2019.

MARCHAND, M. J. *et al.* Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa. **Environmental Toxicology**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 133-147, 2009.

MOKHTAR M. D. **Fish Histology**: from cells to organs. Oakville: Apple Academic Press, 2018. 264 p.

NAHRGANG, J. *et al.* Seasonal baseline levels of physiological and biochemical parameters in polar cod (*Boreogadus saida*): implications for environmental monitoring. **Marine Pollution Bulletin**, [s.l.], v. 60, n. 8, p. 1336-1345, 2010.

NEVES, M. P. *et al.* Carnivory during Ontogeny of the *Plagioscion squamosissimus*: a successful non-native fish in a lentic environment of the upper paraná river basin. **Plos One**, [s.l.], v. 10, p. 1-15, 2015.

PAULINO, M. G. *et al.* The impact of organochlorines and metals on wild fish living in a tropical hydroelectric reservoir: bioaccumulation and histopathological biomarkers. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 497-498, p. 293-306, 2014.

QUEIROZ-SOUSA, J. *et al.* Biology, ecology and biogeography of the South American silver croaker, an important Neotropical fish species in South America. **Reviews In Fish Biology And Fisheries**, [s.l.], v. 28, n. 4, p. 693-714, 2018.

QUEROL, M. V. M. *et al.* Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (osteichthyes, loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do brasil. Iheringia, **Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 92, n. 03, p. 79-84, 2002.

OKUMURA, H. *et al.* Changes in serum vitellogenin levels and immunohistochemical localization of vitellogenin in hepatic cells during ovarian development in the Japanese eel. **Fisheries Science**, [s.l.], v. 67, n. 5, p. 880-887, 2001.

RIBEIRO V. M. A. Ultrastructural changes in female hepatocytes during ovarian maturation of *Steindachnerina insculpta* (PISCES: CURIMATIDAE). **Brazilian Journal of Biology**. [s.l.], v.66, n.4, p. 957-962, 2006.

RINCHARD, J.; KESTEMONT, P. Liver Changes Related to Oocyte Growth in Roach, a Single Spawner Fish, and in Bleak and White Bream, Two Multiple Spawner Fish. **International Review Of Hydrobiology**, [s.l.], v. 88, n. 1, p. 68-76, 2003.

ROBERTS, R. J. **Fish Pathology**. 2. ed. Esccia: Willey- Blackwell, 2002. 125 p.

ROCHA, E.. The hepatocytes of the brown trout (*Salmo trutta f. fario*): a stereological study of their number and size during the breeding cycle. **Pesquisa ichtiolgica**. [s.l.], v.56, p.43-54, 2009.

ROCHA, E. *et al.* The hepatocytes of the brown trout (*Salmo trutta fario*): a stereological study of some cytoplasmic components with the breeding cycle. **Microscopy Research And Technique**, [s.l.], p. 766-778, 2010.

SANTOS A. A. *et al.* Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, sp, Brasil B. **Instituto de Pesca**. São Paulo, v. 30, n.2, p. 141 - 145, 2004.

SILVA, A. P. S. **Aspectos reprodutivos de três espécies de peixes silvestres sob a influência de uma piscicultura em tanques-rede, no reservatório de Ilha Solteira, SP**. 2018. 131 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zoologia, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, 2018.

TONON B. P.; BIACHI L. Diferenças Anatômicas do Pulmão, Fígado, Rim, Baço e Pâncreas entre bovinos e cães. **Revista Dimensão Acadêmica**. [s.l.], v.3, n.2, 2018.

TORLONI, C. E. C. *et al.* A pescada-do- Piauí *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Osteichthyes, Perciformes) nos reservatórios da CESP – Companhia Energética de São Paulo. *Série Pesquisa e Desenvolvimento* 84, 1-23, 1993.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia Da Reprodução De Peixes Teleósteos**. 20. ed. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 1996.

WEBER, A. A. *et al.* Effects of metal contamination on liver in two fish species from a highly impacted neotropical river: a case study of the Fundão dam, brazil. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 190, p. 110- 165, 2020.

WOLF, J. C.; WOLFE. A brief review of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. **Toxicol Pathol**. [s.l.], v. 33, n. 1, p. 75-85, 2005.

WUNDERLICH, A. C. *et al.* The influence of seasonality, fish size and reproductive status on EROD activity in *Plagioscion squamosissimus*: implications for biomonitoring of tropical/subtropical reservoirs. **Ecological Indicators**, [s.l.], v. 58, p. 267-276, 2015.