



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL



Morfologia hepática e perfil bioquímico sérico em *Pygocentrus nattereri* Kner (Characiformes: Serrasalminidae)

Maria Eduarda Corona Garcia

Campo Grande, MS

Junho, 2022

MARIA EDUARDA CORONA GARCIA

**Morfologia hepática e perfil bioquímico sérico em *Pygocentrus nattereri* Kner
(Characiformes: Serrasalminidae)**

Dissertação apresentada à Fundação
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Mestre em Biologia Animal.
Área de concentração: Zoologia.

Campo Grande, 22 de agosto de 2022

BANCA EXAMINADORA

Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (presidente)

Dr. Fernando Rogério Carvalho

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (titular)

Dr. Klaus Casaro Saturnino

Universidade Federal de Jataí (titular)

Dra. Claucia Aparecida Honorato da Silva

Universidade Federal da Grande Dourados (titular)

Dr. Robson Andrade de Rodrigues

Universidade Federal de Santa Catarina (suplente)

Dr. Nelson Rufino de Albuquerque

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (suplente)



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL



Morfologia hepática e perfil bioquímico sérico em *Pygocentrus nattereri* Kner (Characiformes: Serrasalminidae)

Maria Eduarda Corona Garcia

Dissertação apresentada à Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.
Área de concentração: Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eurico Fernandes

Campo Grande, MS

Junho, 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e Nossa Senhora, por me dar forças suficientes e atender todas as minhas súplicas nos momentos difíceis e de angústia.

À minha família pelo amparo, amor e compreensão comigo, minha Mãe Gilza, minha Tia Brígida, meus irmãos Roger e Francielly, meus sobrinhos João e Nicole, ao Moreno e ao meu padrasto José Alberto e a todos meus primos e tios que de alguma forma me deram apoio com palavras, carinho e gestos, o meu mais sincero agradecimento.

Ao meu namorado Leonardo que sempre esteve presente me entendendo e ajudando com correções, suporte e amor. E à sua família que com muito carinho sempre me acolheu.

Ao meu orientador Carlos Fernandes que além de todo o conhecimento técnico, me passou tranquilidade, paciência e sempre foi muito solícito seja com palavras de apoio, incentivo e amizade. Que com o exemplo sempre mostrou que tudo que é feito com amor dá certo. Não tenho palavras para lhe agradecer, muito obrigada pela confiança.

A todos os meus amigos que fiz no LAPEX, que me deram muito mais do que auxílio no trabalho e na vida acadêmica, são uma família, Brenda, Karine, Lilian, André, Tiago, Stefanni, Taynara, Sandy, Mayara e Robson. Obrigada pelos momentos de alegria, pelas ajudas no experimento e por serem incríveis.

Aos meus amigos Sabrina, Aline, Julia, Laís, Juliana, Francianny, Denielle, Ana Clara, João Lucas, Eliza, Lucielly, Patricia, Douglas e Karol que através de conversas, suporte emocional, momentos de distração me apoiaram e aconselharam nas fases alegres e difíceis durante essa jornada, em especial à minha amiga Brenda que vivenciou comigo esses momentos, passou perrengues, me acalmou nos surtos e me trouxe palavras de apoio, obrigada amiga. E a todos que mesmo não mencionados fizeram parte dessa etapa, obrigada, sem vocês tudo seria mais difícil!

Aos membros das bancas avaliativas de projeto, qualificação e dissertação que disponibilizaram tempo e dedicação para contribuir com o trabalho. À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e ao Programa de Pós Graduação em Biologia Animal pelo apoio, aprendizado e pela infraestrutura disponibilizada e à Fundect pela bolsa de estudos concedida (processo n.88887.643356/2021-00).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABELAS.....	7
RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
1. REVISÃO DE LITERATURA	9
1.1 Área de estudo.....	9
1.2 Sazonalidade em peixes	10
1.3 <i>Pygocentrus nattereri</i>	10
1.4 Fígado.....	11
1.5 Biomarcadores bioquímicos	12
1.6 Técnicas estereológicas	13
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
ARTIGO.....	19
Abstract.....	19
Resumo	20
INTRODUÇÃO	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
Amostragem e ambiente.....	22
Biometria e bioquímica sérica.	23
Sexagem, colheita do fígado, determinação do índice hepatossomático e análise histológica.	23
Análise da densidade de glicogênio e Densidade Volumétrica Estrutural – DVE.....	24
Histomorfometria hepática.....	24
Análise estatística.	25
RESULTADOS	25
Biometria.....	25
Bioquímica sérica.....	25
Análise anatômica e histológica.	26
Densidade de glicogênio e Densidade Volumétrica Estrutural (DVE)..	27
Histomorfometria hepatocelular.....	27
DISCUSSÃO	27
FIGURAS E TABELAS	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

LISTA DE FIGURAS

Manuscrito: “Morfologia hepática associada ao perfil bioquímico sérico em *Pygocentrus nattereri* Kner (Characiformes: Serrasalminidae).”

- Figura 1.** Gráfico do nível linimétrico do rio Miranda (cm), pluviometria (mm³) e temperatura ambiental (°C) no período de janeiro/2016 a dezembro/2017.....**30**
- Figura 2.** Plano anatômico ventral da cavidade celomática de *Pygocentrus nattereri*.....**33**
- Figura 3.** Secções histológicas do fígado de *Pygocentrus nattereri*.....**34**
- Figura 4.** Secções histológicas do fígado de *Pygocentrus nattereri* mostrando a presença de depósitos de glicogênio e hemossiderina.....**37**
- Figura 5.** Secções histológicas do fígado de *Pygocentrus nattereri* diferenciando entre sexo e estação.....**38**
- Figura 6.** Coeficiente de correlação entre triglicerídeos séricos e volume do hepatócito para machos e fêmeas.....**39**

LISTA DE TABELAS

Manuscrito: “Morfologia hepática associada ao perfil bioquímico sérico em *Pygocentrus nattereri* Kner (Characiformes: Serrasalminidae).”

Tabela 1. Peso, comprimento e índice hepatossomático em machos e fêmeas nas duas estações de estudo.....**31**

Tabela 2. Resultados das variáveis bioquímicas sérica em machos e fêmeas nas duas estações de estudo.....**32**

Tabela 3. Resultados da densidade volumétrica estrutural (DVE) e morfometria hepática em machos e fêmeas nas duas estações de estudo.....**36**

1 RESUMO

2 O Pantanal está localizado na bacia do rio Paraguai, e têm por uma de suas características
3 os eventos sazonais bem marcados. Por estas características, é uma área com diferentes
4 recursos que propicia um ambiente diverso para peixes. *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858,
5 conhecida popularmente como piranha-vermelha, é abundante no Pantanal e é reconhecida
6 facilmente por suas características morfológicas e hábito alimentar. Além disso, o ambiente
7 sazonal pantaneiro influencia em sua dinâmica alimentar e reprodutiva. Diferentes tipos e
8 disponibilidade de alimentos podem resultar em alterações nos parâmetros bioquímicos do
9 sangue, que geralmente, têm repostas mais instantâneas. Consequentemente, essas
10 alterações refletem no fígado, que funciona como um biomarcador, pois esse órgão, dentre
11 suas funções, realiza o metabolismo, faz a síntese de alguns aminoácidos e a
12 biotransformação de nutrientes. Além disso, é responsável pela reserva de glicogênio e
13 lipídios. Alterações no parênquima hepático, bem como densidade de estruturas podem ser
14 quantificadas através de técnicas estereológicas, que permitem medir a área, o volume ou a
15 quantidade de determinada substância. Com isso, o objetivo do presente estudo é descrever
16 e correlacionar as características morfológicas hepáticas com o perfil bioquímico sérico em
17 *Pygocentrus nattereri* em diferentes sexos e estações.

18

19 **Palavras-chave:** Bioquímica sanguínea; Fígado; Metabolismo; Piranha – vermelha;
20 Sazonalidade.

21

22

23

24

25

26

27

28 **ABSTRACT**

29 The Brazilian Pantanal is located in the Paraguay River basin with well-marked seasonal
30 events, so it is an area with different resources that provides a diverse environment for fish.
31 *Pygocentrus nattereri* is a fish from the Serrasalminidae family, popularly known as red piranha.
32 It's abundant in the Pantanal and is easily recognized by its morphological characteristics and
33 feeding habit. In addition, the seasonal environment influences feeding and reproductive
34 dynamics. Different types and food availability can result in changes in blood biochemical
35 parameters, which generally have more instantaneous responses. Consequently, these
36 changes are reflected in the liver, a central organ for nutritional metabolism. Furthermore, it is
37 responsible for the storage of glycogen and lipids. Changes in the liver parenchyma and the
38 density of structures can be quantified through histometric techniques, which allow estimating
39 the area, volume, or amount of a given substance. Thus, this study aimed to describe and
40 correlate hepatic morphological characteristics with the serum biochemical profile in
41 *Pygocentrus nattereri* in different sexes and seasons.

42

43 **Keywords:** Blood biochemistry; Liver; Metabolism; Red - piranha; Seasons.

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59 1. REVISÃO DE LITERATURA

60 1.1 Área de estudo

61 O Pantanal brasileiro possui cerca de 140.000 km² e está localizado na bacia do rio
62 Paraguai. É conhecido como a maior área alagável do planeta em consequência de sua
63 altitude variar entre 60 a 150 metros acima do nível do mar, e, as áreas em seu entorno serem
64 mais altas (Alho & Silva, 2012; Alho *et al.*, 2019).

65 A precipitação no Pantanal tem influência sazonal, tendo picos maiores nos meses entre
66 outubro a março (1.600mm), período considerado como cheia, e chegando a valores menores
67 nos meses de abril a setembro (800mm) período de seca (Alho, 2005). A temperatura pode
68 variar de 1 a 41°C, mas geralmente tem uma média de 24°C (Marengo *et al.*, 2015).

69 Devido à eventos de incêndios e seca, a precipitação no último ano foi
70 significativamente menor, onde o Rio Paraguai chegou a 14 cm, sendo o menor valor já
71 registrado, pois, nessa época, o nível médio do rio é de 273 cm (Marengo *et al.*, 2021).

72 Além da flora e fauna terrestre, o Pantanal possui uma fauna aquática diversa (Pott *et*
73 *al.*, 2011; Tomas *et al.*, 2017; Guimarães *et al.*, 2014), contando com aproximadamente 260
74 espécies de peixes segundo Britski *et al.* (2007), mas dados recentes apontam para mais de
75 300 espécies (F. R. Carvalho, com. pess.), em consequência do complexo sistema hidrológico
76 de rios, corixos, vazantes, além de poças perenes e permanentes, resultantes do ciclo de
77 cheias e secas característicos da região.

78 O Rio Miranda é um dos principais afluentes do Rio Paraguai, nascendo na região da
79 Serra de Maracaju. Possui cerca de 765 km de extensão e pertence a Bacia Hidrográfica do
80 Rio Miranda (BHRM). Uma de suas características é a sinuosidade média a alta (Merino *et*
81 *al.*, 2013; Pott *et al.*, 2014). A qualidade de suas águas é considerada dentro dos padrões
82 estabelecidos pelo CONAMA, o que pode ser um importante fator para a diversidade de peixes
83 (Oliveira & Ferreira, 2003; Resende, 2000).

84 **1.2 Sazonalidade em peixes**

85 A sazonalidade de um ambiente afeta tanto a biologia dos peixes, seus padrões
86 reprodutivos, como seu comportamento. Além disso, têm efeitos também na dinâmica
87 alimentar (Ferreira *et al.*, 2014; Novakowski *et al.*, 2008). Existem associações da
88 sazonalidade do ambiente com a maturação das gônadas e com a época de desova (King *et*
89 *al.*, 2003; Pereira & Suarez, 2018).

90 Durante a cheia dos rios as paisagens se conectam, há maior diversidade de alimentos
91 e maior espaço de forrageamento para os peixes (Alho, 2008). Por outro lado, na estação
92 seca o espaço é mais limitado o que favorece a interação predador-presa, propício a peixes
93 carnívoros (Wantzen *et al.*, 2002). Neste contexto, na estação seca, o peso do estômago das
94 piranhas e a diversidade de alimentos encontrada é maior (Ferreira *et al.*, 2014).

95

96 **1.3 *Pygocentrus nattereri***

97 *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, família Serrasalminidae, apresenta ampla distribuição
98 na região Neotropical e foi introduzida na Itália e Turquia (Fricke *et al.*, 2022). No Brasil, é
99 reconhecida como piranha, piranha-vermelha, piranha-de-barriga vermelha, piranha-amarela
100 ou piranha verdadeira (Britski *et al.*, 2007; Froese & Pauly, 2017).

101 As piranhas-vermelhas são boas bioindicadoras do ambiente aquático em virtude de
102 suas características, e.g., abundância, fácil identificação e época de reprodução bem
103 marcada. (Chovanec *et al.*, 2003; Burger, 2006). Sua reprodução geralmente ocorre em dois
104 períodos marcados principalmente pela variação sazonal, realizam a desova total e há
105 registros na mudança da coloração dos indivíduos adultos (Queiroz *et al.*, 2010).

106 No Pantanal são facilmente encontradas possivelmente por conta da heterogeneidade
107 do ambiente que propicia diferentes tipos de alimentos a essa espécie (Ferreira *et al.*, 2014;
108 Costa - Pereira *et al.*, 2017), além da abundância de presas disponíveis.

109 As piranhas possuem o hábito alimentar carnívoro/piscívoro, sendo bastante
110 reconhecidas pelos seus comportamentos predatórios, que incluem desde a ingestão de
111 insetos a partes de peixes e peixes inteiros (Piorski *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2014). Sendo

112 assim, utilizam com mais eficiência fontes de energia lipídicas, apresentando também uma
113 maior atividade das proteínas em relação à peixes de outros hábitos (Krogdahl *et al.*, 2005).

114

115 **1.4 Fígado**

116 O fígado é um importante órgão cuja principal função é o acúmulo, biotransformação e
117 excreção de biomoléculas relacionadas a diversas funções homeostáticas orgânicas. Nos
118 peixes, o fígado reúne funções hematopoiéticas, imunológicas e endócrinas, além do
119 metabolismo nutricional (Bruslé & Anadon, 1996).

120 Devido às diversas funções que esse órgão apresenta, dentre elas a biotransformação
121 dos nutrientes, o fígado tem sido utilizado com um biomarcador para higidez dos peixes em
122 resposta às variações ambientais (Health, 1995; Hinton *et al.*, 2001). Sua estrutura é
123 constituída pelo parênquima hepático que possui hepatócitos poliédricos com citoplasma
124 eosinofílico e núcleos centrais basofílicos com nucléolos proeminentes (Bombonato *et al.*,
125 2007). Tanto o parênquima quanto o estroma hepático possuem características gerais que
126 podem variar de acordo com a espécie, sendo que a suas densidades estruturais podem variar
127 de acordo com o sexo e estado nutricional (Rocha *et al.*, 1997; Faccioli *et al.*, 2014). Técnicas
128 como a densidade e a histomorfometria nos permitem descrever a composição e a variação
129 do tamanho e dimensão das estruturas do órgão, obtendo assim uma análise mais completa
130 de processos adaptativos morfológicos (Monfared & Salati, 2012; Raskovic *et al.*, 2016).

131 Os peixes carnívoros possuem capacidade limitada para digerir e metabolizar
132 carboidratos, uma vez que esses nutrientes não fazem parte da sua dieta, e, podem ser
133 considerados de baixa tolerância à glicose (Moon, 2001; Enes *et al.*, 2009). Seus níveis no
134 sangue variam de acordo a alguns fatores como a taxa de utilização por tecidos periféricos e
135 pela remoção e liberação realizadas pelo metabolismo hepático, sendo regulado por meio da
136 ação da insulina e do glucagon (Nordlie *et al.*, 1999; Lehninger *et al.*, 2006). O fígado
137 armazena o excesso de glicose na forma de glicogênio como fonte de reserva energética para
138 períodos de escassez de alimentos, além de realizar a lipogênese quando há uma baixa
139 ingestão de lipídeos na dieta (Hemre *et al.*, 2002; Tocher, 2003). O armazenamento do

140 glicogênio e lipídeos é realizado em parte pelos hepatócitos, e a presença dessas moléculas
141 pode ser estimada através de colorações histológicas específicas, como o ácido periódico de
142 Schiff (PAS) que evidencia o glicogênio (Segner & Braunbeck, 1988).

143

144 **1.5 Biomarcadores bioquímicos**

145 Os parâmetros bioquímicos do sangue fornecem informações importantes sobre a
146 fisiologia de um organismo e sua interdependência com o ambiente aquático. Embora a
147 maioria dos estudos relatam esses biomarcadores para o estudo de certas patologias, outras
148 respostas são identificadas, com destaque à adaptação metabólica frente ao ambiente
149 aquático e as variações entre sexo (Folmar, 1993; Borges *et al.*, 2007; Öner *et al.*, 2008).

150 No fígado, são sintetizadas diversas enzimas importantes para o metabolismo
151 nutricional. A alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), por
152 exemplo, são enzimas de extravasamento presentes em grandes concentrações no
153 citoplasma e mitocôndrias dos hepatócitos, e podem ter seus níveis séricos alterados em
154 função da qualidade e composição da dieta dos peixes (Galeb, 2010; Metón *et al.*, 1999). A
155 ação da ALT também se relaciona ao metabolismo de carboidratos, sendo um dos precursores
156 mais importantes para a realização da neoglicogênese, a partir do ciclo da glicose-alanina
157 (Silveira *et al.*, 2009). A AST participa da regulação do metabolismo de aminoácidos e no
158 transporte da malato–aspartato, e pode ter seus níveis aumentados de acordo com a época
159 reprodutiva e de desova (Srivavstava *et al.*, 1999). Outro importante processo que ocorre no
160 tecido hepático, especificamente no hepatócito, das fêmeas ovíparas durante o período
161 reprodutivo, é a síntese e excreção de vitelogenina, uma proteína precursora dos
162 componentes do ovo (Wallace, 1985; Van der Ven *et al.*, 2003). Mudanças metabólicas
163 ocorrem nas fêmeas durante a síntese da vitelogenina, bem como o aumento do peso do
164 fígado (Arukwe & Goksoyr, 2003).

165 Variações nos níveis de alguns marcadores como os triglicerídeos e enzimas
166 transaminases sugerem aumento na ingestão alimentar ou, pelo menos, maior disponibilidade
167 de fontes nutricionais (Halver & Hardy, 2002). Peixes carnívoros precisam de uma fonte

168 constante de aminoácidos para a síntese de proteínas teciduais, que formam um elo
169 importante entre aminoácidos, carboidratos e energia para o metabolismo basal. Assim, a
170 disponibilidade dessas fontes afeta os níveis circulantes assim como a atividade das
171 transaminases (Dabrowski & Guderley, 2002; Tocher, 2003). Em experimentos controlados, o
172 aumento da ALT e AST está associado ao conteúdo de proteínas / carboidratos em resposta
173 à via da gliconeogênese (Metón *et al.*, 1999; Fernandez *et al.*, 2007). Outros biomarcadores
174 como a ureia, creatinina e bilirrubinas, embora tenham sido referenciados nos peixes, ainda
175 são pouco estudados em associação às adaptações metabólicas (Halver & Hardy, 2002).

176

177 **1.6 Técnicas estereológicas**

178 As técnicas histométricas, atualmente, baseiam-se em metodologias digitais que
179 permitem a quantificação e aplicação de diferentes medidas a fim de estabelecer padrões
180 geométricos, dimensionais e morfológicos. Em geral, essas técnicas dividem-se em
181 morfometria quando a análise se refere as medidas lineares em planimetria (2D); e
182 estereologia, quando as medidas são estimadas para campos tridimensionais (3D), permitindo
183 estimar o volume e a densidade das estruturas teciduais (Weibel *et al.*, 2007; Marcos *et al.*,
184 2012). No fígado, ambas técnicas têm sido usadas para o estudo de vários processos
185 intrínsecos fisiopatológicos teciduais em diferentes espécies (Leão *et al.*, 2020; Ulubay *et al.*,
186 2020).

187 Nos peixes, essas técnicas foram empregadas para análise da densidade das
188 estruturas hepáticas, do glicogênio e a morfometria de hepatócitos de sorubim híbrido criados
189 em sistemas intensivos de piscicultura (Rodrigues *et al.*, 2017). Também foram utilizados
190 métodos estereológicos para descrever os componentes citoplasmáticos dos hepatócitos de
191 *Salmo trutta fario* (Rocha *et al.*, 2010) e caracterização histométrica das estruturas do rim de
192 tuviras (Fernandes *et al.*, 2019). Em análises intestinais, auxilia na detecção dos efeitos de
193 dietas experimentais a partir da densidade volumétrica de células calciformes e enterócitos,
194 além de possíveis alterações na altura e largura dos vilos (Hamidian *et al.*, 2018).

195 Essas técnicas são utilizadas tanto para conhecer o padrão morfométrico de
 196 determinado órgão em condições naturais, além de possibilitar o efeito de diferentes agentes
 197 estressores sobre determinados tecidos-alvo. Além disso, com a estereologia é possível
 198 estimar quantitativamente determinada estrutura ou tecido. Por isso, estudos utilizando essas
 199 técnicas têm sido cada vez mais empregados, já que são mais precisos para descrever
 200 morfológicamente um órgão, detectar alterações ou quantificar as mudanças em diferentes
 201 níveis de organização (Reid, 1980; Barbosa *et al.*, 2019; Saravan *et al.*, 2017).

202

203 **2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 204 ALHO C. J. R.; SILVA J. S. V. Effects of severe floods and droughts on wildlife of the Pantanal
 205 wetland (Brazil) - A Review. **Animals, Basel, Switzerland**, v. 2, p. 591-610. 2012.
- 206 ALHO, C. J. R. Biodiversity of the Pantanal: response to seasonal flooding regime and to
 207 environmental degradation. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 957-966, 2008.
- 208 ALHO, C. J., MAMEDE, S. B., BENITES, M., ANDRADE, B. S., & SEPÚLVEDA, J. J.
 209 Ameaças à biodiversidade do Pantanal Brasileiro pelo uso e ocupação da
 210 terra. **Ambiente & Sociedade**, v. 22, 2019.
- 211 ALHO, C.J.R. The Pantanal. The World's Largest Wetlands. **Ecology and**
 212 **Conservation** (Lauchlan H., Fraser, L.H. & Keddy, P.A., eds), pp. 203-271. Cambridge
 213 University Press. 2005.
- 214 ARUKWE, A., GOKSOYR, A. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for
 215 the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine
 216 disruption. **Comparative hepatology**, v. 2, n. 1, p. 1-21, 2003.
- 217 BAILLY, D.; AGOSTINHO, A. A.; SUZUKI, H. I. Influence of the flood regime on the
 218 reproduction of fish species with different reproductive strategies in the Cuiabá River, Upper
 219 Pantanal, Brazil. **River Research and Applications**, v. 24, n. 9, p. 1218-1229, 2008.
- 220 BARBOSA, Y. G. S., MELO GOMES, W. G. G., RODRIGUES, H. W. S. R. S., & ARGOLO, N.
 221 M. A. N. M. Aplicabilidade da estereologia e microscopia de força atômica à pesquisa
 222 dermatológica veterinária (revisão de literatura). **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, v.
 223 4, n. 1, p. 16-22, 2019.
- 224 BOMBONATO, Maria Terezinha Siqueira et al. Estudo morfológico do tecido hepático de
 225 *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 81-85,
 226 2007.
- 227 BORGES, A., SCOTTI, L. V., SIQUEIRA, D. R., ZANINI, R., AMARAL, F., JURINITZ, D. F., &
 228 WASSERMANN, G. F. Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá
 229 *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. **Chemosphere**, v. 69, n. 6, p. 920-
 230 926, 2007.
- 231 BRITSKI, H.A., SILIMON K.Z.S. & LOPES, B.S. Peixes do Pantanal: manual de
 232 identificação. 5a Edição. **Embrapa** p. 230, 2007

- 233 BRUSLÉ, J. & ANADON, G. The structure and function of fish liver. **Fish morphology**, v.
234 76, p. 545-551, 1996.
- 235 BURGER, J. Bioindicators: types, development, and use in ecological assessment and
236 research. **Environ. Bioindic.** v. 1, n. 1, p. 22–39, 2006.
- 237 CHOVANEC, A.; HOFER, R.; SCHIEMER, F. Fish as bioindicators. In: **Trace metals and
238 other contaminants in the environment**. Elsevier, p. 639-676, 2003.
- 239 COSTA-PEREIRA, R., TAVARES, L. E., CAMARGO, P. B., & ARAUJO, M. S. Seasonal
240 population and individual niche dynamics in a tetra fish in the Pantanal wetlands. **Biotropica**,
241 v. 49, n. 4, p. 531-538, 2017.
- 242 DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. Intermediary metabolism. In: **Fish nutrition**. Academic
243 Press, p. 309-365, 2003. DE OLIVEIRA, M. D.; FERREIRA, Celso João. Estudos limnológicos
244 para o monitoramento da bacia hidrográfica do Rio Miranda, Pantanal Sul. **Embrapa
245 Pantanal-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2003.
- 246 ENES, P., PANSEERAT, S., KAUSHIK, S., & OLIVA-TELES, A. A. Nutritional regulation of
247 hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 35, n. 3, p. 519-
248 539, 2009.
- 249 FACCIOLI, C. K., CHEDID, R. A., BOMBONATO, M. T. S., VICENTINI, C. A., & VICENTINI, I.
250 B. F. Morphology and histochemistry of the liver of carnivorous fish *Hemisorubim
251 platyrhynchos*. **International Journal of Morphology**, p. 715-720, 2014.
- 252 FERNANDES, C. E. MARCONDES, S. F., GALINDO, G. M., & FRANCO-BELUSSI, L. Kidney
253 anatomy, histology and histometric traits associated to renosomatic index in *Gymnotus
254 inaequilabiatus* (Gymnotiformes: Gymnotidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 17, 2019.
- 255 FERNÁNDEZ, F., MIQUEL, A. G., CÓRDOBA, M., VARAS, M., METÓN, I., CASERAS, A., &
256 BAANANTE, I. V. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient
257 digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in
258 gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. **Journal of Experimental Marine Biology
259 and Ecology**, v. 343, n. 1, p. 1-10, 2007.
- 260 FERREIRA, F. S.; Vicentin, W., Costa, F. E. D. S., & Suárez, Y. R. Trophic ecology of two
261 piranha species, *Pygocentrus nattereri* and *Serrasalmus marginatus* (Characiformes,
262 Characidae), in the floodplain of the Negro River, Pantanal. **Acta Limnologica Brasiliensia**,
263 v. 26, p. 381-391, 2014.
- 264 FOLMAR, Leroy C. Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: a
265 bibliography and synopsis of selected effects. **Environmental Toxicology and Chemistry:
266 An International Journal**, v. 12, n. 2, p. 337-375, 1993.;
- 267 FRICKE, R., ESCHMEYER, W. N. & VAN DER LAAN R. (eds) 2022. ESCHMEYER'S
268 CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES.
269 (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>).
270 **Electronic version**. Acesso em: 10 ago. 2022.
- 271 FROESE, R. & PAULY, D. Editores. FishBase. Publicação eletrônica da **World Wide Web**.
272 www.fishbase.org, versão (10/2017). 2017.
- 273 GALEB, L. A. G. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie
274 de peixe fluvial nativo jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Curitiba, 2010. Dissertação (Mestrado
275 em Ciência Animal) -Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Pontifícia
276 Universidade Católica do Paraná, 2010.

- 277 GUIMARÃES, E., TREVELIN, C. C. & MANOEL, P. S. Pantanal: paisagens, flora e fauna.
278 322 **São Paulo: Cultura Acadêmica**, 2014.
- 279 HALVER, J. & HARDY, R. W. (Eds.). Fish nutrition. **Elsevier**. 824 p. 2002.
- 280 HAMIDIAN, G., ZIRAK, K., SHEIKHZADEH, N., KHANI OUSHANI, A., SHABANZADEH, S., &
281 DIVBAND, B. Intestinal histology and stereology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)
282 administrated with nanochitosan/zeolite and chitosan/zeolite composites. **Aquaculture**
283 **Research**, v. 49, n. 5, p. 1803-1815, 2018.
- 284 HEALTH, A. G. **Water Pollution and Fish Physiology**, second ed. CRC Lewis Publishers,
285 Boca Raton, FL. pp. 125–140, 1995.
- 286 HEMRE, G.-I., MOMMSEN, T. P. & KROGDAHL, Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects
287 on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture nutrition**, v. 8, n. 3, p.
288 175-194, 2002.
- 289 HINTON, D. E., SEGNER, H., BRAUNBECK, T. Toxic responses of the liver. In: **Target organ**
290 **toxicity in marine and freshwater teleosts**. CRC Press, p. 224-268, 2001.
- 291 KING, A. J.; HUMPHRIES, P.; LAKE, P. S. Fish recruitment on floodplains: the roles of patterns
292 of flooding and life history characteristics. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic**
293 **Sciences**, v. 60, n. 7, p. 773-786, 2003.
- 294 KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion
295 and absorption in postlarval stages. **Aquaculture nutrition**, v. 11, n. 2, p. 103-122, 2005.
- 296 LEAO, T., SIQUEIRA, M., MARCONDES, S., FRANCO-BELUSSI, L., DE OLIVEIRA, C., &
297 FERNANDES, C. E. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index
298 in five Neotropical anuran species. **The Anatomical Record**, v. 304, n. 4, p. 860-871, 2020.
- 299 LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. & COX, M. M. Princípios de Bioquímica, 4. edição.
300 **Sarvier, São Paulo**, 2006.
- 301 MARCOS, R., MONTEIRO, R. A. F., ROCHA, E. The use of design-based stereology to
302 evaluate volumes and numbers in the liver: a review with practical guidelines. **Journal of**
303 **anatomy**, v. 220, n. 4, p. 303-317, 2012.
- 304 MARENCO, J. A., CUNHA, A. P., CUARTAS, L. A., DEUSDARA LEAL, K. R., BROEDEL, E.,
305 SELUCHI, M. E., ... & BENDER, F. Extreme drought in the Brazilian Pantanal in 2019–2020:
306 characterization, causes, and impacts. **Frontiers in Water**, v.3, p. 13, 2021.
- 307 MARENCO, J. A., OLIVEIRA, G. S., & ALVES, L. M. Climate change scenarios in the
308 Pantanal. **Dynamics of the pantanal wetland in South America**, p. 227-238, 2015
- 309 MERINO, E. R.; ASSINE, M. L.; NASCIMENTO PUPIM, F. Estilos fluviais e evidências de
310 mudanças ambientais na planície do rio Miranda, Pantanal. **Revista Brasileira de**
311 **Geomorfologia**, v. 14, n. 2, 2013.
- 312 METÓN, I. MEDIAVILLA, D., CASERAS, A., CANTÓ, E., FERNÁNDEZ, F., & BAANANTE, I.
313 V. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis–
314 gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of
315 gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **British Journal of Nutrition**, v. 82, n. 3, p. 223-232,
316 1999.
- 317 MONFARED, A. L. & SALATI, A. P. Histomorphometric and biochemical studies on the liver
318 of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to sublethal concentrations of
319 phenol. **Toxicology and industrial health**, v. 29, n. 9, p. 856-861, 2012.

- 320 MOON, Thomas W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction?. **Comparative**
 321 **Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 129, n.
 322 2-3, p. 243-249, 2001.
- 323 NORDLIE, R. C., FOSTER, J. D. & LANGE, A. J. Regulation of glucose production by the
 324 liver. **Annual review of nutrition**, v. 19, n. 1, p. 379-406, 1999.
- 325 NOVAKOWSKI, G. C., HAHN, N. S., FUGI, R. Diet seasonality and food overlap of the fish
 326 assemblage in a pantanal pond. **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 4, p. 567-576, 2008.
- 327 OLIVEIRA, M. D. & FERREIRA, C. J. Estudos limnológicos para o monitoramento da bacia
 328 hidrográfica do Rio Miranda, Pantanal Sul. **Embrapa Pantanal-Boletim de Pesquisa e**
 329 **Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2003.
- 330 ÖNER, M., ATLI, G., CANLI, M. Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish
 331 *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn)
 332 exposures. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 27, n.
 333 2, p. 360-366, 2008.
- 334 PEREIRA, M. J.; SÚAREZ, Y. R. Reproductive ecology of *Otocinclus vittatus* (Regan, 1904)
 335 in the Pantanal floodplain, upper Paraguay River basin. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79,
 336 p. 735-741, 2018.
- 337 PIORSKI, N. M; ALVES, J. D. R. L., MACHADO, M. R. B., & CORREIA, M. M. F. Alimentação
 338 e ecomorfologia de duas espécies de piranhas (Characiformes: Characidae) do lago de Viana,
 339 estado do Maranhão, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 35, n. 1, p. 63-70, 2005.
- 340 POTT, A., OLIVEIRA, A. K., DAMASCENO-JUNIOR, G. A., & SILVA, J. S. Plant diversity of
 341 the Pantanal wetland. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, p. 265-273, 2011.
- 342 POTT, A., DAMASCENO-JUNIOR, G. A., DA SILVA, M. P. Características da bacia
 343 hidrográfica do Rio Miranda. **Revista GeoPantanal**, v. 9, n. 16, p. 125-140, 2014.
- 344 QUEIROZ, H. L., SOBANSKI, M. B., MAGURRAN, A. E. Reproductive strategies of Red-
 345 bellied Piranha (*Pygocentrus nattereri* Kner, 1858) in the white waters of the Mamirauá
 346 flooded forest, central Brazilian Amazon. **Environmental Biology of Fishes**, v. 89, n. 1, p.
 347 11-19, 2010.
- 348 RAŠKOVIĆ, B., ČIČOVAČKI, S., ĆIRIĆ, M., MARKOVIĆ, Z., & POLEKSIĆ, V. Integrative
 349 approach of histopathology and histomorphometry of common carp (*Cyprinus carpio* L.)
 350 organs as a marker of general fish health state in pond culture. **Aquaculture Research**, v.
 351 47, n. 11, p. 3455-3463, 2016.
- 352 REID, I. M. Morphometric methods in veterinary pathology: a review. **Veterinary Pathology**,
 353 v. 17, n. 5, p. 522-543, 1980.
- 354 RESENDE, E. K. Trophic structure of fish assemblages in the lower Miranda river, Pantanal,
 355 Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista brasileira de Biologia**, v. 60, n. 3, p. 389-403,
 356 2000.
- 357 ROCHA, E., MONTEIRO, R. A., PEREIRA, C. A. Liver of the brown trout, *Salmo trutta*
 358 (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. **The**
 359 **Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists**,
 360 v. 247, n. 3, p. 317-328, 1997.
- 361 ROCHA, E., ROCHA, M. J., LOBO-DA-CUNHA, A., GALANTE, M. H., & MONTEIRO, R. A.
 362 The hepatocytes of the brown trout (*Salmo trutta fario*): a stereological study of some

- 363 cytoplasmic components with the breeding cycle. **Microscopy research and technique**, v.
364 73, n. 8, p. 766-778, 2010.
- 365 RODRIGUES, R. A., SATURNINO, K. C., FERNANDES, C. E. Liver histology and
366 histomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pseudoplatystoma*
367 *corruscans*) reared on intensive fish farming. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 9, p. 5083-
368 5093, 2017.
- 369 SARAVANAN, C., SCHUMACHER, V., BROWN, D., DUNSTAN, R., GALARNEAU, J. R.,
370 ODIN, M., & MISHRA, S. Meeting report: tissue-based image analysis. **Toxicologic**
371 **pathology**, v. 45, n. 7, p. 983-1003, 2017.
- 372 SEGNER, H. & BRAUNBECK, T. Hepatocellular adaptation to extreme nutritional
373 conditions in ide, *Leuciscus idus melanotus* L. (Cyprinidae). A morphofunctional analysis.
374 **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 5, n. 2, p. 79-97, 1988.
- 375 SILVEIRA, U. S., LOGATO, P. V. R., CONCEIÇÃO-PONTES, E. Utilização e metabolismo dos
376 carboidratos em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 1, p. 817-836, 2009.
- 377 SRIVASTAVA, A. S., OOHARA, I., SUZUKI, T., & SINGH, S. N. Activity and expression of
378 aspartate aminotransferase during the reproductive cycle of a fresh water fish, *Clarias*
379 *batrachus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 3, p. 243-250, 1999.
- 380 TOCHER, Douglas R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost
381 fish. **Reviews in fisheries science**, v. 11, n. 2, p. 107-184, 2003.
- 382 TOMAS, W. M. et al. Checklist of mammals from Mato Grosso do Sul, Brazil. **Iheringia Serie**
383 **Zoologia**, Porto Alegre, v. 107, p. 1-17, 2017.
- 384 ULUBAY, M., ALKAN, I., YURT, K. K., & KAPLAN, S. The protective effect of curcumin on the
385 diabetic rat kidney: a stereological, electron microscopic and immunohistochemical
386 study. **Acta histochemica**, v. 122, n. 2, p. 151486, 2020.
- 387 VAN DER VEN, L. T., HOLBECH, H., FENSKE, M., VAN DEN BRANDHOF, E. J., GIELIS-
388 PROPER, F. K., & WESTER, P. W. Vitellogenin expression in zebrafish *Danio rerio*: evaluation
389 by histochemistry, immunohistochemistry, and in situ mRNA hybridisation. **Aquatic**
390 **toxicology**, v. 65, n. 1, p. 1-11, 2003.
- 391 WALLACE, Robin A. Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian
392 vertebrates. **oogenesis**, p. 127-177, 1985.
- 393 WANTZEN, K. M., ARRUDA MACHADO, F., VOSS, M., BORISS, H., & JUNK, W. J. Seasonal
394 isotopic shifts in fish of the Pantanal wetland, Brazil. **Aquatic Sciences**, v. 64, n. 3, p. 239-
395 251, 2002.
- 396 WEIBEL, E. R.; HSIA, C. CW; OCHS, M. How much is there really? Why stereology is essential
397 in lung morphometry. **Journal of applied physiology**, v. 102, n. 1, p. 459-467, 2007.
- 398
- 399
- 400
- 401

ARTIGO

Morfologia hepática associada ao perfil bioquímico sérico em *Pygocentrus nattereri* Kner (Characiformes: Serrasalminidae)

Maria Eduarda Corona Garcia¹; Lilian Franco – Belussi²; Mayara Schueroff Siqueira²; Brenda de Oliveira Martins²; Karin Virgínia Kuibida²; Carlos E. dos Santos Fernandes⁴

¹Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, INBIO – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, dudacorona@gmail.com;

² Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX), Instituto de Biociências Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil

³Gerente da Qualidade e Responsável Técnica do Diagnóstico Veterinário Campo Grande, MS

⁴Professor do Instituto de Biociências – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, carlos.fernandes@ufms.br.

Abstract

Pygocentrus nattereri Kner, 1858, popularly known as piranha, is an environmental bioindicator piscivorous fish with wide distribution in the Neotropical region. In the Brazilian Pantanal, where there is a marked seasonal effect on river dynamics, diet variations can be expected between the dry and rainy seasons and possibly between sexes. Serum responses in glucose, triglyceride, urea, and creatinine, among others, determine metabolic profiles and may be related to hepatic morphological changes. However, studies of this nature are still scarce, and these associations can help us understand the hepatic adaptive phenomena to changes in environmental conditions. This study aimed to describe liver morphology at different times of the year and between sexes, associating it with serum biochemical profiles in *P. nattereri*. Forty specimens (20 males and 20 females) were used in dry and wet periods. Glucose (mg/dL) triglycerides (mg/dL), alanine aminotransferase (ALT, U/L), aspartate aminotransferase (AST, U/L), urea, creatinine, direct bilirubin and total bilirubin (mg/dL) values were determined. The hepatosomatic index (HSI), volumetric structural density (%), liver glycogen density, and hepatocellular nuclear and cytoplasmic measurements were measured. Weight, length, and IHS did not vary between sex and season. Triglycerides showed differences between sex and season. ALT and AST showed a difference only between sex. Total bilirubin and creatinine showed no differences, while direct bilirubin did for sex and season. Urea was significantly higher in males in the wet season. In the rainy season, males showed a higher hepatocytes density than in the dry season. The other structures and liver glycogen density did not differ between seasons. The volume of hepatocytes showed a significant difference between the sexes and the seasons, higher in the rainy season. Males of both periods exhibited higher hepatocyte and nuclear volumes than females. Hepatocyte

440 volume correlated with serum triglyceride levels only in males. The results demonstrate that in
441 addition to the seasonal effect, sex is a biotic factor that affects metabolism in *P. nattereri*.

442 **Keywords:** Aquatic environmental, Histometric techniques, Liver, Metabolism, Red – piranha.

443

444 **Resumo**

445 *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, conhecida popularmente como piranha, é uma
446 bioindicadora ambiental de ampla distribuição no território brasileiro. No Pantanal, onde há
447 marcado efeito estacional sobre a dinâmica fluvial, variações na dieta podem ser esperadas
448 entre as estações secas e chuvosas e possivelmente entre sexos. Respostas séricas na
449 glicose, triglicérideo, ureia, creatinina entre outros determinam perfis metabólicos podem estar
450 relacionados a mudanças morfológicas hepáticas. No entanto, estudos desta natureza ainda
451 são escassos e essas associações podem nos auxiliar na compreensão dos fenômenos
452 adaptativos hepáticos às mudanças das condições ambientais. O objetivo deste estudo foi
453 descrever a morfologia hepática em diferentes épocas do ano e entre sexos, associando-a
454 aos perfis bioquímicos séricos em *P. nattereri*. Foram utilizados 40 espécimes (20 machos e
455 20 fêmeas) em períodos de seca e cheia. Determinou-se os valores de glicose (mg/dL⁻¹)
456 triglicérideos (mg/dL), alaninoaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST) (U/L⁻¹)
457 uréia, creatinina, bilirrubina direta (BD) e bilirrubina total (BT). Foi mensurado o índice
458 hepatossomático (IHS) a densidade estrutural volumétrica (%), a densidade de glicogênio
459 hepático e medidas hepatocelulares nucleares e citoplasmáticas. Peso, comprimento e IHS
460 não variaram entre sexo e estação. Triglicérideos apresentou diferenças entre sexo e estação.
461 A ALT e a AST apresentaram diferença entre apenas entre sexo. BT e creatinina não
462 apresentaram diferenças, enquanto BD apresentou para sexo e estação. A ureia foi
463 significativamente maior nos machos na estação chuvosa. Na estação chuvosa, machos
464 apresentaram maior densidade de hepatócitos em relação a seca. As demais estruturas e a
465 densidade de glicogênio hepático não diferiram entre ambas estações. O volume dos
466 hepatócitos apresentou diferença significativa entre os sexos e entre as estações, sendo
467 maior na chuvosa. Machos de ambos os períodos exibiram volumes de hepatócitos e volumes
468 nucleares superiores em relação às fêmeas. O volume dos hepatócitos correlacionou-se com
469 os níveis de triglicérideos séricos somente nos machos. Os resultados demonstram que além
470 do efeito estacional, o sexo é um fator biótico que afeta o metabolismo em *P. nattereri*.

471 **Palavras-chave:** Biomarcadores, Histometria, Morfologia hepática, Fígado, Piranha –
472 vermelha.

473

474 INTRODUÇÃO

475 *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, é uma espécie de peixe com ampla distribuição e está entre
476 os principais predadores dos ecossistemas de água doce neotropicais (Saint-Paul *et al.*, 2000;
477 Machado, 2003). Devido suas características serem bem definidas, há diversos estudos em
478 torno dessa espécie, quanto ao seu comportamento social (Queiroz, Magurran, 2005),
479 relações parasitárias (Vicentin *et al.*, 2013), estratégias reprodutivas (Uetanabaro *et al.*, 1993),
480 alimentação (Behr, Signor, 2008), contudo estudos fisiológicos desta espécie em seu
481 ambiente natural não estão descritos.

482 O Pantanal possui uma diversa fauna aquática, contando com mais de 300 espécies de peixes
483 (Rotta, 2005; Britski *et al.*, 2007; F. R. Carvalho, com. pess.). Em consequência dos seus
484 períodos sazonais, esse ambiente tem uma disponibilidade de alimentos bastante variada, o
485 que pode resultar em diferenças metabólicas nos indivíduos entre as estações (Alho, 2005;
486 Costa-Pereira *et al.*, 2017). Além desse fator, peixes carnívoros têm uma dinâmica inversa
487 dos demais (e.g., herbívoros, iliófagos, onívoros) entre os períodos estacionais (Ferreira *et al.*,
488 2014).

489 O fígado exerce um papel central em diversas funções do organismo, especialmente naquelas
490 relacionadas ao metabolismo nutricional, armazenamento de glicogênio e lipídios, síntese e
491 regulação de moléculas endógenas e um sistema eficiente de excreção pelas vias biliares
492 (Hinton *et al.*, 2001; Genten *et al.*, 2009). Além disso, a morfologia do tecido hepático tem sido
493 considerada como biomarcador do estado nutricional dos peixes (Raskovic *et al.*, 2011).
494 Qualidade da dieta, frequência alimentar e privação de alimentos podem causar alterações
495 importantes no parênquima hepático (Gisbert *et al.*, 2008; Bolla *et al.*, 2011). Por exemplo,
496 peixes sem restrições na dieta, tendem a apresentar hepatócitos maiores com aumento das
497 reservas energéticas na forma de lipídeos (Taddese *et al.*, 2014), diferente de peixes sujeitos
498 a privações alimentares (Strüssmann, Takashima, 1990).

499 Por outro lado, a diversidade de comportamentos e *habitats* selecionados pelos peixes, assim
500 como o efeito de diferentes fatores abióticos, resulta em variações nos parâmetros
501 bioquímicos séricos, que incluem enzimas, nutrientes, metabólitos, íons inorgânicos,
502 hormônios, entre outros. Alguns parâmetros estão se tornando uma prática rotineira para
503 determinar a higidez dos espécimes assim como o impacto ambiental (Zhou *et al.*, 2009; Latif
504 *et al.*, 2015).

505 Biomarcadores como glicose, triglicerídeo, alanina transaminase (ALT), aspartato
506 transaminase (AST), ureia, creatinina e bilirrubina determinam perfis metabólicos em função
507 das variações na dieta, além do sexo, grau de desenvolvimento corporal, comportamento
508 reprodutivo, além da qualidade do ambiente aquático em diferentes espécies de peixes

509 (Hochachka, Momssen, 1995; Congleton, Wagner, 2006; Gattani *et al.*, 2016). No entanto,
510 ainda são escassos estudos abordando certas características morfológicas hepáticas
511 associadas ao perfil bioquímico sérico em espécies sob condições naturais na região
512 neotropical.

513 Em peixes de cativeiro, o padrão morfológico hepático modela-se de acordo com o
514 desenvolvimento corporal e requerimentos metabólicos, sendo um processo relativamente
515 bem conhecido (Power *et al.*, 2000; Gisbert *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.*, 2017). Porém, em
516 peixes silvestres, acredita-se que o ambiente natural exerça um efeito semelhante aos peixes
517 em ambiente de cativeiro sobre a função hepática, mas com características morfofuncionais
518 diferentes. Ou seja, o ambiente modela a dieta e essa, a morfologia hepática. Neste sentido,
519 os perfis bioquímicos séricos tornam-se uma ferramenta importante no estudo dessas
520 relações, uma vez que respondem rapidamente aos fenômenos adaptativos às variações
521 metabólico-nutricionais (Hemre *et al.*, 2002; Wagner, Congleton, 2004). Portanto,
522 considerando a ampla distribuição, características biológicas e ecologia da *P. nattereri*, esta
523 espécie poderá ser um bom bioindicador ambiental para estudos da função hepática em
524 peixes carnívoros sob condições naturais (Schartl *et al.*, 2019). Assim, o objetivo do presente
525 estudo foi descrever e correlacionar as características morfológicas hepáticas ao perfil
526 bioquímico sérico em *P. nattereri* de ambos os sexos e em diferentes estações.

527

528 MATERIAL E MÉTODOS

529

530 **Amostragem e ambiente.** Espécimes de *Pygocentrus nattereri* (n = 40; voucher ZUFMS-PIS
531 05267) de ambos os sexos foram obtidos por meio de pesca com anzol no rio Miranda, na
532 Base de Estudos do Pantanal (19°34'37"S, 57°00'42"W), da Universidade Federal de Mato
533 Grosso do Sul (UFMS), localizada no Passo do Lontra, município de Corumbá, MS.

534 Os períodos de seca e chuvoso, foram atribuídos conforme as variações ambientais da
535 temperatura (°C) e do índice pluviométrico (mm), segundo Alho (2005). Valores médios dos
536 trinta dias anteriores a data das capturas dos espécimes, obtidos nos municípios de Miranda
537 e Corumbá, foram registrados com base no Centro de Monitoramento de Tempo, do Clima e
538 dos Recursos Hídricos de Mato Grosso do Sul (CEMTEC/MS). A altura linimétrica do Rio
539 Miranda (cm) foi obtida com régua previamente calibrada e adaptada à jusante do rio. Na Fig.
540 1, estão apresentados os valores médios linimétricos, índices pluviométricos e temperatura
541 ambiental.

542 Para cada período foram utilizados 20 indivíduos (10 machos e 10 fêmeas). Após captura, os
543 peixes foram aclimatados em jejum em tanques de 1.000L, com água corrente a temperatura
544 de 22–27 °C e sob aeração artificial ($4,8 \pm 2,0$ OD mg/L) por 12–15 h até a colheita do sangue.

545 **Biometria e bioquímica sérica.** Após o período de aclimação os peixes foram
546 anestesiados em solução de eugenol (50 mg/L) para determinação do peso corporal (g) e
547 comprimento padrão (cm). Uma amostra de sangue total (500 µL) foi colhida por punção da
548 veia caudal com seringas e agulha (21G×1"), previamente banhadas em EDTA 3%. A glicemia
549 (mg/dL) foi determinada digitalmente utilizando-se uma gota de sangue em um glicosímetro
550 digital portátil (Accu-Chek Active®).

551 Para as demais análises bioquímicas, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 20
552 min e congeladas a -18 °C até a análise. Os valores de triglicérides (mg/dL), ALT (U/L), AST
553 (U/L), ureia (mg/dL), creatinina (mg/dL), bilirrubina direta (mg/dL) e bilirrubina total (mg/dL)
554 séricas, foram estimados em sistema automatizado COBAS C111 SYSTEM® (Roche
555 Instrument Center), segundo Schumann *et al.* (2002a; 2002b).

556

557 **Sexagem, colheita do fígado, determinação do índice hepatossomático e análise**
558 **histológica.** Após a colheita de sangue, os espécimes foram eutanasiados com solução de
559 eugenol (500 mg.l⁻¹), e necropsiados para determinação do sexo e do peso do fígado (g), para
560 cálculo do índice hepatossomático (IHS = peso do fígado (g)/ peso corporal (g) X 100). O
561 fígado foi seccionado transversalmente e fixado em solução de formalina tamponada 10%
562 durante 24 horas e transferido para solução de álcool 70°.

563 Dois fragmentos transversais do fígado foram processados rotineiramente e incluídos em
564 parafina, com cortes em 3 µm. As secções histológicas foram coradas em hematoxilina e
565 eosina (H&E) para análise da densidade volumétrica estrutural e descrição da arquitetura
566 tecidual, e em Ácido Periódico de Schiff (PAS) para identificação de glicogênio hepatocelular.
567 A reação de Perls foi utilizada para auxiliar na descrição, quanto a localização e distribuição
568 da hemossiderina (Carson, Hladik, 2009).

569 **Análise da densidade de glicogênio e Densidade Volumétrica Estrutural – DVE.** Imagens
570 (n = 5) das secções histológicas do fígado de cada espécime foram capturadas em sistema
571 OptiCam LOPT14003, acoplado a um microscópio de campo claro (Zeiss Primo Star), na
572 magnitude de 400x (RGB 4096 × 3286 *pixels*). Para análise da densidade do glicogênio
573 hepático foram utilizadas imagens coradas em PAS. A área total da imagem (8824,30 μm^2)
574 foi determinada e, a partir do contraste de cores, foi estimada a área marcada positivamente
575 por PAS. Este cálculo foi obtido pela fórmula: $DG (\%) = (\text{área marcada por PAS} / \text{área total da}$
576 $\text{imagem} \times 100)$, adaptado de Santos *et al.* (2014). O *software* Image-Pro Plus foi utilizado para
577 essa análise.

578 Para análise da DVE (%) foi utilizada uma gradícula com 252 intersecções sobreposta a 5
579 imagens coradas em HE (400x de magnitude), compreendendo hepatócitos, sinusóides
580 hepáticos, ductos biliares e vasos sanguíneos. A densidade foi calculada pela fórmula: DVE
581 $(\%) = (\text{contagem da estrutura} / \text{total de intersecções obtidas} \times 100)$, de acordo com Rodrigues
582 *et al.* (2017). O *software* ImageJ 1.48v foi utilizado para essa análise.

583

584 **Histomorfometria hepática.** Para morfometria dos hepatócitos foram capturadas dez
585 imagens em magnitude de 1000x (RGB 4096 x 3286 *pixels*), no mesmo sistema previamente
586 descrito, para mensuração da área (μm^2) e perímetro (μm) celular, e área (μm^2), perímetro
587 (μm) e diâmetro (μm) nucleares de cinco hepatócitos aleatórios por imagem.

588 A razão núcleo-citoplasma (RNC) foi determinada pela fórmula ($RNC = \text{área do núcleo} / \text{área}$
589 $\text{do citoplasma} \times 100$). O volume nuclear dos hepatócitos foi estimado usando a seguinte
590 equação: $V_n = (4/3 \pi r^3)$, onde V_n é o volume nuclear (μm^3) e r é o raio nuclear (Freere, Weibel,
591 1967). O volume do hepatócito foi calculado usando a fórmula: $V_{\text{Hep}} = (A_{\text{Hep}} \times V_{\text{Nuc}}) / A_{\text{Nuc}}$, onde
592 V_{Hep} é o volume do hepatócito (μm^3), A_{Hep} é a área do hepatócito (μm^2), V_{Nuc} é o volume
593 nuclear (μm^3), e A_{Nuc} é a área nuclear (μm^2) segundo Rodrigues *et al.* (2017). O *software* Motic
594 2.0 (Motic Asia, Hong Kong) foi utilizado para essa análise.

595

596 **Análise estatística.** Os dados foram previamente verificados quanto à normalidade e
597 homogeneidade da variância usando o teste de Kolmogorov-Smirnov e o teste de Levene,
598 respectivamente. Um modelo linear generalizado ANOVA unidirecional foi usado para
599 comparar o efeito da estação e do sexo para as medidas biométricas. Para os valores
600 bioquímicos, DVE (%) e morfometria hepatocelular empregou-se modelo linear misto
601 bidirecional ajustado para o IHS (ANCOVA). Correlações entre variáveis hepáticas (DVE e
602 morfometria hepatocelular) e os valores bioquímicos, foram estimadas pelo modelo binomial
603 de Pearson. O software SPSS 23.0 (IBM®) foi usado para estas análises.

604 Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pela comissão de ética no uso de
605 animais/CEUA da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (protocolo 801/2016) e
606 Sistema de Informação e Autorização sobre Biodiversidade (SISBIO, projeto n° 51270-1).

607

608 **RESULTADOS**

609 **Biometria.** Os resultados biométricos estão descritos na Tab. 1. O peso e comprimentos dos
610 espécimes não variou entre os sexos e as épocas estudadas. O IHS também não diferiu entre
611 sexo e estação do ano.

612

613 **Bioquímica sérica.** Os resultados dos indicadores bioquímicos séricos estão descritos na
614 Tab. 2. A glicose não foi diferente de acordo com o sexo e estação do ano. Triglicerídeos
615 variaram entre sexo e estação. As fêmeas apresentaram valores superiores na estação
616 chuvosa e inferior na estação seca em relação aos machos. Em relação às transaminases, a
617 ALT foi superior nos machos, enquanto nas fêmeas foi superior na estação chuvosa em
618 relação a seca. A AST diferiu entre sexo e estação, mas não apresentou efeito interativo.

619 A bilirrubina total não apresentou diferenças e nem interações significativas. No entanto,
620 espécimes na estação chuvosa apresentaram valores superiores em relação aos da seca. A
621 ureia foi diferente entre sexos somente na estação chuvosa e, entre estações, somente os
622 machos apresentaram diferenças. Porém houve interação entre estação e sexo. A creatinina
623 não sofreu efeito de sexo e estação.

624

625 **Análise anatômica e histológica.** O fígado de *Pygocentrus nattereri* localiza-se na região
626 ventral, lado esquerdo da cavidade celomática. Possui três lobos (esquerdo, direito e ventral)
627 de coloração avermelhada variável e tamanhos distintos, ricos em veias e artérias que
628 adentram o parênquima cranial e ventralmente. O órgão situa-se acima do ceco pilórico (Fig.
629 2a). O lobo ventral é menor em relação aos demais, a vesícula biliar está localizada abaixo
630 ao lobo direito (Fig. 2b). Entre o lobo direito e esquerdo encontra-se o esôfago (Fig. 2c).

631 Histologicamente, o tecido hepático apresentou-se composto por hepatócitos, sinusóides,
632 artérias, arteríolas, veias, vênulas, ductos biliares, hepatopâncreas e canalículos biliares (Fig.
633 3). Artérias e veias segmentaram-se e distribuíram-se difusamente no parênquima, irrigando-
634 o ou drenando-o (Fig. 3a, b). Não se observou arquitetura na forma de tríade, envolvendo um
635 ramo arterial, venoso e ducto biliar. Em geral, artérias e veias apresentaram-se juntas ou
636 separadas sem que haja um padrão determinado. Ambas, no entanto, conectam-se em toda
637 rede sinusoidal e foram de fácil distinção, devido a diferença da matriz colagenosa junto à
638 camada adventícia (Fig. 3b). Ao redor dos vasos sanguíneos mais periféricos ao parênquima,
639 foi possível observar uma ou duas camadas de células acinares poliédricas, com citoplasma
640 granular eosinofílico, compondo o hepatopâncreas (Fig. 3c). Os ductos biliares mostraram-se
641 de diâmetro variado nos cortes transversais. Eram constituídos por espessa camada de tecido
642 conectivo e fibras musculares (leiomiócitos) que revestiam as células prismáticas com
643 citoplasma colunar e núcleos basais. Os ductos biliares foram encontrados de forma isolada
644 ou junto a um ramo venoso portal (Fig. 3d).

645 O parênquima hepático apresentou-se homogêneo com hepatócitos em formato poliédrico,
646 núcleos centralizados ou periféricos, com arranjo cordonal predominante de um ou duas
647 lâminas celulares. Paralelamente a duas ou três camadas de hepatócitos, observou-se a rede
648 sinusoidal, formada por células endoteliais com núcleos achatados. Por vezes, foi possível
649 identificar a presença de canalículos biliares (*canaliculi*) ao qual faziam anastomose com os
650 ductos biliares. Além dessas estruturas, identificou-se a presença de células mononucleares
651 (linfócitos e macrófagos) entre os hepatócitos ou localizadas junto ao epitélio sinusoidal (Fig.
652 3e). Nas reações de PAS e Perls, pode-se observar a presença de depósitos
653 intracitoplasmáticos relativos ao armazenamento de glicogênio e ferro, respectivamente (Fig.
654 4).

655 A característica morfológica do parênquima hepático entre sexo e estações estudadas pode
656 ser observada na Fig. 5. Enquanto na estação seca houve similaridade entre a organização e
657 aspectos celulares de acordo com o sexo, na estação chuvosa ambos diferiram. Fêmeas
658 mostraram hepatócitos com citoplasma eosinofílico e moderadamente granulares, sem nítida
659 formação cordonal (Fig. 5b). Ao contrário, machos apresentaram hepatócitos maiores,
660 globulares, vacuolados e núcleos usualmente periféricos (Fig. 5d).

661

662 **Densidade de glicogênio e Densidade Volumétrica Estrutural (DVE).** Os resultados das
663 densidades estão descritos na Tab. 3. Em relação a DVE, houve efeito interativo entre sexo e
664 estação. Os machos da estação chuvosa apresentaram maior percentual de hepatócitos em
665 relação aos da seca. A densidade das demais estruturas hepáticas não diferiram entre sexo
666 e estação. A densidade de glicogênio hepático não foi diferente entre os grupos de indivíduos.

667

668 **Histomorfometria hepatocelular.** Das variáveis analisadas, todas foram ajustadas pelo IHS,
669 porém apenas a RNC não mostrou efeito interativo (Tab. 3). O volume dos hepatócitos
670 apresentou diferença significativa entre os sexos e entre as estações, sendo maior na chuva.
671 Machos de ambos os períodos exibiram volumes de hepatócitos e volumes nucleares
672 superiores em relação as fêmeas. Porém, em comparação as estações, o volume nuclear foi
673 maior nos espécimes da estação seca. A relação núcleo-citoplasma (RNC) foi
674 significativamente diferente entre as estações, sendo maior na seca.

675 Houve correlação positiva, entre os valores médios do volume dos hepatócitos com os de
676 triglicerídeos séricos nos machos, mas não nas fêmeas (Fig. 6).

677

678 **DISCUSSÃO**

679 *Pygocentrus nattereri* têm sua atividade reprodutiva influenciada pela sazonalidade. À medida
680 que o nível linimétrico dos rios aumenta, as condições ambientais se tornam propícias para a
681 desova e reprodução que se inicia durante períodos chuvosos (Bailly *et al.*, 2008). Esse
682 incremento constitui-se em aspecto central que afeta os padrões ictiológicos e estrutura a
683 biodiversidade assim como a disponibilidade de dieta para espécies piscívoras (Hamilton *et*
684 *al.*, 1997; Calheiros & Oliveira, 2005). Juntamente com o sexo dos espécimes, constituiu a
685 base das diferenças encontradas tanto nos perfis bioquímicos quanto nos morfológicos
686 hepáticos.

687 Neste estudo, não foram observadas diferenças na biometria dos peixes, especialmente para
688 o índice hepatossomático (IHS), usado frequentemente como biomarcador de saúde em
689 populações de peixes, bem como de estoques energéticos individuais (Ando *et al.*, 1993;
690 Okamura *et al.*, 2019). Assim, os resultados baseiam-se em subgrupos populacionais
691 homogêneos, compostos por espécimes adultos e maduros do ponto de vista reprodutivo
692 (Duponchelle *et al.*, 2007; Queiroz *et al.*, 2010). Por outro lado, o IHS foi utilizado como
693 covariável no modelo de análise uma vez que permite-nos controlar o efeito direto do peso

694 corporal e do fígado sobre os perfis bioquímicos séricos e o conjunto de medidas histométricas
695 hepáticas (Queen *et al.*, 2002; Kahan *et al.*, 2014).

696 Os parâmetros bioquímicos do sangue fornecem informações sobre a fisiologia do organismo
697 além de serem interdependentes ao ambiente aquático. Os parâmetros aqui avaliados, estão
698 envolvidos na regulação do metabolismo intermediário e, portanto, variaram entre as
699 estações. Os valores observados estão de acordo com outros estudos, mas algumas
700 diferenças podem ser encontradas devido as metodologias utilizadas, o próprio ambiente e a
701 espécie (Nicula *et al.*, 2010). Neste sentido, os resultados aqui apresentados são originais
702 para esse ambiente e podem ser futuramente utilizados como parâmetros de referência para
703 *P. nattereri*.

704 O efeito sazonal foi diferente para triglicerídeos, ALT e AST, sendo superiores na estação
705 chuvosa. Triglicerídeos séricos relacionam-se ao conteúdo da dieta. Peixes carnívoros
706 necessitam de uma fonte constante de aminoácidos para a síntese proteica, a qual é
707 determinante para as reações do metabolismo basal incluindo os ácidos graxos e sua
708 utilização hepática (Tocher, 2003). Assim, a maior ou menor disponibilidade de aminoácidos
709 na dieta afeta diretamente os níveis circulantes de triglicerídeos (Halver & Hardy, 2002). Tanto
710 machos quanto fêmeas apresentaram maiores níveis de triglicerídeos na estação chuvosa,
711 sugerindo que nesta estação há diferentes condições alimentares. Este resultado foi
712 corroborado pelo aumento dos níveis observados na estação chuvosa para a aspartato
713 aminotransferase (AST) e ureia nos machos. A AST catalisa a transaminação reversível entre
714 a L-aspartato e 2-oxoglutarato, e entre o glutamato e o oxalacetato, estando envolvida
715 diretamente com o metabolismo de aminoácidos não essenciais nos peixes (Srivastava *et al.*,
716 1999). A ureia, por sua vez, corresponde ao gasto energético, varia sazonalmente e pode
717 representar até 8% da excreção relacionada ao metabolismo nitrogenado nos peixes
718 carnívoros (Anderson, 1995; Ballantyne, 2014). Portanto, os resultados indicam que durante
719 o período chuvoso o metabolismo energético é superior em comparação ao período seco.

720 As características anátomo-histológicas do fígado, foram as mesmas encontradas para
721 piranhas do gênero *Serrasalmus* (Andrade, 2013). Em *P. nattereri*, os três lobos hepáticos
722 além de serem distintos em tamanho, apresentaram variações quanto a coloração,
723 possivelmente devido a particularidades na irrigação vascular. No geral, a arquitetura
724 parenquimatosa e estromal do tecido hepático é semelhante às demais espécies de peixes
725 carnívoros (Bombonato *et al.*, 2007; Bruslé & Anadon, 1996). Hepatócitos, sinusóides, vasos
726 sanguíneos portais, ramos arteriais, arteríolas, metarteríolas, hepatopâncreas, ductos e
727 canalículos biliares constituem as estruturas mais evidentes. Os hepatócitos são organizados
728 em cordões, têm formato poliédrico com núcleos centralizados ou periféricos, semelhante ao
729 descrito para *Hemisorubim platyrhynchos* (Faccioli *et al.*, 2014) e para *Astyanax altiparanae*

730 (Bertolucci *et al.*, 2008). A organização e estrutura dos ductos biliares estão de acordo com o
731 descrito para outras espécies de piranhas, bem como a ausência de tríade portal (Vicentini *et*
732 *al.*, 2005; Bombonato *et al.*, 2007; Andrade, 2013).

733 Diferenças quanto as características pigmentares e de textura citoplasmáticas foram
734 observadas entre estações e sexo, especialmente devido a presença de vacuolização
735 hepatocelular, sugestiva de armazenamento lipídico observada durante o período seco com
736 predomínio nos machos. Na estação chuvosa, as fêmeas apresentaram hepatócitos ricos em
737 grânulos, menos vacuolados e de conformação mais poliédrica com menor tamanho em
738 relação aos machos. Estas diferenças podem ser devido a variações na síntese de
739 vitelogenina nas fêmeas, uma proteína sintetizada nos hepatócitos durante a atividade
740 reprodutiva no período chuvoso e que apresenta, funções imunes, antioxidantes e envolvida
741 no metabolismo lipídico e na síntese de aminoácidos embrionários (Van der Ven *et al.*, 2003;
742 Menke *et al.*, 2011; Li & Zhang, 2017).

743 As análises quantitativas da estrutura hepática incluíram a densidade volumétrica, o
744 percentual de hepatócitos positivamente marcados para o glicogênio assim como a
745 morfometria hepatocelular. Os valores obtidos foram próximos aos previamente reportados
746 em híbridos de sorubim (Rodrigues *et al.*, 2017), e em *Salmo trutta* (Rocha *et al.*, 1997). Essas
747 estruturas não apresentaram variações de acordo com sexo e estação, demonstrando serem
748 estáveis e independentes dos fatores bióticos e abióticos estudados. Da mesma forma, não
749 foram encontradas diferenças nos percentuais de glicogênio, o que sugere que essa seja uma
750 fonte de energia metabolizada rapidamente ou com baixo potencial de armazenamento
751 hepático (Tocher, 2003; Rios, 2006).

752 As medidas histomorfométricas revelaram diferenças significativas no volume citoplasmático
753 e no volume nuclear dos hepatócitos, demonstrando efeito interativo entre sexo e estação. No
754 entanto, machos na estação chuvosa apresentaram hepatócitos maiores, correlacionando-se
755 com os valores de triglicérides, conforme anteriormente descrito (Schneider *et al.*, 2014). Em
756 contraste, na estação seca, houve redução do volume citoplasmático. Isso possivelmente
757 esteja associado a mudanças no conteúdo da dieta ou a fatores adaptativos metabólicos.
758 Embora *P. nattereri* seja predominantemente piscívora em ambas estações, durante a
759 estação seca há maior diversidade de itens na dieta (Ferreira *et al.*, 2014). Além disso,
760 variações nas características do ambiente aquático durante o período seco também podem
761 estar implícitas (Hamilton *et al.*, 1997; Assine *et al.*, 2015).

762 Em conclusão, os biomarcadores bioquímicos fornecem respostas relacionadas ao
763 metabolismo, que podem servir de parâmetro para entender as relações de sazonalidade e
764 sexo, associadas ou não à órgãos-alvo como o fígado. Por outro lado, o efeito estacional em

765 *P. nattereri* afeta os padrões histométricos hepáticos, fornecendo novos subsídios para o
766 estudo das relações entre essa espécie e o meio ambiente.

767 **FIGURAS E TABELAS**
768

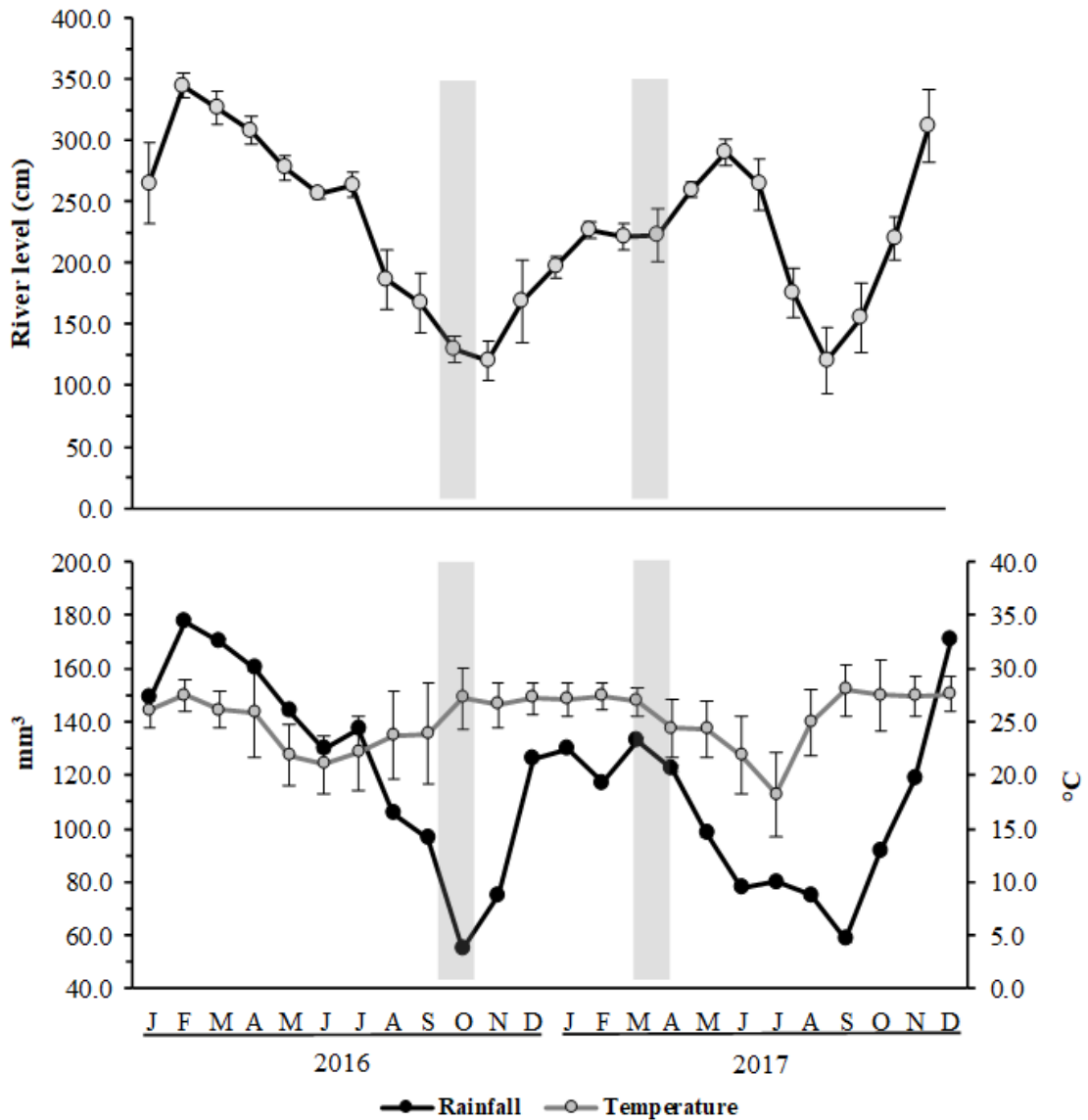


Figura 1. Gráfico do nível linimétrico do rio Miranda (cm), pluviosidade (mm³) e temperatura ambiental (°C) no período de janeiro/2016 a dezembro/2017 destacando as estações amostradas (barras cinza).

769
770
771
772
773

774

775

TABELA 1 Peso, comprimento e índice hepatossomático em machos e fêmeas nas duas estações de estudo.

776

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

789

790

791

Biometria	Sexo	Estação	
		Chuvosa	Seca
Peso (g)	Macho	223,46 ±64,66 (145,60 - 356,10)	334,17 ±144,76 (113,20 - 524,20)
	Fêmea	285,20 ±164,84 (145,20 - 593,50)	261,25 ±92,96 (147,20 - 439,30)
Comprimento padrão (cm)	Macho	16,85 ±1,73 (14,00 - 19,50)	18,99 ±3,06 (14,00 - 23,00)
	Fêmea	17,74 ±2,37 (15,00 - 21,50)	17,69 ±2,16 (15,00 - 21,00)
Índice Hepatossomático (IHS)	Macho	1,30 ±0,27 (0,92 - 1,70)	1,33 ±0,41 (0,74 - 2,06)
	Fêmea	1,43 ±0,62 (0,86 - 3,03)	1,54 ±0,39 (0,83 - 2,07)

Estação = 20; Sexo = 10

TABELA 2 Resultados das variáveis bioquímicas sérica em machos e fêmeas nas duas estações de estudo.

Bioquímico	Sexo	Estação		Estação X Sexo	IHS
		Chuvosa	Seca		
Glicose (mg/dL)	Macho	98,78 ±17,09 ^{aA}	98,30 ±15,85 ^{aA}	0,868	0,162
	Fêmea	97,81 ±8,87 ^{aA}	92,30 ±17,31 ^{aA}		
Triglicerídeos (mg/dL)	Macho	197,58 ±17,84 ^{aA}	115,91 ±15,36 ^{aB}	0,738	0,009
	Fêmea	201,40 ±26,59 ^{bA}	107,69 ±15,45 ^{bB}		
ALT (U/L)	Macho	12,97 ±4,43 ^{aA}	13,37 ±3,67 ^{aA}	0,096	0,703
	Fêmea	9,79 ±1,64 ^{bA}	4,95 ±1,30 ^{bB}		
AST (U/L)	Macho	249,13 ±76,00 ^{aA}	179,30 ±49,56 ^{aB}	0,545	0,812
	Fêmea	151,54 ±35,95 ^{bA}	89,21 ±28,26 ^{bB}		
Relação AST/ALT	Macho	20,4 ±2,60 ^{aA}	15,5 ±2,90 ^{aA}	0,973	0,829
	Fêmea	17,9 ±2,80 ^{aA}	18,2 ±2,50 ^{aA}		
BT (mg/dL)	Macho	0,09 ±0,01 ^{aA}	0,09 ±0,01 ^{aA}	0,244	0,034
	Fêmea	0,09 ±0,01 ^{aA}	0,07 ±0,01 ^{aA}		
BD (mg/dL)	Macho	0,06 ±0,00 ^{aA}	0,04 ±0,00 ^{aB}	0,145	0,026
	Fêmea	0,05 ±0,00 ^{bA}	0,03 ±0,00 ^{bB}		
Ureia (mg/dL)	Macho	4,11 ±0,77 ^{aA}	2,20 ±0,49 ^{aB}	0,035	0,930
	Fêmea	2,00 ±0,33 ^{bA}	2,28 ±0,25 ^{aA}		
Creatinina (mg/dL)	Macho	0,28 ±0,06 ^{aA}	0,31 ±0,07 ^{aA}	0,171	0,979
	Fêmea	0,25 ±0,03 ^{aA}	0,21 ±0,05 ^{aA}		

Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre sexo; letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre estações (P<0,05). IHS= Índice Hepatossomático, modelo ajustado com IHS = 1,38%.

792

793

794

795

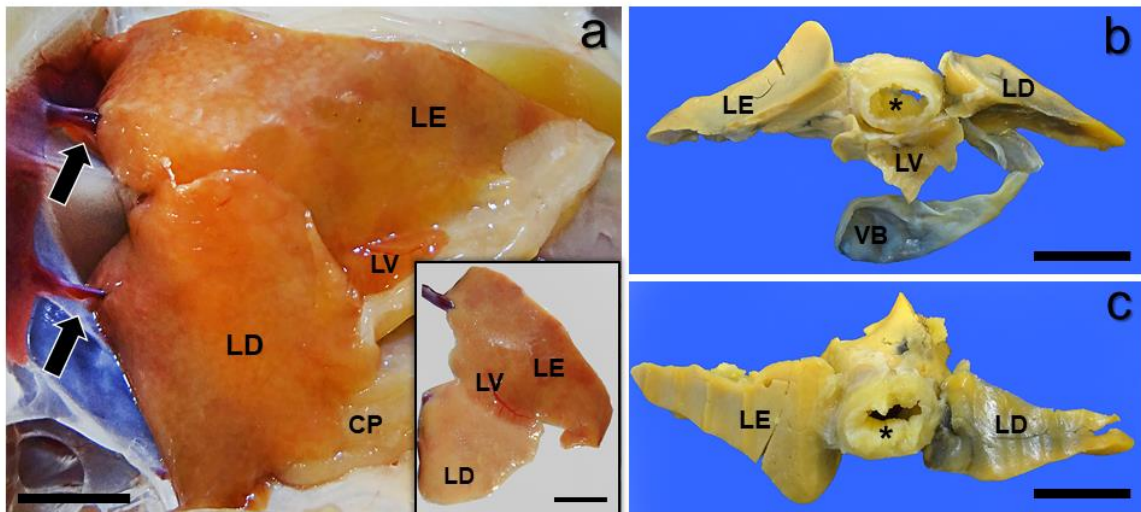


FIGURA 2 Plano anatômico ventral da cavidade celomática de *Pygocentrus nattereri*. **a.** feixes vasculares (setas) formados por artérias e veias adentrando o parênquima hepático na região cranial da cavidade; LE, lobo esquerdo; LD, lobo direito; LV, lobo ventral; CP, ceco pilórico; barra de escala = 4 cm; no detalhe observa-se variação na coloração hepática entre os lobos LE e LD; LV apresenta vasos sanguíneos superficiais dilatados; barra de escala = 2 cm. **b e c,** órgão pós-fixação. **b.** vista caudo-cranial; LV apresenta-se menor em relação aos demais; VB, vesícula biliar; esôfago (asterisco); barra = 1 cm. **c.** vista crânio-caudal; barra de escala = 1 cm.

796

797

798

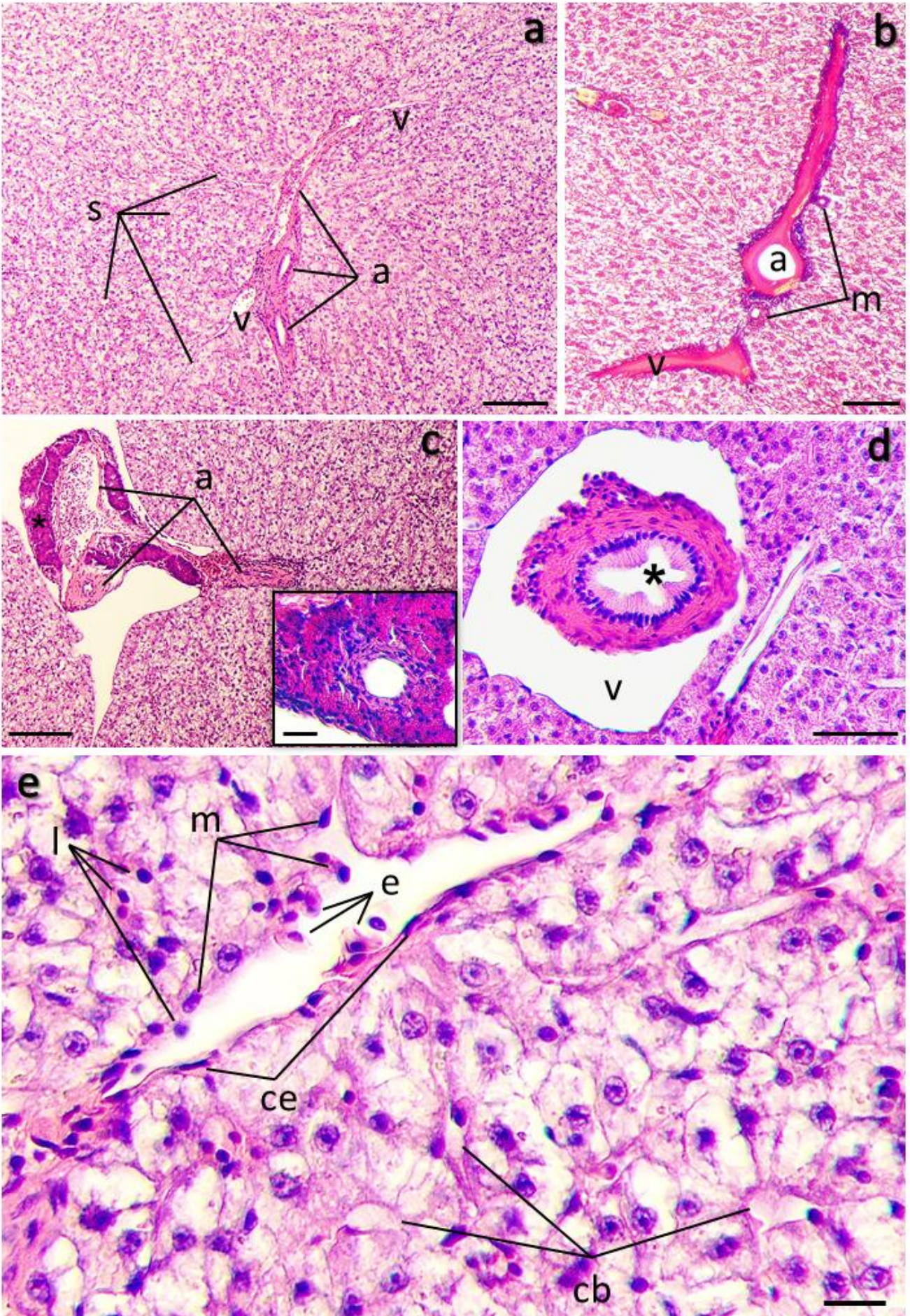


FIGURA 3 Secções histológicas do fígado de *Pygocentrus nattereri*. **a.** menor aumento evidenciando ramos arteriais (a) e venosos (v) portais dispostos em conjunto; arquitetura sinusoidal é evidente compondo arranjo cordonal típico; hepatócitos apresentam-se com citoplasma claro e parcialmente vacuolados; HE, barra de escala = 100 µm. **b.** evidente arranjo cordonal dos hepatócitos, evidenciando o trajeto do epitélio sinusoidal, um ramo venoso portal (v) e uma arteríola (a) são demonstrados; note a presença de metarteríolas (m) adjacentes a arteríola a qual é revestida por uma camada colagenosa corada em azul; TM, barra de escala = 100 µm. **c.** segmentos arteriolares (a) revestidos por uma camada de células acinares poliédricas (em destaque, barra de escala = 10 µm) compondo o hepatopâncreas (asterisco), este apresenta-se no espaço entre dois lobos hepáticos; HE, barra de escala = 100 µm. **d.** ducto biliar junto a um ramo venoso portal (v); ductos biliares apresentam uma espessa camada muscular lisa periférica (leiomiócitos) que revestem o epitélio prismático com núcleos celulares basais (asterisco); HE, barra de escala = 50 µm. **e.** epitélio sinusoidal evidenciando leucócitos (l), macrófagos (m), eritrócitos (e); além das células endoteliais (ce) com núcleos achatados; canalículos biliares (cb). HE, barra de escala = 20 µm.

800

801

802

803

804

805

806

807

808

809

810

811

812

813

814

TABELA 3 Resultados da densidade volumétrica estrutural (DVE) e morfometria hepática em machos e fêmeas nas duas estações de estudo

DVE (%)	Sexo	Estação		Estação X Sexo	IHS
		Chuvosa	Seca		
Hepatócitos	Macho	86,8 ±0,39 ^{aA}	82,5 ±0,68 ^{aB}	0,010	0,239
	Fêmea	85,2 ±0,55 ^{aA}	83,7 ±0,55 ^{aA}		
Sinusóides	Macho	12,1 ±0,36 ^{aA}	14,7 ±0,37 ^{aA}	0,194	0,333
	Fêmea	12,8 ±0,44 ^{aA}	14,3 ±0,42 ^{aA}		
Vasos sanguíneos	Macho	1,0 ±0,14 ^{aA}	2,3 ±0,50 ^{aA}	0,135	0,902
	Fêmea	1,5 ±0,31 ^{aA}	1,7 ±0,27 ^{aA}		
Ducto biliar	Macho	0,02 ±0,01 ^{aA}	0,54 ±0,25 ^{aA}	0,110	0,190
	Fêmea	0,50 ±0,33 ^{aA}	0,35 ±0,19 ^{aA}		
Glicogênio hepático	Macho	31,6 ±1,46 ^{aA}	27,1 ±1,30 ^{aA}	0,080	0,512
	Fêmea	31,3 ±1,33 ^{aA}	31,8 ±1,44 ^{aA}		
Morfometria hepatocelular					
Volume nuclear (µm ³)	Macho	30,1 ±0,37 ^{aA}	31,2 ±0,39 ^{aB}	0,016	0,001
	Fêmea	25,9 ±0,34 ^{bA}	28,8 ±0,38 ^{bB}		
Volume dos hepatócitos (µm ³)	Macho	193,7 ±2,44 ^{aA}	162,3 ±1,88 ^{aB}	0,001	0,001
	Fêmea	175,2 ±2,39 ^{bA}	158,8 ±2,37 ^{bB}		
RNC (%)	Macho	15,8 ±0,15 ^{aA}	19,6 ±0,16 ^{aB}	0,381	0,010
	Fêmea	15,1 ±0,14 ^{bA}	18,6 ±0,17 ^{bB}		

Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre sexo; letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre estações (P<0,05). DVE = Densidade Volumétrica Estrutural; IHS = Índice Hepatossomático, modelo do DVE ajustado com IHS = 1,39%; modelo da morfometria hepatocelular ajustado com IHS = 1,40%.

815

816

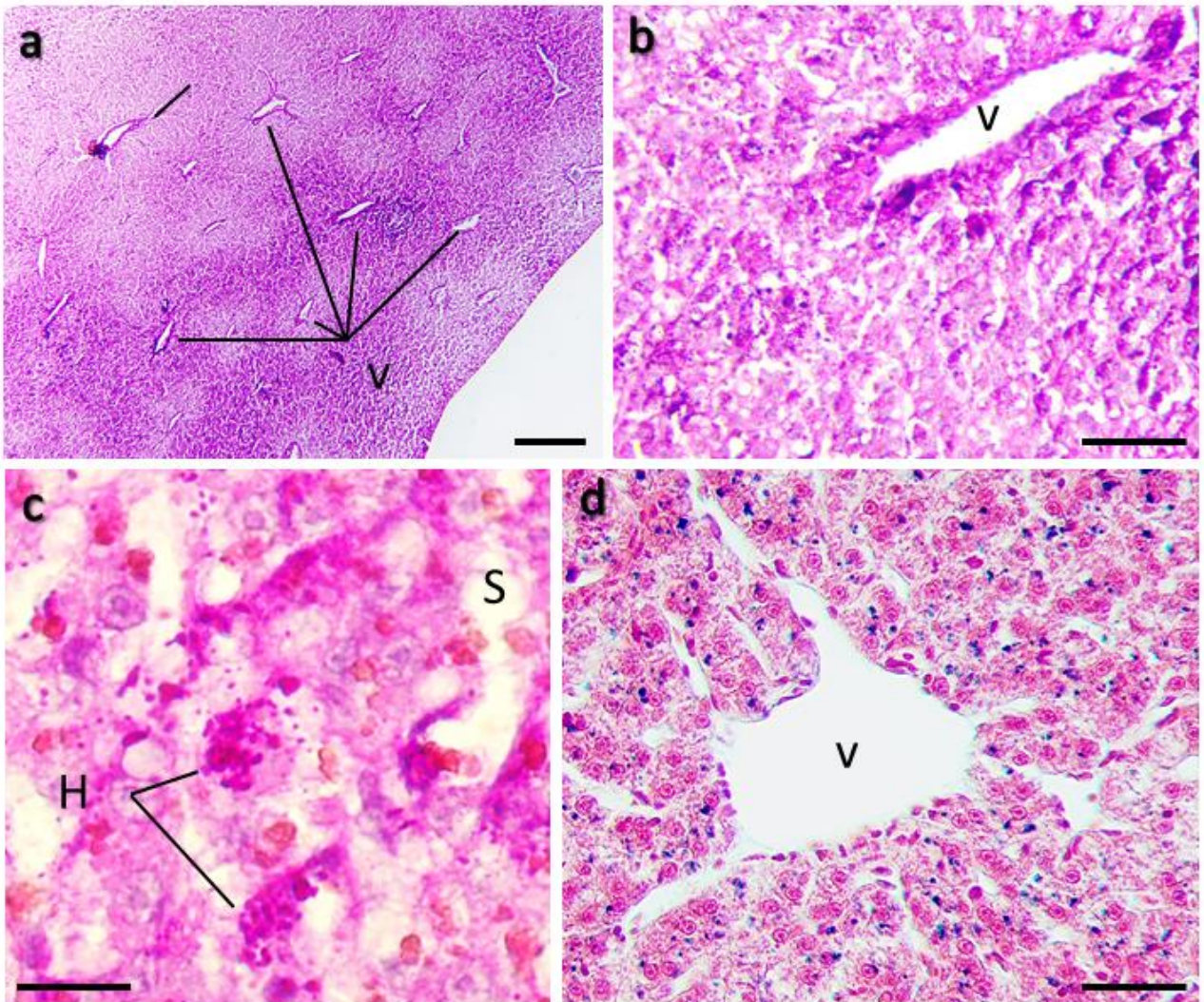


FIGURA 4 Secções histológicas do fígado de *Pygocentrus nattereri* mostrando a presença de depósitos de glicogênio e hemossiderina. **a.** visão geral do parênquima hepático marcado positivamente para o glicogênio intracitoplasmático; regiões mais escuras demonstram predominância do armazenamento desse polissacarídeo; notar presença de veias portais (v); PAS; barra de escala = 200 μ m. **b.** nota-se hepatócitos periféricos a um ramo portal marcados para o glicogênio; PAS; barra de escala = 50 μ m **c.** visão mais ampla do glicogênio positivo nos hepatócitos (H) e no epitélio sinusoidal (S); PAS; barra de escala = 10 μ m. **d.** aspecto morfológico de hepatócitos periféricos a uma veia portal (v) demonstrando a presença de ferro intracitoplasmático (cor azul); reação de Perls; barra de escala = 50 μ m.

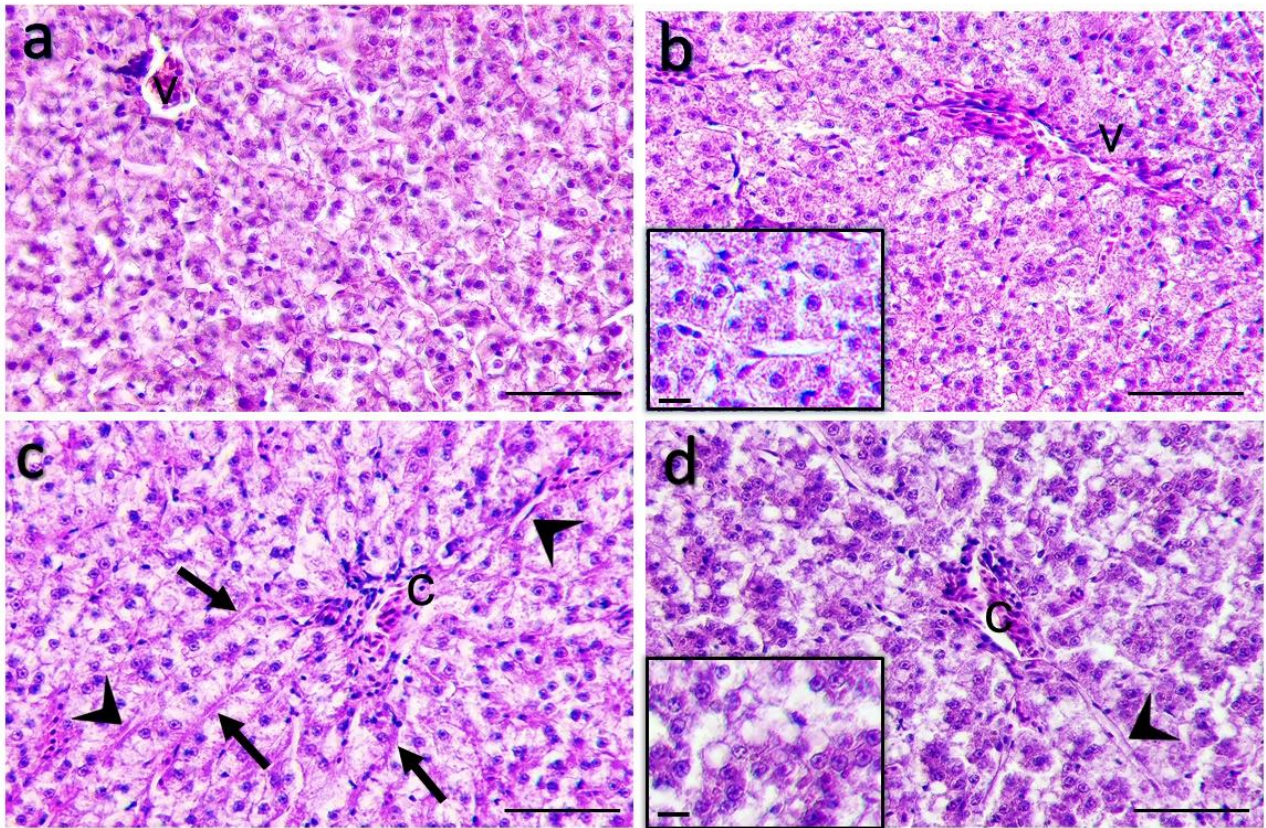


FIGURA 5 Secções histológicas do fígado de *Pygocentrus nattereri*; HE; barra de escala = 50 μ m. **a.** hepatócitos apresentam-se discretamente vacuolados sem definição do arranjo cordonal e com sinusóides pouco destacados; fêmea, estação seca. **b.** hepatócitos apresentam-se com citoplasma mais eosinofílico e granular em comparação a estação seca, embora haja presença moderada de vacúolos intracitoplasmáticos; (v) segmento venoso portal; em maior aumento vaso sinusoidal; barra de escala = 10 μ m; fêmea estação chuvosa. **c.** hepatócitos apresentam vacúolos intracitoplasmáticos, com evidente arranjo cordonal seguindo o trajeto sinusoidal (setas) ao qual mostra-se com endotélio espesso e bem evidente (cabeça de seta) em direção a um capilar portal (c); macho, estação seca. **d.** hepatócitos nitidamente vacuolizados (em destaque, barra = 10 μ m), de aspecto globular, arranjo cordonal e sinusóides preservados e espesso (cabeça de seta) similarmente aos espécimes da estação seca; macho, estação chuvosa.

818

819

820

821

822

823

824

825

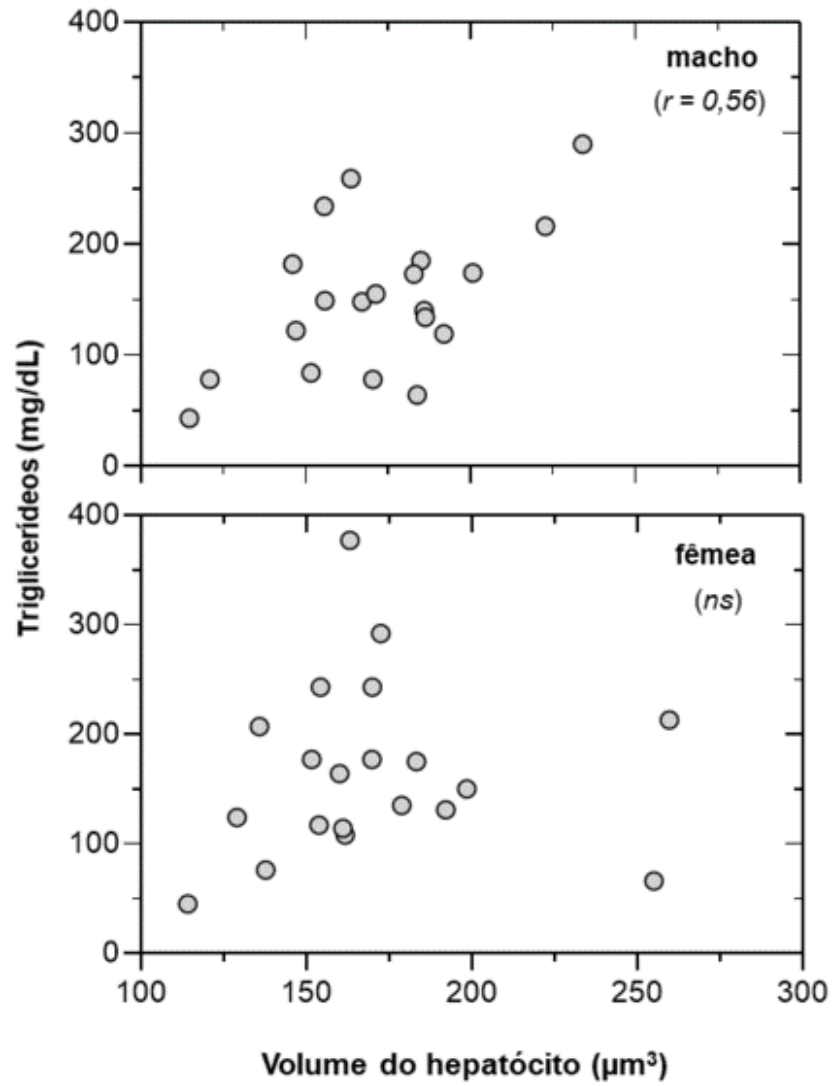


FIGURA 6 Coeficiente de correlação entre triglicerídeos séricos e volume do hepatócito para machos e fêmeas.

826

827

828

829

830

831

832

833

834

835

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALHO, C.J.R. The Pantanal. The World's Largest Wetlands. **Ecology and Conservation** (Lauchlan H., Fraser, L.H. & Keddy, P.A., eds), pp. 203-271. Cambridge University Press. 2005.
- ANDERSON, P.M. Urea Cycle in Fish: Molecular and Mitochondrial Studies. In.: Wood, C. M.; Shuttleworth, T. J. Academic Press, USA; p. 57-83. 1995.
- ANDO, S., MORI, Y., NAKAMURA, K. & SUGAWARA, A. Characteristics of Lipid Accumulation Types in Five Species of Fish. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 59, n. 9, p. 1559-1564, 1993.
- ANDRADE, A. C. B. Biomarcadores histopatológicos e concentração de HG em piranhas (*Serrasalmus rhombeus*) e sedimento de fundo na avaliação da qualidade ambiental de uma região de mineração da Amazônia, Brasil Ambiental, **Fundo na Avaliação da Qualidade**, 2013.
- ASSINE, M. L. MACEDO, H. A., STEVAUX, J. C., BERGIER, I., PADOVANI, C. R., & SILVA, A. Avulsive rivers in the hydrology of the Pantanal wetland. **Dynamics of the Pantanal wetland in South America**, p. 83-110, 2015.
- BALLANTYNE, J. S. Membranes and Metabolism. In. Evans, D. H.; Claiborne, J. B.; Currie, S. The Physiology of Fishes. 4ed. CRC Press, p. 81-147. 2014.
- BAILLY, D.; AGOSTINHO, A. A.; SUZUKI, H. I. Influence of the flood regime on the reproduction of fish species with different reproductive strategies in the Cuiabá River, Upper Pantanal, Brazil. **River Research and Applications**, v. 24, n. 9, p. 1218-1229, 2008.
- BEHR, E. R. & SIGNOR, C. A. Distribution and feeding of two sympatric species of piranhas *Serrasalmus maculatus* and *Pygocentrus nattereri* (Characidae, Serrasalminae) of the Ibicuí river, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia. Série Zoológica**, v. 98, n. 4, p. 501-507, 2008.
- BERTOLUCCI, B.; VICENTINI, C. A., VICENTINI, I. B. F., & BOMBONATO, M. T. S. Light microscopy and ultrastructure of the liver of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 1, p. 73-76, 2008.
- BOLLA S., NICOLAISEN O. & AMIN A. Liver alterations induced by long-term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. **Aquaculture**, v. 312, p. 117–125, 2011.
- BOMBONATO, M. T. S., ROCHEL, S. S., VICENTINI, C. A., & VICENTINI, I. Morphological study of the liver tissue of *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 81-85, 2007.
- BRITSKI, H.A., SILIMON K.Z.S. & LOPES, B.S. Peixes do Pantanal: manual de identificação. 5a Edição. **Embrapa** 230p. 2007
- BRUSLÉ, J. & ANADON, G. The structure and function of fish liver. **Fish morphology**, v. 76, p. 545-551, 1996.
- CALHEIROS, D. F.; DE OLIVEIRA, M. D. Ocorrência do fenômeno natural "dequada" no Pantanal. 2005.
- CARSON, F. L. & HLADIK, C. Histotechnology: A Self-Instructional Text. Hong Kong: **American Society for Clinical Pathology Press**. 400 p. 2009.
- CEMTEC/MS. Centro de Monitoramento do tempo e do Clima de MS. Banco de dados. Boletins de 2016 e 2017. Disponível em: <https://www.cemtec.ms.gov.br/bancomedados/>. Acesso em: setembro de 2021.

- CONGLETON, J. L. & WAGNER, T. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. **Journal of fish biology**, v. 69, n. 2, p. 473-490, 2006.
- COSTA-PEREIRA, R., TAVARES, L. E., CAMARGO, P. B., & ARAUJO, M. S. Seasonal population and individual niche dynamics in a tetra fish in the Pantanal wetlands. **Biotropica**, v. 49, n. 4, p. 531-538, 2017.
- DUPONCHELLE, F., LINO, F., HUBERT, N., PANFILI, J., RENNO, J. F., BARAS, E., TORRICO, J. P., DUGUE, R. & NUNEZ, J. (2007). Environment-related life-history trait variations of the red-bellied piranha *Pygocentrus nattereri* in two river basins of the Bolivian Amazon. **Journal of Fish Biology**, v. 71, n. 4, p. 1113-1134, 2007.
- FACCIOLI, C. K., CHEDID, R. A., BOMBONATO, M. T. S., VICENTINI, C. A., & VICENTINI, I. B. F. Morphology and histochemistry of the liver of carnivorous fish *Hemisorubim platyrhynchos*. **International Journal of Morphology**, p. 715-720, 2014.
- FERREIRA, F. S., VICENTIN, W., COSTA, F. E. D. S., & SÚAREZ, Y. R. Trophic ecology of two piranha species, *Pygocentrus nattereri* and *Serrasalmus marginatus* (Characiformes, Characidae), in the floodplain of the Negro River, Pantanal. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 4, p. 381-391, 2014.
- FREERE, R. H. & WEIBEL, E. R. Stereologic techniques in microscopy. **Journal of the Royal Microscopical Society**, v. 87, n. 1, p. 25-34, 1967.
- GATTANI, A., PATHAK, A., KUMAR, A., MISHRA, V. & BHATIA, J.S. Influence of season and sex on hematobiochemical traits in adult turkeys under arid tropical environment. **Veterinary World**, v. 9, n. 5, p. 530-534, 2016.
- GENTEN F., TERWINGHE E. & DANGUY A. Atlas of Fish Histology. **Science Publisher**, Enfield, NH, USA. 2009.
- GISBERT E., ORTIZ-DELGADO J.B. & SARASQUETE C. Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. **Histology and Histopathology** v. 23, n. 12, p. 1525–1539, 2008.
- GISBERT, E., MOREIRA, C., CASTRO-RUIZ, D., ÖZTÜRK, S., FERNÁNDEZ, C., GILLES, S. & GARCÍA-DÁVILA, C. Histological development of the digestive system of the Amazonian pimelodid catfish *Pseudoplatystoma punctifer*. **animal**, v. 8, n.11, p. 1765-1776. 2014.
- HALVER, J. & HARDY, R. W. (Eds.). Fish nutrition. **Elsevier**. 824 p. 2002.
- HAMILTON, S. K., SIPPEL, S. J., CALHEIROS, D. F. & MELACK, J. M. An anoxic event and other biogeochemical effects of the Pantanal wetland on the Paraguay River. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 2, p. 257-272, 1997.
- HEMRE, G.-I., MOMMSEN, T. P. & KROGDAHL, Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture nutrition**, v. 8, n. 3, p. 175-194, 2002.
- HINTON D.E., SEGNER H. & BRAUNBECK T. Toxic responses of the liver. In: **Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts** (ed. by D. Schlenk & W.H. Benson), pp. 224–268, 2001.
- HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. Metabolic biochemistry. **Biochemistry and Molecular Biology of Fish. Elsevier Science**. 1995.
- KAHAN, B. C., JAIRATH, V., DORÉ, C. J., & MORRIS, T. P. The risks and rewards of covariate adjustment in randomized trials: an assessment of 12 outcomes from 8 studies. **Trials**, v. 15, n. 1, p. 1-7, 2014.

- LATIF, M., ALI, M. & IQBAL, F. Seasonal variations in hematological and serum biochemical profile of *Channa marulius* are complementary to the changes in water Quality parameters of River Chenab in Pakistan. **Pakistan Journal Zoology**, v. 47, n. 6, p. 1699-1707, 2015.
- LI, H. & ZHANG, S. Functions of Vitellogenin in Eggs. In.: Kloc, M. Oocytes. Maternal Information and Functions. Springer, USA; p. 389-401. 2017.
- MACHADO, F. História natural de peixes do Pantanal: com destaque em hábitos alimentares e defesa contra predadores. 2003.
- MENKE, A. L.; SPITSBERGEN, J. M., WOLTERBEEK, A. P., & WOUTERSEN, R. A. Normal anatomy and histology of the adult zebrafish. **Toxicologic pathology**, v. 39, n. 5, p. 759-775, 2011.
- NICULA, M., BURTA, M., SIMIZ, E., BANATEAN-DUNEA, I., PATRUICA, S., MARCU, A., ... & SZELEI, Z. Researches concerning reference values assessment of serum biochemical parameters in some fish species from Acipenseridae, Cyprinidae, Esocidae and Salmonidae family. **Animal Science and Biotechnologies**, v. 43, n. 1, p. 498-505, 2010.
- OKAMURA, D., FORTES-SILVA, R., PAULINO, R. R., ARAÚJO, F. G., COSTA, D. V., PEREIRA, R. T., & ROSA, P. V. Metabolic responses to dietary carbohydrate/lipids ratios in neotropical hybrid catfish (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* × ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.
- POWER D.M., MELO J. & SANTOS R.A. The effect of food deprivation and refeeding on the liver thyroid hormones and transthyretin in sea bream. **Journal of Fish Biology** v. 56, n. 2, p. 374–387, 2000.
- QUEEN, J. P., QUINN, G. P., KEOUGH, M. J. **Experimental design and data analysis for biologists**. Cambridge university press, 2002.
- QUEIROZ, H. & MAGURRAN, A. E. Safety in numbers? Shoaling behaviour of the Amazonian red-bellied piranha. **Biology letters**, v. 1, n. 2, p. 155-157, 2005.
- QUEIROZ, H. L., SOBANSKI, M. B., MAGURRAN, A. E. Reproductive strategies of Red-bellied Piranha (*Pygocentrus nattereri* Kner, 1858) in the white waters of the Mamirauá flooded forest, central Brazilian Amazon. **Environmental Biology of Fishes**, v. 89, n. 1, p. 11-19, 2010.
- RAŠKOVIĆ, B. S., STANKOVIĆ, M. B., MARKOVIĆ, Z. Z., & POLEKSIĆ, V. D. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. **Journal of Agricultural Sciences** (Belgrade), v. 56, n. 1, p. 87-100, 2011.
- RIOS, F. S.; MORAES, G., OBA, E. T., FERNANDES, M. N., DONATTI, L., KALININ, A. L., & RANTIN, F. T. Mobilization and recovery of energy stores in traíra, *Hoplias malabaricus* Bloch (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 176, n. 7, p. 721-728, 2006.
- ROCHA, E.; MONTEIRO, R. A. F.; PEREIRA, C. A. Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. **The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, v. 247, n. 3, p. 317-328, 1997.
- RODRIGUES, A. R., SATURNINO, K. C. & FERNANDES, C. E.; Liver histology and histomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pseudoplatystoma corruscans*) reared on intensive fish farming. *Aquaculture Research*, p. 1–11, 2017.
- ROTTA, A. Banco de sêmen de peixes do pantanal Emiko Kawakami de Resende, Agostinho Carlos Catella, Débora Karla Silveira Marques e Marco. REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 6, n. 10, p. 1-2, 2005.

- SAINT-PAUL, U., ZUANON, J., CORREA, M. A. V., GARCÍA, M., FABRÉ, N. N., BERGER, U., & JUNK, W. J. Fish communities in central Amazonian white-and blackwater floodplains. **Environmental Biology of Fishes**, v. 57, n. 3, p. 235-250, 2000.
- SANTOS, L. R. S., FRANCO-BELUSSI, L., ZIERI, R., BORGES, R. E., & OLIVEIRA, C. Effects of thermal stress on hepatic melanomacrophages of *Eupemphix nattereri* (Anura). **The Anatomical Record**, v. 297, n. 5, p. 864-875, 2014.
- SCHARTL, M., KNEITZ, S., VOLKOFF, H., ADOLFI, M., SCHMIDT, C., FISCHER, P., MINX, P., TOMLINSON, C., MEYER, A. & WARREN, W. C. The piranha genome provides molecular insight associated to its unique feeding behavior. **Genome biology and evolution**, v. 11, n. 8, p. 2099-2106, 2019.
- SCHNEIDER, A. C. R.; MACHADO, A. B. M. P.; DE ASSIS, A. M.; HERMES, D. M.; SCHAEFER, P. G.; GUIZZO, R.; FRACASSO, L. B.; DE-PARIS, F.; MEURER, F.; BARTH, A. L. & SILVEIRA, T. R. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on hepatic and serum lipid profiles in zebrafish exposed to ethanol. **Zebrafish**, v. 11, n. 4, p. 371-378, 2014.
- SCHUMANN, G. BONORA, R., CERIOTTI, F., FÉRARD, G., FERRERO, C. A., FRANCK, P. F., ... & SCHIMMEL, H. G. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. 2002a.
- SCHUMANN, G. BONORA, R., CERIOTTI, F., FÉRARD, G., FERRERO, C. A., FRANCK, P. F., ... & SCHIMMEL, H. G. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. 2002b.
- SRIVASTAVA, A. S., OOHARA, I., SUZUKI, T., & SINGH, S. N. Activity and expression of aspartate aminotransferase during the reproductive cycle of a fresh water fish, *Clarias batrachus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 3, p. 243-250, 1999.
- STRÜSSMANN, C. A. & TAKASHIMA, F. Hepatocyte nuclear size and nutritional condition of larval pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Cuvier et Valenciennes). **Journal of Fish Biology**, v. 36, n. 1, p. 59-65, 1990.
- TADDESE, F., HUH, M.D., BAI, S.C. & VIJVERBERG, J. Histological changes of liver in overfed young Nile tilapia. **Journal of Fisheries and Aquatic Science** v. 9, n. 2, p. 63–74, 2014.
- TOCHER, Douglas R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in fisheries science**, v. 11, n. 2, p. 107-184, 2003.
- UETANABARO, M., WANG, T. & ABE, A. S. Breeding behaviour of the red-bellied piranha, *Pygocentrus nattereri*, in nature. **Environmental Biology of Fishes**, v. 38, n. 4, p. 369-371, 1993.
- VAN DER VEN, L. T.; HOLBECH, H., FENSKE, M., VAN DEN BRANDHOF, E. J., GIELIS-PROPER, F. K., & WESTER, P. W. Vitellogenin expression in zebrafish *Danio rerio*: evaluation by histochemistry, immunohistochemistry, and in situ mRNA hybridisation. **Aquatic toxicology**, v. 65, n. 1, p. 1-11, 2003.
- VICENTINI, C. A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B., BOMBONATO, M. T. S., BERTOLUCCI, B., LIMA, S. G., & SANTOS, A. S. Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v. 23, n. 3, p. 211-216, 2005.
- VICENTIN, W., VIEIRA, K. R. I., TAVARES, L. E. R., COSTA, F. E. D. S., TAKEMOTO, R. M., & PAIVA, F. Metazoan endoparasites of *Pygocentrus nattereri* (Characiformes: Serrasalminae) in the Negro River, Pantanal, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 3, p. 331-338, 2013.

WAGNER, T. & CONGLETON, J. L. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 61, n. 7, p. 1066-1074, 2004.

ZHOU, X., LI, M., ABBAS, K. & WANG, W. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. **Fish Physiology Biochemistry** v. 35, n.3, p. 435-441, 2009.



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada "Parâmetros hematológicos, bioquímicos e histometria do sistema hematopoiético de *Pygocentrus nattereri* (Characiformes: Serrasalminae) do Pantanal Sul-mato-grossense", registrada com o nº 801/2016, sob a responsabilidade de **Carlos Eurico dos Santos Fernandes** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 10ª reunião ordinária do dia 17/11/2016.

Vigência do Projeto	Setembro/2016 a Dezembro/2018
FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Número da Solicitação ou Autorização SISBIO	51270-2
Atividade (s)	Captura Coleta/transporte de espécimes
Espécies/Grupos Taxonômicos	<i>Pygocentrus nattereri</i> / Macho e Fêmea
Local (is) de realização das atividades	Base de Pesquisa do Pantanal / UFMS

Meixera
Maria Araújo Teixeira
Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 18 de novembro de 2016.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
fone (67) 3345-7925





Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 51270-1	Data da Emissão: 29/09/2015 14:15	Data para Revalidação*: 28/10/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carlos Fernandes	CPF: 418.187.410-91
Título do Projeto: Parâmetros hematológicos, bioquímicos e histometria do sistema hematopoiético de <i>Pygocentrus nattereri</i> (Characiformes: Serrasalminae) do Pantanal sul-mato-grossense.	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL	CNPJ: 15.461.510/0001-33

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta do material experimental, processamento laboratorial.	01/2016	03/2016
2	Período destinado para análise de resultados e redação de artigos.	01/2017	03/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidas por meio de recursos e técnicas que se destinam ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO isenta o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição <i>in situ</i> .
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiarem a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Francisco de Paula Saverio da Costa Neto	colaborador	358.067.338-03	434683858 ssp-SP	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	MIRANDA	MS	Base de Estudos do Pantanal	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres <i>in situ</i>	<i>Pygocentrus nattereri</i>

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 72619588





Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 51270-1	Data da Emissão: 29/09/2015 14:15	Data para Revalidação*: 28/10/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carlos Fernandes	CPF: 418.187.410-91
Título do Projeto: Parâmetros hematológicos, bioquímicos e histometria do sistema hematopoiético de <i>Pygocentrus nattereri</i> (Characiformes: Serrasalminae) do Pantanal sul-mato-grossense.	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL	CNPJ: 15.461.510/0001-33

2	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	<i>Pygocentrus nattereri</i>
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	<i>Pygocentrus nattereri</i>
4	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	<i>Pygocentrus nattereri</i> (*Qtd: 140)

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Peixes)	Fragmento de tecido/órgão, Ectoparasita, Outras amostras biológicas(endoparasitas), Sangue, Escama
2	Método de captura/coleta (Peixes)	Arzol e linha (op.manual); linha de mão de corso, carretilha, molinete, cortico, vara e isca viva

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 72619588





Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 51270-1	Data da Emissão: 29/09/2015 14:15	Data para Revalidação*: 28/10/2016
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Carlos Fernandes	CPF: 418.187.410-91
Título do Projeto: Parâmetros hematológicos, bioquímicos e histometria do sistema hematopoietico de <i>Pygocentrus nattereri</i> (Characiformes: Serrasalminae) do Pantanal sul-mato-grossense.	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL	CNPJ: 15.461.510/0001-33

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 72619588





Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 51270-1	Data da Emissão: 29/09/2015 14:15	Data para Revalidação*: 28/10/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carlos Fernandes	CPF: 418.187.410-91
Título do Projeto: Parâmetros hematológicos, bioquímicos e histometria do sistema hematopoiético de <i>Pygocentrus nattereri</i> (Characiformes: Serrasalminae) do Pantanal sul-mato-grossense.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL	CNPJ: 15.461.510/0001-33

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 72619588



Página 4/4

