

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ALEXANDRE AUGUSTO AUACHE FILHO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA ESPÉCIE DE LAMBARI *ASTYANAX*
BIFASCIATUS EM UM TRIBUTÁRIO DO BAIXO IGUAÇU**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS

2016

ALEXANDRE AUGUSTO AUACHE FILHO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA ESPÉCIE DE LAMBARI *ASTYANAX*
BIFASCIATUS EM UM TRIBUTÁRIO DO BAIXO IGUAÇU**

Trabalho de Conclusão do Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Elton Celton de Oliveira

DOIS VIZINHOS

2016

A887b Auache Filho, Alexandre Augusto.
Biologia reprodutiva da espécie de lambari
Astyanax Bifasciatus em um tributário do baixo Iguaçu /
Alexandre Augusto Auache Filho – Dois Vizinhos: [s.n],
2016.
43f.:il.

Orientador: Elton Celton de Oliveira
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas, Dois Vizinhos,
2016.
Bibliografia p.34-37

1. Peixe - Criação 2. Reprodução animal I. Oliveira,
Elton Celton de, orient. II. Universidade Tecnológica
Federal do Paraná – Dois Vizinhos. III. Título
CDD: 639.3

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB: 9/1745

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



TERMO DE APROVAÇÃO

Título do Trabalho de Conclusão de Curso n.º 30

Biologia reprodutiva da espécie de lambari *Astyanax bifasciatus* em um tributário do Baixo Iguaçu

por

Alexandre Augusto Auache Filho

Este trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado às **9** horas do dia **09 de dezembro de 2016**, como requisito parcial para obtenção do título de Biólogo (Curso de Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos). O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

(aprovado, aprovado com restrições, ou reprovado)

Profa. Dra. Dienes Aparecida Oliveira
Sereia
UTFPR-Dois Vizinhos

Prof. Dr. Elton Celton de Oliveira
Orientador
UTFPR-Dois Vizinhos

Profa. Dra. Leticia Karling
UTFPR-Dois Vizinhos

Prof. Dr. Elton Celton de Oliveira
Coordenador do Curso de Ciências
Biológicas
UTFPR-Dois Vizinhos

“O termo de aprovação assinado se encontra na Coordenação do Curso.”

AGRADECIMENTOS

Os parágrafos que aqui redijo não irão contemplar todas as pessoas que fizeram parte desta etapa de minha vida e de construção de meu trabalho, por tanto desde já quero que todos saibam que sou eternamente grato.

Direciono meu maior agradecimento ao Professor Dr. Elton Celton de Oliveira por orientar-me e auxiliar-me durante a produção de meu trabalho, sempre dispondo de boa vontade e paciência para sanar minhas duvidas e buscando dia a dia facilitar o meu entendimento a cerca do estudo visando a construção de um ótimo trabalho.

Agradeço a Professora Dr. Nédia de Castilho Ghisi por me auxiliar na formatação e construção do mapa de pontos de coleta e também no enriquecimento teórico de meu trabalho.

Agradeço ao meu colega e amigo Denis Damasio, por participar de todos os momentos de elaboração de meu trabalho, com ressalva em todas as coletas e triagens do material, sendo estas em sua maioria em finis de semana.

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos por todo o suporte e auxilio oferecido para a realização de meu projeto e concessão de bolsa.

Agradecimento ao órgão fomentador CNPq por todo o auxilio de materiais de suma importância para a elaboração de meu trabalho.

Em especial agradeço a minha família por me apoiarem em todos os momentos de dificuldade nunca me deixando desistir de meu proposito e por me incentivarem a buscar meu melhor sempre.

RESUMO

AUACHE-FILHO, Alexandre Augusto. Biologia reprodutiva da espécie de lambari *ASTYANAX BIFASCIATUS* em um tributário do baixo Iguaçu. 2016. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus - Dois Vizinhos, 2016.

A cascata de mudanças fisiológicas, morfométricas, anatômicas observadas nos indivíduos durante a reprodução podem ser mensuradas por indicadores reprodutivos, os quais são, geralmente, utilizados nos estudos autoecológicos. Contudo, estas métricas podem ser utilizadas como potenciais indicadores de sanidade ambiental. Diante disso, o presente trabalho objetivou avaliar a biologia reprodutiva de *Astyanax bifasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos-PR. A espécie-alvo é um lambari abundante e endêmico do Rio Iguaçu, sendo um migrador reprodutivo. Para a execução do trabalho, efetuou-se dois protocolos amostrais: 1- para avaliar o ciclo reprodutivo; 2- para analisar a influência espacial. Na primeira etapa ocorreram coletas mensais, de outubro de 2015 a setembro de 2016, instalando-se uma bateria de redes de emalhe com 15, 20, 25 e 30 mm entre nós adjacentes e covos em quatro pontos amostrais. Para compreender o ciclo reprodutivo da espécie, utilizou-se as seguintes métricas indicadoras: relação gonadossomática (RGS), frequência dos estádio de maturação gonadal, os índices hepatossomático (IHS), frequência dos estádios de repleção estomacal (FRE), fator de condição alométrico total (K) e somático (K') e proporção sexual. Para a segunda etapa efetuou-se duas coletas, em quatro pontos amostrais, sendo uma em janeiro e a outra em julho de 2016. Para esta fase, apenas os seguintes parâmetros foram analisados: RGS, K e Índice de Repleção (IR). Ainda, padronizou-se apenas o uso de fêmeas para as comparações. Os pontos de coleta foram estabelecidos da seguinte forma: 1- montante: situado na área rural de Dois Vizinhos; 2- trecho urbano inicial: localizado após a estação de coleta de água do município e de uma indústria de processamento de carnes e embutidos; 3- trecho urbano central: localizado dentro do Parque Ecológico Municipal Jirau Alto, área de maior cobertura vegetal; 4- foz do rio: situado a jusante do município, com vegetação ciliar reduzida. Verificou-se através do RGS, da frequência de estádios de maturação gonadal e do K/K' que ocorram dois períodos reprodutivos ao longo do ano, sendo o de maior investimento de outubro a janeiro e o de menor investimento de março a junho. No mês de novembro ocorreu o pico da atividade reprodutiva e o recrutamento ocorreu em fevereiro. A análise espaço-temporal demonstrou que o RGS não diferiu significativamente entre os pontos e meses. O fator de condição (K) apresentou interação significativa do fator espacial e temporal. Os maiores valores foram verificados em janeiro e nos pontos P3 e P4. O IR apresentou diferença significativa entre os pontos e meses, mas sem interação. Os maiores valores foram observados nos pontos P1 e P2 e, principalmente, em janeiro. Desta forma conclui-se que, as métricas fornecem informação sobre a biologia reprodutiva da espécie, porém não são responsivas o bastante para análises de concretas da sanidade ambiental.

Palavras-chaves: Endemismo. Relação gonadossomática. Repleção. Fator de condição.

ABSTRACT

AUACHE-FILHO, Alexandre Augusto. Reproductive biology of the species of lambari *ASTYANAX BIFASCIATUS* in a tributary of low Iguaçu. 2016 37f. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, 2016.

The cascade of physiological, morphometric, and anatomical changes observed in individuals during reproduction can be measured by reproductive indicators, which are generally used in autoecological studies. However, these metrics can be used as potential indicators of environmental sanitation. Therefore, the present work aimed to evaluate the reproductive biology of *Astyanax bifasciatus* in the Jirau Alto River, Dois Vizinhos-PR. The target species is an abundant and endemic lambari of the Iguaçu River, being a reproductive migrator. For the execution of the work, two sample protocols were performed: 1- to evaluate the reproductive cycle; 2- to analyze the spatial influence. In the first stage, there were monthly collections, from October 2015 to September 2016, installing a battery of gill nets with 15, 20, 25 and 30 mm between adjacent nodes and coves at four sampling points. In order to understand the reproductive cycle of the species, the following indicator metrics were used: gonadosomatic relation (RGS), gonadal maturation stages frequency, hepatosomatic (IHS) indices, stomach filling stages frequency (FRE), allometric condition factor Total (K) and somatic (K') and sexual proportion. For the second stage, two samples were collected at four sample points, one in January and the other in July 2016. For this phase, only the following parameters were analyzed: RGS, K and Repletion Index (IR). Also, only the use of females was standardized for the comparisons. The collection points were established as follows: 1- amount: located in the rural area of Dois Vizinhos; 2 - initial urban stretch: located after the municipal water collection station and an processing industry of meat and sausage; 3 - central urban stretch: located inside the Jirau Alto Municipal Ecological Park, area with greater vegetation coverage; 4- river mouth: located downstream of the municipality, with reduced ciliary vegetation. The gonadal maturation stages frequency and K / K' were observed through RGS, with two reproductive periods occurring throughout the year, with the highest investment from October to January and the lowest investment from March to June. In November, the summit of reproductive activity occurred and the recruitment occurred in February. The spatiotemporal analysis showed that the RGS did not differ significantly between the points and months. The condition factor (K) presented significant interaction of spatial and temporal factors. The highest values were verified in January and at points P3 and P4. The RI presented significant difference between the points and months, but without interaction. The highest values were observed at points P1 and P2 and, mainly, in January. Thus, it is concluded that the metrics provides information of the reproductive biology of the species, but are not responsive enough to analyze concrete environmental sanity.

Keywords: Endemism. Gonadosomatic relationship. Repletion. Condition factor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Mapa com demarcações dos pontos de coleta de peixes no rio Jirau Alto no Município de Dois Vizinhos – Paraná, Brasil. 18

TABELA 1 - Resultado da ANOVA bifatorial para a relação gonadossomática (RGS), fator de condição (K) e índice de repleção (IR) para fêmeas de *A. bifasciatus* do rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná. F = teste de Fisher; gl = graus de liberdade; p-valor = valor da probabilidade estatística.....27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 GERAL	11
2.2 ESPECIFICO	11
3 REVISÃO LITERÁRIA	12
3.1 REPRODUÇÃO E SUA FISIOLOGIA	12
3.2 BACIA DO RIO IGUAÇU: ENDEMISMOS E PRESSÕES ANTRÓPICAS	13
3.3 <i>ASTYANAX BIFASCIATUS</i> : LAMBARI DO RABO VERMELHO	14
3.4 MÉTRICAS ASSOCIADAS AO PROCESSO REPRODUTIVO DE PEIXES	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 ÁREA DE ESTUDO	17
4.2 PROCEDIMENTO AMOSTRAL	18
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
5 RESULTADOS	22
5.1 VARIAÇÃO TEMPORAL DOS ÍNDICES	22
5.1.1 Relação gonadossomática (RGS)	22
5.1.2 Rreqüência de estádios de maturação	23
5.1.3 Índice hepatossomático (IHS)	24
5.1.4 Fator de condição	25
5.1.5 Repleção estomacal	26
5.1.6 Proporção sexual	27
5.2 VARIAÇÃO ESPACIAL DOS INDICADORES	27
5.2.1 Relação gonadossomática	27
5.2.2 Fator de condição espacial	28
5.2.3 Índice de repleção (IR)	29
6 DISCUSSÃO	31
7 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIA	36
ANEXOS	39

1 INTRODUÇÃO

A reprodução em peixes compreende as fases de formação dos gametas, da cascata hormonal, do desenvolvimento gonadal, do esvaziamento das gônadas e da fertilização, estando sincronizadas às alterações ambientais impostas pelas estações do ano. No entanto, este processo não está isento das interferências causadas pelo homem, tais como substâncias poluidoras, mudanças climáticas e outras (SILVA; OLIVEIRA; FAVARO, 2010).

Sabe-se que o processo reprodutivo é fundamental para a perpetuação de qualquer espécie e, em peixes, é utilizado a décadas como mecanismo para avaliação dos estoques pesqueiros, do tamanho mínimo viável do pescado e para implementar planos de manejo (OLIVEIRA; FÁVARO, 2011). No entanto, trabalhos enfocando análises de áreas impactadas via processo reprodutivo são escassos, sendo esta uma nova frente de trabalho dentro da concepção de bioindicadores.

Os trabalhos científicos envolvendo estudos sobre o ciclo reprodutivo das espécies de peixes e suas estratégias de vida utilizam de um conjunto de métricas como relação gonadossomáticas, índice hepatossomáticos, índice de gordura celomática, índice de repleção estomacal, tamanho de primeira maturação e o fator de condição (COSTA et al, 2005). Estas métricas, quando associadas, trazem informações sobre a biologia da reprodutiva e parte do ciclo de vida da espécie, podendo fornecer também um parecer inicial sobre as condições ambientais do local em escala espaço-temporal.

No caso do processo reprodutivo, a cascata hormonal é desencadeada por um sinal ambiental permite com que as espécies desenvolvam suas gônadas e amadureçam reprodutivamente. No entanto, uma preparação prévia é necessária para que isso ocorra, tal como a acumulação de gordura na cavidade celomática. Ainda, o fígado é altamente exigido durante a maturação gonadal para transformar a reserva nutritiva em vitelo para os ovócitos ou produzir um grande volume de espermatozoides (QUEROI; QUEROL; GOMES, 2002).

A condição nutricional dos animais e o seu bem-estar são afetados durante todo o ciclo reprodutivo, gerando um estresse natural para o organismo (GHISI, 2012). Atualmente, todo este processo pré-reprodutivo, reprodutivo e pós-reprodutivo está acompanhado de interferências antrópicas diversas no ambiente aquático, tais como hormônios, pesticidas, metais pesados, corantes, etc (FLYNN et al., 2011). Desta forma, avaliar e compreender a reprodução de peixes em ambientes antropizados torna-se de fundamental importância.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar a biologia reprodutiva da espécie *Astyanax bifasciatus* em um tributário do Baixo Iguaçu.

2.2 ESPECÍFICO

- Avaliar os índices reprodutivos e a repleção de *Astyanax bifasciatus* em escala temporal;
- Estimar e comparar a relação gonadossomática, fator de condição e índice de repleção estomacal entre os pontos amostrais em duas épocas distintas do ano.
- Avaliar os aspectos reprodutivos como potenciais bioindicadores ambientais.

3 REVISÃO LITERÁRIA

3.1 REPRODUÇÃO E SUA FISIOLOGIA

A reprodução é um processo vital para os organismos que garante a perpetuação das espécies, sendo necessário um equilíbrio fino de vários fatores para sua viabilidade. Uma alteração no habitat, por exemplo, pode causar falhas no ciclo reprodutivo das espécies, ocasionando uma diminuição drástica do número de indivíduos no sistema (RIZZO; BAZZOLI, 2014). Desta forma, mensurar a taxa reprodutiva pode ser um bom parâmetro para avaliar o nível de estresse ambiental e o estado de saúde dos indivíduos.

Os mecanismos fisiológicos que desencadeiam o ciclo reprodutivo e, conseqüentemente, provocam o crescimento das células germinativas, são muito influenciados pelas mudanças sazonais do fotoperíodo e da temperatura. Tais mudanças são percebidas pelos órgãos sensoriais desencadeando mudanças nas taxas de produção e secreção dos hormônios hipotalâmicos, que por sua vez, vão estimular ou inibir a hipófise a produzir a gonadotrofina (GTH) e hormônios de crescimento (JOBBLING 1995).

Em fêmeas, o aumento da concentração de GTH leva a produção de estradiol pelo tecido ovariano, que por fim culminará na síntese de vitelogenina pelo fígado, sendo esta importante para a maturação dos ovócitos, o crescimento do ovário e para a ovulação. Em machos, o aumento da produção de GTH leva a produção de testosterona nos testículos, culminando na maturação dos espermatozoides (JOBBLING 1995).

Durante o processo de maturação final das gônadas de fêmeas, o fígado produz a vitelogenina em grandes quantidades, a qual será responsável em incorporar de nutrientes nos ovócitos (BORELLA; COSTA; BATLOUNI, 2014). Com isso, este órgão torna-se aumentado e sobrecarregado durante a fase que precede o período de maior desenvolvimento gonadal. Diante de um estresse adicional oriundo, por exemplo, da poluição, poderiam ocorrer mudanças fisiológicas impactantes para o animal, tais como: 1- menor qualidade e quantidade dos gametas devido ao déficit de incorporação de nutrientes; 2- menor taxa de incorporação de gordura celomática no animal; 3- menor estado nutricional.

3.2 BACIA DO RIO IGUAÇU: ENDEMISMOS E PRESSÕES ANTRÓPICAS

A bacia do rio Iguaçu é caracterizada por sua grande extensão e também seu relevo, o qual é composto por diversas quedas d'água. Por este motivo a bacia do rio Iguaçu sempre foi alvo de pesquisas e construções de usinas hidrelétricas, principalmente no terceiro planalto, região do baixo Iguaçu, região esta que compreende a cidade de Dois Vizinhos (BAUMGARTNER et al, 2012).

O rio Iguaçu apresenta uma grande diversidade em sua ictiofauna, das quais 75% delas são endêmicas deste local, necessitando da integridade de seus habitats para a perpetuação de sua espécie (BAUMGARTNER et al, 2012). Desta forma faz-se necessário o estudo aprofundado destas espécies.

No presente cenário do baixo Iguaçu nos deparamos com a presença de 5 usinas hidrelétricas, as quais forçam o barramento do rio Iguaçu, quando o impedimento do fluxo de espécies aquáticas migratórias e que fazem uso das cabeceiras para desova em período de piracema (BAUMGARTNER et al, 2012).

Conseqüentemente o impedimento do fluxo gênico de espécie dentro de um corpo hídrico tem como principal resultado a supressão e possível extinção de espécies nativas, reduzindo não só o número de espécimes presentes no local, mas principalmente o número de espécies endêmicas, as quais necessitam de características únicas do local em que se encontram para seu sucesso reprodutivo (BAUMGARTNER et al, 2012).

De certa forma o barramento dos rios de porte maior ocasionou a migração de varias espécies de ambiente lântico para o ambiente lótico não só na época reprodutivo, mas sim ao longo do ano. Conseqüentemente os tributários começaram a receber um maior numero de espécies em seu curso, as quais aumentaram o seu número de indivíduos, ocasionado assim uma competição interespecífica a qual pode ter ocasionado uma redução na população de espécies endêmicas destes locais (AGOSTINHO et. al, 1999).

A região de tributários geralmente é caracterizada pela presença de rios de menor porte e que sofrem de maneira mais significativa com as alterações ambientais e antrópicas, em sua grande maioria tendem a ser margeados por áreas de plantações e agropecuária, que por sua vez acabam ocasionando interferências diretas no relevo local.

3.3 *ASTYANAX BIFASCIATUS*: LAMBARI DO RABO VERMELHO

O gênero *Astyanax* é composto por diversas espécies uma delas é o *Astyanax bifasciatus* ou popularmente chamado de lambari do rabo vermelho, o qual atualmente é caracterizado como espécie restrita à bacia do rio Iguazu, sendo encontrado em maior abundância nos reservatórios e áreas de barramento, porém é encontrado também em regiões de tributários (BAUMGARTNER et al, 2012). Apresenta morfologia bem distinta, suas nadadeiras possuem as extremidades avermelhadas, macha umeral ovalada em formato de vírgula seguida de outra macha difusa horizontalmente. Atinge sua maturidade reprodutiva com aproximadamente CP=47mm para os machos e CP=53mm para fêmeas, o período reprodutivo geralmente ocorre durante a primavera e verão, apesar de ocorrer durante todo o ano. Esta espécie é considerada herbívora de plantas superiores, porém de acordo com as condições do ambiente tem como fonte alternativa insetos e algas (GARAVELLO; SAMPAIO, 2010). A espécie *A.bifasciatus* é considerada uma das mais abundantes da bacia do rio Iguazu, apresentando distinção em seu ritmo alimentar sendo mais intenso durante o outono em regiões de represamento enquanto em regiões tributárias não é observado o mesmo padrão (BAUMGARTNER et al, 2012).

3.4 MÉTRICAS ASSOCIADAS AO PROCESSO REPRODUTIVO DE PEIXES

Para análise do ciclo reprodutivo de peixes utilizam-se métricas biológicas, tais como a relação gonadossomática (RGS), o índice hepatossomático (IHS), o índice de gordura celomática (IGC) e o fator de condição (K). Todas estas métricas estão relacionadas, culminando em um parecer sobre a biologia de uma determinada espécie no local de estudo.

O RGS é a métrica responsável por prestar informações cruciais sobre a biologia reprodutiva das espécies, como, por exemplo, na determinação do período reprodutivo e caracterização do tipo de desova, bem como sua relação espaço-temporal (COSTA et al., 2005). Esta métrica é dada pela função do peso da gônada dividido pelo peso total do animal (VAZZOLER, 1996), sendo muito mais responsiva em fêmeas, uma vez que suas gônadas incorporam nutrientes ao longo do desenvolvimento do ciclo.

A utilização de outras métricas fornece maior riqueza de dados e confiabilidade. Desta forma, é interessante promover a associação dos resultados de IHS, índice este que

relaciona o peso do fígado com o peso do animal, sendo responsável por determinar os picos de atividade hepática do animal, que em relação à reprodução estão relacionados aos processos de incorporação de reserva energética e o processo de vitelogênese (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002), o acúmulo de reserva energética ocorre com a incorporação de gordura na cavidade celomática do animal resultando em aumento de peso. Para verificação deste processo utiliza-se o IGC, métrica muito importante como determinante de disponibilidade de alimento no ambiente e corroborando com os dados de fator de condição (K).

O estado nutricional dos animais pode ser mensurado pelo fator de condição (K), o qual utiliza dados de comprimento e peso dos animais em um modelo matemático para estimar o grau de bem estar animal, relacionado à sua nutrição e sanidade (BARRETO; ARANHA, 2005).

Esta métrica esta relacionada com todas outras métricas citadas anteriormente, em relação ao processo reprodutivo. Nota-se que durante o período de desova o nível de estresse fisiológico do animal aumenta, valores de K encontrados nos mesmos animais em sua grande maioria caem drasticamente, principalmente em fêmeas. Para análise desta condição é feito o uso do fator de condição somático (K') proposto por Vazzoler (1996), o qual faz a relação do peso total do animal regredido do peso da gônada dividido pelo comprimento padrão do animal (GOMIERO; JUNIOR; BRAGA, 2010).

Com relação ao índice hepatossomático observa-se que o mesmo tente a acompanhar os valores de K assim como a repleção estomacal, tendo em vista que o fígado é responsável pela incorporação de reserva energética na forma de gordura celomática e que para que este processo ocorra a disponibilidade de alimento deve atender a demanda da espécie.

Desta forma podemos caracterizar o fator de condição como uma métrica que se mostra responsiva e comparativa a todas as análises realizadas com o uso dos índices anteriores. Além disso o fator de condição pode ser utilizado como métrica relacionada com o biomonitoramento, pois esta diretamente relacionado com o estado nutricional da espécie bem como o seu bem estar, fatores estes que sofrem mudanças diretas de alteração ambientais sendo elas antrópicas ou naturais (ARIAS et al., 2007).

Além do fator de condição demais métricas são utilizadas no biomonitoramento. Estas métricas estão amplamente relacionadas com o local de estudo, sendo propostas de acordo com a sua região e espécie, podendo ser padronizadas em referencia a área de estudo. Além disso as métricas nos fornecem informações de longo prazo (JARAMILO-VILLA; CARAMASCHI, 2008).

A utilização das métricas no biomonitoramento esta diretamente relacionada com a espécie bioindicadora, uma vez que a esta espécie deve ser tolerante as alterações encontradas no ambiente, desta forma por apresentar ampla distribuição espacial e também em nível trófico, os peixes se tornam ótimos organismos bioindicadores, assim como suas métricas se mostram responsivas no biomonitoramento (JARAMILO-VILLA; CARAMASCHI, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente trabalho foi realizado no rio Jirau Alto, o qual está situado no município de Dois Vizinhos ($25^{\circ} 44' 03''$ e $25^{\circ} 46' 05''$ Sul e $53^{\circ} 03' 01''$ e $53^{\circ} 03' 10''$ Oeste), na região sudoeste do estado do Paraná, Brasil. Este corpo d'água atravessa o município e é utilizado como fonte de abastecimento de água, liberação de efluentes industriais e esgotos clandestinos da cidade (Figura 1).

Dados disponíveis no portal de Dois Vizinhos ressaltam a forte produção industrial que ocorre no município e também a grande produção agrícola, de gado de corte e leiteira, bem como suinocultura e avicultura (PREFEITURA, 2013).

O rio Jirau Alto nasce em uma região mais afastada do perímetro urbano, sendo um ambiente mais preservado com boa cobertura vegetal. Mesmo assim, observa-se o desenvolvimento de áreas agrícolas, de pastagens e atividades de piscicultura nas proximidades. À medida que o rio adentra ao município, sofre progressivamente interferências adicionais de indústrias, lixo, esgoto e diminuição da vegetação ciliar.

Com base neste cenário foram determinados quatro pontos amostrais, buscando compreender toda a extensão do rio, sendo P1- montante: situado na área rural de Dois Vizinhos, este ponto é caracterizado por apresentar vegetação ciliar reduzida, presença de atividade agrícola e agropecuária; P 2- trecho urbano inicial: localizado logo após a estação de coleta de água da cidade e também a uma indústria de processamento de carnes e embutidos, vegetação ciliar diminuta, suprimida por edificações próximas do local; P3- trecho urbano central: localizado dentro do Parque Ecológico Municipal Jirau Alto, área de maior cobertura vegetal e com relevo marginal íngreme; P4- foz do rio: situado a jusante do município com escassa vegetação ciliar, está localizado próximo a uma indústria têxtil e esgotos clandestinos.

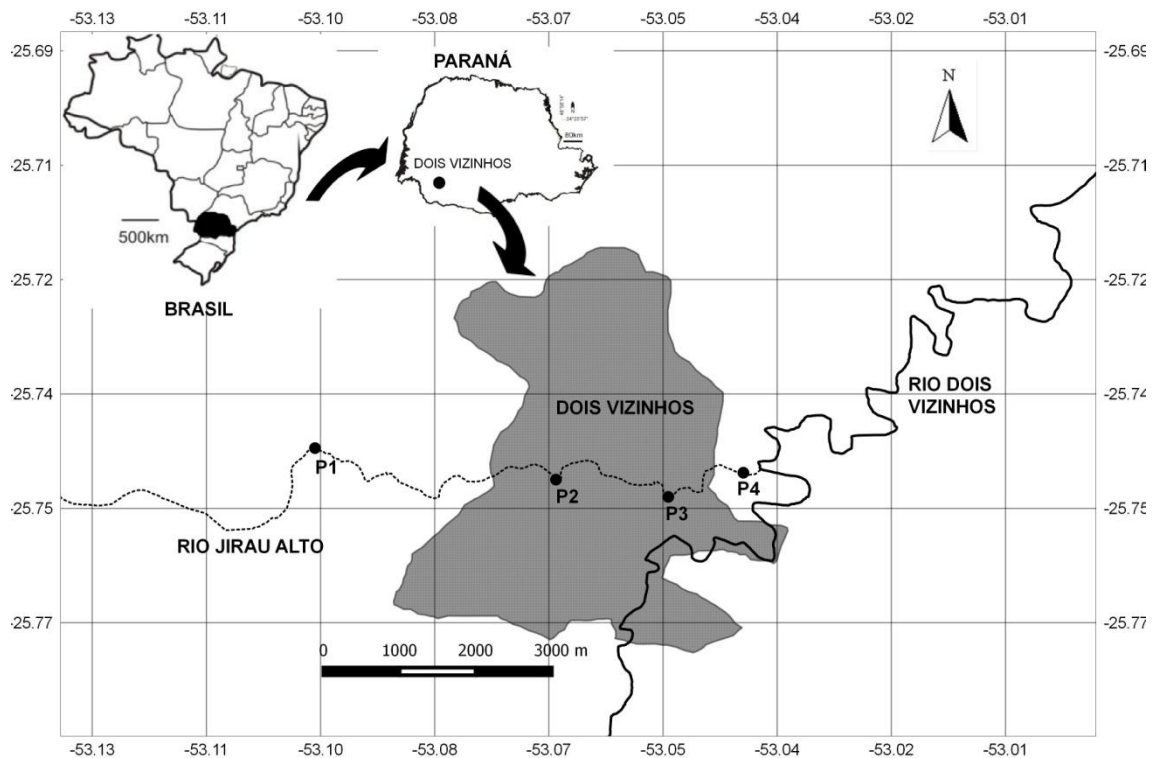


Figura 1 - Mapa com demarcações dos pontos de coleta de peixes no rio Jirau Alto no Município de Dois Vizinhos – Paraná, Brasil.

4.2 PROCEDIMENTO AMOSTRAL

As coletas foram realizadas mensalmente durante o período de outubro de 2015 a setembro de 2016. Para coleta dos exemplares utilizou-se de 1 covos e uma bateria de redes de emalhe em cada ponto de coleta, contendo quatro redes de espera de 10 X 1,5 m, as quais apresentaram malhas de 15mm, 20mm, 25mm e 30mm entre nós adjacentes e foram expostas por 24 horas. A disposição das redes foi feita paralelamente a margem do rio Jirau Alto, nos quatro pontos amostrais citados.

Os peixes capturados foram anestesiados com cloridrato de benzocaína (250mg/L) segundo as Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle em Experimentação Animal (CONCEA), que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais (CONCEA, 2013) e posteriormente fixados em Formol 10% e álcool 70% (SHIBATTA; CHEIDA, 2003), e levados ao laboratório de Zoologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Dois Vizinhos.

A triagem dos exemplares coletados foi realizada até o menor nível taxonômico possível com o auxílio de chaves de identificação propostas por BAUMGARTNER et al., (2012).

De cada exemplar foram obtidos dados sobre: comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), peso total (PT), peso das gônadas (PG), peso do fígado (PF), sexo e estádios de maturidade gonadal, além da data e local de coleta. Para este tipo de trabalho, com o uso de múltiplos indicadores, faz-se necessário seccionar, ventralmente, os indivíduos para a exposição das vísceras. As gônadas foram analisadas macroscopicamente quanto ao sexo e a escala de desenvolvimento, de acordo com a escala de maturidade ovariana proposta por Vazzoler (1996), e escala de maturidade testicular proposta por Gomes e Araujo (2004).

Os estádios determinados morfológicamente apresentam as seguintes características A - imaturo, tanto para machos quanto para fêmeas as gônadas apresentam-se translúcidas quase que imperceptíveis, B – em maturação ou repouso, para fêmeas observa-se gonatas amareladas com presença de folículos ovarianos pouco desenvolvidos, já para machos as gônadas apresentam coloração esbranquiçada, porém pouco desenvolvidas, C – maduro, determinada nas fêmeas por uma grande quantidade de folículos ovarianos de maior tamanho e coloração mais escura, para os machos observam-se gônadas bem desenvolvidas e de coloração branca, D – desovado/espermiado, observa-se gônadas reduzidas e com presença de folículos ovarianos maduros no caso das fêmeas, os machos apresentam áreas com presença de espermatozoide, porém os tuos seminíferos encontram-se vazios (ASSUNÇÃO, 2013).

Os procedimentos de coleta e de transporte dos exemplares encontram-se autorizados pelo Instituto Chico Mendes do IBAMA, SISBIO n° 50414-1. A Comissão de Ética no uso de Animais da UTPFR também autorizou os procedimentos descritos neste projeto, sob o protocolo n° 2015-020 (ANEXOS I e II). Esta proposta de trabalho de conclusão de curso faz parte de um projeto maior e, desta forma, as licenças supracitadas encontram-se autorizadas para o projeto intitulado “A utilização de diatomáceas e peixes como bioindicadores para avaliar um gradiente de poluição aquática no sudoeste do estado do Paraná”.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os índices obtidos através das métricas e que foram utilizados para análise reprodutiva estão representados abaixo:

- Relação gonadossomática alométrico (ANDRADE, 2000).

$$\text{RGS} = (\text{PG}/\text{PT}) \times 100$$

- Índice hepatossomático (ANDRADE, 2000).

$$\text{IHS} = (\text{PF}/\text{PT}) \times 100$$

- O fator de condição alométrico total (K) é baseado no coeficiente angular (b) do modelo potencial de regressão entre peso total e comprimento padrão. A variação do b indica o crescimento do animal e reflete o seu bem estar nutricional e fisiológico. O fator de condição somático (K') também faz uso do mesmo coeficiente angular, distinguindo-se na fórmula apenas no uso do peso, uma vez que se utiliza o PT menos o PG do animal dividido pelo seu CP (VAZZOLER, 1996).

$$K = (\text{PT}/\text{CP}^b)$$

$$K' = (\text{PT}-\text{PG})/\text{CP}^b$$

- Índice de repleção estomacal (IRE) (ANDRADE, 1990).

$$\text{IRE} = (\text{PE}/\text{PT}) \times 100$$

Os dados foram analisados mensalmente para avaliar o ciclo reprodutivo da espécie e também espacialmente para avaliar a influências locais. No primeiro caso, utilizou-se de estatística descritiva com uso de medidas de tendência central associadas às estimativas de erros.

Para o segundo caso realizou-se análises inferenciais com a aplicação de testes estatísticos paramétricos, utilizando apenas os dados coletados nos meses de janeiro e julho.

Estes dados foram obtidos em campanhas amostrais separadas, utilizando uma metodologia amostral diferente, a qual foi composta pelo uso de um covo e pela exposição de duas redes de emalhe, uma com malha de 15 e outra com 20 mm. Esta amostragem não apresentou um tempo de exposição determinado, pois se buscou a obtenção de aproximadamente 15 exemplares por ponto. Uma vez coletado o número de exemplares pretendido, as coletas eram imediatamente interrompidas. Padronizou-se apenas o uso de fêmeas para as análises espaciais dos dados, em virtude da sua maior abundância e por possuir métricas mais responsivas. Quando necessário, os dados foram transformados em Log_{10} para o cumprimento das premissas dos testes paramétricos de normalidade dos resíduos e homocedasticidade.

A análise dos pressupostos de normalidade dos resíduos e de homocedasticidade foram realizadas a partir dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Na sequência, utilizou-se o protocolo ANOVA bifatorial seguida pelo teste das menores diferenças de Fisher (LSD). Este teste foi aplicado com as seguintes variáveis dependentes: RGS, K e IR.

5 RESULTADOS

5.1 VARIAÇÃO TEMPORAL DOS ÍNDICES

5.1.1 Relação gonadossomática (RGS)

A partir da curva de maturação constatou-se para fêmeas que os maiores valores médios de RGS ocorreram nos meses de outubro e novembro, seguidos por uma diminuição abrupta nos meses de janeiro e fevereiro. Posteriormente, foi observado um novo aumento do RGS entre março e junho, indicando um segundo período de desova, de menor investimento. Nos meses subsequentes, observou-se um aumento progressivo nos valores de RGS, indicando maturação. Os machos tiveram desenvolvimento gonadal semelhante ao das fêmeas, sendo constatado que os maiores valores de RGS ocorreram de agosto a outubro, seguido por um súbito declínio em janeiro e fevereiro. Os machos também parecem apresentar um segundo período reprodutivo entre março a junho. Nos meses subsequentes observou-se um aumento progressivo no desenvolvimento gonadal. O mês de dezembro não apresentou resultados, uma vez que em decorrência de fortes chuvas durante o período de coleta não foram coletados exemplares de nenhuma espécie em ambos os pontos amostrais (Figura 2).

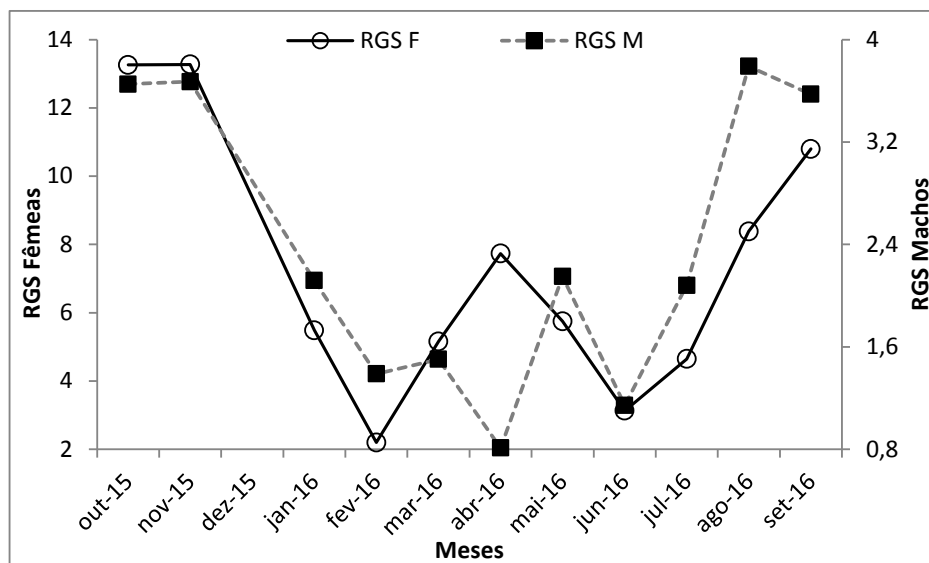


Figura 2 – Curva de maturação de fêmeas e machos de *A. bifasciatus*, com base relação gonadossomática média mensal dos indivíduos coletados no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

5.1.2 Frequência de estádios de maturação

A frequência percentual de estádios de maturação gonadal de fêmeas e machos complementam os resultados de RGS apresentados anteriormente, demonstrando maior proporção de indivíduos maduros nos meses de outubro, novembro e janeiro para ambos os sexos. Observou-se também a presença de indivíduos imaturos no mês de fevereiro, indicando o recrutamento da espécie. As fêmeas em estágio desovado nos meses de outubro, janeiro e fevereiro indicam a recuperação dos indivíduos para um próximo ciclo reprodutivo, enquanto que a presença de indivíduos maduros e desovados/espermiados entre março, abril e maio parece consistente com um segundo período reprodutivo (Figuras 3). De junho a setembro, verificou-se para ambos os sexos um aumento progressivo no número de indivíduos em maturação, corroborando com o aumento de RGS no período.

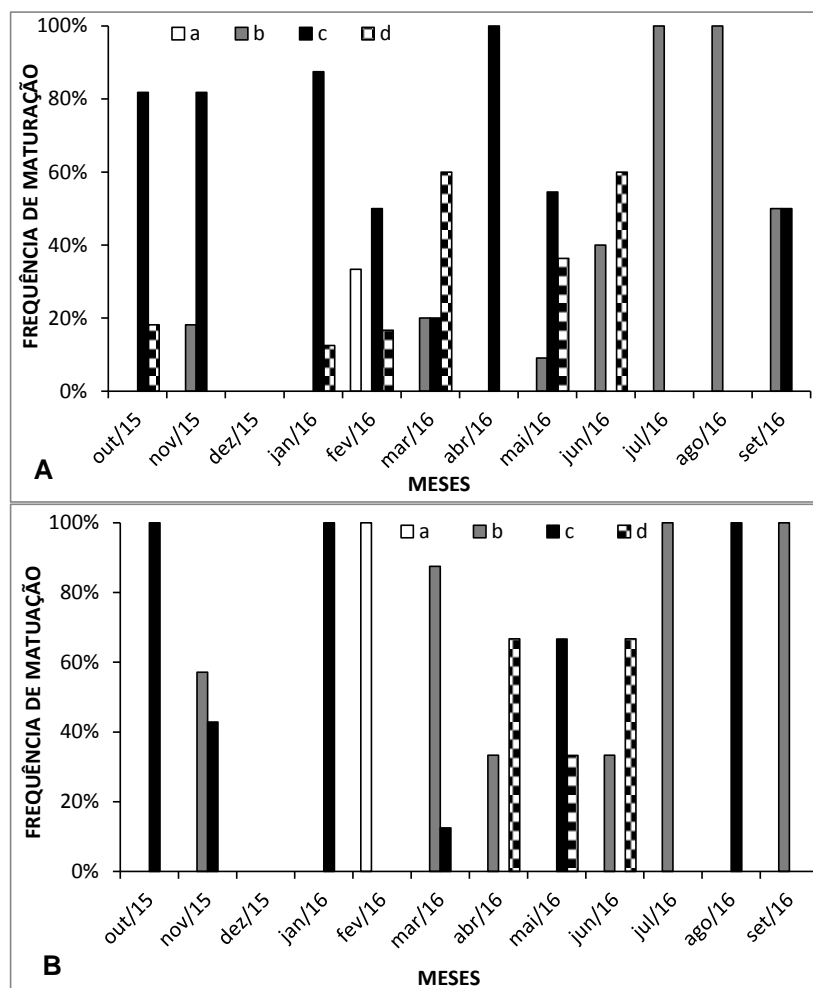


Figura 3 – Percentual da frequência de estádios de maturação de fêmeas (A) e machos (B) de *A. bisfasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná. (a – imaturo, b – em maturação ou repouso, c – maduro e d – desovado/espermiado).

5.1.3 Índice Hepatosomático (IHS)

A partir do índice hepatossomático mensal de fêmeas e machos observou-se que os menores valores médios ocorreram no mês de outubro. Nos meses subsequentes observa-se um aumento progressivo nos valores do IHS, indicando a incorporação de gordura na cavidade celomática dos indivíduos. De junho a agosto, verifica-se um declínio nos valores médios de IHS, evidenciando o deslocamento da gordura para as gônadas (Figura 4).

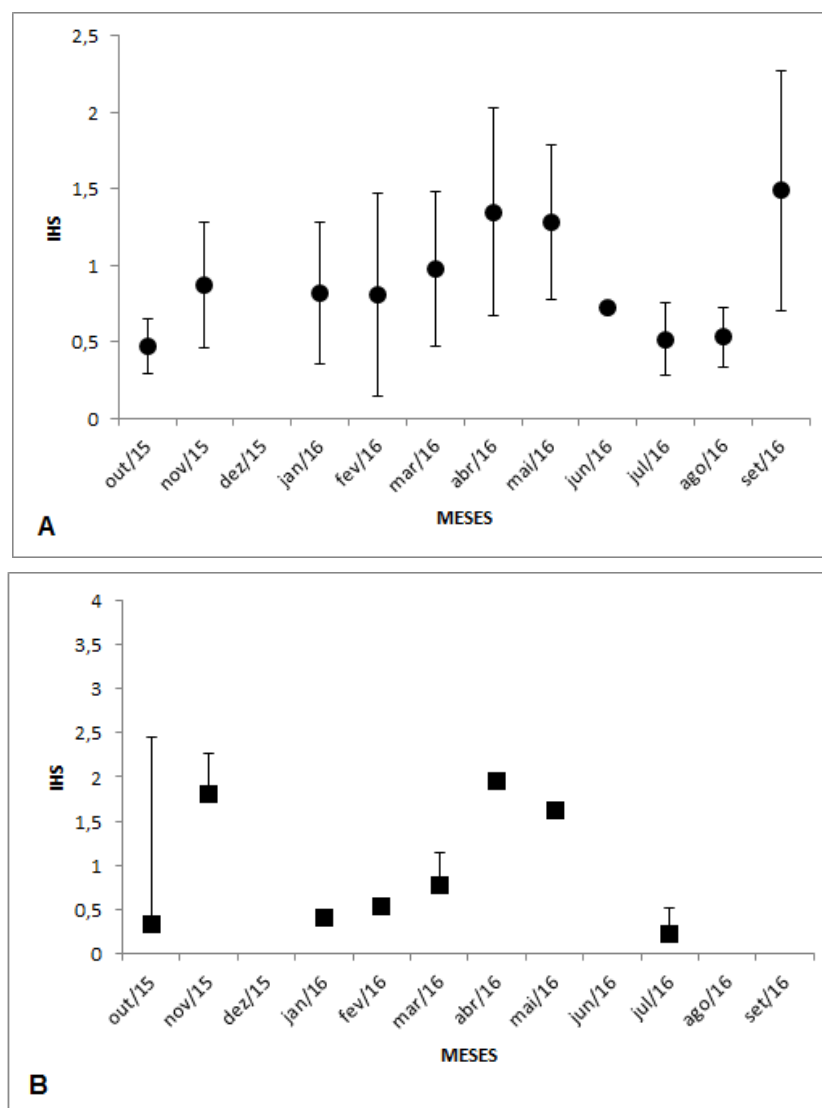


Figura 4 - Média e desvio padrão do índice hepatossomático (IHS) mensal de fêmeas (A) e machos (B) de *A. bifasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

5.1.4 Fator de condição

O fator de condição demonstrou que fêmeas e machos apresentam dois períodos de melhor estado nutricional ao longo do ano, sendo um de julho a setembro e outro de janeiro a março. Posterior a ambos os períodos observou-se uma sensível queda nos valores de K, indicando desova/espermição. Estes resultados são consistentes com o RGS e a frequência percentual de maturação gonadal. Ainda, constatou-se para ambos os sexos que as maiores diferenças entre o K e o K' ocorreram entre julho a janeiro, sugerindo maior investimento na gônada (Figura 5).

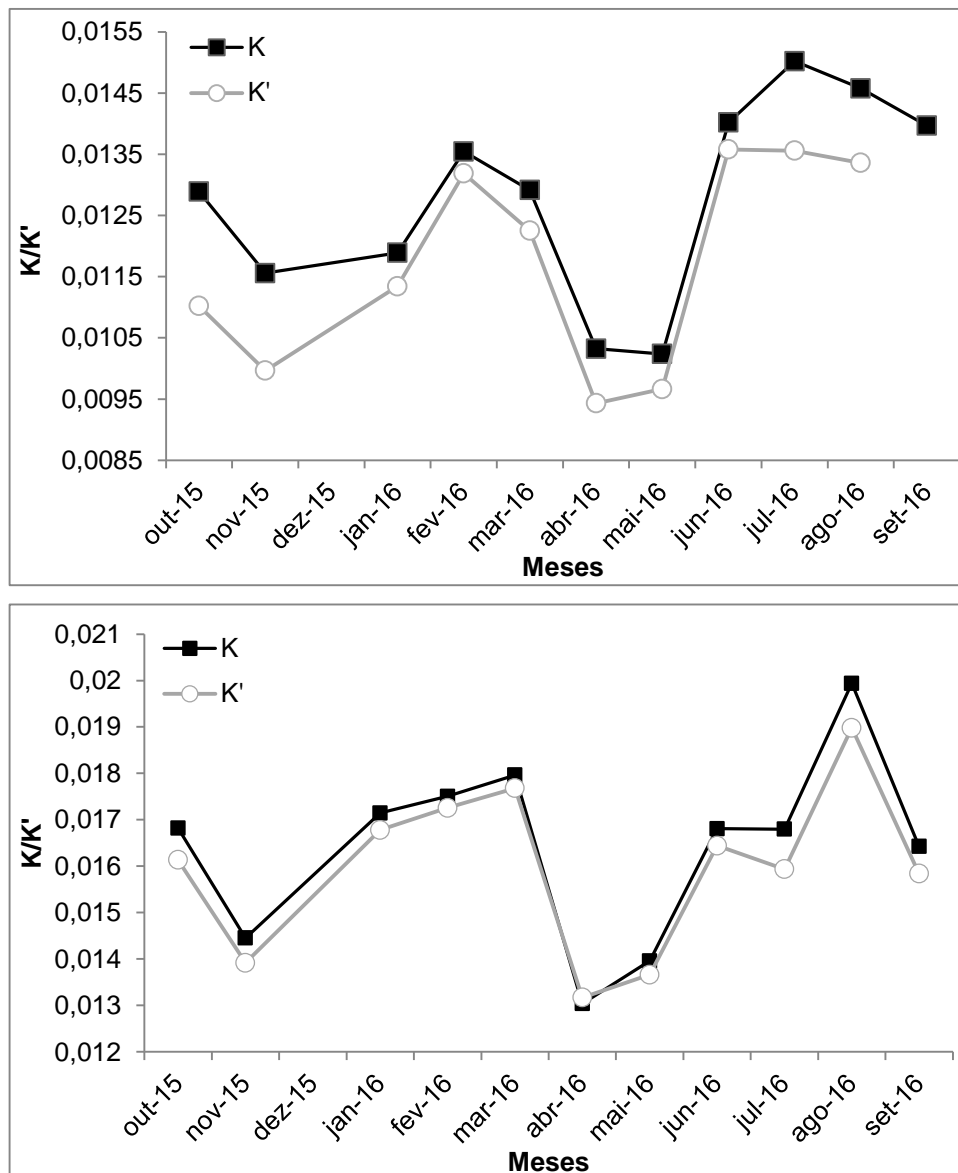


Figura 5 – Valores médio mensais do fator de condição total (K) e somático (K') para fêmeas (A) e machos (B) de *A. bifasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

5.1.5 Repleção estomacal

A partir da análise do índice de repleção estomacal da espécie foi possível constatar que em outubro os indivíduos apresentam predominância de estômagos semi-cheio (2) e cheio (3), enquanto que em novembro houve um decréscimo substancial do volume alimentar dos estômagos. Nos meses subsequentes ocorreu um aumento progressivo na frequência de estômagos cheios, indicando recuperação da atividade alimentar, porém no mês de abril observou-se uma regressão no número de estômagos cheios e um aumento no número de estômagos vazios (1) indicativo este de um segundo momento de desova, ainda assim menor que o ocorrido em novembro. Os meses que seguem caracterizam um período longo de investimento no processo reprodutivo (Figura 6).

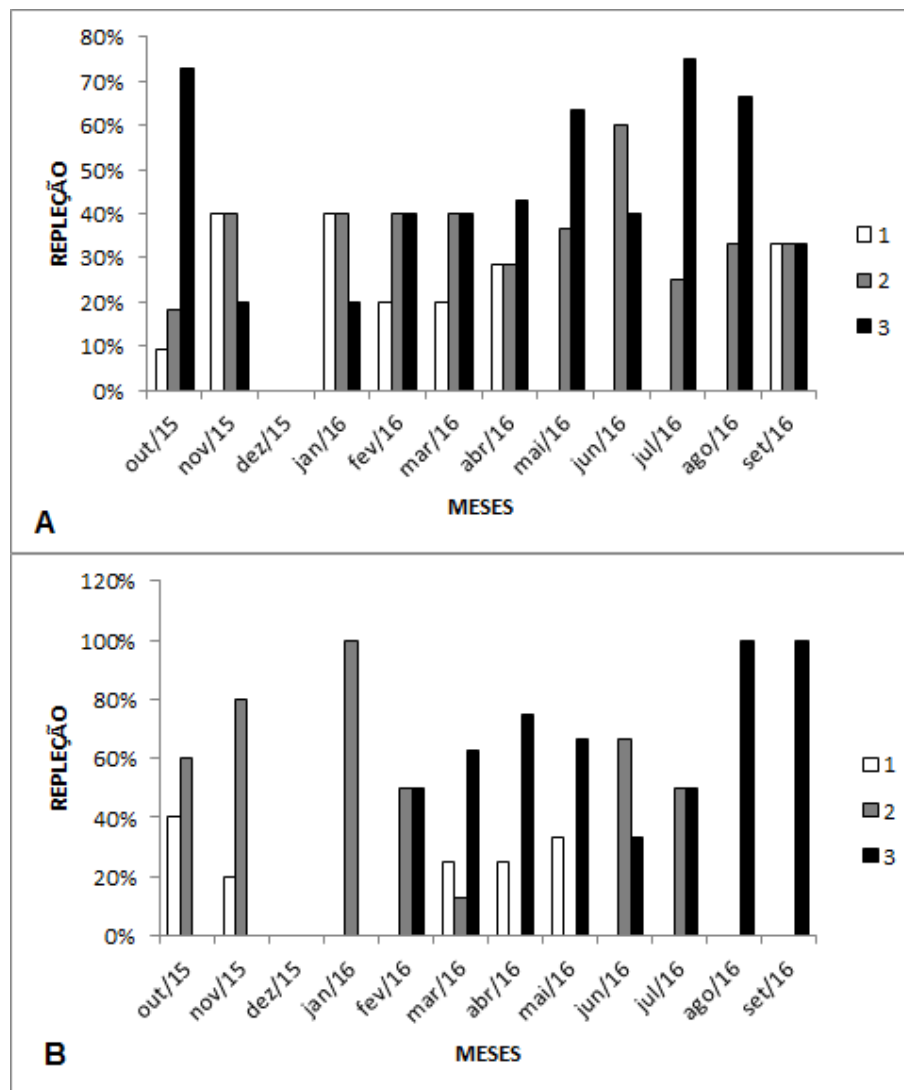


Figura 6 – Frequência percentual de repleção estomacal mensal de fêmeas (A) e machos (B) no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná. Onde 1 - vazio, 2 - semicheio e 3 - cheio.

5.1.6 Proporção sexual

Apesar da dominância numérica de fêmeas em relação aos machos em quase todos os meses analisados, verificou-se que poucos meses apresentaram diferenças significativas entre os sexos ($\chi^2 > 3,84$; $p > 0,05$); apenas nos meses de abril, maio e agosto (Figura 7).

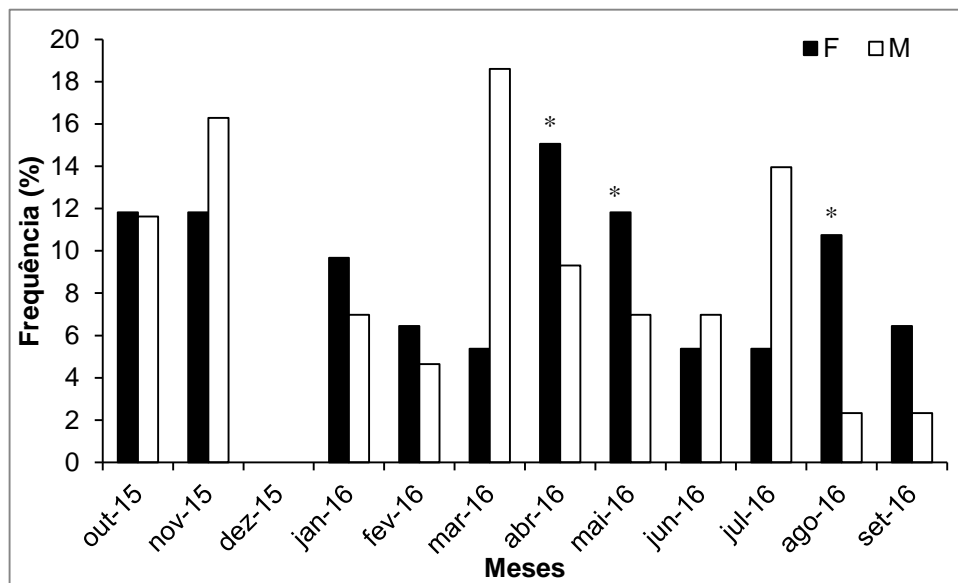


Figura 7 – Frequência percentual mensal de fêmeas (A) e machos (B) no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos-PR.

5.2 VARIAÇÃO ESPACIAL DOS INDICADORES

5.2.1 Relação gonadossomática (RGS)

Através da ANOVA bifatorial constatou-se que o RGS não apresentou diferença significativa entre: pontos amostrais, estações ou interação de fatores (Tabelas 1 e Figura 8).

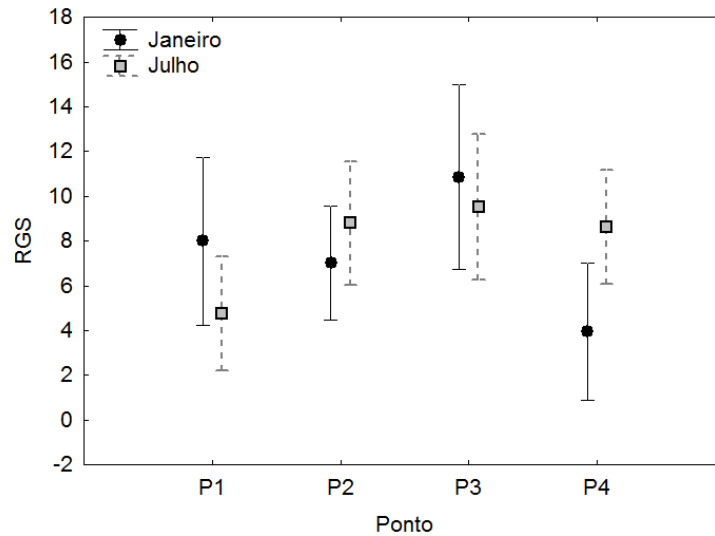


Figura 8 – Média e intervalo de confiança da relação gonadossomática (RGS) espacial de fêmeas de *A. bifasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

5.2.2 Fator de condição espacial

O fator de condição variou significativamente entre os pontos amostrais, estações de ano e na interação de ambos os fatores (tabela 1). A principal variação observada foi temporal, sendo que os indivíduos coletados em janeiro apresentaram melhor estado nutricional. O ponto P1 apresentou maior estabilidade no bem estar dos indivíduos, sendo constatados valores intermediários, independentemente da época do ano. Os indivíduos dos pontos P3 e P4 apresentaram os maiores K em janeiro e os menores em julho (Figura 9).

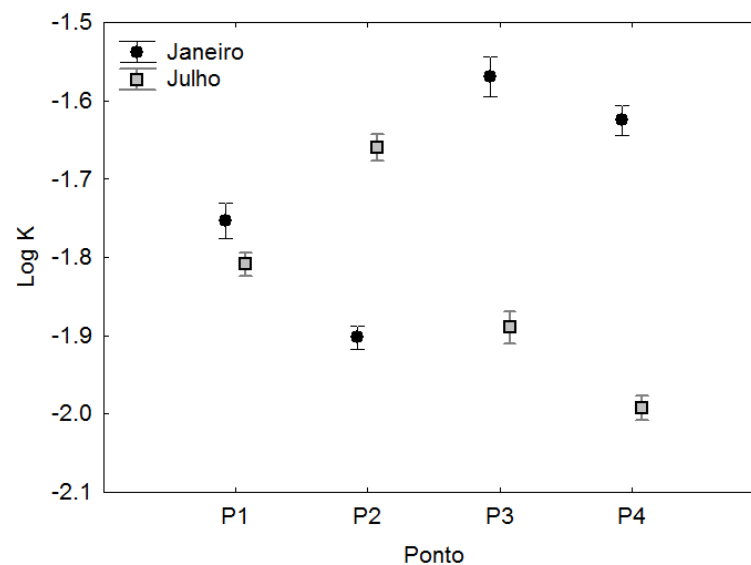


Figura 9 – Média e desvio padrão do fator de condição espacial de fêmeas (A) e machos (B) no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

5.2.3 Índice de repleção (IR)

Os valores de IR apresentaram significativas variações entre os pontos amostrais e as estações do ano, mas sem demonstrar interações entre estes fatores (Tabela 1). Os indivíduos dos pontos P1 e P2 apresentaram os maiores valores do índice de repleção, demonstrando estômagos proporcionalmente mais cheios. Já os espécimes dos pontos P3 e P4 tiveram os menores valores médios de IR (Figura 10). Ainda, constatou-se que os animais coletados no verão (janeiro) apresentaram significativamente maiores valores de IR quando comparado aos indivíduos do inverno (julho).

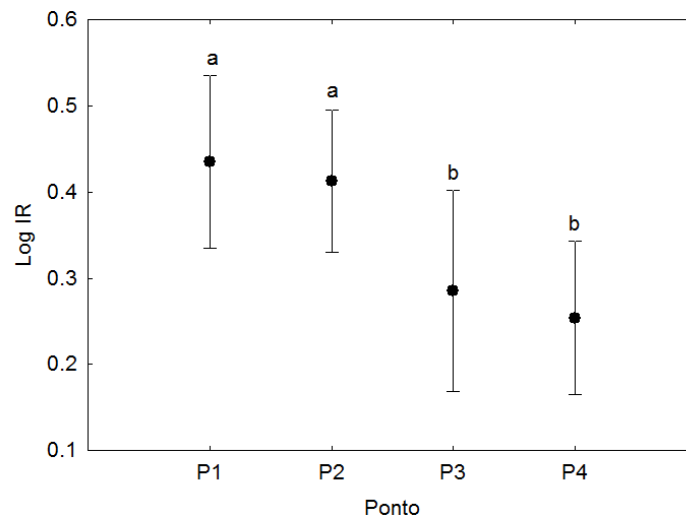


Figura 10 – Média e intervalo de confiança do índice de repleção espacial de fêmeas de *A. bifasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

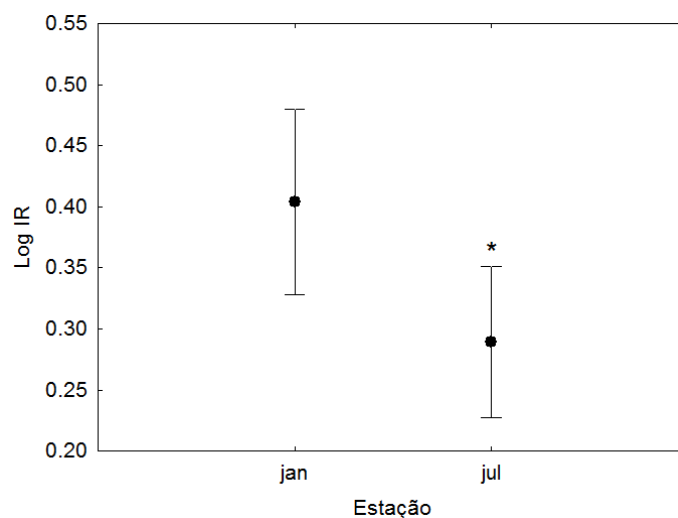


Figura 11 – Média e intervalo de confiança do índice de repleção temporal de fêmeas de *A. bifasciatus* no rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná.

Tabela 1 – Resultado da ANOVA bifatorial para a relação gonadossomática (RGS), fator de condição (K) e índice de repleção (IR) para fêmeas de *A. bifasciatus* do rio Jirau Alto, Dois Vizinhos, Paraná. F = teste de Fisher; gl = graus de liberdade; p-valor = valor da probabilidade estatística.

Variável	Fatores	gl	F	p valor
RGS	Ponto	3	2,28	>0,05
	Estação	1	0,18	>0,05
	Interação	3	2,60	>0,05
K	Ponto	3	20,00	<0,05
	Estação	1	335,70	<0,05
	Interação	3	511,00	<0,05
IR	Ponto	3	3,68	<0,05
	Estação	1	5,40	<0,05
	Interação	3	2,14	>0,05

6 DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos para *A. bifasciatus* se pode constatar as múltiplas respostas fisiológicas dos animais frente ao processo reprodutivo, interferindo diretamente no desenvolvimento das gônadas, na biomassa do fígado e na condição nutricional dos indivíduos ao longo do tempo. Além disso, verificou-se que os parâmetros reprodutivos variam espacialmente, o que pode estar relacionado à poluição aquática.

A relação entre os indicadores RGS, frequência dos estádios de maturação gonadal, IHS e K indicou a existência de dois períodos reprodutivos ao longo do ano. O período de maior desenvolvimento ocorreu de agosto a janeiro, com um pico no desenvolvimento gonadal de fêmeas e machos em novembro. Resultados semelhantes foram obtidos para outra espécie do gênero *Astyanax*, a qual apresentou alta atividade reprodutiva durante todo o ano, com pico do desenvolvimento gonadal entre os meses de novembro a fevereiro (MELO et. al, 2005). Sugere-se que o processo reprodutivo do gênero *Astyanax*, assim como de diversos outros gêneros, seja desencadeado primordialmente pelos mesmos fatores ambientais, regulando e sincronizando o período de maior atividade reprodutiva. Em ambientes subtropicais, como no caso deste estudo, as variações no fotoperíodo e na temperatura parecem exercer os gatilhos fisiológicos necessários para regular todo o processo (RIZZO; BAZZOLLI, 2014).

Por outro lado, o segundo período reprodutivo observado de março a maio pode estar relacionado à estratégia reprodutiva da espécie em tributários de pequena ordem, tal como o rio Jirau Alto. Nestes ambientes, onde a instabilidade ambiental é uma realidade, a espécie pode ter se adaptado em maturar suas gônadas bianualmente para aumentar a probabilidade de sucesso de sua prole e o seu poder de resiliência. Ainda, sugere-se que estudos histológicos sejam realizados para maior investigação.

A relação inversa observada entre os dados de RGS e IHS, principalmente de fêmeas, nos meses de outubro e novembro, indica a produção e posterior exportação de vitelogenina do fígado para as gônadas, levando a um acúmulo de vitelo nos ovócitos. Por outro lado, a partir do mês de fevereiro verificou-se um aumento do IHS associado a uma diminuição do RGS que, provavelmente, esteve relacionado ao período no qual a atividade do fígado aumenta em resposta a constante produção hormonal (BORELA; COSTA; BATLOUNI, 2014).

A análise macroscópica das gônadas permitiu calcular a frequência percentual mensal dos estádios de maturação gonadal para fêmeas e machos de *A. bifasciatus* e, a partir destes, observou-se sua correlação com o RGS e o K ao indicar o período de maior atividade reprodutiva, com maior proporção de indivíduos maduros. Além disso, pode-se verificar o recrutamento da espécie em janeiro e fevereiro com indicativo para a segunda parcela de desova em abril e a partir de junho iniciou-se outro período de recrutamento para a desova principal que ocorre no período de outubro a janeiro. Isso demonstra a importância da área de estudo no ciclo de vida da espécie, sendo importante em todas as etapas. Por ser uma espécie endêmica da Bacia do Rio Iguaçu, evidencia-se a importância da conservação da Microbacia do rio Jirau Alto. Além de análises mais aprofundadas sobre o aumento populacional desta espécie que é abundante em reservatórios e pode ter se aproveitado dos represamentos para aumentar sua abundância em regiões tributárias, aumentando a competição com as demais espécies, principalmente por seu potencial oportunista.

O índice de repleção estomacal relacionou-se estreitamente com o período de reprodução da espécie, evidenciando-se uma redução no volume alimentar no mês de novembro, indicando um período de intensificação da desova e espermiacão da espécie. Este período leva os animais a um maior nível de estresse fisiológico, que pode inclusive ser constatado pela flutuação do K, fazendo com que eles diminuam consistentemente a sua atividade alimentar (VAZZOLER, 1996). Nos meses subsequentes observou-se um incremento dos estômagos cheios e semicheios, sincronizando com o período de elevação da condição nutricional dos espécimes e recuperação das gônadas.

Todas as análises apresentadas e discutidas anteriormente corroboram com os resultados obtidos para o fator de condição total (K) da espécie. A maior diferença entre o K e o K', em ambos os sexos, indica o período de maior investimento gonadal, convergindo para os maiores valores de RGS e com as maiores frequências de indivíduos maduros, como já apresentados.

Em ambos os sexos, observou-se um decréscimo progressivo do K imediatamente após os períodos de maior atividade reprodutiva, suportando a argumentação de que nos meses anteriores ocorreu a intensificação da desova e da espermiacão, levando os indivíduos a um estresse fisiológico (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002). Após os períodos críticos, os valores de K subiram rapidamente, sugerindo um aumento no bem estar nutricional, que de fato é corroborado pela maior frequência de estômagos semicheios ou cheios.

Embora se tenha observado um predomínio numérico de fêmeas sobre os machos, poucos meses apresentaram diferença significativa na proporção sexual. Estes dados podem

sofrer alterações por diversos fatores como morte diferencial, comportamento e crescimento. Geralmente em ambientes que apresentam fator de condição estável ou em níveis próximos para machos e fêmeas, tende-se a encontrar proporção sexual igualitária, como observado no presente trabalho, assim como no estudo de Nascimento; Yamamoto; Chellappa (2012), utilizando a espécie *Hypsolebias antenori*.

A análise temporal das diferentes métricas proporcionou informações sobre o ciclo reprodutivo da espécie relacionadas a condição nutricional e fisiológica dos indivíduos.

Algumas métricas foram utilizadas em análises espaciais, visando verificar o efeito local na biologia da espécie. Os dados de RGS espacial para as fêmeas não foram significativos entre os pontos amostrais e indicam investimentos reprodutivos semelhantes, possivelmente por se tratar de um período de recuperação, condição esta em que as gônadas dos animais não apresentam muitas diferenças.

Os valores de K (fêmeas) apresentaram diferenças significativas entre os pontos amostrais e os meses de coleta, de modo que houve interação destes fatores. Em geral, se observou que o mês de janeiro teve os maiores valores, exceto no P2, possivelmente devido a maior produtividade do verão. Os altos valores de K no P2 em julho provavelmente estiveram associados a uma indústria de processamento de carnes e embutidos, a qual conta com uma série de lagoas de descarte de materiais orgânicos, algumas em implantação. Provavelmente, ocorreu um escoamento direto dos rejeitos, indicando um aumento brusco na disponibilidade de matéria orgânica naquela época (OLIVEIRA; BERMMEMANN, 2016).

No ponto P1, o K se mostrou mais estável, enquanto nos pontos P3 e P4 houve grande amplitude de variação desta métrica. Provavelmente a disponibilidade de nutrientes é desigual entre os pontos e os meses. No P3 e P4 observa-se a presença de fundo consolidado e maior vazão da água e, desta forma, pouca deposição de matéria orgânica. Já em P1 e P2 o fundo é não consolidado e a vazão é menor, o que permite acúmulo de matéria orgânica e possivelmente maior produtividade. No entanto, é necessário avaliar outras métricas para maior confiabilidade nas respostas e nos resultados.

Reforçando a ideia anterior os valores de IR indicam que em ambas as estações P1 e P2 apresentaram valores mais elevados em relação a P3 e P4. Foi observado também que no mês de janeiro o número de animais com estômagos cheios foi significativamente maior do que no mês de julho. Este fato pode estar relacionado com as estações do ano. Gomiero et. al (2007) obtiveram dados semelhantes aos encontrados no presente trabalho utilizando a espécie *Rhandia quelen*, onde os períodos que compreendem as estações de primavera e verão apresentaram valores de IR maiores que o períodos de outono e inverno.

Por fim, verificou-se que as métricas reprodutivas podem contribuir com os estudos sobre biologia reprodutiva de espécies não estudadas ou endêmicas, bem como fornecer informações sobre a biologia da espécie. O uso destas métricas como indicadores de sanidade ambiental precisa ser melhor investigado, pois a variação temporal exerce grande influência natural nas respostas fisiológicas relacionadas à reprodução. Assim, recomenda-se cautela no uso destes parâmetros para esta finalidade.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que as análises temporais e espaciais forneceram informações muito importantes sobre a biologia reprodutiva da espécie. Foram identificados dois períodos de reprodutivos, sendo um de maior investimento em novembro de e outro de menor investimento em abril. Observou-se ainda que a espécie utiliza a área durante todo o seu ciclo de vida, incluindo o recrutamento em fevereiro. As análises espaciais indicaram que não houve diferenças significativas entre os pontos e meses nos níveis de RGS, sendo observadas diferenças somente nos valores de K e IR, onde K apresentou interação dos fatores se mostrando a métrica mais reponsiva. Mesmo assim, observou-se que é necessário se ter cautela na utilização das métricas reprodutivas no biomonitoramento, sendo sugerido o uso de outras métricas associadas para uma maior confiabilidade dos resultados.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A.; MIRANDA, L. E.; BINI, L. M.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M. & SUZUKI, H. I. Patterns of colonization in neotropical reservoir, and prognoses on aging. In: TUNDISI, J. G. & STRASKRABA, M. eds. Theoretical reservoir ecology and its applications. São Carlos, Brasil. **Academic of Science and Backhuy**. 592p. 1999.
- ARIAS, Ana R. L.; BUSS, Daniel F; ALBURQUERQUE, Carla de; INÁCIO, Alan F; FREIRE, Marina M; EGLER, Mariana; MUGNAI, Riccardo; BAPTISTA, Darcilio F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Mangueiras, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- ASSUNÇÃO, Marcelo, H. C. **Caracterização da reprodução de *Astyanax fasciatus* durante a domesticação**. Jaboticabal, São Paulo. Centro de agricultura - UNESP, 2013.
- BARRETO, Almir P; ARANHA, José M. R. Assembléia de peixes de um riacho da Floresta Atlântica: composição e distribuição espacial (Guaraqueçaba, Paraná, Brasil). **Acta Scientiarum Biological Sciences**. Maringá, v. 27, no. 2, p. 153-160, 2005.
- BAUMGARTNER, Gilmar; PAVANELLI, Carla S. ; BAUMGARTNER, Dirceu; Alessandro Gasparetto Bifi ; Tiago Debona ; FRANA, Vitor, A. **Peixes do baixo rio Iguçu**. Maringá: EDUEM, 2012.
- BORELA, Inês M.; COSTA, Gonçalves F.; BATLOUNI, Ricardo S. Gametogênese e o eixo Hipotálamo-Hipófise-Gônadas In: **Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais de Água Doce**. Jaboticabal, Ed. FUNEP; 2014. Pag. 285.
- CONCEA, (CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL). **Diretrizes da prática de Eutanásia do CONCEA**. 2013, 54 p. disponível em: http://www.mct.gov.br/upd_blob/0228/228432.pdf. Acesso em: 10 nov. 2015.
- COSTA, A. P. R. , ANDRADE, D. R. de, JUNIOR, M. V. V., SOUZA, G. Indicadores Quantitativos Da Biologia Reprodutiva De Fêmeas De Piau-Vermelho No Rio Paraíba Do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**., Brasília, v.40, n.8, p.789-795, ago. 2005.
- FLYNN, Maurea N; LOURO, Mônica P; SILVA, Leila C. M; ROSSI, Maura V. et al. Indicadores de qualidade da água e biodiversidade do Rio Jaguari-Mirim no trecho entre as pequenas centrais hidrelétricas de São José e São Joaquim, São João da Boa Vista, São Paulo. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 2, p. 19-35, jun. 2011.

GARAVELLO, J. C.; SAMPAIO, F. A. A. Five new species of genus *Astyanax* Baird & Girard, 1854 from Rio Iguaçu, Paraná, Brazil (Ostariophysi, Characiformes, Characidae). **Journal of Biology**, São Carlos, no. 3, p. 847-865, 2010.

GHISI, Nédia de C. **Relação peso-comprimento e fator de condição de *Astyanax* aff. *paranae* (Pisces) em corpos hídricos com diferentes níveis de interferência antrópica, no centro-oeste do Paraná.** Publicação UEPG, Ciência Biologia Saúde, Ponta Grossa, v.18, n.1, p. 53-60, 2012.

GOMES, I. D. ; ARAUJO, F. G. Reproductive biology of two marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba Bay, Brazil. **Revista de Biología Tropical**, v. 52, n. 1, p. 143–156, 2004.

GOMIERO, Leandro, M.; JUNIOR, Gilberto, A. V; BRAGA, Francisco, M. de S. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) no Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, estado de São Paulo. **Biota Neotropical**, vol. 10, no. 1, 2010.

GOMIERO, Leandro, M.; SOUZA, Ursula, P.; V; BRAGA, Francisco, M. de S. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. **Biota Neotropical**, Vol.7 , n 3; p. 127-133 2007.

JARAMILO-VILLA, Ursula; CARAMASCHI, Érica, P. Índices de integridade biótica usando peixes de água doce: uso nas regiões tropical e subtropical. **Oecol. Brasil**, v 12, n. 3, p. 442-462, 2008.

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes**. London, Chapman & Hall, vol 7, 455 p, 1995.

MELO, F.C.S.A.; MALDONADO, I.R.S.C.; BENJAMIN, L.A.; MATTA, S.L.P. Biologia reprodutiva de fêmeas de lambari-prata *Astyanax scabripinnis* (Chacaridae, Tetragnopterinae) em tanques de piscicultura. **Revista Ceres**. Viçosa. MG, v.52, n.304, p. 811-829, 2005.

NASCIMENTO, W. S; YAMAMOTO, M. E; CHELLAPPA S. Proporção sexual e Relação peso-comprimento do peixe anual *Hypsolebias antenori* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) de poças temporárias do Semiárido brasileiro. Amapá. **Biota Amazônia**, vol. 2, pp. 37–44, 2012.

OLIVEIRA, Deise. C. ; BERMMEMANN, Sirley. T. Ictiofauna, recursos alimentares e relações com as interferências antrópicas em um riacho urbano no sul de Brasil. *Biota Neotrop.* Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v5n1/pt/abstract?article+BN02905012005>>, Acesso em: 22 out 2016.

OLIVEIRA, E. C. DE; FAVARO, L. F. Reproductive biology of the flatfish *Etropus crossotus* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in the Paranaguá Estuarine Complex, Paraná State, subtropical region of Brazil. **Sociedade Brasileira de Ictiologia**, Londrina, v. 9, n. 4, p. 795–805, 2011.

PREFEITURA MUNICIPAL DE DOIS VIZINHOS. Dados Gerais: Secretaria do Meio Ambiente, 2013. Disponível em: <<http://doisvizinhos.pr.gov.br/sobre-o-municipio/dados-gerais/>>. Acesso: 29 jul. 2015.

QUEROL, Marcos, V. M.; QUEROL, Enrique; GOMES, Nara, N. A. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 92, n. 3, p. 79–84, 2002.

RIZZO, Elizete; BAZZOLI, Nilo. Reprodução e Embriogênese In: **Biologia E Fisiologia De Peixes Neotropicais De Água Doce**. Jaboticabal, Ed. FUNEP; 2014. Pag. 265.

SILVA, Juliano. P. A. da, MUELBERT, Adriane. E., OLIVEIRA, Elton. C. de, FÁVARO, Luís. F., Reproductive tactics used by the Lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguazu River. **Sociedade Brasileira de Ictiologia**. Londrina v. 8, n. 4, p. 885-892, 2010.

SHIBATTA, Oscar. A.; CHEIDA, Carolina. C. Composição em tamanho dos peixes (Actinopterygii, Teleostei) de ribeirões da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 3, p. 469–473, 2003.

VAZZOLER, Anna. E. A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996.

ANEXOS



PROJETO DE PESQUISA / AULA PRÁTICA

Título:	A utilização de diatomáceas e peixes como bioindicadores para avaliar um gradiente de poluição aquática no sudoeste do estado do Paraná
Área Temática:	Ciências Ambientais
Pesquisador / Professor:	Prof. Dr. Elton Celton de Oliveira
Instituição:	UTFPR/ Dois Vizinhos
Financiamento:	CNPQ - MCTI/CNPQ/Universal 14/2014; Processo: 455513/2014-7
Versão:	01

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA	Protocolo nº 2015-020
Apresentação do Projeto: O projeto em apreciação visa avaliar um pressuposto gradiente de poluição em ambiente dulcícola (incluindo, em parte, zona urbana) usando peixes e diatomáceas como bioindicadores.	
Objetivo: - Caracterizar o ambiente a partir dos dados abióticos de forma comparativa ao longo do pressuposto gradiente de poluição aquática; - Avaliar composição e estrutura de peixes e diatomáceas ao longo do gradiente; - Averiguar a consonância entre os dados bióticos e abióticos ao longo do gradiente; - Estimar o estresse ambiental a partir de biomarcadores genéticos, teciduais, celulares e hematológicos dos peixes.	
Avaliação dos Riscos e Benefícios: Estudos que demonstram a real situação em termos físicos, químicos e de diversidade biológica, principalmente em áreas de preservação ambiental, têm relevância considerável, uma vez que podem retratar as condições dos recursos naturais, sejam terrestres ou aquáticos. Tais recursos, por consequência, têm seus efeitos em comunidades humanas, o que é automaticamente associado à saúde individual e também ao bem-estar coletivo. Principalmente em ambientes adjacentes, ou muito próximos, a aglomerações humanas, uma variedade de substâncias de origem antrópica, com potencial efeito mutagênico, genotóxico e histopatológico, pode atingir rios e lagos. Nestas situações, virtualmente todos os organismos residentes, ou que dependam em algum grau destes corpos d'água, poderão sofrer diretamente de tais efeitos. Neste contexto, o estudo proposto é justificado visto a necessidade de monitoramento de ambientes de alta influência em comunidades humanas e sua qualidade de vida. Neste caso em particular, o corpo hídrico é fonte de	



abastecimento público de água do município de Dois Vizinhos.

Muito embora seja revelado no projeto que os animais coletados passarão por estresse mínimo pelo próprio evento da captura, o proponente e sua equipe tomarão medidas atenuantes em dois momentos. Primeiramente, ainda em campo, os peixes serão acondicionados em caixas termicamente isolantes de grande volume, contendo água da própria localidade e aeradas artificialmente. Ou seja, certas condições químicas e físicas serão mantidas próximas das do ambiente original. Segundo, em laboratório, os animais serão anestesiados com cloridrato de benzocaína ainda antes de serem manipulados para a anotação de seus dados corporais. Para a eutanásia (necessária para a tomada de tecidos corporais para os testes com marcadores moleculares), os peixes serão imersos numa solução de benzocaína alcoólica tamponada até cessarem os movimentos operculares (dentro das diretrizes de prática de eutanásia do CONCEA).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa / Aula Prática:

A metodologia a ser aplicada é compatível com os objetivos da proposta e também encontra-se dentro dos parâmetros usualmente aplicados naquela área específica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados à presente solicitação os seguintes termos e documentos: 1) o requerimento preenchido e assinado pelo pesquisador responsável pelo projeto; 2) o formulário unificado de encaminhamento ao CEUA-UTFPR; 3) projeto de pesquisa completo no modelo da PROPPG-CEUA; 4) a declaração de não início do projeto (com assinatura e data); 5) a cópia da autorização de coleta e transporte do SISBIO, número 50414-1 de 02/09/2015; 6) o registro de projeto junto à DIRPPG-DV.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A metodologia proposta segue parâmetros usualmente aplicados na área específica. Os procedimentos para eutanásia dos peixes estão de acordo com as diretrizes do CONCEA. Todos os documentos exigidos foram apresentados e em ordem.

Situação do Parecer:

O parecerista é favorável à aprovação da proposta.

Considerações Finais a Critério da CEUA:

Todos os membros presentes na reunião de 08 de outubro de 2015 acompanharam a decisão do parecerista.



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "A utilização de diatomáceas e peixes como bioindicadores para avaliar um gradiente de poluição aquática no sudoeste do estado do Paraná", protocolo nº 2015/020, sob a responsabilidade de Elton Celton de Oliveira - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - 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 da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UTFPR) da UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, em reunião de 08/10/2015.

Nº da Solicitação ou Autorização	50414-1 de 02/09/2015
SISBIO:	
Atividades:	Captura e coleta de espécimes.
Espécies/Grupos Taxonômicos:	Variadas espécies de peixes Actinopterygii, provavelmente pertencentes às seguintes Ordens: Gymnotiformes, Cypriniformes, Cyprinodontiformes, Atheriniformes, Synbranchiformes, Characiformes, Siluriformes e Perciformes.
Peso/Idade:	Indefinidos
Local(is):	Rio Jirau Alto, município de Dois Vizinhos, Paraná.

Dois Vizinhos, 08 de outubro de 2015.

Assinado por:

Gustavo Sene Silva

Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 50414-1	Data da Emissão: 02/09/2015 15:43	Data para Revalidação*: 01/10/2016
* 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: Elton Celton de Oliveira	CPF: 039.062.859-01
Título do Projeto: A utilização de peixes como bioindicadores para avaliar um gradiente de poluição aquática no sudoeste do estado do Paraná	
Nome da Instituição : Universidade Tecnológica Federal do Paraná	CNPJ: 75.101.873/0006-02

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta mensal de espécimes	09/2015	10/2016
2	Triagem de material em laboratório	09/2015	10/2016
3	Processamento de amostras biológicas em laboratório	10/2015	12/2016
4	Divulgação dos resultados	06/2016	06/2017

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, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NAO exige 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 da 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 in situ.
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 subsidiaram 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/cgen .
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.

Outras ressalvas

1	Reiteramos nesta ressalva que, conforme preenchido/solicitado pelo pesquisador, o mesmo declarou que não pretende coletar espécies ameaçadas de extinção. A coleta de espécimes representantes de espécies constantes em listas oficiais de espécies ameaçadas, seja em âmbito federal, estadual, distrital ou municipal não esta coberta por esta autorização, sujeitando os infratores aas penalidades previstas no Decreto Federal 6514/08, sem prejuizo de outros instrumentos legais cabíveis.
---	---

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Maria Antônia Michels de Souza	colaboradora	889.023.409-10	11.121.962-1 SSP-PR	Brasileira
2	Alexandre Augusto Auache Filho	Colaborador	096.118.329-23	98199721 SESP-PR	Brasileira
3	Fernanda Ferrari	colaboradora	037.942.219-07	68087414 SSP-PR	Brasileira
4	Luís Fernando Fávaro	colaborador	629.110.749-04	14560787 SSP-SP	Brasileira
5	NÉDIA DE CASTILHOS GHISI	Colaboradora	049.814.579-44	88051343 SESP-PR	Brasileira
6	Ricardo Yuji Sado	Colaborador	281.002.768-46	22.446.506-5 SSP-SP	Brasileira

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: 72416734





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 50414-1	Data da Emissão: 02/09/2015 15:43	Data para Revalidação*: 01/10/2016
* 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: Elton Celton de Oliveira	CPF: 039.062.859-01
Título do Projeto: A utilização de peixes como bioindicadores para avaliar um gradiente de poluição aquática no sudoeste do estado do Paraná	
Nome da Instituição : Universidade Tecnológica Federal do Paraná	CNPJ: 75.101.873/0006-02

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	DOIS VIZINHOS	PR	Bacia do Rio Jirau Alto	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Gymnotiformes (*Qtde: 30), Cypriniformes (*Qtde: 50), Cyprinodontiformes (*Qtde: 100), Atheriniformes (*Qtde: 10), Synbranchiformes (*Qtde: 10), Characiformes (*Qtde: 600), Siluriformes (*Qtde: 200), Perciformes (*Qtde: 100)

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

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Peixes)	Sangue, Fragmento de tecido/órgão, Ectoparasita
2	Método de captura/coleta (Peixes)	Rede de emalhar (emalhe de deriva, de fundo, malhadeiras, caceio, feiteiras, tresmalhos e caçoira), Outros métodos de captura/coleta (Peneira), Armadilha (covo, manzuá, potes para polvos, substrato específico, manilha e variações)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ	coleção

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: 72416734



