

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CÂMPUS CAMPO MOURÃO  
COORDENAÇÃO DE AMBIENTAL  
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

KATIA MIYUKI ITO

**HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA E FATOR DE CONDIÇÃO DE  
*Astyanax aff. paranae* (PISCES) COMO INDICADORES DE  
CONTAMINAÇÃO AQUÁTICA NO CENTRO-NOROESTE DO  
PARANÁ**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2013

KATIA MIYUKI ITO

**HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA E FATOR DE CONDIÇÃO DE  
*Astyanax aff. paranae* (PISCES) COMO INDICADORES DE  
CONTAMINAÇÃO AQUÁTICA NO CENTRO-NOROESTE DO  
PARANÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso Superior de Engenharia Ambiental da Coordenação de Ambiental – COEAM - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira.

Orientador: Prof. Dr. Elton Celton de Oliveira  
Co-orientador (a): Prof<sup>a</sup>. MSc. Nédia de Castilhos Ghisi

CAMPO MOURÃO  
2013



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Campo Mourão

Nome da Diretoria  
Coordenação de Ambiental  
Engenharia Ambiental



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA E FATOR DE CONDIÇÃO DE *Astyanax* aff. *paranae* (PISCES) COMO INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO AQUÁTICA NO CENTRO-NOROESTE DO PARANÁ

por

KATIA MIYUKI ITO

Este(a) Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado(a) em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

(Elton Celton de Oliveira)  
Prof. Orientador

---

(Nédia de Castilhos Ghisi)  
Profa. Co-Orientadora

---

(Raquel de Oliveira Bueno)  
Membro titular

---

(Luciana Carapunarla)  
Membro titular

A Cleusa e Carlos, meus pais de consideração, por me apoiar, guiar e incentivar em todos esses 12 anos.

A meus pais Kazuo e Marcia, pois sei que mesmo longe, fizeram o que estava aos seus alcances por mim.

Aos meus orientadores Elton Celton Oliveira e Nédia de Castilhos Ghisi, pela oportunidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que ajudaram na realização deste trabalho e que me acompanharam e me apoiaram durante o período em que estive cursando Engenharia Ambiental.

Ao professor e orientador Elton Celton de Oliveira, expresso a minha gratidão pela oportunidade da iniciação científica, pelos conhecimentos transmitidos, pela paciência e disposição a me orientar.

Agradeço também a Nédia de Castilhos Ghisi, pelas experiências e conhecimentos repassados, pela ajuda e a grande quantidade de materiais/artigos enviados, e não menos importante os lanchinhos após as triagens e coletas (risos).

Agradeço toda a minha família, principalmente meus “pais” Beto e Cleusa pelo incentivo durante todos esses anos, pela educação que me forneceram. Sou grata pelas conversas, conselhos, reclamações, críticas, sermões, momentos em família, carinho, amor, compreensão. Vocês são os grandes responsáveis pelo que sou hoje, devo tudo a vocês.

Não posso esquecer-me dos grandes amigos que conheci na faculdade: Alexander, Ana Carla, Amanda T., Anne, João Rodrigo, Jordana, Nilesssa, Raphael, Roberta, Thaís C. e Thaís G.. Por todo o companheirismo, horas de estudos, risadas, festas e ainda por aqueles momentos tristes em que tudo que precisava era do tal do ombro amigo.

E por fim gostaria de agradecer o suporte logístico fornecido pelo Instituto Chico Mendes da Reserva Biológica das Perobas; o apoio financeiro da Fundação Araucária; a Secretaria da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Paraná (SETI); e da CAPES (Proex), entidade do Governo Brasileiro voltada para a formação de recursos humanos.

## RESUMO

ITO, Katia Miyuki. **Histopatologia de brânquia e fator de condição de *Astyanax aff. paranae* (pisces) como indicadores de contaminação aquática no centro-noroeste do Paraná.** 2013. 42p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2013.

Este trabalho teve por objetivo avaliar as histopatologias de brânquias e o estado nutricional do lambari *Astyanax aff. paranae* (Teleostei, Characidae) através do cálculo do índice de Bernet e do fator de condição alométrico, respectivamente. Para isso foram realizadas duas coletas (verão/inverno 2011), em três pontos amostrais com diferentes níveis de interferência antrópica, dois destes pontos estão localizados no Rio do Campo (jusante e montante do município de Campo Mourão – PR) e um ponto controle no córrego Concórdia na Reserva Biológica das Perobas em Tuneiras do Oeste – PR. Para o fator de condição foram tomados e planilhados os dados morfométricos (comprimento e peso) dos peixes. A relação peso-comprimento dos espécimes coletados no inverno foi alométrica negativa ( $b = 2,95$ ), enquanto que os do verão foi alométrica positiva ( $b = 3,44$ ). A partir da ANOVA bifatorial constatou-se interação significativa entre os fatores estação do ano e ponto amostral. A partir do teste de Tukey, evidenciou-se que os maiores valores de K ocorreram no verão. Nesta estação também se verificou diferença significativa entre os pontos amostrais, sendo os maiores valores obtidos no ponto a jusante. Elevados valores de b e K no verão, principalmente no ponto a jusante, sugerem uma resposta dos espécimes a um maior aporte de nutrientes. De cada indivíduo retiraram-se dois arcos branquiais para os procedimentos histológicos de rotina. As principais histopatologias encontradas foram fusão lamelar, descolamento do epitélio, aneurisma, hipertrofia lamelar e hiperplasia, sendo esta última a alteração mais comum em ambas as estações. Averiguou-se através do teste ANOVA bifatorial que as variáveis estação e ponto amostral apresentaram diferenças significativas entre si, sendo, portanto necessária uma análise conjunta. O teste de Tukey revelou que o ponto a jusante/verão apresentava maior taxa de alterações histopatológicas enquanto que a Rebio/inverno a menor. Comparando as duas estações verificou-se que para a Rebio e jusante houve aumento das histopatologias no verão enquanto que o ponto a montante manteve-se intermediário. Os resultados encontrados indicam que os indivíduos do rio do Campo estão submetidos a um maior estresse ambiental, principalmente os da jusante devido aos efluentes urbanos.

**Palavras-chave:** Bioindicadores. Biomarcadores. Contaminantes. Estresse. Sazonalidade.

## ABSTRACT

ITO, Katia Miyuki. **Histopathology of gill and condition factor of *Astyanax aff. paranae* (Pisces) as indicators of water pollution in the center-northwest of the Parana State.** 2013. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2013.

This study aimed to evaluate the gills' histopathology and nutritional status of *Astyanax aff. paranae* (Teleostei, Characidae) by calculating the index Bernet and allometric condition factor, respectively. For this, two collections were made (summer/ winter 2011), in three sampling sites with different levels of anthropic interference, two of these points are located at the Rio Campo (downstream and upstream of Campo Mourão city - PR) and there is a control point in Concordia stream in the Biological Reserve of Perobas in Tuneiras do Oeste city - PR. The morphometric data of fishes were measured (length and weight) and analyzed. The length-weight relationship of the specimens collected in winter was negatively allometric ( $b = 2.95$ ), and for the ones collected in the summer it was positively allometric ( $b = 3.44$ ). From the two-way ANOVA it is possible to find significant interaction between the factors season and sample point. From the Tukey test, it could be seen that the highest values of K occurred in the summer. In this season it also was possible to detect significant difference between the sampling points, being the highest value obtained at the point downstream. High values of b and K in summer, especially at the point downstream, suggests an answer to the specimens with a higher input of nutrients. After the histological procedure, the main histopathology damages found were: lamellar fusion, epithelial detachment, aneurysm, lamellar hypertrophy and hyperplasia, being the last one of the most common alterations in both seasons. It was found by two-way ANOVA test variables that station and sampling point showed significant differences between them, so their joint analysis would be necessary, since the Tukey test revealed that the downstream point in the summer had a higher rate histopathology while Rebio the had the lowest in winter. Comparing the two seasons, it could be found that for Rebio and downstream the histopathology increased in the summer while the upstream point remained intermediate. The results indicate that the specimens from the Rio Campo are subject to a bigger environmental stress, mostly the ones from the downstream due to urban effluents.

**Keywords:** Bioindicators. Biomarkers. Contaminants. Stress. Seasonality.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Representação esquemática da ordem sequencial de respostas a poluentes dentro de um sistema biológico.....	14
Figura 2 -	Exemplar de <i>Astyanax aff. paranae</i> coletado no rio do Campo.....	17
Figura 3 -	Área de coleta no centro-noroeste do estado do Paraná, Brasil.....	18
Figura 4 -	Brânquias de <i>Astyanax aff. paranae</i> .....	25
Figura 5 -	Valor médio e intervalo de confiança (IC) do índice de Bernet, considerando a interação dos pontos amostrais com as estações do ano.....	27
Figura 6 -	Relação Peso-Comprimento dos indivíduos coletados no inverno, com equação da reta.....	28
Figura 7 -	Relação Peso-Comprimento dos indivíduos coletados no verão, com equação da reta.....	28
Figura 8 -	Valor médio e intervalo de confiança (IC) do fator de condição (K), considerando a interação dos pontos amostrais com as estações do ano.....	30



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 OJETIVO GERAL</b> .....	<b>11</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>12</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>17</b>
4.1 ESPÉCIE BIOINDICADORA .....	17
4.2 ÁREA DE ESTUDO .....	17
4.3 HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA: PROCEDIMENTO AMOSTRAL E PROTOCOLO HISTOLÓGICO.....	20
4.3.1 Análise das Lâminas Histológicas .....	21
4.4 FATOR DE CONDIÇÃO: PROCEDIMENTO AMOSTRAL.....	22
4.5 ANÁLISE DE DADOS .....	23
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
5.1 HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA.....	24
5.2 RELAÇÃO PESO-COMPIMENTO .....	27
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
6.1 HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA.....	31
6.2 FATOR DE CONDIÇÃO.....	33
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>37</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A biota aquática é exposta frequentemente a uma grande quantidade de substâncias tóxicas lançadas no ambiente, oriundas de diversas fontes de emissão. A descarga de lixos tóxicos provenientes de efluentes industriais, os processos de drenagem agrícola, os derrames acidentais de produtos químicos e os esgotos domésticos lançados em rios e mares contribuem para a contaminação dos ecossistemas aquáticos com uma ampla gama de agentes tóxicos como metais pesados, agrotóxicos, compostos orgânicos, entre outros (RASHED, 2001).

A exposição constante da biota aquática a substâncias tóxicas lançadas no meio ambiente é capaz de interagir com o organismo vivo causando múltiplas alterações que podem gerar graves consequências em população, comunidades ou ecossistemas, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição (JESUS; CARVALHO, 2008).

As comunidades biológicas refletem a integridade ecológica total dos ecossistemas (p. ex., integridade física, química e biológica), associando os efeitos dos diferentes agentes impactantes e fornecendo uma medida agregada dos impactos (BARBOUR et al., 1999). As comunidades biológicas de ecossistemas aquáticos são formadas por organismos que apresentam adaptações evolutivas a determinadas condições ambientais e apresentam limites de tolerância a diferentes alterações das mesmas (ALBA-TERCEDOR, 1996). Desta forma, o monitoramento biológico constitui-se como uma ferramenta na avaliação das respostas destas comunidades biológicas a modificações nas condições ambientais originais.

Os peixes têm atraído muita atenção no biomonitoramento da contaminação aquática, devido as suas características biológicas específicas: são abundantes, de tamanho relativamente grande, de fácil identificação taxonômica, que se distribuem em todos os níveis tróficos e, portanto, sofrem bioacumulação e biomagnificação e apresentam alto valor de consciência pública (ZHOU et al., 2008).

O biomonitoramento pode ser definido como o uso das respostas dos organismos vivos para avaliar as mudanças causadas geralmente por ações antrópicas no ambiente (MATTHEWS et al., 1982)

As alterações histológicas em tecidos de peixes constituem ferramentas sensíveis para detectar os efeitos tóxicos diretos de compostos químicos em órgãos-

alvo e, portanto, são indicadores potentes da exposição prévia a estressores ambientais (SCHWAIGER et al., 1997)

As características da brânquia, como a posição relativamente externa, o tamanho e a multifuncionalidade (troca gasosas, osmorregulação, equilíbrio ácido-básico, excreção de compostos nitrogenados e gustação), fazem delas um órgão chave para a ação dos contaminantes presentes no meio aquático. As alterações das brânquias, portanto, são reconhecidas como método para determinar os danos causados aos peixes pela exposição a diferentes contaminantes (ARELLANO et al., 1999; MACHADO, 1999).

Além das análises histopatológicas, outro modo de saber como as variações das condições ambientais influenciam diferentes organismos é através da relação peso-comprimento uma vez que variações deste parâmetro populacional em teoria incide diretamente na taxa de crescimento e no estado de saúde dos indivíduos.

A estimativa do fator de condição permite inferências sobre o estado fisiológico das espécies. Esta estimativa baseia-se no coeficiente angular da relação peso-comprimento e parte do pressuposto que indivíduos de maior massa em um dado comprimento estão em melhor condição (LIMA-JUNIOR; CARDONE; GOITEIN, 2002). Segundo Araújo et al. (2011) este índice tem sido utilizado também como uma ferramenta de avaliação de impacto ambiental.

Sabendo disso, a presente proposta de trabalho utiliza como ferramenta de análise as histopatologias de brânquia e o fator de condição em um peixe nativo neotropical para avaliar a contaminação aquática.

## 2 OJETIVO GERAL

Avaliar as histopatologias branquiais e o estado nutricional do lambari *Astyanax aff. paranae* (Teleostei, Characidae) em trechos de rio com diferentes classes de interferência antrópica, na região centro-noroeste do Paraná.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar qualitativa e quantitativamente as histopatologias de brânquia de indivíduos coletados em trechos de rio com diferentes níveis de contaminação: ponto controle VS pontos contaminados.
- Estimar o estado nutricional dos indivíduos a partir do índice Fator de Condição Alométrico, comparando os espécimes obtidos no ponto controle com os coletados nos pontos antropizados.
- Averiguar a significância das variáveis analisadas entre os tratamentos e o ponto controle e, a partir disso, avaliar a qualidade ambiental dos corpos hídricos.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A contaminação de mananciais superficiais vem crescendo em todo o mundo devido ao incremento de substâncias químicas sintéticas (xenobióticas), potencialmente poluidoras, provenientes de diferentes atividades econômicas. Estes novos compostos químicos quando alcançam os ecossistemas, interagem com a biota, promovendo uma série de modificações na química dos organismos e nas suas relações com outras espécies e com o seu meio. Dentre as consequências, podemos citar os processos de bioacumulação, biomagnificação e biotransformação de moléculas (JESUS; CARVALHO, 2008).

Recentemente, estas substâncias xenobióticas, bem como seus efeitos, começaram a ser investigadas por diferentes métodos de análise, visando o controle do impacto ambiental (BRITO et al. 2012)

A integridade de um ecossistema aquático é abalada pelo comportamento humano quando a degradação do ambiente ou o nível de contaminação excede a capacidade de assimilação das substâncias antropogênicas pelos organismos vivos. Nesse contexto, o conhecimento das comunidades biológicas é de fundamental importância para assegurar o gerenciamento sustentável dos recursos hídricos e seus múltiplos usos (STRIEDER; SCHERER; VIEGAS, 2006).

Diferentes métodos têm sido utilizados em estudos para relatar o impacto humano nos organismos aquáticos. Os métodos são utilizados com o objetivo de detectar e mensurar a intensidade do impacto causado pela presença de contaminantes no ecossistema aquático e o potencial efeitos tóxicos dos químicos nesses organismos (MARTINEZ et al., 2004)

A utilização do monitoramento convencional através da análise de parâmetros físicos e químicos não é suficiente para inferir sobre a saúde de ecossistemas aquáticos (Karr, 1998 apud CALLISTO; MORETTI; GOULART, 2001), necessitando a utilização de métodos biológicos para complementar, já que estes podem avaliar de que forma as espécies estão respondendo biologicamente à presença de determinada interferência.

Segundo Zhou et al. (2008), o biomonitoramento supera as análises puramente químicas por detectar efeitos subletais nos organismos; apresentar

respostas à ação de misturas complexas de contaminantes e ser sensível às respostas fisiológicas aos contaminantes. Desta forma, o biomonitoramento pode ser utilizado como análise preditiva mesmo para concentrações não detectáveis de contaminantes pelos métodos instrumentais analíticos, mas suficientes para causar efeitos biológicos devido à exposição crônica, bioacumulação, biomagnificação e ação conjunta.

Os principais organismos utilizados no biomonitoramento são espécies de moluscos, anfíbios, peixes e mamíferos. A extensa utilização de peixes pode ser explicada por estes responderem às toxinas de forma similar aos vertebrados superiores, podendo assim, serem utilizados para inferir potenciais carcinogênicos e teratogênicos em humanos, além de estarem entre os maiores veículos de transferência de contaminantes para humanos (AL-SABTI; METCALFE, 1995).

Na prática, o biomonitoramento ou o monitoramento biológico consiste na comparação entre um local onde se quer testar a condição ambiental com uma área “não impactada” – o chamado ponto referência ou ponto controle – Sendo assim, no caso de um projeto ou um estudo em que se deseja testar a qualidade da água de uma determinada bacia hidrográfica, são selecionados rios com um mínimo de interferência humana e rios supostamente impactados por atividades antrópicas (áreas agrícolas, casas, indústrias) (EMBRAPA, 2004).

Atualmente, bioindicadores e biomarcadores têm sido utilizados na avaliação à toxicidade de compostos químicos de origem antropogênica em áreas impactadas (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2005). Entende-se por bioindicadores os indivíduos, populações ou comunidades que sofrem alterações no seu padrão normal de distribuição e/ou ocorrência quando exposto a ação de agentes poluidores. Esta medida é utilizada como um reflexo da saúde ambiental.

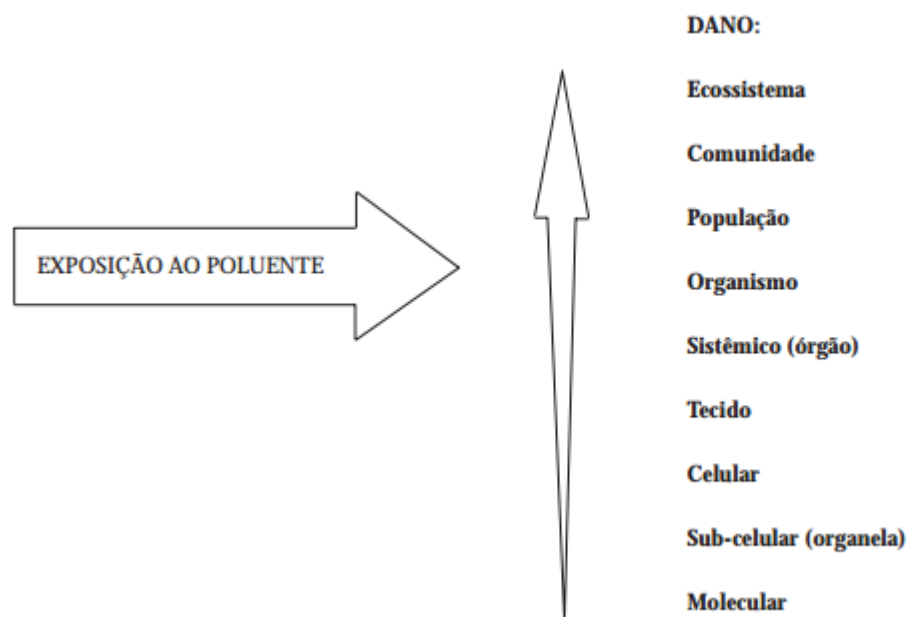
Para que os organismos se tornem bioindicadores devem-se considerar critérios tais como: a) relevância ecológica, b) suscetibilidade dos organismos, e c) caracterização preliminar dos efeitos aos organismos expostos. Ainda é desejável a possibilidade de sua criação e manutenção em condições de experimentação, de modo a se obter dados de toxicidade para o estabelecimento de limiares de concentração quanto à alteração do parâmetro estudado (JONSSON; CASTRO 2005).

Os bioindicadores são importantes instrumentos do biomonitoramento, pois representam as espécies animais e vegetais que serão utilizadas para avaliar a

magnitude dos impactos ambientais diante de uma modificação natural ou antrópica (EMBRAPA, 2004)

Os biomarcadores, por sua vez, podem ser definidos como as respostas biológicas ao estresse provocado devido à exposição a contaminantes, essas respostas podem se manifestar de diversas formas e em vários níveis de organização incluindo disfunções fisiológicas, alterações estruturais em órgãos e tecidos e modificações comportamentais que levam ao prejuízo o crescimento e reprodução (WINKALER et al., 2001).

A ordem sequencial de resposta ao estresse causado por um poluente em um sistema biológico é visualizado na figura 1. O efeito em nível hierárquico superior é sempre precedido por mudanças no processo biológico. Desta forma, o biomarcador é utilizado como um sinal prévio refletindo a resposta biológica causada por uma toxina (JESUS, 2008).



**Figura 1 - Representação esquemática da ordem sequencial de respostas a poluentes dentro de um sistema biológico.**

**Fonte: ARIAS et al. (2007) adaptado de Van der Oost et al. (2003).**

Em especial, os biomarcadores histopatológicos têm sido utilizados para avaliar o efeito tóxico dos contaminantes no ambiente, refletindo alterações prévias

nas funções fisiológicas e/ou bioquímicas principalmente em órgãos alvo específicos como fígado e brânquias (SCHWAIGER et al., 1997).

O impacto de contaminantes em um organismo é percebido através de perturbações em diferentes níveis de complexidade funcional. As patologias celulares induzidas por substâncias tóxicas podem refletir perturbações de função e estrutura no nível molecular, podendo ser progressivamente mais difíceis para a célula reverter ou modificar (Moore, 1985 apud DAVID, 2007).

Estudos histopatológicos têm sido realizados para ajudar a estabelecer relações causais entre a exposição a contaminantes e as várias respostas biológicas (SCHWAIGER et al., 1997). No entanto, não é um método específico para determinar a contaminação. Isoladamente, a histopatologia gera dados sobre lesões em níveis teciduais não especificando a causa pontual da lesão, ou seja, não diagnostica contaminação, mas sim resposta biológica à agressão, ao estresse. No entanto, quando associados a outros métodos de análises, estudos histológicos podem auxiliar na compreensão profunda de determinadas situações (LINS et al., 2010).

Através da análise histopatológica é possível identificar de forma rápida e com relativo baixo custo os efeitos subletais crônicos dos contaminantes. Mesmo em baixas concentrações, a histopatologia responde as interferências do meio e indica precocemente contaminações ou situações de estresse (BERNET et al., 1999).

Os diversos papéis que as brânquias desempenham, o seu tamanho e a sua localização relativamente no meio externo, tornam possíveis a sua utilização para avaliar as alterações causadas pela exposição a diferentes contaminantes e que estas alterações histológicas sejam de fácil reconhecimento (ARELLANO et al., 1999).

Os agentes irritantes presentes na água são levados para dentro do indivíduo durante o seu processo respiratório. Os rastros impedem que danos sejam causados aos filamentos branquiais, pois os sólidos não conseguem atravessar o mesmo. Porém quando os agentes são apresentados na forma dissolvida e em grandes concentrações estes entram em contato com as lamelas e os filamentos branquiais podendo alterar a morfologia branquial (LUVIZOTTO, 1994).

Além dos aspectos citados anteriormente, outros atributos populacionais de peixes como a sua fecundidade, relação peso-comprimento, dosagem hormonal e condição nutricional podem se tornar ferramentas úteis para avaliar o impacto



ambiental. A partir de atributos morfométricos (peso e comprimento), da dieta e reprodutivos (maturidade gonadal) é possível obter informações sobre como as variações das condições ambientais influenciam diferentes organismos (WOOTTON, 1999).

O Fator de Condição, por exemplo, é um índice que avalia o estado fisiológico dos peixes, partindo do pressuposto de que indivíduos com uma maior massa em um dado comprimento estão em melhor condição (LIMA-JUNIOR; CARDONE; GOITEIN, 2002). Este índice reflete o estado nutricional dos indivíduos, sendo possível relacioná-los às variações ambientais, ao processo reprodutivo e aos aspectos comportamentais (VAZZOLER, 1996) e, por esta característica, tem sido utilizado nos trabalhos de ecotoxicologia como uma ferramenta para avaliação de impacto ambiental (ARAÚJO et al., 2011).

A estimativa do fator de condição pode ser feita através do fator de condição de Fulton ou do fator de condição alométrico. O fator de condição de Fulton assume que a relação peso/comprimento é sempre alométrica. Por outro lado, o fator de condição alométrico considera que dentro de uma população podem ocorrer variações na relação peso-comprimento (ROCHA et al., 2005).

A relação peso-comprimento de peixes é representada pelo modelo potencial ( $y=a.x^b$ ) e o coeficiente angular (b) do modelo pode ser interpretado de três formas: se o coeficiente b for igual a 3, o crescimento será isométrico; se for maior que 3, será alométrico positivo, e se for menor que 3, será alométrico negativo. Quando o crescimento for isométrico, o incremento em peso acompanha o crescimento em comprimento, mas se for alométrico negativo, há um incremento em peso menor do que em comprimento; e se é alométrico positivo, há um incremento em peso maior do que em comprimento (ORSI; SHIBATTA; SILVA-SOUZA, 2002).

Tendo em vista a importância dos estudos ecotoxicológicos e a utilização de diferentes técnicas para detecção de contaminação ambiental, buscar informações sobre toxicologia de ambientes aquáticos localizados próximos a áreas urbanas e locais de intensa atividade agropecuária torna-se fundamental para a ciência, sociedade e na regulamentação de atividades potencialmente poluidoras.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ESPÉCIE BIOINDICADORA

*Astyanax* aff. *paranae* Eigenmann, 1914 é um pequeno caracídeo popularmente conhecido como Lambari do rabo vermelho. Sendo uma espécie comumente encontrada na bacia do Alto rio Paraná, mostrando uma distribuição restrita a pequenos afluentes, vivendo de preferência em trechos de cabeceira (GARUTTI; BRITSKI, 2000). Caracterizada com um curto ciclo de vida (Barbiere, 1999 apud ABELHA et al., 2006), com hábito alimentar predominantemente onívoro (FERREIRA, 2004) e apresentando dimorfismo, sendo as fêmeas mais robustas do que os machos (Godoy, 1975 apud ABELHA, 2006). Esta espécie foi utilizada neste trabalho por ser frequente e abundante nos locais de coleta, por ser de fácil manipulação, além do seu potencial como espécie bioindicadora.

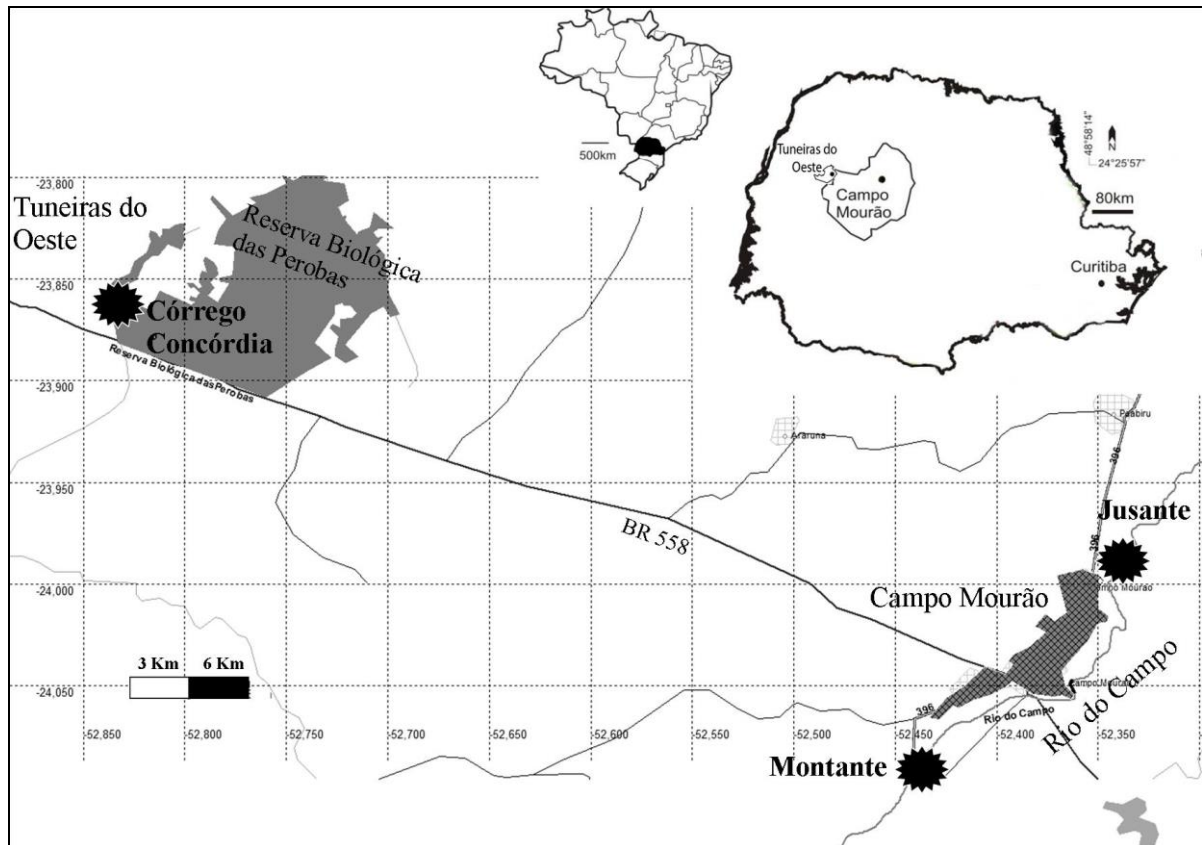


Figura 2 – Exemplar de *Astyanax* aff. *paranae* coletado no rio do Campo. Barra= 1cm.

### 4.2 ÁREA DE ESTUDO

Neste trabalho foram selecionados dois pontos amostrais no rio do Campo, um a jusante e o outro a montante do município de Campo Mourão – PR, e um

ponto amostral no córrego Concórdia, Reserva Biológica das Perobas, municípios de Tuneiras do Oeste e Cianorte – PR (Figura 3).



**Figura 3 – Área de coleta no centro-noroeste do estado do Paraná, Brasil. Os pontos amostrais estavam situados no rio do Campo, a montante e a jusante do município de Campo Mourão, e no córrego Concórdia REBIO das Perobas, municípios de Tuneiras do Oeste e Cianorte, Paraná.**

O ponto a montante do rio do Campo encontra-se mais próximo a nascente e antes de chegar ao município de Campo Mourão é cercado unicamente por áreas agrícolas, não atravessando nenhuma zona urbana (Localização:  $24^{\circ}4'56.37''S/52^{\circ}26'31.05''O$ ); o ponto a jusante possui influência dos efluentes da cidade de Campo Mourão, incluindo o despejo da ETE (Estação de Tratamento de Esgoto) do município (Localização:  $23^{\circ}59'44.09''S/52^{\circ}20'23.34''O$ ). Entre os pontos à montante e jusante do referido município existe uma barreira física que os separa – trata-se de um represamento artificial para formação do lago no Parque Municipal Joaquim Teodoro de Oliveira que impede a migração dos indivíduos entre os pontos e, desta forma, confere independência entre as amostragens; o ponto no córrego Concórdia

da REBIO das Perobas é considerado neste trabalho como controle negativo por ser um local com menor nível de antropização e por sua nascente estar próxima a uma reserva biológica, unidade de conservação com alto nível de preservação.

A Bacia Hidrográfica do Rio do Campo está localizada entre as coordenadas 23°53' e 24°10' Sul e 52°15' e 52°31' Oeste, ocupando parte dos municípios de Campo Mourão e Peabiru, região centro-oeste do Paraná. A bacia ocupa área de aproximadamente 384 Km<sup>2</sup>, sendo 247 Km<sup>2</sup> no município de Campo Mourão e 137 Km<sup>2</sup> no município de Peabiru. Apresenta orientação sudoeste – nordeste, fazendo parte da Bacia Hidrográfica do rio Mourão que, por sua vez, faz parte da Bacia Hidrográfica do rio Ivaí (COLAVITE, 2009).

O rio do Campo abastece 70% da cidade de Campo Mourão. Entre os principais fatores que afetam sensivelmente a qualidade da água está a conservação precária das estradas rurais e o manejo muitas vezes inadequado do solo. Todavia, tem-se observado que em áreas urbanas banhadas pelas águas deste rio, o depósito de lixo doméstico e o lançamento de esgoto clandestino têm contribuído para agravar a situação de degradação do rio (PAGOTTO et al., 2009).

O Córrego Concórdia nasce próximo a Reserva Biológica das Perobas (REBIO), poucos metros após a sua formação, o mesmo adentra a zona de amortecimento da REBIO das Perobas e, posteriormente, passa marginalmente na porção florestada da reserva. A REBIO das Perobas é uma unidade de conservação federal com 8.176 hectares, localizada a 23°52'52"S, 52°44'08"W e a 600 m de altitude, nos municípios de Tuneiras do Oeste e Cianorte, noroeste do Estado do Paraná, sul do Brasil (SILVA; FILHO, 2011). A área é caracterizada pelo contato entre a Floresta Estacional Semidecidual Submontana, onde predominam perobas (*Aspidosperma* spp.), cedros (*Cedrella fissilis*) e palmitos (*Euterpe edulis*), e a Floresta Ombrófila Mista, distinguindo-se pela ocorrência do pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia*) (CASTELLA; BRITTEZ, 2004).

Em ambas as áreas, o clima, de acordo com a classificação climática de Köppen, é classificado como Cfa: clima subtropical úmido mesotérmico, com verões quentes e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida, com as seguintes médias anuais: temperatura dos meses mais quentes superior a 22°C e dos meses mais frios inferior a 18°C; temperatura média de aproximadamente 20°C; chuvas variando entre 1.300 e 1.600 mm; umidade relativa do ar 75%; índice hídrico entre os níveis 20 e 60 e

ausência de deficiência hídrica. Os ventos predominantes na região são os de quadrante nordeste, apresentando probabilidade de geadas nos meses de inverno, quando sopram de sul e sudoeste (MAACK, 1981).

#### 4.3 HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA: PROCEDIMENTO AMOSTRAL E PROTOCOLO HISTOLÓGICO

Com a utilização de equipamentos de pesca apropriados, rede de espera (1,2 m x 5 m e malha de 1,5 cm ente nós opostos), peneira (0,60 X 1,2 m e malha de 0,30 cm) e puçá foram realizadas duas coletas em períodos distintos, uma durante o verão de 2011(dezembro) e outra no inverno de 2012 (julho).

As coletas ocorreram em duas estações do ano distintas devido a dois fatores principais: 1) A época de plantio das culturas anuais na região, sendo que a safra da soja é observada no verão, com elevado uso de agroquímicos, enquanto que no inverno ocorre a entressafra do milho e do trigo, com menor uso de pesticidas; 2) A pluviosidade da região apresenta um verão chuvoso e um inverno mais seco.

Para a captura dos espécimes nos dois pontos do rio do Campo foram utilizadas redes de espera, sendo estas fixadas paralelamente ao corpo hídrico por algumas horas ou de um dia para o outro. Enquanto que, no córrego Concórdia da REBIO das Perobas, utilizou-se a técnica do peneiramento através da vistoria ativa de bancos de macrófitas e outros micro-habitats marginais. Utilizou-se esta técnica na REBIO devido ao baixo número de indivíduos encontrados e a baixa eficiência da rede de espera como método de captura.

Logo após os indivíduos serem retirados da água, estes foram dispostos em recipientes com água do próprio rio e um aerador para mantê-los vivos até a chegada em laboratório.

No laboratório, os exemplares foram anestesiados com cloridrato de benzocaína a 20%, para evitar o sofrimento dos animais ao sacrificá-los.

Retirou-se uma porção de tecido branquial (aproximadamente 100mg). Esses tecidos foram fixados em ALFAC por 12 horas em frascos devidamente identificados (número do indivíduo e onde foi coletado), posteriormente,

aconicionados em álcool 70%. Logo após, as amostras passaram por um processo de desidratação (1 hora em cada álcool: 70%, 80, 90%, 95% 100%) e diafanização (clareamento e desidratação final das amostras) com xilol. O material diafanizado foi imerso em um meio de incorporação de tecidos por um período de quatro horas. Após a inclusão, as peças foram fixadas em cassetes histológicos, trimadas e destinadas ao micrótopo para se efetuar os cortes (5 a 7  $\mu$ m) no laboratório da Pós-Graduação em Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná. Os cortes foram fixados em lâmina com auxílio de albumina diluída, corados com hematoxilina e eosina e montados com lamínula através da utilização da resina bálsamo do Canadá. Após isso, as lâminas foram analisadas quanto à frequência de diversos tipos de alterações no tecido branquial. Para identificação das alterações tomou-se como metodologia o trabalho de Rabitto (2010).

Os exemplares de *Astyanax aff. paranae* coletados neste trabalho foram depositados na coleção de peixes do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPÉLIA) sob o nº de lote: NUP 13381 e Field: NCG2011103101.

#### 4.3.1 Análise das lâminas histológicas

Para a quantificação das alterações histopatológicas nas brânquias fez-se o uso do índice de Bernet (BERNET et al.; 1999). Cada lâmina analisada correspondeu a um indivíduo, sendo as suas alterações patológicas classificadas, inicialmente, de acordo com o tipo de reação padrão (1 a 5): distúrbios circulatórios, mudanças regressivas (atrofia, depósitos, necrose, etc.), mudanças progressivas (hipertrofia e hiperplasia), inflamações e tumores. Dentro de cada reação padrão foram incluídas inúmeras alterações, as quais receberam um valor de importância (w) que varia de 1 a 3, de acordo com o grau de reversibilidade do dano, e um valor de pontuação (a) que varia de 0 a 6, de acordo com o grau de extensão do dano.

A partir das classificações acima, puderam ser calculados dois índices. O primeiro calculou o somatório das extensões de dano em cada tipo de reação padrão, enquanto o segundo expressou o somatório dos danos em todos os tipos de reações padrão encontrados. Este último representa o índice do órgão ou individual.

- 1 Índice de reação de um órgão ( $I_{org\ rp}$ ) – expressa as lesões por tipo de reação padrão

$$I_{org\ rp} = \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} * w_{org\ rp\ alt})$$

- 2 Índice de Órgãos ( $I_{org}$ ) - Este índice representa o grau de dano a um órgão

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} * w_{org\ rp\ alt})$$

Onde: org = órgão (constante); rp = reação padrão; alt = alteração, um valor de pontuação =; w = valor de importância.

#### 4.4 FATOR DE CONDIÇÃO: PROCEDIMENTO AMOSTRAL

Os indivíduos utilizados no estudo do fator de condição foram os mesmos utilizados para as análises histopatológicas. Portanto, o procedimento para a coleta foi o mesmo descrito acima.

Para esta análise foram tirados os dados morfométricos dos peixes quanto ao comprimento total (Ct) e comprimento padrão (Cp) em centímetros, e peso total (Pt) em gramas utilizando balança de precisão e régua.

A relação peso-comprimento foi estimada para cada estação do ano, de acordo com os pressupostos do modelo potencial representado pela seguinte fórmula:  $Pt = a.Ct^b$ , onde **a** é o coeficiente linear e **b** é o coeficiente angular. Os coeficientes linear e angular foram determinados a partir da aplicação do método dos mínimos quadrados.

O fator de condição alométrico foi determinado pela seguinte equação:  $K = Pt/Ct^b$ , onde **K** é igual ao fator de condição, **Pt** é igual ao peso total, **Ct** é igual ao comprimento total e **b** representa o coeficiente angular que foi obtido na relação peso-comprimento. O fator de condição foi calculado para cada indivíduo e, em cada estação do ano, utilizou-se o coeficiente angular correspondente.

#### 4.5 ANÁLISE DE DADOS

Para avaliar as possíveis diferenças entre os pontos amostrais e as estações do ano em relação às histopatologias (índice de Bernet individual -  $I_{org}$ ) e o fator de condição (individual), utilizou-se a análise de variância paramétrica bifatorial (ANOVA bifatorial), com os fatores ponto amostral e estação do ano, seguida pelo teste de Tukey. Para tal, fez-se a checagem a priori dos pressupostos de normalidade residual e homogeneidade das variâncias com os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente (QUINN; KEOUGH, 2002).



## 5 RESULTADOS

Para realização do presente estudo foram coletados um total de 116 indivíduos de *Astyanax aff. paranae*, sendo 44 no ponto a jusante, 39 no ponto a montante e 33 na REBIO das Perobas, considerando as duas estações de coleta. No verão foram coletados 22 indivíduos no ponto a jusante, 20 a montante e 18 na REBIO das Perobas, enquanto no inverno capturou-se 22 indivíduos a jusante, 19 a montante e 15 na REBIO das Perobas.

### 5.1 HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA

A partir da análise qualitativa das lâminas de tecido branquial de *Astyanax aff. paranae* identificou-se as histopatologias, as quais foram divididas em frequentes e esporádicas. As principais histopatologias encontradas, independente da estação de coleta, foram: fusão lamelar, hiperplasia, descolamento do epitélio, aneurisma e hipertrofia lamelar (Figura 4). O tipo de lesão mais comum verificado, em ambas as estações do ano, foi a hiperplasia.

Além das lesões descritas anteriormente, foram encontradas outras alterações esporádicas (Figura 4): a) REBIO: ocorrências de 3 locais de implantação de parasitas; 1 parasita; 2 tumores benignos; b) Montante: 6 parasitas; 2 locais de implantação de parasitas; 1 tumor benigno; necroses e atrofia lamelares; c) Jusante: 2 parasitas; 2 locais de implantação parasítica; 2 tumores benignos; infiltração de leucócitos.

As análises quantitativas das histopatologias em tecido branquial foram realizadas a partir do índice de Bernet individual, os quais foram testados pela ANOVA bifatorial que, por sua vez, permitiu constatar diferenças significativas entre os pontos, as estações do ano e na interação destes dois fatores (Tabela 1). Como houve interação de fatores, os mesmos foram analisados conjuntamente sobre a variável dependente ( $I_{org}$  – índice de Bernet individual).

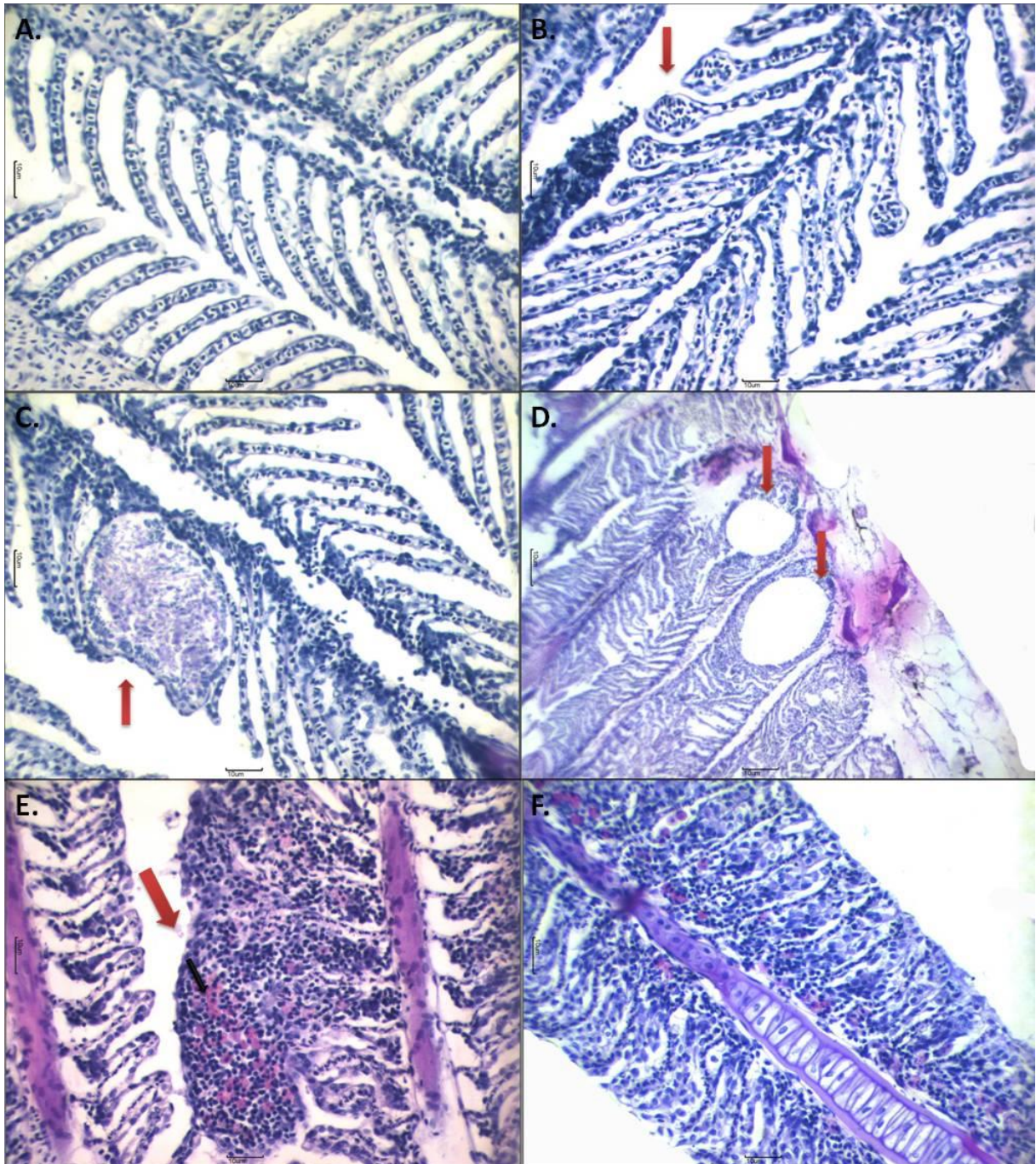


Figura 4- Brânquias de *Astyanax aff. paranae*. A=lamelas normais; B= (seta) aneurisma; C=parasita; D=local de implantação parasítica; E= tumor benigno, observar infiltração de leucócitos (seta preta); F= fusão total das lamelas e hiperplasia.

Tabela 1 – Resultado do teste ANOVA bifatorial realizado com os dados do índice de Bernet individual ( $I_{org}$ ) para os pontos amostrais e para as estações de coleta. **Legenda: \* valores significativos ( $p < 0,05$ ); N= número de indivíduos; g.l.= graus de liberdade; F= resultado da ANOVA bifatorial – teste de Fisher.**

Resultado ANOVA bifatorial	N	g.l	F	p valor
Ponto	107	2	9,613	0,000151*
Estação	107	1	13,161	0,000450*
Ponto*Estação	107	2	3,841	0,024681*

A partir do teste de Tukey observou-se que a maior taxa de histopatologias (determinada pelo  $I_{org}$ ) ocorreu no ponto jusante, durante a estação do verão, e a menor na REBIO das Perobas, durante a estação de inverno. Também, foi possível observar que tanto no ponto jusante quanto no ponto REBIO os valores das histopatologias aumentaram no verão, indicando o efeito da estação. O ponto montante, independentemente da estação de coleta, apresentou valores semelhantes de histopatologias, sempre em uma taxa intermediária quando comparado aos demais pontos, independentemente da estação do ano (Tabela 2 e Figura 5).

Tabela 2 – Resultados do Teste de Tukey para as histopatologias ( $I_{org}$ ), considerando a interação dos fatores ponto amostral e estação do ano (E). Entre parênteses aparece a média índice de Bernet em cada tratamento (T). **Legenda: \*valores significativos ( $p < 0,05$ ); E = estação do ano; I = inverno; V = verão.**

T	Ponto	E	1 (12.4)	2 (16.2)	3 (13.9)	4 (13.8)	5 (8.8)	6 (12.8)
1	Jusante	I	-					
2	Jusante	V	0,000911*					
3	Montante	I	0,180297	0,041125*				
4	Montante	V	0,220201	0,034749*	0,922023			
5	Rebio	I	0,003423*	0,000000*	0,000048*	0,000081*		
6	Rebio	V	0,863815	0,005120*	0,307527	0,355726	0,005090*	-

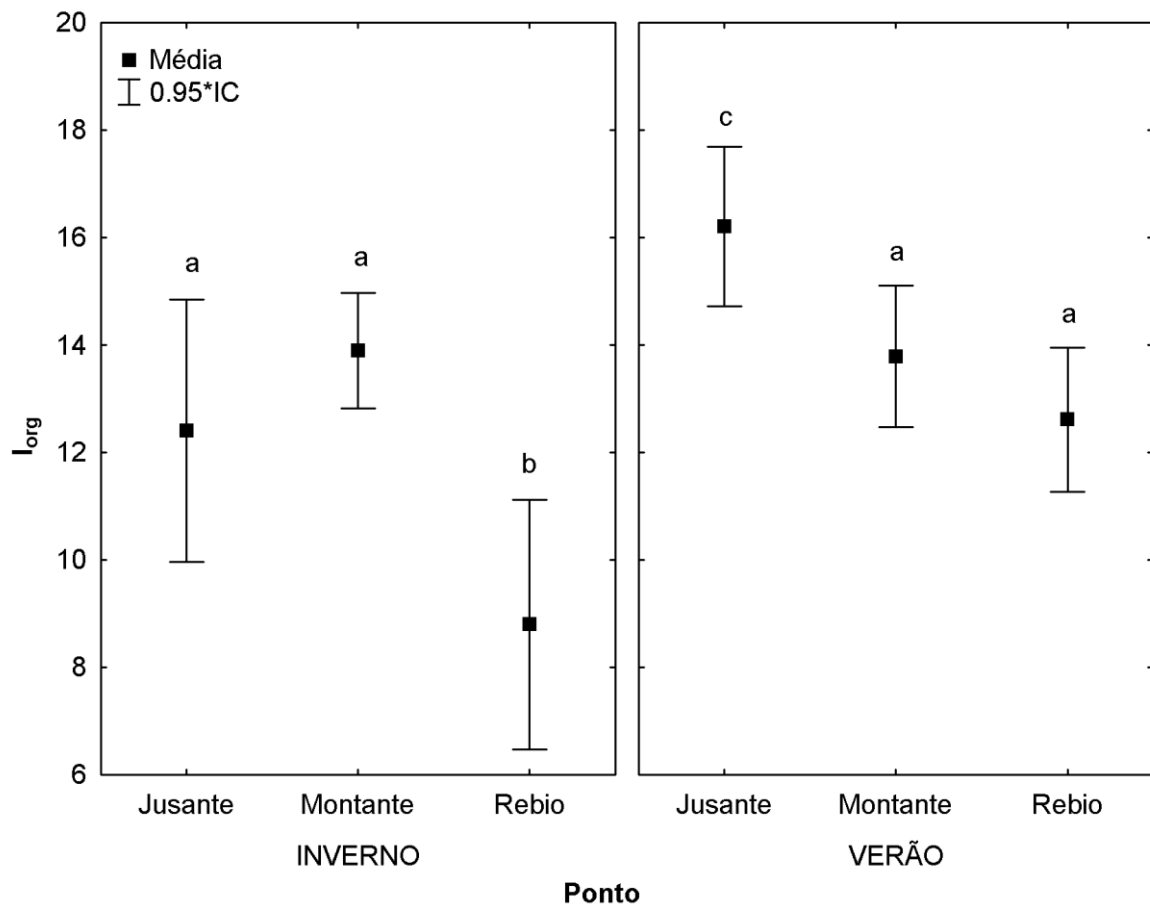


Figura 5 – Valor médio e intervalo de confiança (IC) do índice de Bernet, considerando a interação dos pontos amostrais com as estações do ano. Legenda: a, b, c – representação da significância do Teste de Tukey (letras diferentes representam diferença estatística –  $p < 0,05$ ).

## 5.2 RELAÇÃO PESO-COMPIMENTO

O valor obtido para o coeficiente angular (b) dos indivíduos coletados no inverno foi de 2,9534 (Figura 6), enquanto que o obtido no verão foi de 3,4461 (Figura 7). Em ambos os modelos foram verificados elevados coeficientes de correlação, sendo 98,81% no inverno e 97,43% no verão. No inverno, os indivíduos apresentaram crescimento do tipo alométrico negativo e no verão do tipo alométrico positivo.

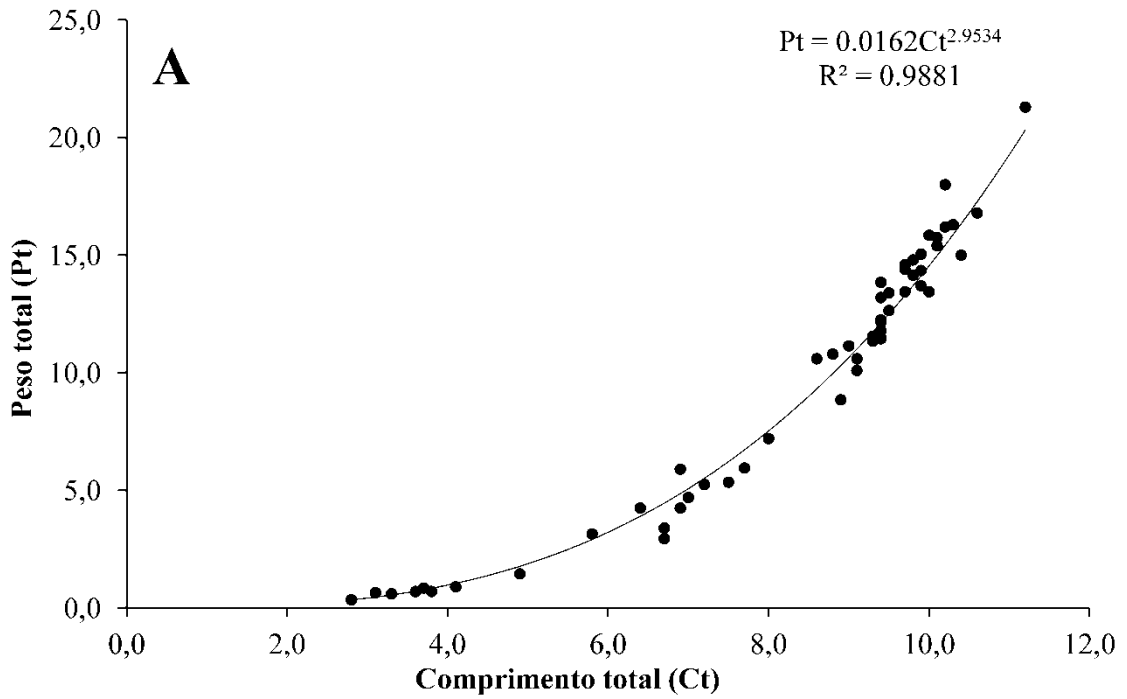


Figura 6 – Relação Peso-Comprimento dos indivíduos coletados no inverno, com equação da reta. Legenda:  $R^2$  = coeficiente de correlação.

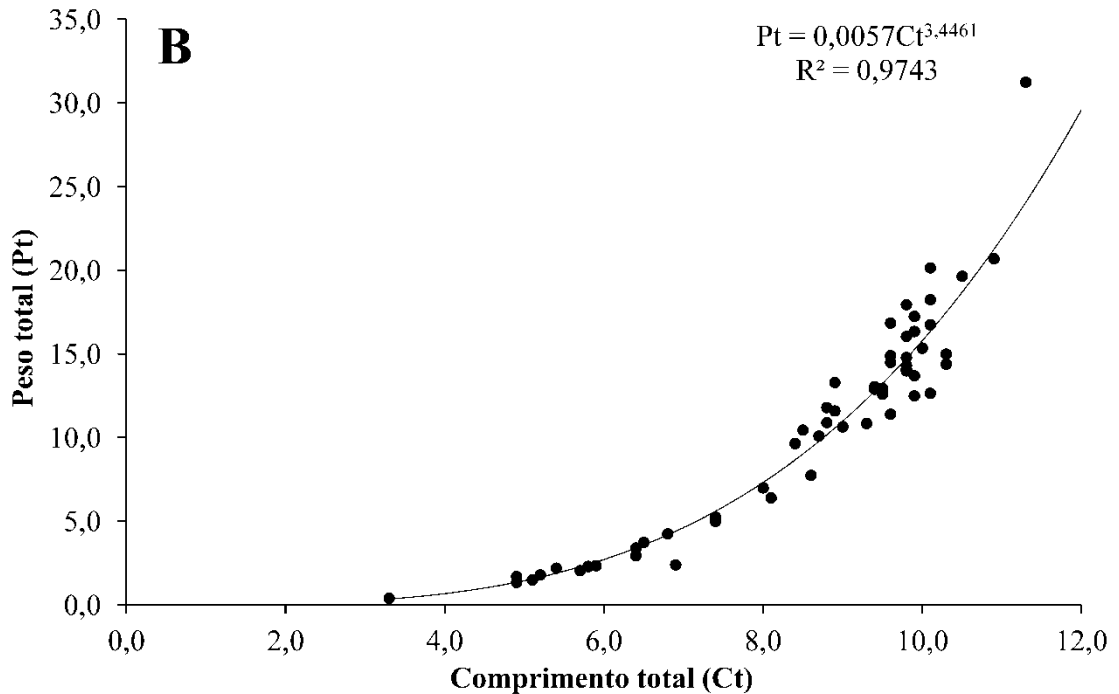


Figura 7 – Relação Peso-Comprimento dos indivíduos coletados no verão, com equação da reta. Legenda:  $R^2$  = coeficiente de correlação.

A partir da ANOVA bifatorial, realizada com os dados do fator de condição, constatou-se a existência de interação entre os fatores estação do ano e ponto amostral, sendo obrigatória a análise conjunta destes fatores. Os fatores isolados, ponto e estação, também apresentaram diferenças significativas (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultado do teste ANOVA bifatorial realizado com os dados de fator de condição para os pontos amostrais e para as estações de coleta. \* valores significativos. **Legenda: \*valores significativos ( $p < 0,05$ ) N= número de indivíduos; g.l.= graus de liberdade; F= resultado da ANOVA bifatorial – teste de Fisher.**

Resultado ANOVA bifatorial	N	g.l.	F	<i>p valor</i>
Ponto	116	2	4,120	0,019*
Estação	116	1	1627,988	<0,001*
Local*Estação	116	2	3,363	0,038*

Através do Teste de Tukey verificou-se que os valores do fator de condição no inverno foram significativamente inferiores aos do verão. No inverno não ocorreram diferenças significativas entre os pontos de coleta. No verão evidenciou-se que o ponto a jusante apresentou exemplares com fator de condição maior que os encontrados para os pontos a montante e na REBIO das Perobas. Estes últimos pontos amostrais não tiveram diferenças significativas entre si (Tabela 4, Figura 8).

Tabela 4 – Resultados do Teste de Tukey realizado a partir da interação dos fatores ponto amostral e estação do ano (E). Entre parênteses aparece a média do fator de condição em cada tratamento (T). **Legenda: \*valores significativos; E = estação; I=inverno; V=verão.**

T	Ponto	E	1 (0.0055)	2 (0.0170)	3 (0.0061)	4 (0.0163)	5 (0.0055)	6 (0.0154)
1	Jusante	I	-					
2	Jusante	V	0,000120*					
3	Montante	I	0,754658	0,000120*				
4	Montante	V	0,000120*	0,596657	0,000120*			
5	REBIO	I	0,999987	0,000120*	0,656022	0,000120*		
6	REBIO	V	0,000120*	0,011780*	0,000120*	0,374528	0,000120*	-

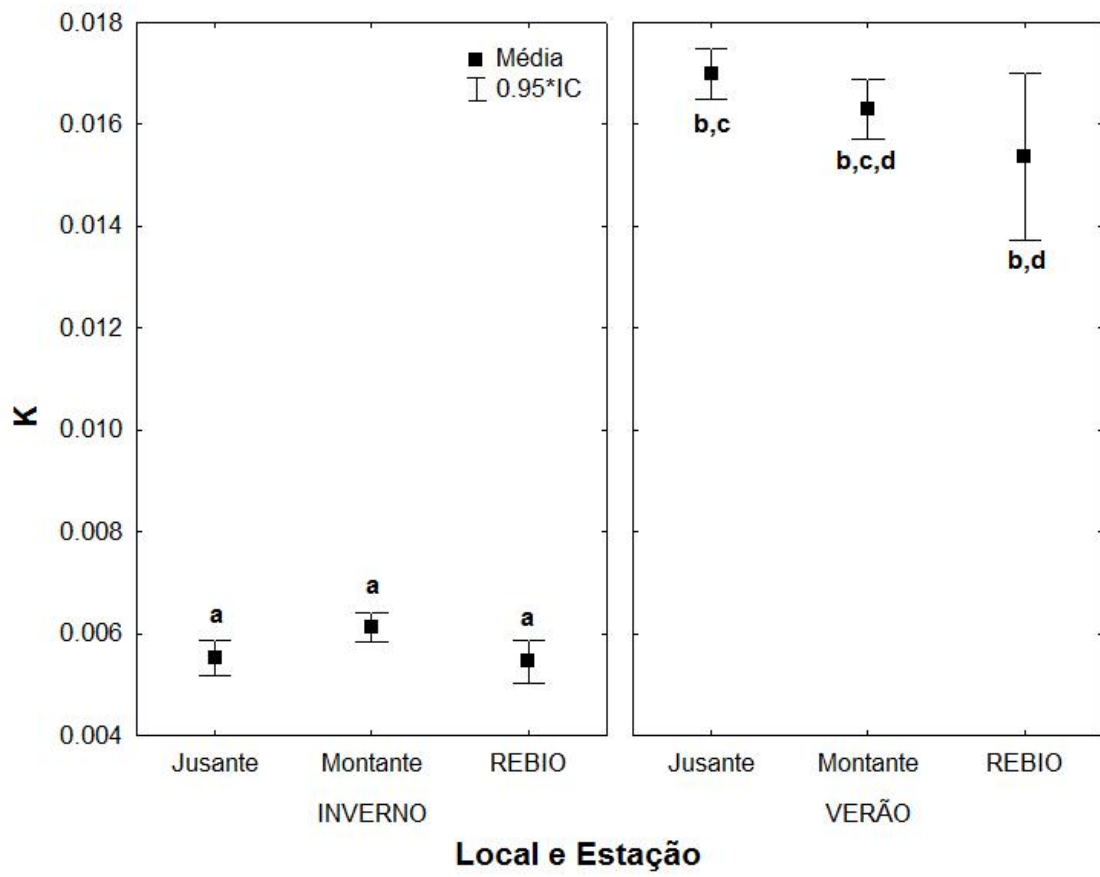


Figura 8 – Valor médio e intervalo de confiança (IC) do fator de condição (K), considerando a interação dos pontos amostrais com as estações do ano. Legenda: a,b,c,d – representação da significância do Teste de Tukey (letras diferentes representam diferença estatística –  $p < 0,05$ ).

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIA

Os resultados encontrados no presente trabalho indicam que os indivíduos de *Astyanax aff. paranae* do rio do Campo estão submetidos a um maior estresse ambiental. Estudos ecotoxicológicos, como este, representam um instrumento para avaliar a toxicidade e os efeitos adversos provocados por substâncias químicas a organismos não alvos. Estes estudos também possibilitam avaliar o potencial ou nível de impacto dos compostos tóxicos sobre os organismos que estão expostos no ambiente (COONEY, 1995).

Ainda, segundo Wester et al. (2002), os danos histopatológicos, como os verificados no presente trabalho, são visíveis após exposição a baixas concentrações de substâncias tóxicas em comparação a outras medidas de toxicidade tais como mortalidade de indivíduos e mudanças comportamentais. Estas alterações reforçam o efeito negativo de contaminantes sobre as populações de *Astyanax aff. paranae* do rio do Campo.

As histopatologias mais frequentes neste estudo foram a hiperplasia epitelial das lamelas secundárias e a fusão lamelar, sendo consideradas como respostas às condições adversas, podendo ser resultado de infecções bacterianas ou parasitárias ou irritantes químicos (FONTAÍNHA-FERNANDES et al., 2008; GARCIA-SANTOS et al., 2007). Estas alterações tem a finalidade de defender o indivíduo de uma situação de estresse e/ou conservar a homeostasia do animal (MALLAT, 1985), porém se não reparadas podem levar os indivíduos a um estresse metabólico.

Diante do exposto acima, sugere-se que as histopatologias encontradas nos pontos do rio do Campo estiveram mais relacionadas com adversidades antrópicas (xenobióticos), enquanto que as encontradas na REBIO estiveram mais relacionadas a adversidades naturais (parasitas e/ou variações abióticas).

Os valores encontrados para o índice de Bernet no verão foram maiores que os valores encontrados para o inverno o que pode ser explicado pelo fato de que no verão a pluviosidade é maior, havendo aumento no carregamento de solo e



consequentemente dos contaminantes presentes nele, aumentando as alterações nas brânquias como uma reação de defesa.

No ponto jusante, se encontra a principal estação de tratamento de esgoto do município de Campo Mourão, onde verificou-se um aumento das histopatologias no verão. Além de verão ter maior índice de chuvas e consequentemente maior carregamento de contaminantes para o corpo hídrico, há também aumento no consumo de água e, portanto, aumenta-se a quantidade de efluente gerado e descartado. Esta última predição é corroborada por Von Sperling (1996) que relata maior volume de efluentes tratados no verão (período chuvoso). Ainda, o mesmo autor ainda relata que as estações de tratamento de esgoto que não possuem tratamento terciário, como visto em Campo Mourão, não removem produtos químicos sintéticos e patógenos, isto sustenta argumentação de que os organismos destes locais estão sujeitos a influência destes micropoluentes.

Os peixes do ponto montante apresentaram valores intermediários de histopatologias, mas não tiveram variações significativas entre as estações de coleta. Estes resultados sugerem que: 1- a contaminação na área possivelmente se dá por químicos agrícolas, uma vez que este ponto está imerso em uma área contendo apenas esta atividade antrópica; 2- a quantidade de defensivos agrícolas permanece inalterado ao longo do ano; 3- os peixes deste local sofrem com maiores adversidades naturais, como doenças e variações ambientais locais. A base de dados do presente trabalho não suporta nenhuma das afirmações acima, necessitando testes físico-químicos da água e bioensaios em laboratório para a obtenção de resultados mais precisos e conclusivos.

Os exemplares coletados na REBIO das Perobas, durante o inverno, apresentaram os menores valores médios de histopatologias, suportando a utilização deste ponto como ponto com menor nível de intervenção. No entanto, no verão foram detectados valores mais elevados de histopatologias, os quais podem ser resultado de impactos de contaminantes no Córrego Concórdia ou do processo de migração reprodutiva dos espécimes de *Astyanax aff. paranae* rio acima.

O córrego Concórdia nasce fora do perímetro da Reserva Biológica e corre margeando a REBIO na sua zona de amortecimento, nas áreas de entorno da Reserva observam-se tanto atividades pecuárias quanto agrícolas (ICMBio, *com. pes.*). Associado a isso, verifica-se desmatamentos na vegetação ciliar das cabeceiras do córrego Concórdia, o que pode contribuir para o carreamento de

contaminantes (MARTINS; DIAS, 2011). Além disso, verifica-se nas proximidades da nascente do córrego Concórdia que as áreas de plantio de grãos e cana-de-açúcar são constantemente pulverizadas com auxílio de aeronaves, e essa nuvem de produtos químicos podem atingir os corpos hídricos da Reserva e sua área de entorno (ICMBio da REBIO das Perobas, 2012). Este conjunto de impactos na cabeceira do referido córrego podem comprometer a qualidade da sua água e, conseqüentemente, afetar os peixes que vivem neste córrego, como visto por Marion (2012), ao estudar células de sangue da mesma espécie de peixe.

Por outro lado, é possível que os espécimes de *Astyanax aff. paranae*, coletados no verão, estejam com maiores taxas de danos devido a migração reprodutiva de indivíduos das partes mais baixas do córrego Concórdia, onde a agricultura e a pecuária são mais desenvolvidas, para as partes mais altas, localizadas próximo as cabeceiras do referido córrego (onde fica a REBIO). Este tipo de comportamento é bastante comum para o gênero *Astyanax* (WOLFF, 2007) durante o final da primavera e o início do verão, justamente quando se coletou os indivíduos do verão para a realização deste trabalho.

## 6.2 FATOR DE CONDIÇÃO

A relação peso-comprimento e o fator de condição foram importantes parâmetros populacionais para observar o uso das reservas energéticas dos indivíduos, bem como o estado fisiológico dos mesmos, entre as estações do ano. Observou-se que efetivamente estes parâmetros podem ser utilizados como medida de variação entre diferentes populações.

No presente estudo, os indivíduos coletados no verão apresentaram crescimento do tipo alométrico positivo, indicando que houve um incremento em peso maior do que em comprimento. Por outro lado, verificou-se que os indivíduos do inverno tiveram crescimento do tipo alométrico negativo, ou seja, incremento em peso menor que em comprimento (ORSI et al., 2002). A diferença observada no valor do coeficiente angular (b) dos indivíduos entre as estações do ano é possivelmente explicada pelas variações sazonais das condições ambientais, como diferenças na temperatura da água, na pluviosidade e na disponibilidade de

alimento. Corroborando com estes argumentos, Santos et al. (2006) descreveram que os valores do coeficiente angular (b) podem sofrer flutuações em função de fatores como a disponibilidade e aproveitamento de alimentos pelos indivíduos ao longo do ano.

A crescente demanda da população humana por recursos naturais elevaram a concentração de substâncias sintéticas potencialmente tóxicas (xenobiontes) nos corpos hídricos superficiais (TOWNSEND et al., 2006) e, conseqüentemente, passaram a participar do complexo cenário de variáveis que interferem nos atributos populacionais, tais como a relação peso-comprimento e o fator de condição (FLYNN et al., 2011). Estes xenobiontes, atualmente, têm sido uma grande preocupação para os cientistas, inclusive elevando a demanda por novas soluções de detecção e mensuração do impacto por elas causado (MIRANDA et al., 2008). Dentro deste contexto, diferentes pesquisadores vêm testando a eficiência do fator de condição como medida para o monitoramento ambiental (BERVOETS; BLUST, 2003; FARAG et al., 1998; DETHLOFF et al., 2001).

Neste trabalho, os valores do fator de condição foram significativamente menores no inverno, fato que pode refletir uma situação de estresse natural, quando a temperatura é mais baixa e a produtividade do sistema é menor. Provavelmente, estes fatores exercem um poder maior de influência sobre os espécimes, independentemente da área onde se encontrem. No verão, a temperatura se eleva, os níveis de pluviosidade aumentam, os decompositores se tornam mais ativos e, conseqüentemente, ocorre uma maior disponibilidade de nutrientes (JOBBLING, 1995), esses nutrientes são absorvidos pelos produtores e assim ocorre maior disponibilidade de alimento.

No entanto, fatores locais parecem também influenciar a condição dos espécimes, como observado para os indivíduos capturados no ponto a jusante do rio do Campo no verão. Estas diferenças podem ser explicadas de duas maneiras: 1- resultado de variações locais nas interações biológicas; 2- resultante de diferentes níveis de interferências antrópicas entre os locais.

Os indivíduos coletados neste estudo podem ter sido influenciados por fatores biológicos locais, tais como diferentes níveis de predação, competição e parasitismo (Thamy Santos Ribeiro<sup>a</sup> – comun. pessoal). De acordo com Krebs (2009), interações biológicas podem promover influências em micro-escala no *fitness* das espécies, podendo modificar suas respectivas condições energéticas e,

consequentemente, influenciar localmente atributos reprodutivos, fisiológicos e comportamentais das populações.

Ainda, no ponto a jusante do município de Campo Mourão ocorre o despejo dos efluentes da ETE do município de Campo Mourão, fato que pode explicar o maior aporte de nutrientes e o melhor estado nutricional da espécie. Em geral, ambientes com poluição orgânica mostram altos níveis de produtividade (COLINVAUX, 1993), podendo ser vantajoso para espécies de maior plasticidade, facilitando o acúmulo das suas reservas energéticas e, consequentemente, maiores valores no seu fator de condição (ALBERTO et al., 2005).

Atualmente, inúmeros estudos tentam investigar os efeitos dos contaminantes sobre o fator de condição, mas em muitos deles, esta medida isolada não parece ser muito responsiva, especialmente em casos de poluição por metais pesados (FARAG et al., 1998; DETHLOFF et al., 2001, LOHNER et al., 2001). No estudo de Bervoets e Blust (2003) os peixes apresentavam altos níveis de metais pesados em seus tecidos, mas o fator de condição não mostrou uma resposta relacionada às variações nos níveis metais.

Para uma melhor compreensão da efetividade do fator de condição como um indicador ambiental, sugere-se que bioensaios sejam realizados e variáveis indesejadas sejam controladas. Muitos fatores podem afetar o fator de condição, e entre estes a qualidade do habitat e a disponibilidade de alimento parece ser mais efetiva que a contaminação por metais ou pesticidas (BERVOETS; BLUST, 2003). Para um estudo de biomonitoramento, o fator de condição de forma isolada não parece ser um bom indicador de estresse ambiental relacionado a contaminação, mas em conjunto com biomarcadores de resposta precoce pode ser relevante em estudos de impacto ambiental.

## 7 CONCLUSÃO

De uma maneira geral, os indivíduos de *Astyanax aff. paranae* do rio do Campo estão submetidos a um maior estresse ambiental quando comparados aos exemplares da REBIO das Perobas, devido as maiores taxas de histopatologias encontradas. Os espécimes do ponto a jusante são os mais afetados, possivelmente por ação dos contaminantes dos efluentes urbanos.

As diferenças encontradas nos valores do fator de condição referentes às estações inverno/verão estão provavelmente ligadas à variação de produtividade encontrada em cada uma, e não quanto à condição dos peixes afetados pela contaminação.

O Fator de Condição pode não ser um método realmente efetivo para se medir o estresse ambiental, já que em teoria a Reserva Biológica das Perobas deveria possuir os maiores valores de  $k$  por ser a área de controle.

Com isso, verifica-se que a complementaridade de biomarcadores, em diferentes níveis de organização biológica, é necessário para a obtenção de resultados mais precisos e confiáveis.

## REFERÊNCIAS

ABELHA, Milza Celi Fedatto; GOULART, Erivelto; KASHIWAQUI, Elaine Antoniasse Luiz; Silva, Marlene Rodrigues. *Astyanax paranae* Eigenmann, 1914 (Characiformes: Characidae) in the Alagados Reservoir, Paraná, Brazil: diet composition and variation. **Neotropical Ichthyology**. Sociedade Brasileira de Ictiologia, v.4, n. 3, Jul/Set. 2006.

ALBA-TERCEDOR, Javier. Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los ríos. **IV Simposio del Agua em Andalucía (SIAGA)**, Almeria, 1996, vol. II: 203-213. Disponível em: <[http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub\\_a/pubalbj1996p203.pdf](http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub_a/pubalbj1996p203.pdf)>. Acesso em: 20 out. 2012.

ALBERTO, André; CAMARGO, Antonio Fernando Monteiro; VERANI, José Roberto; COSTA, Oscar Tadeu Ferreira; FERNANDES, Marisa Narciso. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.61, p.247–255, 2005.

AL-SABTI, Kabil; METCALFE, Chris.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutation Research**, v.343, p. 121-135, 1995. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01651218/343/2>>. Acesso em: 09 mai. 2012.

ARAÚJO, Carolina Costa de; FLYNN, Maurea Nicoletti; PEREIRA, William. Roberto Luiz. Fator de condição e relação peso comprimento de *Mugil curema* Valenciennes, 1836 (Pisces, Mugilidae) como indicadores de estresse Ambiental. **RevInter: Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 3, p. 51-64, out. 2011.

ARELLANO, J.M; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales sole, *Solea senegalensis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.4, p. 62-72, set 1999.

ARIAS, Ana Rosa Linde; BUSS, Daniel Forsin; ALBURQUERQUE, Carla de; INÁCIO, Alan Ferreira; FREIRE, Marina Moreira; EGLER, Mariana; MUGNAI, Riccardo; BAPTISTA, Darcilio Fernandes. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.12, n.1, p. 61-72, 2007.

BARBOUR, Michael T.; GERRITSEN, Jeroen; SNYDER, BlaineD.; STRIBLING, James B. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, 2a ed. EPA 841-B-99-002. **U.S. Environmental Protection Agency**; Office of Water; Washington, D.C. Disponível em: <<http://water.epa.gov/scitech/monitoring/rsl/bioassessment/index.cfm>>. Acesso em: 20 out. 2012.

BERNET, D.; SCHIMID, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, p. 25-34, 1999.

BERVOETS, L.; BLUST, R. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. **Environmental Pollution**, v.126, p.9–19, 2003.

BRITO et al. Monitoring water quality in reservoirs for human supply through multi-biomarkers evaluation in tropical fish. **Journal of Environmental Monitoring: JEM**, v. 14, n.2, p. 615-25.

CALLISTO, Marcos; MORETTI, Marcelo; GOULART, Michael. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. **RBRH- Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v.6, n.1, p. 71-82, jan/mar 2011.

CASTELLA, Paulo Roberto; BRITZ, Ricardo Miranda. **A floresta com araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. 2004. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 236p.

COLAVITE, Ana Paula. **Geotecnologias aplicadas à análise da paisagem na bacia hidrográfica do rio do campo, Paraná-Brasil**. 2009. 15p. Disponível em: <egal2009.easyplanners.info/area04/4033\_Colavite\_Ana\_Paula.doc> Acesso em: 01 Abr. 2013.

COLINVAUX, P. **Ecology**. New York: Wiley, 1993.

COONEY, J.D. Freshwater tests. In: **RAND, G.M. (Ed.)**. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment Washington, D.C.: Taylor and Francis, 1995. p. 71-98

DAVID, José Augusto de Oliveira. **Estudo de *Mytella falcata* (Molusca Bivalva) como indicadora de efeitos genotóxicos e citotóxicos no estuário de Santos – SP**. 2007. 205f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2007.

DETHLOFF, G. M.; BAILEY, H. C.; MAIER, K. J. Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical, and immunological parameters of wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 40, p. 371–380, 2001.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Aplicação do Biomonitoramento para Avaliação da Qualidade da Água em Rios**. Disponível em: <[http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos\\_36.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_36.pdf)>. Acesso em: 21 mar. 2013.

FARAG, A. M.; WOODWARD, D.F.; GOLDSTEIN, J.N.; BRUMBAUGH, W.; MEYER, J.S. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 34, p. 119–127, 1998.

FERREIRA, Anderson. **Ecologia trófica de *Astyanax paranae* (Osteichthyes characidae) em córregos da bacia do rio passa-cinco, estado de São Paulo**. 2004. 56p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

FLYNN, Maurea Nicoletti; LOURO, Mônica Ponz; SILVA, Leila Cristina Magalhães; ROSSI, Maura Vincenza. 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. **RevInter: Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v.4, n.2, p.19-35, 2011.

FONTAÍNHAS-FERNANDES, António; LUZIO, Ana; GARCIA-SANTOS, Sofia; CARROLA, João; MONTEIRO, Sandra. Gill histopathological alterations in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to treated sewage Water. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 51, n. 5, Out. 2008. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-89132008000500023](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132008000500023)>. Acesso em: 11 mar. 2013.

GARCIA-SANTOS, S. et al . Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, Apr. 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352007000200017&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000200017&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 11 mar. 2013.

GARUTTI, Valdener; BRITSKI, Heraldo Antonio. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS**, Porto Alegre, 13: 65-88, 2000.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **Plano de Manejo da Reserva Biológica das Perobas**, Brasília, 2012, 199p. Disponível em: <[https://docs.google.com/file/d/0B96ON\\_XIoXq3T1c0cW96bzBRay1VWF94dUEwZnRXQQ/edit?pli=1](https://docs.google.com/file/d/0B96ON_XIoXq3T1c0cW96bzBRay1VWF94dUEwZnRXQQ/edit?pli=1)>. Acesso em: 21 mar. 2013

JESUS, Thaís Bonfim de; CARVALHO, Carlos Eduardo Veiga de. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, 12(4), p. 680-693, 2008.

JOBLING, M. **Environmental Biology of Fishes**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 455

JONSSON, Claudio Martin; CASTRO, Vera Lúcia. Biondicadores e Biomarcadores de agroquímicos no contexto da relação saúde-ambiente. **EMBRAPA-Meio ambiente**. Jaguariúna, 2005.

JUNIOR, Ozelito Possidônio de. Amaranate; SANTOS, Teresa Cristina. Rodrigues. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, 589-593, 2002.

KREBS, Charles. J. **Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance**. 6.ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2009.

LIMA-JUNIOR, Sidnei Eduardo; CARDONE, Isabella Braz; GOITEIN, Roberto. Determination of a method for calculation of Allometric Condition Factor of fish. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 2, p. 397-400, 2002.

LINS, José Augusto Pereira Navarro; KIRSCHNIK, Peter Gaberz; QUEIROZ, Valter da Silva; CIRIO, Silvana Maris. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v.8, n.4, p. 469-484, out./dez. 2010.

LOHNER, T. W.; REASH, R.J.; WILLET, V.E.; ROSE, L.A. Assessment of tolerant sunfish populations (*Lepomis sp.*) inhabiting selenium-laden coal ash effluents - 1. Hematological and population level assessment. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 50, p. 203–216, 2001.



LUVIZOTTO, Márcia Fabiana. **Efeito de diferentes salinidades sobre as células de cloreto e as células secretoras do epitélio branquial do peixe antártico *Nototheniops nudifons* (Lonnberg,1905)**. 1994. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.

MAACK, Reinhard. 1981. **Geografia física do Estado do Paraná**. BDT/UFPR/IBPT, Curitiba, 350p.

MACHADO, Marcelo. Rubens. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 63-76, out. 1999.

MALLATT, J. Fish Gills Structural Changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, n. 4, p. 630-648, 1985.

MARION, Luis Fernando de Abreu. **O uso de biomarcadores genéticos em *astyanax aff. Paranae* (pisces) para avaliar a contaminação aquática na região centro-oeste do paraná**. 2012. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2012.

MARTINEZ, Cláudia Bueno dos. Reis; NAGAE, Mariza Yuri; ZAIA, Cassia Thais Bussamra Vieira; ZAIA, Dimas Augusto Morozin. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Brazilian Journal of Biology**, v.64, n.4, nov.2004.

MIRANDA, Anna Lucia; ROCHE, Hélène; RANDI, Marco Antonio Ferreira; MENEZES, Manoel L; OLIVEIRA RIBEIRO, Ciro Alberto. Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological, physiological, and immunological findings. **Environmental International**, v.34, p. 939-949, 2008.

MATTHEWS, Robin. A.; BUIKEMA, Arthur. L.; CAIRNS, John; RODGERS, J.H. Biological monitoring part IIA: Receiving system functional methods relationships, and indices. **Water Research**, v.16, n.2, p.129-139, 1982.

OLIVEIRA-RIBEIRO, Ciro. A; VOLLAIRE, Y.; SANCHES-CHARDI, A.; ROCHE, Hélène. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**, v.74, n.1, p. 53-69, 2005.

ORSI, Mário Luis; SHIBATTA, Oscar Akio; SILVA-SOUZA, Angêla T. **Caracterização biológica de populações de peixes do rio Tibagi, localidade de Sertanópolis**. p 425-432. In: M.E. Medri (Ed). A bacia do Rio Tibagi. Londrina, Universidade Estadual de Londrina, 595p, 2002.

PAGOTTO, João Paulo Alves; GREGÓRIO, Angelivia; PAZINATTO, Diogo V.; KLEIN, Diovane R.; TATARA, Elisa; SILVA, Grazielly C; SILVA, João P.; BRAGA, Josiane S.; MACHADO, Liliam R.S.; FERREIRA, Maria R.; SANTOS, T.S.; COSTA, Rafael N.; HANISCH, Rogério F.; COSTA, Vagner F. Limpeza do Rio do Campo em Comemoração ao dia Mundial da Água. In: CONGRESSO CIENTÍFICO DA REGIÃO CENTRO-OCIDENTAL DO PARANÁ, 3, 2009, Campo Mourão, **Anais...Campo Mourão**, 2003.

QUINN, Gerald P.; KEOUGH, Michael J. **Experimental design and data analysis for biologists**. Cambridge University Press, Cambridge. 2002, 537p.

RABITTO, Inês da Silva. **Avaliação da exposição crônica do Hg e DDTs em *Cichla monoculus* (Cichlidae) e riscos para exposição humana na Amazônia**. 2010. 183 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

RASHED, M. N. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. **Environment International**, v. 27, n. 1, p. 27-33, 2001.

ROCHA, Marco Antonio da; RIBEIRO, Edson Luis de Azambuja; MIZUBUTI, Ivone Yurika; SILVA, Leandro das Dores Ferreira; BOROSKY, Julian Cristina; RUBIN, Karina Cristina Puggesi. Uso do fator de condição alométrico e de Fulton na comparação de carpa (*Cyprinus carpio*), considerando os sexos e idade. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 429-434, jul./set. 2005.

SANTOS, S.L. et al. Fator de condição e aspectos reprodutivos de fêmeas de *Pimelodella cf. gracilis* (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae) no rio Amambáí, Estado de Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 129-134, 2006.

SCHWAIGER, Julia et al. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, Netherlands, 15 sept. 1997. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/n135182612588616/>>. Acesso em: 07 mai. 2012.

SILVA, Josiane; FILHO, Henrique Ortêncio. Dípteros ectoparasitas (Insecta, Diptera) em morcegos (Chiroptera, Mammalia) na Reserva Biológica das Perobas Paraná, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, Porto Alegre, v.101, n.3, set.2011.

STRIEDER, Milton Norberto; SCHERER, Ricardo Thormann; VIEGAS, Gustavo. Biomonitoramento da qualidade das águas em arroios na bacia hidrográfica do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil. **UNirevista**, v. 1, nº 1, p. 47-56, jan. 2006.

TOWNSEND Colin. R; BEGON Michael; HARPER, John. L. **Fundamentos em ecologia**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

VAN DER OOST, Ron, BEYER, Jonny, VERMEULEN, Nico P. E., 2003, Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v.13, n.2, p.57-149.

VAZZOLER, Anna Emília A. de M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá, EDUEM, 169p.1996.

VON SPERLING, Marcos. **Princípios básicos do tratamento de esgotos - Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Belo Horizonte, UFMG. v.2. 1996.

WESTER, P.W.; VAN DER VEN, L.T.M.; VETHAAK, A.D.; GRIWIS, G.C.M.; VOS, J.G., Aquatic toxicology: opportunities for enhancement through histopathology. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, p289–295, 2002.

WINKALER, Elissandra Ulbricht; SILVA, Andressa das Graças; GALINDO, Henrique Chaicoski; MARTINEZ, Cláudia Bueno dos Reis. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 23, n. 2, p. 507-514, 2001.

WOLFF, Luciano Lazzarini. **Estrutura Populacional, Reprodução e Dinâmica Alimentar do lambari *Astyanax sp. B* (Characidae: Tetragonopterinae) em dois trechos do Rio das Pedras, Guarapuava – Paraná**. 2007. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

WOOTTON, Robert J. **Ecology of Teleost Fishes**. Second Edition. Kluwer Academic Publishers, 1999.

ZHOU, Qunfang; ZHANG, Jianbin; FU, Jianjie; SHI, Jianbo, JIANGI, Guibin. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**. p. 135-150, 2008. Disponível em: <[http://www.ces.iisc.ernet.in/energy/stc/biomonitoring\\_of\\_wetlands/biomonitoring\\_aquatic\\_ecosystem.pdf](http://www.ces.iisc.ernet.in/energy/stc/biomonitoring_of_wetlands/biomonitoring_aquatic_ecosystem.pdf)>. Acesso em: 03 mai 2012.