



**CENTRO UNIVERSITARIO NILTON LINS  
REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOLOGIA URBANA**

**ANÁLISE NO HOSPEDEIRO E *IN VITRO* DA SENSIBILIDADE DE MONOGENEA  
DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) AO COBRE**

**MEGARA BARBOSA DA SILVA**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**MANAUS  
2008**

**MEGARA BARBOSA DA SILVA**

**ANÁLISE NO HOSPEDEIRO E *IN VITRO* DA SENSIBILIDADE DE MONOGENEA  
DO TAMBACUI (*Collossoma macropomum*) A0 COBRE.**

**Dissertação de Mestrado  
apresentada a Pró-Reitoria de Pós-  
Graduação e Pesquisa do Centro  
Universitário Nilton Lins, para a  
obtenção da titulação de mestre, no  
Curso de Mestrado Profissional em  
Biologia Urbana.**

**ORIENTADORA: Dra. CLEUSA SUZANA OLIVEIRA DE ARAÚJO**

## **MANAUS 2008**

### **DEDICATÓRIA**

Ao Deus da minha vida, o qual tem me sustentado, me feito aguerrida para chegar ao final de mais uma fase de vitórias na minha vida. A Ele, toda Honra e Glória pelo que tenho, pelo que sou e o que vier a ser.

Aos meus queridos pais, que me ensinaram a moral e os valores pela vida, pela família, pelo outro e acima de tudo amar a Deus sobre todas as coisas. Minha eterna saudade e gratidão mãezinha e paizinho.

As minhas queridas filhas e intercessoras, Estelly Mareza, Mayza Lorena, Mayara Estefane e Zaine Marena. Essa vitória é de vocês, pela paciência em me esperar, pela compreensão por minha ausência e pelo eterno amor dedicado a mim. Vocês são uma das razões da minha superação. Amo vocês.

Ao amado e querido Val, que me ajudou e como um paizão dedicou parte do seu tempo para cuidar com carinho de nossas filhas na minha ausência, acreditando no meu trabalho. Obrigado! Essa vitória é sua.

As minhas mães e irmãs: Elcy, Elzair, Eliza e Edilza pela ajuda e apreço dedicado a mim e as minhas filhas na minha ausência. Que o Senhor Deus esteja sempre abençoando a cada uma incessantemente. Meu eterno e grato amor a vocês. Obrigada!!!!!!

## AGRADECIMENTOS

Meu respeito, admiração e gratidão por você Querida Dra. Cleusa Suzana, em me ensinar e guiar meus conhecimentos a um mundo desconhecido, mas que, com eficiência me fez desvendar. És a pessoa que faz parte dos meus amigos eternos, aqueles que contamos nos dedos. Te amo professora. Desejo que o nosso Deus esteja a te guiar em tudo aquilo que fizeres, te dando sempre a vitória. Obrigada!!!

As minhas colegas, Aline, Marieta, Rose e Gaby pela ajuda e companheirismo. Um beijo no coração. Obrigada!!!

Aos meus amigos Eliana e Érico, por tudo o que fizeram por mim como irmãos. Obrigada!!!

Aos meus sobrinhos Karol, Abrão, Kerolyn e Enoque, e a minha querida irmã primogênita Heber, por me proporcionarem o aconchego de um lar. Muito Obrigado! Que sejam recompensados com as bênçãos do céu.

## RESUMO

O estudo de parasitos mogeneas vem se intensificado devido à diversidade apresentada por esse grupo. São encontrados tanto em águas marinhas como na água doce. O trabalho teve por objetivo analisar a sensibilidade de parasitos monogeneticos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) ao cobre. Foram realizados três testes em laboratório: no primeiro, submeteu-se 20 peixes (alevinos de tambaqui – 1 por aquário em 3L de água), com quatro replicas a nove concentrações do cloreto de cobre ( 0,45 a 1,65g CuCl<sub>2</sub>/l) e um controle em 24 horas. Este experimento mostrou correlação negativa entre as concentrações e numero de monogeneas mortas (r-0,76), não estabeleceu-se relação a (CL50) registrada para o tambaqui, e obteve-se correlação positiva entre as horas de exposição e numero de monogeneas mortas (r-0,61). Outro experimento *in vitro* foi utilizado apenas os arcos branquiais contendo os parasitos submetidos diretamente ao cobre nas concentrações do primeiro experimento (0,45 a 1,65mg/ml) e, com a ajuda do estereomicroscopio foi verificada a cada 30 minutos o numero de monogeneas vivas. Neste experimento, após 2:30h o controle estava com 100% de monogeneas vivas, enquanto que, nas demais concentrações todas já estavam mortas. Em relação aos experimentos um e dois que continham o hospedeiro, as monogeneas mostraram-se menos sensíveis ao cobre, sugerindo que a fisiologia do hospedeiro esteja intervindo na absorção do cobre pelas monogeneas, enquanto que no experimento *in vitro* a sensibilidade ao cobre foi evidenciada.

PALAVRA-CHAVE: monogenea – sensibilidade – cloreto de cobre

## ABSTRACT

The study of parasites mogean has been intensified because of the diversity displayed by this group. Both are found in marine waters and in freshwater. The study aimed at assessing the sensitivity of the parasites monogenean tambaqui (*Colossoma macropomum*) to copper. Three tests were conducted in the laboratory: the first, to be submitted 20 fish (fingerlings of tambaqui - 1 per tank of water in 3L), with four to nine replicas concentrations of copper chloride (0.45 to 1.65 g CuCl<sub>2</sub> / l ) And a control within 24 hours. This experiment showed negative correlation between concentrations and number of dead monogenea (r-0, 76), there was no relation to (LC50) registered for the tambaqui, and was returned positive correlation between the hours of exposure and number of monogenea dead (r-0, 61). Another experiment *in vitro* was used only the branchial arches containing the parasites submitted directly to the concentrations of copper in the first experiment (0.45 to 1.65 mg / ml) and with the help of the

stereo was checked every 30 minutes the number of monogenea alive. In this experiment, after 2:30 pm with the control was 100% of monogenea alive, whereas in all other concentrations were already dead. In the case of one and two experiments that contained the host, the monogenea seemed to be less sensitive to copper, suggesting that the physiology of the host is involved in the absorption of copper by monogenea, whereas in the experiment in vitro susceptibility to copper was evident.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. Metais .....	<b>3</b>
Cobre.....	<b>4</b>
1.2. Organismos testes.....	
1.3. Bioindicadores.....	<b>7</b>
1.4. Monogênea .....	
Biologia geral.....	
Ciclo de vida dos monogeneas.....	
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>9</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>4. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>25</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>26</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Desde o estabelecimento das primeiras sociedades humanas, têm-se visto a interferência humana no meio aquático, seja pelo desmatamento de áreas, seja pela produção de resíduos (ABESSA, 2006). De forma paulatina, essas interferências não apresentam inicialmente problemas para o ambiente, no entanto, com o aumento da urbanização concentrada nas grandes capitais, verifica-se a colaboração para um impacto ambiental crescente, a qual afeta rios, igarapés, a fauna e flora e o próprio ser humano (MELO *et al*, 2005).

Esse fenômeno tornou-se muito mais evidente durante e após a Revolução Industrial, quando complexos sistemas de produção foram desenvolvidos, propiciando grande aumento na quantidade de resíduos descartados no ambiente. Soma-se a isso a explosão populacional ocorrida no século XX, que potencializou e espalhou muito mais os lançamentos de resíduos de origem antrópica, de maneira que hoje existe um cenário bastante problemático no que concernem as questões ambientais e suas complicações socioeconômicas (ANGELA, 2006).

A necessidade de conhecer os efeitos das substâncias introduzidas pelo homem na natureza e como elas interferem nos ecossistemas e em seus complexos e delicados processos levou a desenvolver vários estudos, entre eles a ecotoxicologia (VAL *et al*, 2006). Esta ciência procura estudar e compreender os efeitos de substâncias biologicamente ativas sobre os organismos por meio da medida de respostas observáveis ou mensuráveis (efeitos) após a exposição ou contato desse organismo com a(s) substância(s) em questão (ZAKRZWESKI, 1991; LOMBARDI, 2004).

Nos últimos anos, o nível de compostos xenobióticos – compostos químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico, substâncias com concentrações elevadas ou compostos naturais - no ecossistema aquático, resultante da atividade antropogênica sobre o meio ambiente. O emprego de bioindicadores é importante não só para medir a saúde do ecossistema aquático, mas também para determinar o impacto potencial, ambiental e econômico, das atividades humanas (ESPINO *et al*, 2000). Tal fato vem contribuindo para a crescente redução da qualidade dos componentes ambientais, bem como para o

comprometimento da saúde dos seres vivos que habitam esses ecossistemas (CAJARAVILLE *et al.*, 2000).

A biota aquática está constantemente exposta a uma infinidade de substâncias tóxicas lançadas no meio ambiente oriunda de diversas fontes de emissão. A enorme descarga de lixos tóxicos provenientes de efluentes industriais, os processos de drenagem agrícola, os derrames acidentais de lixos 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, pesticidas, compostos orgânicos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), etc (CLETO FILHO E WALKER, 2001; LIBÂNIO, 2005). Essas substâncias são capazes de interagir com o organismo vivo causando múltiplas alterações que podem gerar graves conseqüências em populações, comunidades ou ecossistemas, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição (fig.1).

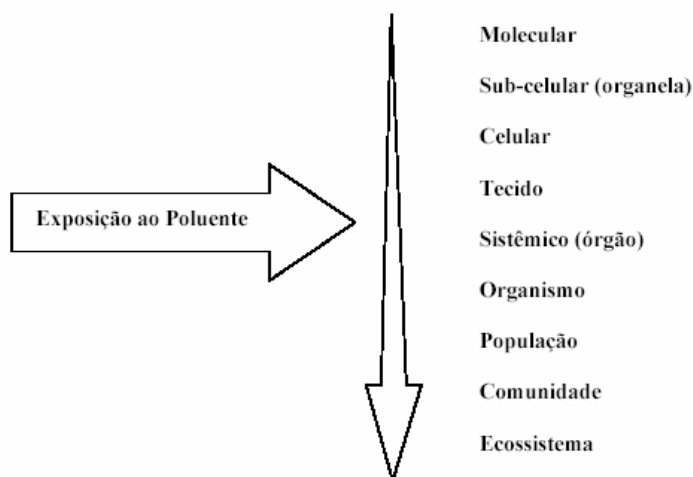


Figura 1 - Representação esquemática da ordem sequencial de respostas a poluentes dentro de um sistema biológico (Rashed, 2001).

Os diferentes padrões de alterações, inerentes a cada composto e a cada organismo, possibilitam que o efeito de uma variedade de substâncias possa ser distintamente avaliado em diversos organismos através de uma resposta integrada dos mesmos a diferentes poluentes presentes no ambiente, já que estes efeitos são precedidos por mudanças sub-letais em

moléculas e células (SCOTT e SLOMAN, 2004; ADAMS, 2005). Os parasitas são utilizados como bioindicadores particularmente em monitoramento de poluição antropogênica (SURES, 2004).

Sabendo-se que ocorrem grandes descargas orgânicas e inorgânicas do cobre, oriundas de vários setores industriais, domésticos e, em pequena escala, da agricultura de subsistência praticada pela região, onde o metal está inserido e de forma direta ou indireta é despejado no ambiente aquática aumentando os riscos de contaminação das espécies presentes no ambiente, desde os peixes e, conseqüentemente, seus parasitos, esta proposta objetivou estudar a sensibilidade dos parasitas monogenéticos de *Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818 ao cobre, bem como, avaliar a relação entre a toxicidade do cobre e a composição da água. O estudo de monogeneas e a sensibilidade ao cobre tanto no hospedeiro como na análise *in vitro*, pode levar a compreender os efeitos tóxicos de elementos encontrados naturalmente ou introduzidos antropicamente no sistema aquático.

## 1. 1 METAIS

A poluição de águas por metais é um problema atual e que tem demandado significativo esforço das sociedades e dos cientistas no sentido de mapear seus efeitos (VAL *et al* , 2004). Na Amazônia, resíduos de origem doméstica e os de origem industrial são as duas fontes principais identificadas desse tipo de contaminação, e esse tipo de problema vem se agravando com o aumento da população urbana e do número de indústrias (WALKER, 1990; WAICHMAN e BORGES, 2003). Um dos metais que vem recendo significativa atenção é o cobre, um elemento potencialmente tóxico para o ambiente.

A toxicidade das substâncias químicas é afetada por fatores como solubilidade, grau de ionização, via de introdução, sítios de armazenamento, biotransformação e eliminação (LARINI,1987). No solo e no sedimento de fundo dos espelhos d'água, o transporte, a transformação e os efeitos dos transportes biológicos das moléculas orgânicas dependem muito de sua retenção pela fase organo-mineral. A biodisponibilidade no meio, como os sedimentos em suspensão e de fundo, pois influenciam diretamente a persistência dos compostos e seus possíveis resíduos (MELO e AZEVEDO, 1997). O sedimento, material

partícula do natural, pode ser transportado e depositado normalmente no fundo de ecossistemas aquáticos, incluindo partículas de material orgânico e água na fase intersticial de partículas (NEWMAN *et al.* 2000). Algumas propriedades físico-químicas da água podem afetar a taxa de adsorção das substâncias nos sedimentos, como temperatura, pH, concentração de material em suspensão, dureza, alcalinidade, fluxo, profundidade e tamanho das partículas presentes (VAL, *et al.*, 2006).

## **Cobre**

O consumo do cobre aumentou significativamente no mundo. O Brasil consome perto de 2.5% do cobre total consumido no mundo, isto é, algo ao redor 850 KT (kilotoneladas) do cobre por o ano. Entretanto, somente nove companhias produzem 80% dos fios e dos cabos vendidos dentro do Brasil e somente cinco controlam 90% da produção dos tubos e das barras do cobre. Dez por cento de todos os produtos de cobre são feitos no Amazonas. A água do rio negro contém ácidos húmicos e fulvicos que influenciam na toxicidade do metal (VAL, 2006). A maioria das atividades destas indústrias estiveram sob ou nenhum regulamento do controle ambiental durante décadas, o que tem resultado já em diversos focos de distúrbios ambientais. Isto conjuntamente com taxas educacionais baixas e a ausência das facilidades para recuperar ao menos a parte mais atingidas pelos metais, os quais apresentam um aumento de níveis do fundo no ambiente que cerca as cidades principais do Amazonas. Para o exemplo, a concentração do cobre na água do córrego "Igarapé do 40", um dos córregos principais da bacia da cidade de Manaus, é 1,000mg/L excedente (SAMPAIO, 2000). Uma redução significativa da diversidade da espécie e da complexidade da cadeia alimentar do alimento foi observada nesta área, ou seja, as espécies existentes neste local. As informações que se têm sobre os níveis do fundo e nos efeitos biológicos do cobre em organismos aquáticos do Amazonas pede um estudo mais detalhado dessa área para uma ação mais emergente com o ambiente (SIEVES, *et al.*, 1995).

VAL (2006) destaca que há três fontes principais do cobre nas águas do Amazonas. Primeira está relacionada as carcaças de restos de animais em decomposição de onde as águas fluem. A segunda fonte é relacionada às atividades mineradoras e a terceira fonte é

relacionada principalmente às atividades antropogênicas modernas, estimuladas principalmente por incentivos do governo para ter indústrias nas áreas de Amazonas sem regulamentos ambientais apropriados.

A ocorrência de íons metálicos no meio ambiente pode ser resultante não apenas da ação humana, podendo ser considerada um fenômeno natural, onde vários destes íons são vitais aos ciclos biológicos.

O cobre é um micronutriente essencial que participa de uma série de funções fisiológicas nos organismos, integrando a estrutura de algumas proteínas e enzimas que participam na defesa contra a ação de radicais livres e na respiração celular, além de atuar como co-fator enzimático. Como muitos metais não essenciais, que podem ser perigosos para os ecossistemas mesmo presentes em pequenas concentrações, alguns metais essenciais também podem ser tóxicos, desde que presentes em elevadas concentrações. A toxicidade do cobre pode ser atribuída a disfunções resultantes de interações inapropriadas entre o metal e estruturas celulares. Desta forma, apesar do cobre ser tratado como um vital, este pode representar um perigo para a natureza, quando presente em concentrações elevadas, devendo então seu lançamento para o ambiente estar sob controle.

Uma vez que o cobre é liberado no ambiente, um complexo conjunto de reações químicas ocorre em função de diversos parâmetros químicos da água, os quais, por sua vez, podem variar em função da hidrodinâmica local. NIENCHESKI e BAUMGARTEN (2002) relataram que as concentrações de metais associados ao material em suspensão dependem das variações de pH, salinidade e das características do material em suspensão. Sendo assim, diversos fatores químicos da água, tais como matéria orgânica dissolvida, pH, dureza e composição iônica, podem modificar a toxicidade do cobre, devendo, portanto, necessariamente ser levados em consideração na avaliação dos limites permissíveis de lançamento de metais no ambiente. Estudos recentes demonstram que a alcalinidade tem um papel principal na redução da toxicidade do sulfato de cobre, enquanto a dureza do cálcio possui um papel secundário (WURTS e DURBOROW, 1992; PERSCHBACHER, 2005).

No que se refere à dureza da água, a qual é determinada pela concentração de cálcio e magnésio, esta é considerada outro agente protetor contra a toxicidade do cobre, pois estes cátions competem com o metal livre pelos sítios de ligação nos organismos, tornando assim

necessária uma maior concentração de cobre livre para causar um efeito danoso ao animal (LOMBARDI, 2004). Por fim, sabe-se que as concentrações dos íons (cátions e ânions) presentes nos ambientes estuarino e marinho são bem maiores que em água doce, e que estes podem também atuar como agentes competidores ou complexantes do cobre, modificando assim a sua toxicidade. Portanto, espera-se que a toxicidade do cobre seja maior em água doce do que em água salgada, fazendo com que a salinidade seja um importante agente protetor contra a toxicidade do cobre.

Outro importante aspecto a ser considerado é o efeito das diferentes vias de contaminação sobre a toxicidade dos metais (LAMA e GRAY, 2003). Visto que os organismos são expostos aos contaminantes tanto por via direta (metal dissolvido na água) quanto por via indireta (transferência nutritiva), testes toxicológicos considerando os efeitos subletais dos contaminantes obtidos via dieta são ecologicamente importantes. Deve ser considerado que a presença de alimento no meio experimental pode influenciar amplamente a toxicidade aguda e crônica do cobre por uma modificação tanto na química da água, conforme discutido anteriormente, quanto nas rotas de acumulação do metal. Um bom exemplo disso são os estudos recentes com organismos herbívoros do zooplâncton marinho sendo troficamente expostos a baixas concentrações de metais (LAMA e GRAY, 2003).

A presença de altas concentrações de matéria orgânica dissolvida reduz os efeitos estressores do cobre nas espécies que forem expostas a contaminação. Dessa forma o cobre pode apresentar-se como um elemento essencial, como um agente estressor comum e como um agente extremamente tóxico, sendo letal aos peixes em altas concentrações. Em resumo, o cobre é um elemento essencial requerido por todos os organismos vivos em diversas funções fisiológicas e reações bioquímicas (LINDER E HAZEGH-AZAM, 1996).

## **1.2 ORGANISMOS TESTES**

A escolha de organismos-testes para realizar análises de toxicidade aquática em condições de laboratório segue os critérios utilizados pela USEPA (1985). Esses incluem as seguintes exigências: organismos representativos de grupo taxonômico ecológico, disponibilidade desses para execução de testes, existência de informações adequadas sobre a

espécie, e uso (sempre que possível) de espécies nativas que sofrem o impacto (RAND e PETROCELLI, 1985). No Brasil, poucas espécies de organismos nativos são utilizadas em testes de toxicidade aguda ou crônica (FONSECA, 1991).

Os cladóceros estão entre os organismos mais utilizados para bioensaios, sendo o grupo recomendado para representar os invertebrados aquáticos (IBAMA, 1987). As *Daphnia spp* são abundantes no meio aquático e exercem funções importantes na cadeia alimentar. Ocupam diferentes níveis tróficos e, quando cultivadas em laboratório, apresentam sensibilidade definida às substâncias de referência (ALMEIDA, 1997).

A *Daphnia magna*, muito comum no meio aquático, é utilizada na criação de alevinos de peixes (PAUW, LAUREYS e MORALES, 1981). Trata-se da espécie mais usada no mundo para teste de toxicidade devido sua sensibilidade aos agentes tóxicos, por apresentar ciclo curto e se reproduzir por partenogêneses, sendo de fácil manejo no laboratório (IBAMA, 1987; CETESB, 1991, USEPA, 1985).

Assim, a determinação de parâmetros biológicos selecionados, que são conhecidos por variar em resposta aos efeitos tóxicos de poluentes, vem sendo constantemente recomendada para avaliar o estado de saúde ambiental de ecossistemas aquáticos. Estes parâmetros biológicos são conhecidos como indicadores biológicos ou bioindicadores (VIARENGO *et al.*, 2000).

### 1.3 BIOINDICADORES

Segundo definição de WASHINGTON (1984):

bioindicadores são espécies escolhidas por sua sensibilidade ou tolerância a vários parâmetros, como poluição orgânica, derramamento de óleo, alterações de pH da água, lançamento de pesticidas, entre outros.

Esses bioindicadores são definidos como qualquer resposta a um contaminantes ambiental ao nível individual, medidos no organismo ou matriz biológica, indicando um desvio do status normal que não pode ser detectado no organismo intacto (ADAMS, 2005). Ou seja, são medidas de fluidos corporais, células, tecidos ou medidas realizadas sobre o organismo completo, que indicam, em termos bioquímicos, celulares, fisiológicos,

compartimentais ou energéticos, a presença de substâncias contaminantes ou a magnitude da resposta do organismo alvo (ESPINO, *et al.*, 2000).

Existem bioindicadores moleculares, celulares e ao nível do animal (ADAMS, 2001). As duas características mais importantes dos bioindicadores são: a) permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos; b) possibilitam a mensuração de efeitos sub-letais. Esta última característica permite pôr em práticas ações remediadoras ou, melhor ainda, ações preventivas. Daí a importância e o interesse atual de incorporação da análise de bioindicadores em programas de avaliação da contaminação ambiental.

Vários parâmetros bioquímicos têm sido testados em peixes com relação a suas respostas a substâncias tóxicas. Entre os indicadores mais investigados nesses animais, estão as enzimas, presentes no tecido hepático, envolvidas na desintoxicação de xenobióticos e seus metabólitos (LECH & VODICNIK, 1985). Outros parâmetros podem ser ainda destacados, pois permitem a obtenção de uma resposta global desses animais aos efeitos da contaminação. Fatores de resistência ao stress ambiental e a uma variedade de condições desfavoráveis como baixas temperaturas, condições oxidativas, anoxia e condições desfavoráveis de salinidade, bem como resistência a altos níveis de poluentes como metais pesados, podem ser verificados em diversas espécies de peixes (STEGEMAN *et al.*, 1992; PEAKALL & WALKER, 1994). Pode-se usar ainda a estrutura da comunidade de parasitas como indicadores biológicos para caracterizar ou distinguir populações de espécies de peixes (MARCOGLISE e CONE, 1997; DÍAZ e GEORGE-NASCIMENTO, 2002; POULIN, 1992). A dependência estrita do parasita com seu hospedeiro, proporciona um modelo ideal para os estudo dos parasitas como bioindicadores do estresse ambiental e da biodiversidade (MARCOGLISE e CONE, 1997).

Assim, de acordo com o nível de organização biológica a que se referem, os diferentes parâmetros utilizados como indicadores biológicos para sinalizar as mudanças associadas à presença de contaminantes podem ser agrupados como biomarcadores, bioindicadores ou indicadores ecológicos. De acordo com VAN GESTEL e VAN BRUMMELEN (1996), as definições mais apropriadas para esses termos seriam:



- ✓ **Biomarcador:** qualquer alteração biológica relacionada à presença de um composto químico no ambiente no nível sub-individual, medida dentro do organismo ou seus produtos (urina, fezes, pêlos e penas), que indica um desvio do estado normal e que não pode ser detectada no organismo intacto.
- ✓ **Bioindicador:** um organismo que fornece informações sobre as condições ambientais de seu habitat por sua presença ou ausência ou pelo seu comportamento.
- ✓ **Indicador Ecológico:** um parâmetro do ecossistema que descreve sua estrutura e funcionamento.

Existem diferentes formas para o organismo entrar em contato com as substâncias presentes no ambiente e absorvê-las (SLOMAN *et al*, 2006). São elas:

- ✓ A exposição direta da água através da epiderme, como acontece com alguns invertebrados (protozoários, parasitos monogenéticos e outros).
- ✓ A via alimentar, ou seja, a substância é incorporada ao alimento e o organismo entra em contato com ela ao alimentar-se. Nesse caso, a substância pode estar tanto em uma matéria orgânica como em outros organismos contaminados.
- ✓ A exposição pelos órgãos que efetuam trocas iônicas com o ambiente, em especial pelas brânquias, como é observado em peixes, por exemplo.

## 1.4 MONOGÊNEAS

### 1.4.1 Biologia Geral

Existem cerca de 1.100 espécies de monogêneos são principalmente ectoparasitos, ou ocasionalmente endoparasitas, com especificidade de hospedeiros vertebrados aquáticos, em especial peixes, mas anfíbios e répteis também são hospedeiros (THATCHER, 2006). Eles se caracterizam por apresentar uma estrutura na extremidade posterior do corpo, o **haptor**, que utilizado na fixação sobre seus hospedeiros. Esta estrutura é formada por uma série de ganchos, barras e âncoras, de número e tamanho variáveis, que são introduzidos no corpo dos peixes para a fixação (THATCHER, 1981; PAVANELLI *et al.*, 2002).

A maioria possui 1mm a 5mm de comprimento, mas alguns alcançam 20mm. Os monogenéticos adultos possuem a forma alongada, ovoidal ou circular e medem de 1 milímetro a 3 centímetros. São hermafroditas, de ciclo direto – monoxeno – e normalmente encontram-se parasitando as brânquias dos peixes, podendo, no entanto, localizar-se no tegumento, nas nadadeiras e cavidade nasais dos hospedeiros (BOEGER, 2001)

#### 1.4.2 O Ciclo de Vida dos Monogeneas

THATCHE (1991) cita que a grande maioria de monogenóides de água doce conhecidos hoje no Brasil, pertence a duas famílias distintas: Gyrodactylidae e Dactylogyridae. (Fig.2).

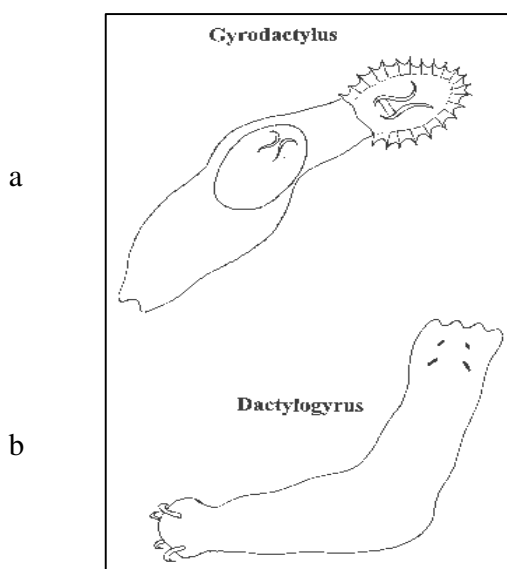


Fig. 2a - são os *Gyrodactylus* vivem no interior do corpo dos indivíduos adultos já se verifica a presença de outro indivíduo semelhante a este. 2b - Os *Dactylogyrus* são encontrados nas brânquias, podendo se alojar também nas cavidades nasais, e mais raramente em outras partes do corpo (Boeger, 2001)

**Dactilogirídeos** - são tipicamente parasitos branquiais, mas muitas espécies são encontradas nas narinas e, mas excepcionalmente, em outras regiões dos peixes (ex: ducto excretor) (TAVARES *et al*, 2001)

**Girodactilídeos** – parasitam principalmente a superfície corporal e brânquias; apenas algumas formas habitam as narinas (THATCHER *et al*, 1981).

O ciclo vital dos dactiloirídeos, como no caso da maioria dos ectoparasitos, é direto. Do ovo depositado na água eclode uma larva chamada oncomiracídio que nada ativamente a procura de um novo hospedeiro, geralmente da mesma espécie de peixe. Os girodactilídeos, todavia, são na sua maioria vivíparos, ou melhor, hipervivíparos. Um verme “mãe” carrega em seu útero um verme “filho” que por sua vez pode estar grávido; este fenômeno pode acontecer por até 4 gerações (BOEGER e KRITSKY, 2003b).

Em cativeiros, os danos causados por Monogenoidea são amplificados diversas vezes devido a um rápido e grande crescimento populacional. Monogenóides são animais com ciclo direto. No meio ambiente, o fechamento do seu ciclo é dificultado pela comparativamente menor densidade de hospedeiros e, conseqüentemente, a taxa de mortalidade desses vermes é relativamente grande. No cativeiro, a maior concentração de hospedeiros facilita a transmissão destes parasitos, reduzindo drasticamente a taxa de mortalidade (THATCHER E BRITENETO, 1994).

Estes dois grupos de monogenéticos, segundo CRIB *et al*, (2002), os monogenéticos são parasitos de todos os grupos de peixes, mas a sua maior diversidade aparece em teleósteos.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum*, adquiridos de piscicultura comercial na Estrada do Município de Manacapuru e mantidos no laboratório de Zoologia Aplicada do Centro Universitário Nilton Lins, onde foram aclimatados para posterior utilização nos experimentos. Foram realizados dois experimentos: um com o hospedeiro e outro *in vitro*.

Para calcular o grau de letalidade do cloreto de cobre para o parasito foi utilizado os dados fornecidos pelo LEEM-INPA, estabelecidos para o peixe: da CL50- 0,735mg/L Cu. Baseado neste dado, utilizou-se a concentração sub-letal para o peixe, que consiste na CL25 de 0,3675mgCu/L, ou seja, para cada 1 molar de  $\text{CuCl}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 170,48\text{g/L} \rightarrow 63,54\text{gCu/L}$  onde apenas 0,13g  $\text{CuCl}_2$  diluídos em 50ml foram preparados para o experimento.

### **Experimento 1** – Com o hospedeiro.

Foram realizados dois testes piloto utilizando-se 20 peixes em cada, individualizados em aquário com capacidade de três litros cada um, com fluxo contínuo de água. No primeiro a concentração de cobre foi de 0,3675mgCu/L com intervalo de hora de 6, 12, 24 e 30 horas, para determinar o tempo letal para as monogêneas. Cada arco branquial foi colocado em uma placa de Petri e feita a contagem da quantidade de monogêneas que morreram mediante a ação do cobre. No segundo, foi utilizado concentrações diferentes de cobre ([ ] 1,1; [ ] 1,2; [ ] 1,5; [ ] 1,8; [ ] 2,1; [ ] 2,4; [ ] 2,7; [ ] 3; [ ] 3,3; [ ] 3,6; [ ] 3,9; [ ] 4,2; [ ] 4,5; [ ] 4,8; [ ] 5,1; [ ] 5,4; [ ] 5,7; [ ] 6; [ ] 6,3; [ ] 6,6) em um único tempo de 24 horas.

Após a realização dos testes pilotos foi realizado o primeiro experimento. Para tanto, foram utilizados 40 alevinos, sendo que quatro peixes para cada concentração: [ ] 0,0; [ ] 0,45, [ ] 0,60, [ ] 0,75, [ ] 0,90, [ ] 1,05, [ ] 1,20, [ ] 1,35, [ ] 1,50 e [ ] 1,65 mgCuCl/L em 24 horas de exposição.

### **Experimento 2 – *In vitro***

Foi realizado um teste piloto utilizando-se os arcos branquiais em placas de Petri (Fig. 02), previamente analisados para constatar a presença de monogênea, nas mesmas concentrações utilizadas no experimento 01, transformadas em mgCuCl<sub>2</sub>/ml, sendo que foi observado a cada 30 minutos (0; 30, 60, 90, 120, 150 minutos).

Para o experimento dois, foi utilizado arcos branquiais em concentrações menores [ ] 0,0; [ ] 0,15, [ ] 0,20, [ ] 0,25, [ ] 0,30, [ ] 0,35, [ ] 0,40, [ ] 0,45, [ ] 0,50 e [ ] 0,55 mgCuCl/ml, mantendo-se a avaliação a cada 30 minutos. Também avaliou-se estas mesmas concentrações e tempo para águas com composição diferentes: água do rio negro, com presença de ácidos húmicos e fúlvicos e água do poço do INPA, avaliada como tendo a mesma composição, porém sem a presença destes ácidos (Fonte: Pesquisadores do LEEM).

**Contagem dos Parasitos** - a contagem dos parasitos foi realizada nos filamentos dos arcos branquiais com o auxílio do esteriomicroscópio. Cada tempo de contagem era manipulado por 4 auxiliares de laboratório, que ficaram encarregados de fazer individualmente a contagem de 5 arcos branquiais. Foi controlado a qualidade da lupa para que não houvesse influencia do calor da luz na morte do parasito e o tempo foi o mesmo para os organismos teste e o controle, onde todos estavam submetidos ao mesmo efeito: falta de alimento e devido à deterioração natural das brânquias (Fig. 03).



Fig.03 – Auxiliares de laboratório na contagem dos parasitos nos arcos branquiais.  
Fonte: Dra. Cleuza Suzana

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

O teste piloto realizado com uma única concentração de cobre (0,3675mgCu/L) em intervalos de horas diferentes mostrou que após 30 horas os peixes não resistiam. Portanto, outros fatores podem ter influenciado na resistência dos hospedeiros, visto que a concentração letal para o peixe é de 0,735mgCu/L. A característica genética do organismo e o estresse podem influenciar a resposta ao agente estressor (Almeida, 1997). Neste teste não foi possível determinar a CL (concentração letal) para os monogênicos, pois em nenhum tempo houve morte de 50% dos parasitos (Tabela I).

Tabela I. Teste piloto com tambaquis parasitados por monogênea exposto ao cobre.

Hora de exposição ao cobre	Monogênicos mortos (100%)
6h	2
12h	14
24h	12
30h	12

O teste piloto com concentrações diferentes em um único horário mostrou resistência dos parasitos ao cobre, pois em concentração de 5,1mgCuCl<sub>2</sub>/L havia mais de 50% de monogêneas vivas, e após esta concentração os hospedeiros morreram em menos de 20 horas. TAVARES-DIAS *et al* (2002) utilizando o sulfato de cobre para monogênicos, em exposição de 15 dias verificou proliferação deste organismo em relação ao tempo, indicando, que a debilidade do hospedeiro ao metal e a conseqüente diminuição da imunidade deve ter proporcionado o aumento dos parasitismo. Contudo, esta correlação não se aplica a este teste devido o tempo de exposição não ser suficiente para a proliferação dos parasitos, pois apresenta ciclo de vida de 5 a 8 dias (BOEGER e KRITSKY, 2003). Neste teste o número amostral baixo para cada concentração podem ter interferido nas respostas.

No primeiro experimento observou-se correlação negativa entre a concentração e o número de monogênicos mortos após a exposição do hospedeiro ( $r=0.761501042$ ) (Tabela II). O fator que pode estar relacionado são as vias de acesso ou distribuição do metal no organismo, pois para que o parasito seja contaminado deve antes passar pelo peixe (SLOMAN *et al*, 2006).

Tabela II- Experimento com tambaquis parasitados por monogênea exposto ao cobre com concentrações diferente.

[CuCl <sub>2</sub> mg/l]	Número de monogêneas no início do experimento	% VIVAS	% MORTAS
0	522.75	44.43	55.57
0.45	570.5	62.23	37.77
0.6	700	96.82	3.18
0.75	762.5	92.69	7.31
0.9	432.25	95.89	4.11
1.05	719	96.18	3.82
1.2	178.5	100.00	0.00
1.35	182.5	87.12	12.88
1.5	391.5	99.49	0.51
1.65	382.75	95.89	4.11

Neste experimento não observou-se correlação entre a concentração do cloreto de cobre e a mortalidade de monogêneas (Tab. II). Este fator, provavelmente, deve-se a produção de muco branquial que não permitiu a ação do cloreto de cobre diretamente sobre o parasito. O aumento da secreção de muco nas brânquias parece ser um dos mecanismos de defesa de diversas espécies contra a intoxicação por metais pesados. Esse fato já foi observado por vários autores dentre os quais destacam-se *SELLERS et al*, ( 1975) que estudaram os efeitos do cobre e do zinco em truta (*Salmo girdneri*) e *HANDY et al*, (1989) que pesquisaram o efeito do alumínio e zinco em truta arco-íris. *Martins et al*. (2001), altas taxas de mortalidade em pacus parasitados por monogenoides estão, geralmente, associados aos fatores determinantes de estresse, sendo a má qualidade da água um dos mais importantes. Nesta situação, há prejuízo dos mecanismos de defesa dos peixes e favorecimento da proliferação do parasito com desequilíbrio do sistema ambiente-parasito hospedeiro (*BARTON E IWAMA*, 1991; *TORT et al.*, 1996; *MONTERO et al.*, 1999).

Diversos fatores podem interferir na toxicidade das substâncias. Podem ser características da própria substância, do corpo hídrico ou do organismo em questão. A toxicidade dos metais também depende dos fatores abióticos (*BRYANT et al.*, 1984). A forma como esses compostos ocorrem na água depende dos fatores ambientais; e existem diferentes forma de um organismo absorvê-los (diretamente por contato dérmico, através de transporte ativo e passivo nas membranas celulares).

O exame parasitológico mostrou que todos os peixes estavam parasitados. A contagem dos Monogenea presentes nas brânquias dos peixes revelou que somente após as concentrações mais altas é que houve um aumento no número de mortos do parasito, chegando a 100%. Na verdade as concentrações mais altas levaram o alevino a morte e conseqüentemente o parasito.

Esses resultados demonstram que os efeitos de metais sobre os organismos aquáticos podem ser estimados e monitorados através de testes de toxicidade conduzidos em laboratório (RAND & PETROCELLY, 1985). Com a contaminação o mecanismo de defesa do hospedeiro é afetado negativamente, aumentando a susceptibilidade do hospedeiro, ou pelo simples aumento da densidade populacional do hospedeiro final ou intermediário (SURES, 2004).

Os resultados do monitoramento da qualidade da água indicaram temperatura entre 22 °C a 26 °C; pH 4,5 a 7,6; oxigênio dissolvido 3,1 mg/L a 5,6 mg/L; condutividade elétrica 72,1 µS/cm a 80,8 µS/cm. CASTAGNOLLI, (1992) com trabalhos experimentais com banhos terapêuticos para parasitos monogenóides, chegou a valores aproximados de temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, medidos neste experimento.

No teste *in vitro* quando os monogeneas foram expostos diretamente ao cobre, verificou-se a influência da concentração e do tempo em relação a sobrevivência do parasito (Tab. III).

Tabela III- Porcentagem de monogenea viva de tambaqui *in vitro* exposta ao cobre com concentrações diferentes e em tempos diferentes.

[CuCl <sub>2</sub> ,mg/l]	Número de monogeneas no início do experimento	Tempo (minuto)					
		0	30	60	90	120	150
0	38	100	100	100	100	100	100
0,45	13	100	100	53,8	38,5		
0,6	15	100	46,7	3,3	20	20	
0,75	11	100	100	36,4	27,3	27,3	18,1
0,9	10	100	50	30	30		
1,05	5	100	60	40	40		
1,2	10	100	40	20			
1,35	18	100	27,8				
1,5	15	100	40				
1,65	9	100	66,6	33			



Devido a mortalidade evidenciada no teste anterior em concentrações intermediárias ([ ] 0,9 CuCl<sub>2</sub>mg/l), no tempo de 30 minutos, optou-se por diminuir a concentração para a realização do experimento. No experimento dois foi avaliado a relação entre o efeito do cobre sobre os monogenéticos associados à presença do carbono dissolvido presente na água do poço do INPA (Tab IV) e ausente na água do rio negro (Tab V).

Tabela IV- Porcentagem de monogenea viva de tabaqui *in vitro* exposta ao cobre com concentrações diferentes e em tempos diferentes, dissolvido na água do poço INPA.

[CuCl <sub>2</sub> mg/l]	Número de monogeneas no início do experimento	Tempo (minuto)					
		0	30	60	90	120	150
0	258	100	100	100	100	91.09	84.50
0,15	49	100	42.86	14.29			
0,20	76	100	38.16	30.26	6.85		
0,25	103	100	14.56	7.77	2.91	1.94	
0,30	40	100	15.00				
0,35	178	100	10.67				
0,40	164	100	20.12	14.02	1.22		
0,45	83	100					
0,50	112	100					
0,55	118	100					

Tabela V- Porcentagem de monogenea viva de tabaqui *in vitro* exposta ao cobre com concentrações diferentes e em tempos diferentes, dissolvido na água do rio Negro.

[CuCl <sub>2</sub> mg/l]	Número de monogeneas no início do experimento	Tempo (minuto)					
		0	30	60	90	120	150
0	239	100	100	100	87,45	87,45	4,18
0,15	311	100	61,09	42,44	13,83	4,50	0,64
0,20	220	100	27,73	15,91	7,27	0,91	
0,25	247	100	27,73	15,91	7,27	0,91	
0,30	228	100	13,64	3,51	2,19		
0,35	188	100					
0,40	113	100					
0,45	149	100					
0,50	100	100					
0,55	106	100					

O efeito do cobre sobre os filamentos foi observado a olho desarmado, pois nas concentrações mais elevada ocorria o escurecimento do tecido branquial e a proliferação de muco, mesmo fora do hospedeiro (Fig. 04).

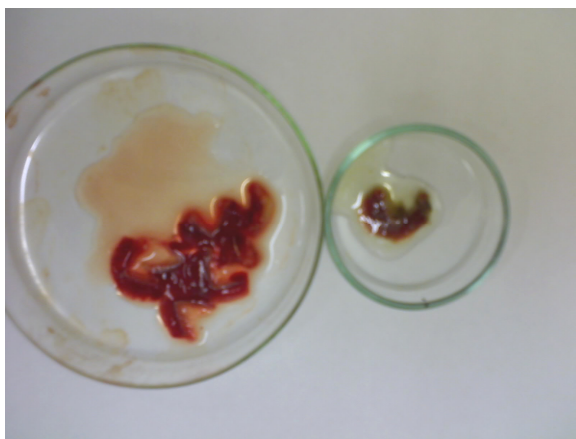


Fig. 04 – Arcos branquiais de *C. macropomum* com parasitas monogênicos, onde observa-se na placa de Petri maior, controle, sem alteração e na menor o efeito do cobre sobre os filamentos. Fonte: Dra. Cleuza Susana

No experimento *in vitro* os parasitas monogênicos apresentaram uma sensibilidade relevante, provavelmente, devido estarem diretamente exposto ao cloreto de cobre sem a interferência do hospedeiro. Tanto na Água do Poço do Inpa como na Água do Rio Negro, o número de parasitas vivos no controle tem uma longa duração de acordo com o tempo (Tab. IV e V). Nestes experimentos não foram evidenciados a relação entre os compostos presentes na água do rio Negro e ausentes na água do poço do INPA, provavelmente, devido ao curto tempo de exposição, bem como à pequena quantidade de água utilizada. As maneiras como os organismos respondem a determinados contaminantes pode variar bastante dependendo do tempo de exposição (TAVARES-DIAS *et al*, 2002; MARTINEZ, 2006) ou seja, depende da sensibilidade do parasito, do tempo de exposição àquele composto e do meio no qual está inserido no ambiente.

Na tabela IV observa-se presença de parasitas vivos até a concentração de 0,40 mgCuCl<sub>2</sub>/ml, enquanto que na tabela V observa-se apenas até a concentração de 0,30 mgCuCl<sub>2</sub>/ml. Independente do tipo de água, se do rio negro ou do INPA, o tempo e a

concentração foram fatores determinantes para a sobrevivência do parasito, indicando que há sensibilidade do parasito ao aumento das concentrações de cobre como ao tempo, ou seja, quanto maior for esse tempo, menor a sobrevivência. Um teste *in vitro*, consiste geralmente em condições controladas, de organismos pré-selecionados, a uma substância ou mistura, durante um período de tempo determinado, seguindo-se a observação de efeitos nos indivíduos expostos (CHAPMAN e LONG, 1983 *apud* MARTINEZ, 2006). Porém nem sempre os organismos respondem diretamente ao controle do experimento.

Fazendo um comparativo no tempo de 30 minutos, com [ ] 0,15, ainda se apresentavam vivos 42,86% de parasitos em relação a 30min. da [ ] 0,20 que apresentavam 38,86% de parasitos vivos, nota-se que nestas concentrações, ainda existe um número alto de parasitos vivos. Segundo VAN DER OOST *et al* (2003) certas alterações estabelecidas em laboratórios nem sempre podem ser usadas para traduzir , de forma precisa, os efeitos que podem ocorrer no campo.

#### 4. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa pesquisa os monogênicos do tabaco não foram sensíveis ao cobre nos experimentos realizados com o hospedeiro. Contudo, no experimento *in vitro* os monogênicos apresentaram sensibilidade. Quanto à diferença na água do rio Negro e do poço do INPA não foi possível afirmar que teve influência dos compostos ácidos, húmicos e fúlvicos, na mortalidade dos monogênicos.

Foi evidenciado com esta pesquisa que é possível utilizar experimento *in vitro* com monogênicos desde que o elemento teste tenha efeito agudo e não crônico, devido ao tempo de resistência deste organismo fora do hospedeiro.

Sugere-se que para a utilização de testes *in vitro* utilizando os monogênicos seja padronizado o número amostral para facilitar a utilização de confirmação estatística, como a ANOVA; isto é possível, se ao analisar o arco branquial e encontrar em um único lado o número de parasitos previamente estipulado não a realizar a leitura do outro lado do arco; em caso de não alcançar o número na leitura de um arco, deve-se acrescentar outro arco branquial a amostra.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSA, D.M.S. Ecotoxicologia marinha. In: SILVA-SOUZA, ANGELA. *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá, Pará, PR: Abrapoa, 2006).

ALMEIDA, P.R. Ensaio de laboratório sobre a toxidez do DDT aos peixes guaru (*Phalloceros caudimaculatus*, Hensel). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.18 n. 2, p. 31-37, 1997.

ADAMS, S.M. *Biomarker/bioindicator response profiles of organisms can help differentiate between sources of antropogenic stressors in aquatic ecosystems*. Unites States of America: Taylor & Francis Health Sciences. 6(1):33-44, 2001

ADAMS, S.M. Using Multiple Response Bioindicators to Assess the Health of Estuarine Ecosystems: Na Operational Framework. In.: Bortone, S. A. *Estuarine Indicators*. United States of América: Library of Congress Card Number. 2005, Cap.2.

BARTON, B.A.; IWAMA, G.W. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann. Rev. Fish Dis.*, Exeter, v.1, p.3-26, 1991.

BOERGES, W. A. P 226 Boeger, W. A. e D. C. Kritsky. 2001. Phylogenetic relationships of the Monogonoidea. In: D. T. J. Littlewood e R. A. Bray, eds. *Interrelationships of the Platyhelminthes*. London: Taylor & Francis. p.92-102.

BOEGER, W. A. e D. C. KRITSKY . 2003. Parasites, fossils and geologic history: Historical biogeography of the South American freshwater croakers, Plagioscion spp. (Teleostei, Sciaenidae). *Zoologica Scripta* 32: 3-11.

BOEGER, W. A., KRITSKY, D. C. e Pie, M. R. 2003. Context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogonoidea). *Zoologica Scripta* 32: 437-448.

BOEGER, W. A. E D. C. KRITSKY. 2001. Phylogenetic relationships of the Monogonoidea. In: D. T. J. Littlewood e R. A. Bray, eds. *Interrelationships of the Platyhelminthes*. London: Taylor & Francis. p.92-102.

BRYANT, McLUSKY, D. S.; RODDIE, K.; NEWBERY, D.M. Effect of temperature and salinity on the toxicity of chromium to three estuarine invertebrates (*Corophium volutator*, *Macoma balthica*, *Nereis diversicolor*) *Marine Ecology Progress Series*, 20 ( 1 – 2): 137 – 149. 1984.

CAJARAVILLE, M.P., BEBIANNO, J.M., BLASCO, J., PORTE, C., SARASQUETE, C., VIARENGO, A. (2000). *The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach*. *The Science of the Total Environment* 247: 295-311.

CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: Ed. Funep, 1992.

CECCHINI, S.; COGNETTI-VARRIALE, A.M. Dehydration is more effective for control of embryonic development and larval hatching of *Diplectanum aequans* (Monogenea, Diplectanidae) than formalin and trichlorfon. *Aquacult. Intern.*, London, v. 11, p. 261-265, 2003.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Água – teste de toxicidade aguda com peixes: parte I sistema estático. In: *MÉTODOS de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos*. São Paulo, 1999, p. 1-29.

CLETO FILHO, S.E.N.; WALKER, I. Efeitos da ocupação urbana sobre a macrofauna de invertebrados aquáticos de um igarapé da cidade de Manaus/AM – Amazônia Central. *Acta Amazônica*, 2001.31(1): 69-89.

CRIBB, T. H.; CHSHOLM, L. C. A.; Diversity in the Monogenea and Digenea: does lifestyle matter? *Internatinal Journal for Parasitology*, Sydney, v. 32, n. 3, p. 263-269, Dec. 1997.

CUSAK, R.; JOHNSON, G. A study of dichlorvos (nuvan; 2,2, dicloroethenyl dimethyl phosphate) a therapeutic agent for the treatment of salmonids infected with sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 90, p. 101-112, 1990.

DÍAZ, F.; GEORGE-NASCIMENTO, M. Estabilidad temporal de las infracomunidades de parasitos em la borraquilla *Scartichthys* (Valenciennes, 1836) (Pisces: Blenniidae) em la costa cental de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 2002. 75: 641-9.

ESPINO, G. L.; PULIDO, S. H.; PÉREZ, J. L. C. *Organismos indicadores de la calidad Del agua y de la contaminación (Bioindicadores)*. México: Plaza y Valdés, S.A., 2000. 633p.

FONSECA, A. L. *A biologia das espécies Daphnia laevis Ceriodaphnia silvestris (Crustácea, Cladocera) e Poecilia reticulata (Pisces, Poeciliidae) o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais*. São Carlos, Dissertação de Mestrado em Energia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos.. 210 p. 1991.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação da toxicidade aguda para peixes. In: *MANUAL de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos*. Brasília, 1987. parte D. 3.

LAMA, P.K.S. & GRAY, J. S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Marine Pollution Bulletin* 46(2): 182-186. 2003

LARINI, L. *Toxicologia*. São Paulo: Editora Manole, 1987. 315 p.

LECH, J.J., VODICNIK, M.J., (1985). Biotransformation. In: Rand, G.M., Petrocelli, S.R. (Eds.), *Fundamentals of Aquatic Toxicology; Methods and Applications*. pp. 526/557.

LIBÂNIO, M. *Fundamentos de qualidade e tratamento da água*. Campinas, São Paulo: Átomo, 2005. 444p.

LINDER, E.; HAZEGH-AZAM, C. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biol. Fertil. Soil*. v. 29, n. 3, p. 299-306, 1996.

LOMBARDI, J. V. Fundamentos de Toxicologia aquática. In: RAZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P.(orgs). *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo, Varela, p.263-272. 2004.

MARCOGLIESE, D.J.; CONE, D.K. Parasite communities as indicators of ecosystem stress. **Parazitologija**, 1992. 26(6):479-82.

MARTINEZ, C.B.R. Parâmetros bioquímicos de peixe para avaliação da qualidade da água. In: SILVA-SOUZA, A.T.(org). *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá – PR: Abrapoa, 2006.

MARTINS, M.L. et al. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatu*s gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. Efficacy and hematology. *Acta Parasitol.*, Waisaw, v.46, n.4, p. 332-336, 2001.

MELO, E.G.F.; SILVA, ROCHA, M.S.; MIRANDA, S.Á.F. *Influência antrópica sobre águas de igarapés na cidade de Manaus – Amazonas*. Caminhos de Geografia 5: (16) 40 – 47, out/2005.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa, 1997. 440 p. p.1037-1041, 1992.

MONTERO, D. et al. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, Amsterdam, v.171, p. 269-278, 1999.

NEWMAN, M.C.; OWNBY, D.R.; MEZIN, L.C.A.; POWELL, D.C.; CHRISTENSEN, T.R.L.; LERBERG, S.B.; ANDERSON, B.A. Applying species-sensitivity distributions in ecological risk assessment: assumptions of distribution type and sufficient numbers of species. *Environ.Toxicol. Chem.*, New York, v. 19, n. 2, p. 508-515, 2000.

NOGA, E.J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. MOSBY: North Carolina State University, College of Veterinary Medicine, 367 p. 1996.

PERSCHBACHER, W.P. Temperature effects on acute copper toxicity to juvenile channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 2005; 243: 225-228.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. Maringá: EDUEM, 1998. 264 p.

PAVANELLI,G.C.;EIRAS,J.C.;TAKEMOTO,R.M.;RAZANIPAIVA,M.J.;MAGALHÃES,A. R.M.2000. Sanidade de peixes, rãs, crustáceos e moluscos. In: VALENTI, W.C. (ed). *Aqüicultura no Brasil – bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília, CNPq/ Ministério da Ciência e Tecnologia, 399p.

PIRONET, F.N.; JONES, J.B. Treatments for ectoparasites and diseases in captive western Australian dhufish. *Aquacult. Intern.*, London, v. 8, p. 349-361, 2000.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R.. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Washington:Hemisphere, 1985. 665 p.

RASHED, R.J. *Fish Pathology*. 3th ed London: W.B. Saunders, 472p, 2001

PAUW, M.; LAUREYS P.; MORALES, J. Mass cultivation of *Daphnia magna* Straus on ricebran. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 25, p. 141-142, 1981.

POULIN, R. Toxic pollution and parasitism in freshwater fish. *Parasitol Today*. 8(2):58-61. 1992.

SAMPAIO, A. Q. A evolução de vertebrados ar-respirando. Imprensa Da Universidade De Cambridge, Cambridge2000

SELLERS, C.M.; HEARTH, A.G ; BASS, M.L. The effect sublethal concentrations of copper and zinc on ventilatory activity, blood oxygen and pH in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).*Water Res.*, v.9, p.401-408, 1975.

SCOURFIELD, D. J.; HADING, J.P. *A key to the British freshwater cladocera fishnets on their ecology*. 3rd ed. London: Freshwater Biological Association Scientific, 1966. p14-15.

SIEVES, G.; PALACIOS, P.; INOSTROZA, R.; DÖLZ, H. Evaluation of the toxicity of 8 insecticides in *Salmo salar* and the *in vitro* effects against the isopode parasite, *Ceratothoa gaudichaudii*. **Aquaculture**, Amsterdam v. 134, p. 9-16, 1995.

SILVA-SOUZA, A. T. (org.). *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá, PR: Abrapoa, 2006.

SLOMAN, K. A.; WOOD, C. M.; SCOTT,G.R.; WOOD, S.; KAJIMURA, M.; JOHANSSON, O. E.; ALMEIDA-VAL, V.M. F.; VAL, A.I. The effect of size on the physiological and behavioural responses of oscar, *Astronotus ocellatus*, to hypoxia. *Journal Experimental Biology*, 209: 1197-1205. 2006.



SURES, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. *TRENDS in Parasitology*: 20(4):170-177.

STEGEMAN, J.J.; BROUWER, M.; DIGIULIO, R. T.; FÖRLIN, L.; FOWLER, B. A.; SANDERS, B. M.; VAN VELD, P. A . 1992 . Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect .In: HUGGET, R.J.; KIMERLE, R. A.; MEHRLEJR, P.M.; BERGMAN, H. L.:(eds.) *Biomarkers. Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. Boca Raton, Lewis Publishers, p. 235-335.

STEPHENS, F.J.; CLEARY, J.J.; JENKINS, G.; JONES, J.B.; RAIDAL, S.R.; THOMAS, J.B. Treatments to control *Haliotrema abaddon* in the west Australian dhufish, *Glaukosoma hebraicum*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 215, p. 1-10, 2003.

STEVENS, M.M. Insecticide treatments used against a rice bloodworm, *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae): toxicity and residual effects in water. *J. Econ. Entomol.*, Lanham, v. 84, n. 3, p. 795-800, 1991.

THONEY, D.A. The effects of trichlorfon, praziquantel and copper sulfate on of the monogenean *Benedeniella posterocolpa*, a skin parasite of the cow nose ray, *Rhinoptera bonasus*. *J. Fish. Dis.*, Oxford, v. 13, n. 5, p. 385-389, 1990.

TAVARES-DIAS, M ; MORAES, F.R. ; MARTINS, M. L.; KRONKA, S. N. Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de França, São Paulo, Brasil. II. Metazoários. *Revista Brasileira de Zoologia*, 2001. p. 18: 81-95.

TAVARES-DIAS, M ; MARTINS, M. L.; Schalch, S.H.C.; Onaka, E.M.; Quintana, C.I.F.; Engrácia, J.R.; Moraes, F.R.M.. Alterações hematológicas e histopatológicas em pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae), tratado com sulfato de cobre CuSO<sub>4</sub>). *Acta Scientiarum* Maringá, v. 24, n. 2, p. 547-554, 2002.

THATCHER, V.E. Amazon fish parasites. *Amazoniana*, 1991. 11, 263-572.

THATCHER, V. E. *Biodiversidad Acuática em América Latina: Parasitas de peixes amazônicos*. Soafia-Moscow: Pensoft. 508p. 2006

THATCHER, V.E. & BRITES-NETO, J. Diagnóstico e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Revista Brasileira de Medicina. Vet.*, 16 ( 3 ): 111-128. 1994.

TORT, L. et al. Crowding stress induces changes in serum haemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Amsterdam, v.51, p.179-188, 1996.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. *Methods for measuring the acute toxicity of effluent to freshwater and marine organisms*. 3rd ed. Washington, D.C. 216 p. 1985.

VAL, A. L. Efeitos biológicos do cobre em peixes de laboratório. Part II. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, *Acta Amazônica*, Manaus, 2006.

VAL, A. L.; PAULA-SILVA, M. N.; ALMEIDA- VAL, V.M F. Estresse em peixes-ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: RAZANI-PAIVA,MJ.T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M.A.P. (orgs.). *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo, Varela, p. 75-88. 2004.

VAL, A.L; MENEZES, A. C. L; FERREIRA, M. S.; SILVA, M. N. P.; ARAUJO, R. M.; ALMEIDA-VAL, V. M. Estresse em peixes: respostas integradas para a sobrevivência e a adaptação. In: Silva-Souza, A. (org). *Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil*. Maringá, PR: Abrapoa,10.213;218. 2006.

VAN GESTEL, C. A. M & VAN BRUMMELEN, T.C. *Incorporation of the biomarker in ecotoxicology calls for a redefinition of terms*. *Ecotoxicology*, 5:217-225. 1996.

VANDER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E.2003.Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessmen: a reviw. *Eviron. Toxicol. Pharmacol.*13: 57-1947

VIARENGO, A., LAFAURIE, M., GABRIELIDES, G.P., FABBRI, R., MARRO, A., ROMEO, M. (2000). Critical evaluation of na intercalibration exercise undertaken in the framework of the MED POL biomonitoring program. *Marine Environmental Research* 49: 1-8.

WAICHMAN, A. V.; TITO BORGES, J. Recursos Hídricos Urbanos – Proposta de um modelo de planejamento gestão integrada e participativa no Município de Manaus – AM. *Revista T& C Amazônia*. Org. FUCAP I. Dez. 2003.

WALKER, I. Ecologia e biologia dos igarapés. *Ciência Hoje*. 1990.11(64)45-53.

WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B.1996. *Principles of ecotoxicology*. London, Taylor & Francis, 321p.

WURTS, W.A; DURBOROW, R.M. Interactions of pH, Carbon Dioxide. *SRAC Publication* 1992; 464: 1-4

WURTS, W.A; PERSCHBACHER, W.P. Effects of bicarbonate alkalinity and calcium on the acute toxicity of copper to juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 1994; 125: 73-79.

ZAKRZWESKI, S.F. Principles of environmental toxicology. *Washington,DC, American Chemical Society*, 1991 .270p.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)