

JULIANA CHIESSE DA SILVA



**BIOMARCADORES MORFOLÓGICOS E ANÁLISE QUÍMICA DA BILE EM  
PEIXES PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO IGUACU**

CURITIBA

2010

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

JULIANA CHIESSE DA SILVA

**BIOMARCADORES MORFOLÓGICOS E ANÁLISE QUÍMICA DA BILE EM  
PEIXES PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO IGUACU**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Conservação, pelo curso de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ciro Alberto de Oliveira

CURITIBA

2010

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Prof. Dr. Ciro Alberto de Oliveira Ribeiro, pela orientação, paciência, confiança e apoio em todas as horas.

Aos membros da banca e pré-banca Profa. Dra. Claudia Martinez, Prof. Dr. Francisco Filipak Neto e Profa. Dra. Fabíola Valdez por aceitarem o convite.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná e aos professores e funcionários vinculados ao programa.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR e seus funcionários pela prestação de serviço e atendimento.

A Fundação Araucária pelo financiamento do projeto e a CAPES pela bolsa de estudo.

Às Profas. Dras. Carolina Freire, Helena de Assis, Margareth Cestari e Viviane Prodocimo e seus respectivos laboratórios pela parceria no projeto.

Aos parceiros de coleta, Flávio Tincani, Laércio Piacini, Gisele Perazzo, Luciana Bastos, Leonardo Bastos, Viviane Prodocimo, Jean Vitule, Vinícius Abilhoa e Margarete Cestari, que tornaram as coletas produtivas e agradáveis.

A dona Salete Kotowski e à sua filha Marina que gentilmente cederam sua casa em Irineópolis, sem a qual não poderíamos realizar esta etapa do trabalho.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Toxicologia Celular, pela ajuda nas análises e nos assuntos aleatórios.

Aos alunos do Laboratório de Genética, em especial à Wanessa, pelos esclarecimentos técnicos e horas de descontração.

Aos professores-colegas-amigos, Francisco Filipak Neto, Sônia Grötzner, Luis Fernando Fávaro (Zão) e Marco Randi, por me ajudarem sempre que possível.

Aos meus amigos e colegas da PPGECO, em especial à Thais Costa, por ajudar nos momentos mais diversos, da estatística aos assuntos pessoais.

A todos os meus amigos e familiares que me apoiaram e me acompanharam nesta jornada.

Ao Renato Zatta, companheiro e amigo.

Em especial aos meus pais, que são meus maiores exemplos de superação, força, fé e amor incondicional.

Aos meus irmãos e irmãs, meus parceiros e cúmplices.

Dedico este trabalho a Luiz Felipe Chiesse da Silva. (*in memoriam*).

...the show must go on...

Freddie Mercury

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	x
1.Introdução .....	11
1.1 Considerações Gerais .....	11
1.2 Bacia do rio Iguaçu .....	3
1.3 Contaminantes .....	6
1.4 Biomonitoramento, bioindicadores e biomarcadores.....	8
1.5 A histopatologia como um biomarcador .....	11
1.6 Detecção de PAHs pela bile .....	12
2. Objetivo geral .....	15
2.1 Objetivos específicos .....	15
3. Material e métodos .....	16
3.1 Local .....	16
3.2 Coleta .....	17
3.3 Organismos bioindicadores .....	17
3.3.1. <i>Astyanax</i> spp. ....	17
3.3.2 <i>Corydoras</i> spp. ....	18
3.3.3 <i>Hoplias</i> sp. ....	19
3.4 Parâmetros morfométricos .....	20
3.5 Histopatologia .....	20
3.6 Bile .....	22
3.7 Análises estatísticas .....	23
4. Resultados .....	24
4.1 Índices Somáticos .....	25
4.2 Histopatologia .....	29
4.3 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos .....	43
5. Discussão .....	45
6. Conclusões .....	57
7. Referências bibliográficas .....	58
ANEXOS .....	65

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Bacia do Rio Iguaçu com a localização dos dois pontos de coleta, Irineópolis e Porto Amazonas, em relação ao maior centro urbano, Curitiba. ....	16
Figura 2: Exemplos dos gêneros <i>Astyanax</i> e <i>Corydoras</i> .....	18
Figura 3: Exemplo de <i>Hoplias malabaricus</i> .....	19
Figura 4: Índices somáticos de <i>Astyanax</i> spp. nos meses de abril e outubro nos locais de coleta em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA): A- Fator de condição (K), B- índice gonadossomático (IGS) e C - índice hepatossomático (IHS).....	27
Figura 5: Índice somático em <i>Corydoras</i> spp. nos meses de abril e outubro nos locais de coleta em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA): A- Fator de condição (K), B- índice gonadossomático (IGS) e C- índice hepatossomático (IHS),.....	28
Figura 6: Porcentagem de indivíduos com alterações histopatológicas no fígado dos três gêneros capturados em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA). ....	31
Figura 7: Histologia de fígado de <i>Astyanax</i> spp. A- Tecido hepático inalterado, B - infestação de parasitas C – infiltração leucocitária. D - tecido hepático com aspecto acidófilo e tecido pancreático. E –hipertrofia celular. F –vacuolização Coloração: hematoxilina/eosina.. ....	32
Figura 8: Histologia de fígado de <i>Corydoras</i> spp.. A - tecido hepático inalterado mas altamente basófilo. B - área de necrose e infiltração leucocitária. C - centro de melanomacrófagos. D - neoplasia. E - foco pré-neoplásico. F - inclusões citoplasmáticas. Coloração: hematoxilina/eosina. ....	33
Figura 9: Histologia de fígado <i>Hoplias</i> sp.. A - áreas de necrose e depósito de melanina em torno dos vasos. B - tecido acidófilo com hepatócitos vacuolizados e áreas hemorrágicas. Coloração: hematoxilina/eosina.....	34
Figura 10: Porcentagem de indivíduos com alterações histopatológicas na brânquia dos três gêneros capturados em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA). ....	38
Figura 11: Histopatologia de brânquias de <i>Astyanax</i> spp.. A e B - brânquia inalterada, C e D - aneurisma. E - neoplasia. F - células sendo descartadas do tecido. ML com coloração: hematoxilina/eosina.. ....	39

Figura 12: Alterações branquiais. A- necrose; em *Corydoras* spp. B - fragilidade do epitélio da lamela primária em *Astyanax* spp.. C - fusão entre lamelas secundárias decorrente de hiperplasia em *Hoplias malabaricus*.. D – hiperplasia em *Astyanax* spp.. E – presença de ectoparasita em *Corydoras* spp. F – ectoparasita em *Astyanax* spp.. ML com coloração: hematoxilina/eosina..... 40

Figura 13: Alterações branquiais em *Corydoras* spp.. A - hipertrofia nas lamelas secundárias. B - presença de botões gustativos nas lamelas primárias. C e D - fusão lamelar decorrente de hiperplasia. E e F- fusão das extremidades das lamelas secundárias. ML com coloração: hematoxilina/eosina.. ..... 41

Figura 14: Digitações nas lamelas primárias (MEV). A - digitações inalteradas em *Hoplias malabaricus*. B - células pavimentosas alteradas, não foi possível identificar as digitações, em *Astyanax* spp.. C - células pavimentosas alteradas em *Corydoras* spp.. D - alterações no padrão das digitações e abertura das células mucosas em *Astyanax* spp. .... 42

Figura 15: Concentração média do somatório dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) de 2 a 6 anéis na bile de *Astyanax* spp., *Corydoras* spp. e *Hoplias* sp. coletados em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA) em abril e outubro de 2008... ..... 43

Figura 16: Concentração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) de 2 a 6 anéis por mg de proteína de bile de *Astyanax* spp., *Corydoras* spp. e *Hoplias* sp. coletados em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA) em abril e outubro de 2008. .... 43



**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Fator de importância de acordo com o tipo de alteração e o órgão para a análise das alterações histopatológicas de acordo com Bernet <i>et al.</i> (1999).....	22
Tabela 2: Gênero, massa, comprimento e número de indivíduos total e por sexo coletados em abril e outubro de 2008 nas cidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA).....	24
Tabela 3: Porcentagem de ocorrência de lesões histopatológicas no fígado e número de indivíduos analisados (n) nos três gêneros capturados no rio Iguaçu em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA).....	31
Tabela 4: Ocorrência e número de indivíduos analisados (n) de alterações histopatológicas na brânquia dos três gêneros capturados em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA).....	38

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AChE - acetilcolinesterase

GSH - glutationa reduzida

GST - glutationa *S*-transferase

IGS – índice gonadossomático

IH- índice de alterações histopatológicas

IHS – índice hepatossomático

K – fator de condição

PAHs – hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (do inglês *polycyclic aromatic hydrocarbons*)

PCBs – bifenilas policloradas (do inglês *polychlorinated biphenyls*)

POPs- poluentes organopersistentes

## RESUMO

O rio Iguaçu constitui o *habitat* de várias espécies endêmicas e é utilizado no abastecimento de água e na produção de energia elétrica à população paranaense e catarinense. Por outro lado, constitui também um importante receptor de despejos urbanos, industriais e rurais. Sendo assim, estas atividades podem gerar impactos que precisam ser avaliados. Espécies representantes de três gêneros de peixe, *Astyanax*, *Corydoras* e *Hoplias* foram coletadas nas estações seca (abril/2008) e chuvosa (outubro/2008) em dois pontos localizados nos municípios de Porto Amazonas - PR (PA) e Irineópolis - SC (IR). Nos indivíduos coletados foram analisados os índices somáticos (índice hepatossomático - IHS, gonadossomático - IGS e fator de condição - K), a histopatologia de brânquias e fígado, e a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) na bile para avaliar a qualidade da água do rio Iguaçu. O fator de condição manteve-se constante nos dois períodos considerados bem como nos locais estudados. Houve diferenças entre abril e outubro nos IGS e IHS de *Astyanax* spp. e no IHS de *Corydoras* spp. As alterações histopatológicas foram semelhantes estatisticamente entre os gêneros, locais e períodos, com exceção de *Astyanax* spp. coletados em abril/IR que apresentaram mais alterações do que os *Corydoras* spp. de out/PA ( $p < 0,05$ ). Áreas de necrose, infiltração leucocitária e presença de parasitas foram alterações frequentes no fígado, enquanto que aneurismas, hiperplasias e fusão lamelar predominaram nas brânquias. A diferente composição de PAHs na bile e suas concentrações de acordo com o período de coleta provavelmente devem-se aos diferentes hábitos alimentares das espécies consideradas. Os valores constantes de K podem indicar um ajuste fisiológico destes organismos à exposição crônica. Os resultados deste estudo aliados a outros biomarcadores incluídos no projeto (bioquímicas, fisiológicas e genotóxicas) indicam uma relevante contaminação em ambos os pontos, mas também sugerem a presença de outras fontes de contaminação ao longo do trecho estudado do rio Iguaçu que precisariam ser investigadas futuramente.

**Palavras-chave:** biomonitoramento, rio subtropical, nível trófico, saúde pública

## ABSTRACT

Iguaçu River is the habitat of various endemic fishes as well as the source of drinking water and energy production to locals in Paraná and Santa Catarina States. However, it is also an important waste water receptor from industrial, urban and agricultural activities that may contribute to increase the impact that must be more studied. Species of three genders of fish, *Astyanax*, *Hoplias* and *Corydoras*, were collected in dry (Apr/08) and rainy (Oct/08) seasons from Porto Amazonas (PA) and Irineópolis (IR) sites. In the collected individuals was considered the somatic indexes (hepatic-somatic index - HSI, gonad-somatic index - GSI and condition factor - K), histopathology of gills and liver, and the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bile to evaluate the water quality of Iguaçu River. The condition factor was similar in both periods and studied sites. IGS and IHS had significant differences between April and October in *Astyanax* spp. and only IHS in *Corydoras* spp. The histopathological findings were similar between genders, locations and periods except for *Astyanax* spp. collected during April in IR and *Corydoras* collected during Oct. in PA ( $p < 0.05$ ). Necrosis areas, leukocyte infiltration and occurrence of parasites were the main hepatic alterations, whereas aneurysm, hyperplasia and lamellar fusion were common in gills. A different composition and concentration of PAHs were found in bile probably resulted from different habits of the considered species. Similar K values may indicate the accommodation of these organisms to chronic exposure to contaminants. The results of present study together with other additional biomarkers included in the project (biochemical, physiological and genotoxic) indicate the presence of contamination in PA and IR, probably from several different sources that must be further investigated.

**Key words:** biomonitoring, subtropical river, trophic level, public health

## **1.Introdução**

### **1.1 Considerações Gerais**

As bacias hidrográficas brasileiras servem de *habitats* para uma imensa diversidade de organismos, sendo que grande parte desses ecossistemas encontram-se ameaçados pela poluição decorrente da atividade humana. Como consequência, cria-se um paradigma importante, pois na mesma velocidade em que a população humana cresce e se desenvolve, aumentam também os níveis de comprometimento dos corpos d'água pelo lançamento direto de efluentes, pela deposição atmosférica e pelo escoamento da água sobre o solo e infiltrações para os lençóis freáticos.

Apesar da legislação brasileira ser rigorosa, há muitas falhas no controle e gerenciamento dos recursos hídricos, como a falta de fiscalização, monitoramento, tecnologias e sistemas de tratamento adequados. Em levantamento realizado sobre as análises de água de abastecimento no Paraná, Andreoli *et al.* (1999b) enfatiza que os agrotóxicos mais utilizados na região não estão inclusos na lista de compostos monitorados pelos órgãos ambientais. Além disso, estudos recentes demonstraram a presença de organoclorados (DDT, DDE, PCBs e dioxinas) bioacumulados no músculo e fígado de *Hoplias malabaricus* em lagoa de Ponta Grossa/PR a considerada própria para pesca (MIRANDA *et al.*, 2008), demonstrando a inadequação das políticas ambientais.

Tendo em vista a fragilidade do sistema biológico de água doce, a ineficiência da fiscalização ambiental brasileira e a carência de dados referentes aos estudos de impactos da atividade humana no rio Iguaçu, constitui o principal objetivo deste

trabalho realizar uma avaliação da qualidade da água deste importante corpo d'água. Além disso, é objetivo ainda gerar dados que possam auxiliar as tomadas de decisões no sentido de proteger os mananciais e a qualidade da água para os organismos aquáticos e consumo humano. Este trabalho é parte do projeto “Avaliação da saúde da fauna do Rio Iguazu com o uso de biomarcadores de contaminação ambiental” desenvolvido pelo grupo de pesquisa multidisciplinar em toxicologia aquática AQUATOX da Universidade Federal do Paraná, envolvendo os laboratórios de Toxicologia Celular, de Citogenética e Mutagênese, de Toxicologia Ambiental e de Fisiologia Renal e Osmorregulação. O projeto foi financiado pela Fundação Araucária – PR.

## **1.2 Bacia do rio Iguazu**

A bacia do rio Iguazu é a maior do estado do Paraná, pertencendo ao sistema hidrográfico do rio Paraná, do qual é isolada pelas Cataratas do Iguazu que constitui em uma barreira natural. Situa-se na região sudeste da América do Sul e se estende por cerca de 72.000 km<sup>2</sup>, abrangendo áreas do sul do Brasil e nordeste da Argentina. A maior parte de sua bacia está em território paranaense, em torno de 57.330 km<sup>2</sup> (MAACK, 1981).

O processo geomorfológico de formação da bacia do Iguazu remonta ao Terciário, estando associado a movimentos responsáveis pelo soerguimento da Serra do Mar e a origem dos três planaltos Paranaenses. Assim, o rio Iguazu une um rio geologicamente antigo, porém rejuvenescido por diversos levantamentos, caracterizados por corredeiras e saltos, alternados por meandros de curvaturas amplas e várzeas extensas.

Devido ao surgimento das Cataratas do Iguaçu, ocorrido há aproximadamente 22 milhões de anos (Período Oligo-Mioceno), as populações de peixes da bacia do rio Iguaçu foram isoladas das do rio Paraná por estas quedas, que apresentam cerca de 70 m de desnível. Esse fato favoreceu o processo de especiação, resultando em 80% de espécies exclusivas desta bacia (AGOSTINHO E GOMES, 1997) e justificando o pequeno número de espécies (JÚLIO JR. *et al.*, 1997) e a ausência de representantes de famílias de peixes comuns em outros rios da bacia do Paraná. Atualmente são conhecidas 81 espécies de Teleostei para a bacia do Iguaçu (INGENITO *et al.*, 2004) e destas, sete estão no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção, todas de pequeno porte, sendo cinco lambaris (*Hasemania maxillaris*, *H. melanura*, *Hyphessobrycon taurocephalus*, *Glandulocauda melanopleura*, *Astyanax gymnogenys*), uma cambeva (*Trichomycterus castroi*) e um peixe-anual (*Austrolebias carvalhoi*) (ROSA E LIMA, 2008).

O rio Iguaçu tem sua origem na confluência dos rios Atuba e Iraí, na Região Metropolitana de Curitiba (RMC). Sua extensão total alcança cerca de 910 km com um desnível de 830 m a partir de suas cabeceiras, as quais estão localizadas na Serra do Mar em altitudes superiores a 1.000 m (MAACK, 1981). O rio Iguaçu é divisor político entre o Paraná e Santa Catarina desde São Mateus do Sul até Foz do Iguaçu, onde faz fronteira com a Argentina e deságua no Rio Paraná. Seu curso passa por 37 cidades, abastecendo duas delas, Porto União - SC e União da Vitória - PR, através de aproximadamente 25.000 pontos de ligação administradas pela Companhia de Saneamento do Paraná - Sanepar.

Historicamente o rio Iguaçu vem sendo impactado desde a colonização da região sudoeste do Paraná. A ocupação às margens do rio impulsionada pela navegação gerou

a devastação da mata ciliar e consequente assoreamento, acabando em 71 anos (1882-1953) com a navegabilidade do trecho entre Porto Amazonas e União da Vitória. Na década seguinte, a região do Alto Iguaçu foi retificada a fim de evitar que a capital do estado sofresse com os transbordos naturais, repassando os problemas à jusante. O rio destaca-se pela contribuição para o desenvolvimento do estado principalmente devido ao grande potencial hidrelétrico, o qual passou a ser mais bem explorado nas décadas posteriores (BARDDAL, 2006).

O desenvolvimento urbano de Curitiba foi favorecido pela disponibilidade de recursos hídricos, porém, já na década de 50 ocorreram déficits no abastecimento e estudos indicaram que as nascentes do rio Iguaçu seriam o único manancial economicamente viável para suprir as necessidades da cidade. Em 1964 foi constatado o esgotamento dos mananciais locais sendo então criado o Sistema Iguaçu para captação de água, inaugurado em 1969 e com expectativa de atender a demanda de água até o ano de 2000. Porém o crescimento populacional da década de 1970 fez com que esse sistema estivesse com sua capacidade esgotada no início dos anos de 1980. Assim, com a crescente limitação da disponibilidade hídrica, o planejamento da expansão do sistema de recursos hídricos integrado passou a ser sobre a bacia do Alto Iguaçu, determinando áreas reservadas para o abastecimento de água e reorientando esses recursos para a sua utilização principalmente por Curitiba (HASSLER, 2006). Atualmente, o rio Iguaçu não atende a demanda de água para abastecimento na RMC, tanto pela vazão insuficiente quanto pela qualidade da água. Logo em suas nascentes há ocupações irregulares e ao longo do seu curso o esgoto doméstico é uma das maiores causas da degradação do rio, visto que atravessa regiões de grande densidade populacional, com significativas áreas carentes de captação adequada do esgoto e a falta de tratamento deste. Ainda na RMC, o



rio é receptor de resíduos industriais provenientes da fabricação de produtos como papel, fertilizantes, automóveis e alimentos, além de ser um potencial receptor de compostos resultantes de vazões acidentais, como o derramamento de petróleo pela Petrobrás em 2000, e do transporte de cargas perigosas pelas rodovias que o cortam. Deste modo, este conjunto destes fatores faz do rio Iguaçu o segundo rio urbano mais poluído do país (IBGE, 2008).

Seguindo em direção a sua foz, encontram-se, em pequena escala, olarias, madeireiras, curtumes e areais. Mas, devido a história de ocupação desta região, a atividade predominante é a agricultura, caracterizada pela intensa exploração do solo e ausência de manejo adequado. Estas práticas, ainda habituais, incluem a retirada da mata ciliar e resultam em processos erosivos que desgastam o solo fisicamente e retiram a camada fértil. A redução da fertilidade induz ao aumento da aplicação de fertilizantes que conseqüentemente se tornarão contaminantes hídricos (ANDREOLI *et al.*, 1999a).

### **1.3 Contaminantes**

O rio Iguaçu é impactado por poluentes como metais, compostos organoclorados, organofosforados, carbamatos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), bifenilas policloradas (PCBs), dioxinas e furanos oriundos das diversas atividades antrópicas que margeiam seu leito.

Os metais, também designados como elementos-traços (ESTEVES, 1998), são encontrados na natureza sendo que alguns deles (Cu, Co, B, Mg, Fe, Mn e Zn) são necessários aos organismos vivos em pequenas quantidades para a realização de atividades biológicas, como o Mg, indispensável na formação de clorofila, e o Fe e Cu, necessários para a formação de citocromos que participam, por exemplo, da cadeia respiratória. Alguns metais como o chumbo, cádmio, cromo e o mercúrio são agentes

conhecidamente tóxicos e não essenciais que podem bioacumular e biomagnificar em tecidos-alvos afetando macromoléculas celulares com consequências, muitas vezes, irreversíveis para níveis superiores de organização biológica (RABITTO *et al.*, 2005; ALVES COSTA *et al.*, 2007; ZHOU *et al.*, 2008).

Os pesticidas organoclorados (OCs), bifenilas policloradas (PCBs), dioxinas e furanos são poluentes organopersistentes (POPs), compostos não detectados pelos métodos convencionais de monitoramento da qualidade da água para abastecimento humano. Os POPs são compostos quimicamente estáveis, hidrofóbicos e portanto lipofílicos, são em geral resistentes à degradação microbiana, fotoquímica, química e térmica. Na Convenção de Estocolmo (2002) foram apontados 12 POPs que deveriam ser imediatamente banidos das atividades agrícolas e industriais, medida esta também adotada pelo CONAMA (RESOLUÇÃO 357/2005).

Assim como os POPs, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) são compostos relacionados com urbanização e atividades industriais, pois são resultantes da queima incompleta da matéria orgânica, sendo as principais emissões lançadas pela queima do petróleo e seus derivados, como em motores, refinarias, incineradores, produção de coque e asfalto etc. A principal via de contaminação por PAHs é atmosférica, seguido pela absorção pela via trófica e hídrica. Os PAHs são voláteis, apolares, hidrofóbicos (lipofílicos), podendo permanecer por muito tempo no ambiente (SROGI, 2007), principalmente se adsorvidos à matéria orgânica. Alguns PAHs são conhecidos como agentes carcinogênicos e desreguladores endócrinos (WHO, 2002; LAWRENCE E HEMINGWAY, 2003). Em peixes, a exposição aos PAHs pode gerar neoplasias, interferir no sistema endócrino e reprodutor. Alguns destes compostos são neurotóxicos e genotóxicos (AKAISHI *et al.*, 2004; HELLOU *et al.*, 2006) e interferem

na atividade do citocromo P450 (PIKKARAINEN, 2006) e no equilíbrio óxido redutor da célula (SILVA *et al.*, 2008).

As características destes contaminantes fazem deles grandes ameaças a fauna e a saúde humana, e para uma avaliação mais precisa do impacto destes contaminantes é necessário que o estudo químico esteja associado ao biomonitoramento, neste caso auxiliado pelo uso de biomarcadores.

#### **1.4 Biomonitoramento, bioindicadores e biomarcadores**

Os estudos ambientais utilizando apenas as análises químicas são limitados em função da ausência de tecnologia adequada para detectar ou explicar os efeitos tóxicos na biota. Uma avaliação criteriosa da qualidade da água requer uma estrutura metodológica que seja capaz de integrar as várias análises que podem variar do nível individual ao ecossistêmico.

Apesar de já existirem equipamentos com grande sensibilidade estes não identificam substâncias tóxicas desconhecidas, considerando em suas análises somente aquelas listadas nos bancos de dados ou cujos padrões são considerados. Além disso, as dosagens químicas e os testes físicos são pontuais, caracterizam um local num determinado momento, desconsiderando fatores como a biodisponibilidade e interações dos contaminantes. O biomonitoramento é relevante nesse ponto, pois quando os organismos são expostos a substâncias tóxicas, desconhecidas ou não, estes acusarão algum tipo de resposta biológica à exposição que pode ser mensurada, funcionando estas espécies como bioindicadores. Segundo Zhou *et al.*, (2008), o biomonitoramento supera as análises químicas por detectar efeitos subletais nos organismos; apresentar respostas à ação de misturas complexas de poluentes 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.

O biomonitoramento avalia compostos que podem não apresentar toxicidade direta, mas que a partir de mecanismos de biotransformação podem gerar metabólitos mais tóxicos que a molécula de origem (OOST *et al.*, 2003). O mercúrio é um exemplo desta dinâmica, é um metal tóxico que tem sua biodisponibilidade aumentada após a sua metilação através da ação de microorganismos, sendo transformado em metilmercúrio, composto que se acumula no tecido muscular, nervoso e hepático incorporando-se facilmente na cadeia alimentar (RABITTO *et al.*, 2005). Como exemplo dos compostos orgânicos mais clássicos, temos o organofosforado metil paration, que após a oxidação enzimática no fígado, gera o subproduto metil-paraoxon que age como inibidor da acetilcolinesterase (MACHADO E FANTA, 2003).

Os bioindicadores são ferramentas do biomonitoramento, são espécies animais ou vegetais que indicam precocemente modificações abióticas ou bióticas do ambiente devido a algum tipo de atividade antrópica. A utilização de peixes como bioindicadores está bem estabelecida no meio científico. Zhou *et al.* (2008) cita o tamanho corpóreo, o longo ciclo de vida e a facilidade de manuseio como características que fazem dos peixes bons modelos biológicos. Estes animais são sugeridos como bioindicadores por serem representantes de vertebrados do meio aquático, possuem mecanismos celulares de resposta ao estresse químico semelhantes aos dos mamíferos e constituírem um importante elo entre diferentes níveis tróficos. Os peixes possuem elevada taxa

respiratória, grande área de troca gasosas e o sistema de contra-corrente que aumentam a absorção dos poluentes da água para a corrente sanguínea (WHO, 2002).

Neste trabalho optou-se em trabalhar com três gêneros de teleósteos que ocupam posições diferentes na cadeia trófica com o intuito de observar a exposição diferencial aos contaminantes. Os gêneros considerados, *Astyanax*, *Corydoras* e *Hoplias*, são modelos conhecidos para estudos ecotoxicológicos, possuem hábitos diferenciados e conseqüentemente são expostos de diferentes formas aos contaminantes.

Biomarcadores compreendem qualquer resposta em nível de organismo ou suborganismo que possa ser mensurada quando exposto ao estresse químico (OOST *et al.*, 2003). Os biomarcadores possibilitam a avaliação do *status* saudável de organismos, utilizando níveis mais baixos de organização biológica (molecular ou celular) os quais apresentam rápida resposta ao estresse, mas baixa relevância ecológica; ou alta relevância ecológica quando as respostas consideram níveis mais complexos de organização biológica como alterações endócrinas e reprodutivas (HUTCHINSON *et al.*, 2006) ou comportamentais (GONÇALVES *et al.*, 2008). Os níveis mais complexos de organização biológica, mesmo por serem mais representativos ecologicamente, exigem um tempo maior de observação e análise, o que muitas vezes torna o seu emprego inviável. O ideal é utilizar biomarcadores que se encontra em níveis mais baixos de organização biológica e sendo também de baixa relevância ecológica mas que possam apresentar uma resposta rápida, possibilitando uma interpretação dos efeitos também em níveis de complexidade biológica mais altos (OOST *et al.*, 2003).

A bioacumulação e biomagnificação dos contaminantes são importantes eventos que precisam ser considerados nos estudos que envolvem o biomonitoramento quando o diagnóstico ambiental é o foco do estudo. Vários contaminantes, principalmente alguns

tipos de metais, POPs e PAHs são absorvidos pelos organismos e passam para os consumidores seguintes da teia trófica, concentrando-se nos organismos topo de cadeia e atingindo a população humana. Fisk *et al.* (2005) relata a acumulação de OCs e PCBs, que só poderiam ser adquiridos pela via trófica e não por contato direto, em aves e mamíferos terrestres e aquáticos no hemisfério norte. Na Europa, as concentrações de OCs encontradas no tecido de peixes foram superiores aos limites estabelecidos pelo governo, mesmo se considerado os pesticidas banidos em 1970 (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005).

### **1.5 A histopatologia como um biomarcador**

A histopatologia permite a identificação eficiente dos efeitos subletais e crônicos dos contaminantes de modo relativamente rápido e de baixo custo. As alterações histopatológicas respondem a baixas concentrações de agentes tóxicos, indicando contaminações ou situações de estresse precocemente (BERNET *et al.*, 1999). Os órgãos-alvo dependem do tipo de exposição do composto em questão. Considerando-se tanto a exposição hídrica quanto a trófica, os órgãos mais utilizados são as brânquias, o fígado e o rim posterior. Neste trabalho foram analisados as brânquias e o fígado das espécies de peixes consideradas.

As brânquias são órgãos de grande relevância ecotoxicológica pelo contato direto com a água e suas funções (CENGIZ E UNLU, 2006). Além da respiração, participam da osmorregulação, excreção e, em algumas espécies, possuem células quimiorreceptoras (botões gustativos). A presença das células de muco, tanto nas brânquias quanto na pele, confere uma proteção física do organismo contra

contaminantes e parasitas. Devido a sua estrutura, as brânquias facilitam a absorção de contaminantes, principalmente em situações de estresse (BONGA E LOCK, 2008).

O fígado é fundamental para o metabolismo, armazenando compostos energéticos (lipídeos e glicogênio), produzindo vitelogenina e agindo na biotransformação de xenotóxicos. A destoxificação por este processo consiste na transformação de contaminantes em compostos facilmente elimináveis via sistema renal. Por outro lado, a biotransformação pode gerar moléculas mais tóxicas que o composto de origem (OOST *et al.*, 2003). Estes metabólitos podem interagir com constituintes básicos celulares, como DNA e proteínas, comprometendo o funcionamento do fígado pela alteração do metabolismo celular neste órgão, gerando respostas agudas e crônicas, como a carcinogênese e a formação de tumores (HINTON *et al.*, 2008). Devido a plasticidade funcional do fígado, a deterioração da estrutura e função hepática pode afetar a homeostase e levar à morte do organismo.

### **1.6 Detecção de PAHs pela bile**

A degradação biológica dos PAHs depende de fatores que influenciam no metabolismo dos microorganismos envolvidos, como o número de anéis que formam os PAHs; quanto menor o número de anéis (menor massa molecular), maior a taxa de degradação. A biodisponibilidade dos PAHs no ambiente tende a aumentar com o decréscimo da massa molar, pois quanto maior a massa molar, menor a solubilidade, ocorrendo a bioacumulação de compostos com menor massa molar. A absorção dos PAHs por organismos aquáticos pode ocorrer através da via alimentar ou através da pele ou brânquias, e a acumulação nos tecidos depende das taxas de metabolização dos PAHs. Consta-se que nos peixes de maior nível trófico ocorre o acúmulo preferencial

por PAHs de baixa massa molar, pois estes organismos biotransformam com maior facilidade os PAHs de maior massa (MENICONI, 2007). Outro fator a ser considerado são os hábitos de vida do organismo, animais bentônicos são mais suscetíveis aos PAHs por ingerirem parte do sedimento que contém estes compostos depositados (ERICKSON *et al.*, 2008).

Portanto, a quantificação de PAHs nos tecidos é usualmente baixa, sendo mais adequada a detecção destes compostos na bile por métodos já bem estabelecidos (ARIESE *et al.*, 1997; AAS *et al.*, 2000; OOST *et al.*, 2003, MENICONI, 2007).

A bile é uma mistura de água, eletrólitos, sais biliares, bilirrubina (resultante da quebra de células sanguíneas, e pigmentos biliares como a biliverdina), xenobióticos destoxificados, resíduos de hormônios esteróides e proteínas biliares (JOBILING, 1995). Os PAHs e seus metabólitos são fluorescentes, o que permite sua quantificação por espectrofluorimetria. A principal rota de excreção de PAHs é pela bile, onde são armazenados após serem biotransformados no fígado e posteriormente liberados através do sistema digestório (AAS *et al.*, 2000). A vesícula biliar é esvaziada a cada período alimentar, aumentando o seu volume nos períodos intermediários e, após alcançar seu volume máximo, a bile torna-se mais concentrada pela reabsorção de água (HURK, 2006). O volume da vesícula biliar varia de acordo com estado alimentar, alterando assim a concentração de seus componentes, podendo gerar interpretações equivocadas. Assim, um dos métodos mais confiáveis é a expressão da concentração de PAHs em relação a concentração de proteínas (ARIESE *et al.*, 1997).

Os estudos de biomonitoramento utilizam alguns biomarcadores que possibilitam detectar e avaliar efeitos tóxicos em representantes da biota aquática, com o objetivo de esclarecer as vias de contaminação de poluentes e seus mecanismos



tóxicos. Neste estudo serão considerados os dois órgãos-alvo mencionados anteriormente, para três diferentes espécies pertencentes a diferentes níveis tróficos e que co-habitam um mesmo ecossistema altamente impactado pela atividade antrópica, o rio Iguaçu. Avaliações morfológicas, índices somáticos e análise química de PAHs na bile das espécies bioindicadoras serão consideradas na avaliação da qualidade da água. Considerando a Região Metropolitana de Curitiba como a maior fonte de contaminantes, principalmente por possuir um grande pólo industrial próximo ao rio, esperava-se encontrar maiores concentrações de PAHs na bile dos animais coletados em Porto Amazonas, assim como maiores índices de lesões histopatológicas.

## 2 Objetivo geral

Avaliar o impacto antrópico no rio Iguaçu utilizando biomarcadores em espécies de teleósteos pertencentes aos gêneros *Astyanax*, *Corydoras* e *Hoplias*.

### 2.1 Objetivos específicos

- Coletar representantes dos gêneros *Astyanax*, *Corydoras* e *Hoplias*, em dois pontos no rio Iguaçu com diferenças em relação à interferência antrópica;
- Avaliar as alterações histopatológicas no fígado e brânquias de espécimes pertencentes aos gêneros de teleósteos *Astyanax*, *Corydoras* e *Hoplias*;
- Quantificar hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) na bile dos espécimes dos três gêneros considerados;
- Comparar os dados dos índices somáticos, histopatológicos de fígado e brânquias e a presença de PAHs nos espécimes estudados entre as duas áreas de estudo ao longo do Rio Iguaçu;
- Relacionar os dados histopatológicos em fígado e brânquias e a presença de PAHs nos espécimes estudados entre as estações seca e chuvosa nas duas áreas de estudo ao longo do Rio Iguaçu;
- Relacionar os dados histopatológicos e a biodisponibilidade de PAHs com os diferentes níveis tróficos nos três gêneros considerados;
- Gerar dados que contribuam para a avaliação e construção de políticas públicas referentes ao monitoramento, recuperação e uso racional do Rio Iguaçu.

### 3. Material e métodos

#### 3.1 Local

Os pontos de coleta localizam-se nas cidades de Porto Amazonas (PA) (25°32'41''S e 49°53'25''W) - Paraná e Irineópolis (IR) (26°14'01''S e 50°47'59''W) – Santa Catarina, a 75,3 km e 228 km respectivamente de Curitiba (Fig.1). Seguindo o percurso do rio Iguaçu, após a Região Metropolitana de Curitiba, Porto Amazonas é a primeira localidade onde há maior ocorrência e diversidade de peixes, pois à montante o rio possui oxigenação extremamente reduzida, sendo praticamente inviável a captura dos mesmos. Este trecho entre suas nascentes até o início de suas corredeiras em Porto Amazonas é denominada informalmente de “Alto Iguaçu” (INGENITO *et al.*, 2004). O segundo ponto de coleta localiza-se próximo à captação de água de Irineópolis e precede duas outras cidades que também são abastecidas pelo rio, Porto União (PR) e União da Vitória (SC), ambas com mais de 50 mil habitantes. A bacia do rio Iguaçu caracteriza-se por apresentar uma vazão que tende a aumentar no sentido montante - jusante (AZEVEDO *et al.*, 2006), fator que pode contribuir, através de processos hidrogeológicos, com a descontaminação do rio conforme ele se afasta da sua nascente e da RMC. Assim, Irineópolis seria o ponto menos impactado, justificando os pontos de captação de água para o abastecimento das cidades mencionadas.



Figura 1: Bacia do Rio Iguaçu com a localização dos dois pontos de coleta, Irineópolis e Porto Amazonas, em relação ao maior centro urbano, Curitiba.

### 3.2 Coleta

Para verificar a possível diferença na disponibilidade de PAHs devido à alteração de volume de água durante os períodos de seca e chuva, as coletas foram realizadas nos meses de abril (estação seca) e outubro (estação chuvosa) de 2008.

As coletas de abril foram realizadas no período da tarde (IR) e da manhã (PA), enquanto que as coletas de outubro foram realizadas no fim da tarde e noite. As redes de espera simples de 20 m de comprimento e variadas malhas (1,5; 2,5; 4; 6; 8; 10; 12; 14 e 16 cm), assim como as armadilhas do tipo covó, foram armadas próximas às margens e as revisões foram realizadas em intervalos de aproximadamente duas horas. Os arremessos de tarrafa e o arrasto (rede de malha 0,5 cm, com 20 m de comprimento) ocorreram entre esses intervalos.

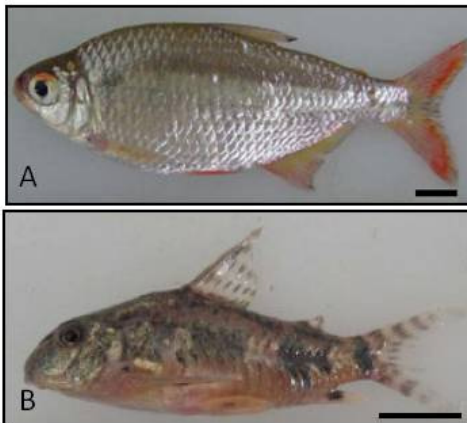
Após a coleta, os animais foram anestesiados com benzocaína 10% diluído em água e sacrificados por secção medular no local de captura. Em seguida, os dados morfométricos (massa total, comprimento total e comprimento padrão) foram obtidos, assim como a massa do fígado e das gônadas. A retirada dos órgãos e tecidos de interesse foi realizada com o auxílio de material cirúrgico e as amostras foram armazenadas em gelo seco ou fixadas em solução química a temperatura ambiente, de acordo com o tipo de análise posterior.

### 3.3 Organismos bioindicadores

#### 3.3.1. *Astyanax* spp.

O gênero *Astyanax*, com 86 espécies, anteriormente era nominado entre a subfamília Tetragonopterinae e atualmente encontra-se entre outros gêneros *incertae*

*sedis*<sup>1</sup> da família Characidae (REIS *et al.*, 2003). É amplamente distribuído pelo Brasil (GODOY, 1975) sendo o gênero mais comum e diversificado de Characidae na área de abrangência da região neotropical. São conhecidos vulgarmente como lambaris ou piabas e habitam diversos ambientes, inclusive as águas de cabeceiras de rios e riachos. Na região do Alto Iguaçu é conhecida a ocorrência das espécies *Astyanax altiparanae*, *A. sp. B.*, *A. sp. C.*, *A. sp. D.* e *A. sp. E.* (INGENITO *et al.*, 2004) (Fig. 2). No geral, as espécies do gênero *Astyanax* têm sido consideradas como zooplancívoras, insetívoras e principalmente onívoras, tendo papel essencial no equilíbrio dos ecossistemas (SANTOS, 1981), desempenhando uma importante função na cadeia alimentar, pois constituem a fonte alimentar para peixes carnívoros e apresentam grande flexibilidade alimentar (GOMIERO E SOUZA BRAGA, 2003).



(Foto: Pilchowski, 2003)

Figura 2: Exemplos dos gêneros A- *Astyanax* e B- *Corydoras*. Barra = 1cm.

### 3.3.2 *Corydoras* spp.

O gênero *Corydoras* é composto por 143 espécies (REIS *et al.*, 2003), da Ordem Siluriforme, família Callichthyidae (Fig.2). A distribuição geográfica compreende a bacia do rio Paraná e rios costeiros do Brasil e Uruguai (REIS *et al.*, 2003). As espécies

<sup>1</sup> Posição taxonômica incerta (Reis, *et al.*, 2003).

*Corydoras paleatus* e *Corydoras ehrhardti* podem ser encontradas no Alto Iguaçu (INGENITO *et al.*, 2004). São onívoros e nadam preferencialmente junto ao substrato e em pequenos cardumes (ROSA E LIMA, 2008) e, diferente da maioria dos bagres que é noturna, os *Corydoras* são de hábito diurno (AXENROT E KULLANDER, 2003).

### 3.3.3 *Hoplias* sp.

Na Bacia do rio Iguaçu, a espécie *Hoplias malabaricus*, popularmente conhecida como traíra, é a única representante deste gênero (INGENITO *et al.*, 2004), pertence à ordem Characiformes e à família Erythrinidae (Fig. 3). É uma espécie de teleósteo predador de água doce com ampla distribuição geográfica que abrange todas as bacias hidrográficas da América do Sul, com exceção da área transandina e dos rios da Patagônia. Habita preferencialmente ambientes lênticos, embora possa ser encontrada em rios (FOWLER, 1950). A traíra é um modelo biológico que vem sendo bastante utilizado pelo nosso grupo nos estudos de ecotoxicologia nos últimos 12 anos. O que faz desta espécie um bom modelo de estudos é sua distribuição geográfica na América do Sul, fácil adaptabilidade em cativeiro e disponibilização de material biológico suficiente para diversas análises laboratoriais conjuntas. Outra característica importante é sua posição na cadeia trófica, um animal piscívoro voraz que ocupa um nível alto na cadeia alimentar, sendo um bom modelo para avaliar os efeitos de bioacumulação e biomagnificação, além de fazer parte da dieta humana em diversas regiões brasileiras.

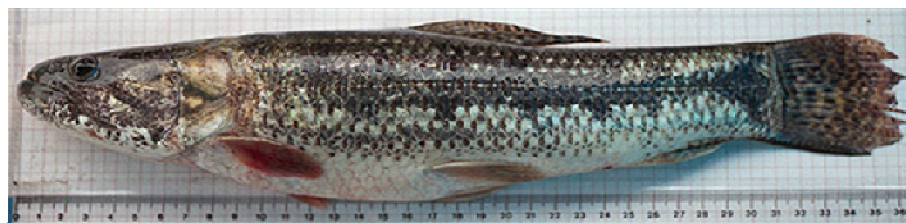


Figura 3: Exemplar de *Hoplias malabaricus*.

### 3.4 Parâmetros morfométricos

Todos os indivíduos foram pesados e medidos (comprimento total e comprimento padrão) para determinar o Fator de Condição (**K**), sendo estimado pela fórmula  $K = MT/CT^b$ , onde **MT** representa a massa total em gramas e **CT** o comprimento total do exemplar em centímetros, e **b** é o coeficiente angular da relação massa-comprimento, obtido a partir da regressão linear entre os valores logaritmizados da massa total (**MT**) e do comprimento total (**CT**) (LE CREN, 1951) considerando todos os indivíduos, de ambos os pontos e meses.

Após anestesia, sacrifício e dissecação, os fígados e as gônadas dos exemplares foram coletados e pesados, fornecendo os dados para o cálculo do Índice Hepatosomático (**IHS**) e do Índice Gonadosomático (**IGS**). O Índice Hepatosomático (**IHS**) é calculado pela fórmula  $IHS = MF/MT \times 100$ , onde **MF** representa a massa do fígado em gramas e **MT** representa a massa total do animal em gramas. Já o Índice Gonadosomático (**IGS**) é estimado pela fórmula  $IGS = MG/MT \times 100$ , onde **MG** representa massa da gônada em gramas e **MT** representa a massa total do animal em gramas.

### 3.5 Histopatologia

A extremidade do lóbulo maior do fígado e o segundo arco branquial direito foram removidos dos espécimes e preparados para histologia de acordo com o protocolo padrão para microscopia de luz do laboratório de Toxicologia Celular. As amostras foram fixadas em ALFAC por 16 h (etanol 69%, formaldeído 4% e ácido acético glacial 5%) e posteriormente lavadas e armazenadas em álcool 70% a 4 °C até a desidratação em série crescente de álcool, seguido pela diafanização em xilol, a inclusão em Paraplast Plus® e emblocados de acordo com Akaishi *et al.* (2004). Após a trimagem os

blocos foram congelados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e seccionados em cortes de  $5\text{ }\mu\text{m}$  de espessura (Micrótomo LEICA RM 2145), corados com hematoxilina de Harris e eosina/floxina e analisados em microscópio de luz Leica DME (Anexo 1).

O segundo arco branquial esquerdo foi fixado em glutaraldeído 3% em tampão cacodilato (0,1 M, pH 7,2-7,4) e mantido a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  até análise. Para análise o material foi desidratado em série crescente de etanol (Merck®) (maiores detalhes no anexo 2), submetido ao ponto crítico ( $\text{CO}_2$  líquido) e metalizado com ouro. As imagens foram capturadas no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6360LV no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

As alterações hepáticas e branquiais foram avaliadas de acordo com Bernet *et al.* (1999), com adaptações. Para cada alteração foi atribuído um fator de importância ( $w$ ) de acordo com o grau de reversibilidade, sendo (1) para alterações facilmente reversíveis; (2) para alterações moderadas, potencialmente reversíveis com o fim da exposição, e (3) para alterações irreversíveis, que levam a perda parcial ou total da função do órgão (tabela 1). Para a obtenção do índice de alterações histopatológicas (IH), o fator de importância é multiplicado por um segundo valor numérico ( $a$ ) de acordo com a extensão ou frequência da lesão (de 0 – ausente - a 6 – abundante/extenso). Para determinar o índice de alterações histopatológicas por órgão, é realizado o somatório de todos os índices por alteração para o órgão em questão: índice órgão =  $\sum_{\text{alteração}} (w.a)$ .



Tabela 1: Fator de importância de acordo com o tipo de alteração e o órgão para a análise das alterações histopatológicas de acordo com Bernet *et al.* (1999).

Órgão	Tipo de alteração	Fator de importância (w)
Fígado	Necrose	3
	Infiltração leucocitária	2
	Presença de parasitas	2
	Neoplasia	2
	Centro de melanomacrófagos	2
	Melanomacrófagos livres	2
	Diferenciação celular	1
	Vacuolização	1
	Inclusões citoplasmáticas	1
brânquia	Aneurisma	1
	Fusão lamelar	2
	Presença de parasitas	2
	Hiperplasia	2
	Neoplasia	2

### 3.6 Bile

A extração da bile ocorreu pela punção da vesícula biliar. Devido ao pequeno volume de bile encontrada por indivíduo, utilizou-se uma mistura da bile (*pools*) de um a cinco indivíduos para a quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos pelo método de comprimento de onda fluorescente fixa (AAS *et al.*, 2000). Os *pools* foram armazenados em recipientes de vidro âmbar a -80 °C até o momento da análise. Após a determinação da curva-padrão da bile e do padrão de PAHs para estabelecer a diluição das amostras, alíquotas de 10 µl de cada *pool* foram diluídas na proporção 1:300 em metanol 48% (Merck®) e lidas no espectrofluorímetro (UV-1650PC, SHIMADZU) nos comprimentos de onda 288/330 nm, 267/309 nm, 334/376 nm, 364/406 nm e 380/422 nm (excitação/emissão) que correspondem respectivamente aos hidrocarbonetos de dois anéis (*i.e.* naftaleno), três anéis (*i.e.* fenantreno), quatro anéis (*i.e.* pireno), cinco anéis (*i.e.* benzo[a]pireno) e seis anéis (*i.e.* benzo[ghi]perileno). Os dados foram expressos em

unidade de PAHs por miligrama de proteína. A quantificação de proteínas foi determinada pelo método de Bradford *et al.* (1976).

### **3.7 Análises estatísticas**

Os índices somáticos e os índices de alterações histopatológicas foram analisados pelos testes de Mann Whitney, considerando 0,05 o grau de significância. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Graphpad Prism. O baixo número de indivíduos de *Hoplias* sp. inviabilizou os testes estatísticos para essa espécie.

#### 4 Resultados

Foram capturados 47 indivíduos durante a primeira coleta (estação seca/abril) e 63 na segunda coleta (estação chuvosa/outubro) (tabela 2) de ambos os sexos. Durante a coleta em Porto Amazonas, em abril, foram capturados somente exemplares do gênero *Astyanax*. Em toda fase de campo, apenas nove *Hoplias* sp. foram capturados e se restringiram à Irineópolis. Sabe-se da presença deste gênero em Porto Amazonas pelo relato de pescadores locais, mas provavelmente as condições da coleta (coleta durante o dia em abril e cheia do rio em outubro) dificultaram sua captura.

Tabela 2: Gênero, massa, comprimento e número de indivíduos total e por sexo coletados em abril e em outubro de 2008 nas cidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA).

Mês	Local	Gênero	N	massa total (g)	comprimento total (cm)
Abril	IR	<i>Astyanax</i> spp.	16 (3 M,12 F, 1 NI)	18,21±12,82	10,36±2,42
		<i>Corydoras</i> spp.	16 (3 M,12 F, 1 NI)	4,924±0,85	6,740±0,53
		<i>Hoplias</i> sp.	7 (5 M,2 F)	125,0±125,8	19,90±7,75
	PA	<i>Astyanax</i> spp.	13 (6 M,7 F)	12,08±2,14	9,721±0,85
Outubro	IR	<i>Astyanax</i> spp.	13 (7 M, 6 F, 1 NI)	17,05±8,38	10,62±1,82
		<i>Corydoras</i> spp.	15 (6 M,8 F, 1 NI)	4,04±1,01	6,367±0,52
		<i>Hoplias</i> sp.	2 (2 M)	112,5±107,9	21,70±10,76
	PA	<i>Astyanax</i> spp.	20 (7 M,13 F)	25,54±10,83	11,87±1,80
<i>Corydoras</i> spp.		13 (8 M,4F, 1 NI)	4,344±1,38	6,271±0,56	

M – machos; F- fêmeas; NI – sexo não identificado

Entre os *Astyanax* foram identificadas as espécies *Astyanax* sp. B, A. sp. C, A. sp. D, A. sp. E e *A. altiparanae*, sem distinção de local ou mês, sendo a espécie A. sp. B a mais frequente. Foram identificadas as espécies *Corydoras paleatus* e *Corydoras ehrhardti*, sendo a primeira a mais abundante desse gênero. O terceiro gênero restringiu-se à espécie de traíra *Hoplias malabaricus*.

Optou-se pelo tratamento de gênero ao invés de espécie pela dificuldade na identificação principalmente das espécies que compõem o gênero *Astyanax*, além da dificuldade em coletar um número suficiente de indivíduos da mesma espécie.

#### 4.1 Índices Somáticos

O número reduzido de exemplares capturados de *Hoplias* sp. inviabilizou a análise estatística dos índices somáticos desta espécie, assim como para *Corydoras* spp. e *Astyanax* spp. em algumas análises.

Para o cálculo do fator de condição (K) foi considerada a massa total. Previamente foram testados os valores de K a partir da massa total e desconsiderada a massa das gônadas. Não foi encontrada diferença significativa, optando-se então para a utilização da massa total.

Os fatores de condição, índices gonadosomático (IGS) e hepatossomático (IHS) apresentaram diferença entre os sexos (machos e fêmeas) devido à produção diferenciada de gametas. Os indivíduos do gênero *Astyanax* spp. apresentaram o coeficiente angular da relação massa-comprimento (**b**, ver material e métodos) diferente entre machos e fêmeas, sendo o K comparado separadamente entre os sexos. Este mesmo coeficiente foi igual entre machos e fêmeas de *Corydoras* spp., possibilitando a comparação do fator de condição considerando todos os indivíduos sem a distinção de sexo. Em ambos os gêneros o fator de condição não apresentou diferença significativa entre os locais e meses, mantendo-se constante entre as coletas (Fig.4A e 5A).

Os machos e fêmeas de *Astyanax* spp. coletados em PA/outubro apresentaram IGS maior do que os coletados em abril no mesmo local, não apresentando diferença entre os pontos no mesmo mês. Em relação a variação temporal do IHS, nas fêmeas este índice foi maior em PA/outubro em relação a abril neste mesmo ponto e igual em IR entre os meses, enquanto que nos machos este índice manteve-se constante nos pontos em ambos os meses. Em abril, as fêmeas de PA apresentaram o IHS menor do que em

IR e entre os machos este índice foi igual entre os pontos. Em outubro, os machos de PA apresentaram o menor IHS e entre as fêmeas este índice foi igual entre os pontos (Fig.4).

Não houve a captura de *Corydoras* em PA/abril e os dados para a análise estatística do IGS em abril (macho e fêmea) e IHS em abril (macho) são insuficientes. Em outubro, o IGS foi igual entre os pontos para ambos os sexos. Entretanto, em relação ao IHS, os pontos neste mesmo mês apresentaram diferença em machos e fêmeas, ambos apresentando maior IHS em PA. As fêmeas coletadas em IR/abril apresentaram menor IHS em relação a outubro no mesmo ponto (Fig.5).

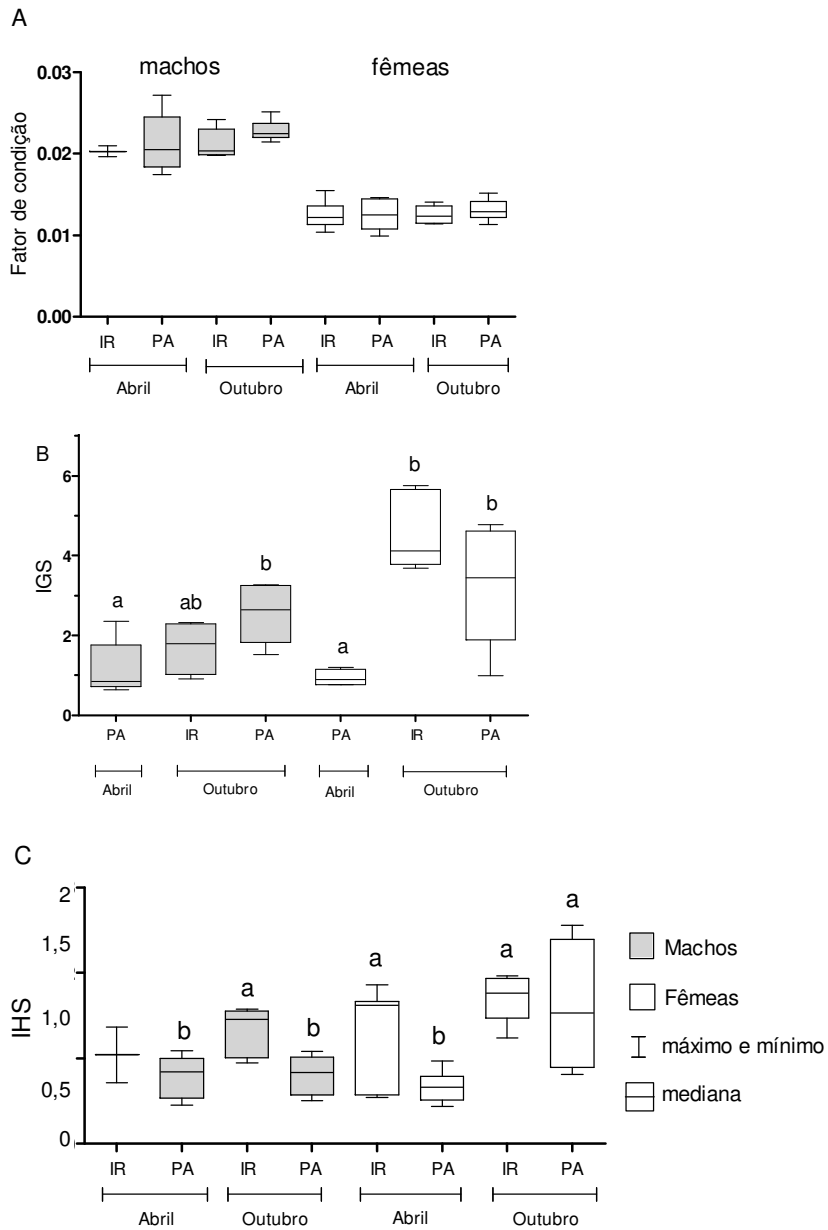


Figura 4: Índices somáticos de *Astyanax* spp. nos meses de abril e outubro nos locais de coleta em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA): A- Fator de condição (K), B- índice gonadossomático (IGS) e C - índice hepatossomático (IHS). Meses/locais sem dados: não houve número suficiente de indivíduos para as análises estatísticas. Machos e fêmeas foram analisados separadamente. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

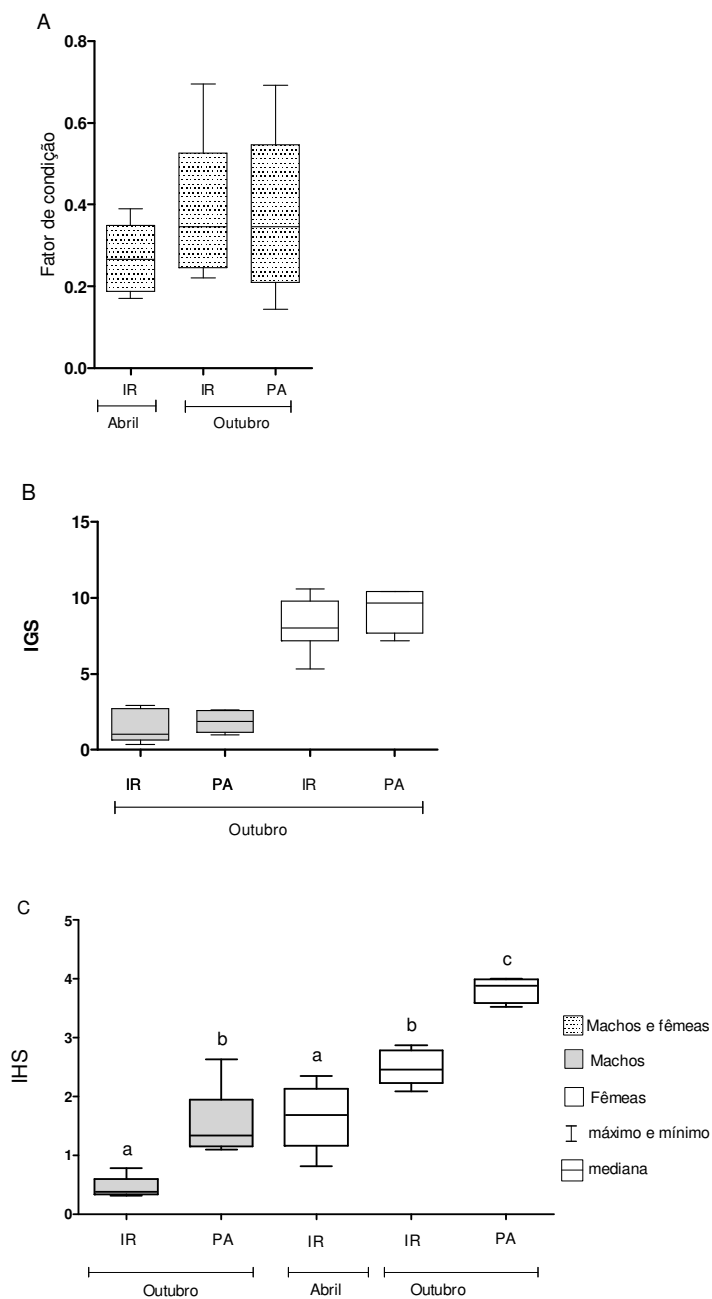


Figura 5: Índice somático em *Corydoras* spp. nos meses de abril e outubro nos locais de coleta em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA): A- Fator de condição (K), com os dados de machos e fêmeas agrupados. B- índice gonadosomático (IGS) e C- índice hepatossomático (IHS), com machos e fêmeas analisados separadamente. Meses/locais sem dados: não houve número suficiente de indivíduos para as análises estatísticas. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

## 4.2 Histopatologia

Macroscopicamente foi possível distinguir em alguns exemplares, coletados tanto em IR quanto em PA, principalmente em abril, o fígado com a morfologia bastante comprometida, de difícil distinção entre os lóbulos. Neste órgão não foram visualizados parasitas a olho nu, mas foram observados no trato digestivo e na vesícula biliar.

O padrão de organização do tecido hepático de *Corydoras* spp. difere dos outros gêneros considerados e, pela diferença observada na histologia dos espécimes analisados, há diferença interespecífica (Fig.8). O tecido hepático é mais denso, de caráter mais basófilo, ocorrendo pouco tecido pancreático difuso no parênquima hepático (Fig.8A). Em *Astyanax* spp. e *Hoplias malabaricus* os hepatócitos são claramente organizados em cordões e o tecido pancreático está distribuído homogeneamente pelo tecido, sendo mais abundante em *Astyanax* spp. (Fig.7A). As células do tecido pancreático distinguem-se dos hepatócitos pela maior afinidade à hematoxilina e a presença de grânulos de secreção no citoplasma. Em *Astyanax* spp., havia parasitas do gênero *Calyptospora* entre o tecido pancreático e o parênquima hepático (Fig.7B). Outros parasitas não identificados foram encontrados esporadicamente no tecido hepático dos três gêneros.

As áreas de necrose (Fig. 8B, 9A) e as infiltrações leucocitárias (Fig. 7C) foram as alterações mais frequentes encontradas no fígado de todos os gêneros, locais e períodos de coletas (Tab.3 e Fig.6). As outras alterações hepáticas menos frequentes foram a vacuolização citoplasmática (Fig. 7F e 9B) e a presença de melanomacrófagos livres (MML) e agregados ou centro de melanomacrófagos (CMM)(Fig. 8C). Os CMMs foram caracterizados pelo agrupamento de cinco ou mais melanomacrófagos (RABITTO *et al.*, 2005). Houve particularidades, como a acidofilia dos hepatócitos em



*Astyanax* spp. coletados em IR/abril (Fig. 7 D) e hipertrofia nos indivíduos de IR/out. (Fig.7E); a presença de parasitas junto ao tecido pancreático de *Astyanax* spp. como supracitado; neoplasias (Fig. 8D), pré-neoplasias (Fig. 8E) e inclusões citoplasmáticas (Fig. 8F) em *Corydoras* spp. Alguns exemplares de *Hoplias* sp. apresentaram áreas hemorrágicas (Fig. 9B) que, neste indivíduo, acompanham hepatócitos vacuolizados e tecido acidófilo. Indivíduos de *Hoplias* sp. e *Astyanax* spp. apresentaram melanina ao redor de vasos sanguíneos (Fig. 9A) e um exemplar de *Astyanax* spp. apresentou uma área de fibrose.

Para verificar qual foi o ponto mais impactado, comparou-se cada gênero entre os dois pontos em abril e em outubro. Tanto *Astyanax* spp. quanto *Corydoras* spp. não apresentaram diferença significativa entre os pontos, ou seja, pelo IH os pontos podem ser considerados igualmente impactados. No entanto, em relação à influência das chuvas, os *Astyanax* spp. apresentaram IH maior durante a estação seca (abril) em IR ( $p < 0,05$ ,  $t = 2,2$ ,  $df = 25$ ), não ocorrendo diferença significativas entre os meses em PA. Em *Corydoras* spp. não houve distinção entre os meses em ambos os pontos. Ao comparar os gêneros coletados em IR/abril, os indivíduos de *Astyanax* spp. apresentaram maior comprometimento do tecido que *Corydoras* spp. ( $p < 0,05$ ;  $t = 2,6$ ;  $df = 23$ ). Nas demais coletas, não houve diferença estatística entre os gêneros. Considerando os três gêneros, os espécimes capturados em Porto Amazonas apresentaram maior diversidade de alterações (Tab. 3).

Tabela 3: Porcentagem de ocorrência de alterações histopatológicas no fígado, número de indivíduos analisados (n) e índice de alterações histopatológicas dos três gêneros capturados no rio Iguazu em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA). Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Mês	Local	Gênero	n	Necrose	Infiltração leucocitária	Parasitas	Diferenciação tecidual	MML *	CMM **	Neoplasia	Vacuolização	Índice de alterações histopatológicas
Abril	IR	<i>Astyanax</i> spp.	16	87,5%	62,5%	87,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	18,38±7,78a
		<i>Corydoras</i> spp.	9	88,9%	0,0%	0,0%	0,0%	33,3%	11,1%	22,2%	0,0%	9,67±5,48
		<i>Hoplias</i> sp.	7	73,3%	85,7%	14,3%	0,0%	0,0%	14,3%	0,0%	14,3%	17,43±5,41
	PA	<i>Astyanax</i> spp.	14	85,7%	78,6%	42,9%	7,1%	7,1%	7,1%	0,0%	7,1%	13,79±9,22
Outubro	IR	<i>Astyanax</i> spp.	9	81,8%	9,1%	72,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	11,82±7,36b
		<i>Corydoras</i> spp.	11	92,3%	33,3%	0,0%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	0,0%	8,00±5,24
		<i>Hoplias</i> sp.	2	100,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	13,00±4,24
	PA	<i>Astyanax</i> spp.	20	75,0%	30,0%	45,0%	10,0%	0,0%	5,0%	0,0%	5,0%	11,35±7,16
		<i>Corydoras</i> spp.	13	100,0%	38,5%	7,7%	38,5%	7,7%	15,4%	7,7%	0,0%	11,77±6,18

MML\* - melanomacróforo livre; CMM\*\* - centro de melanomacróforo.

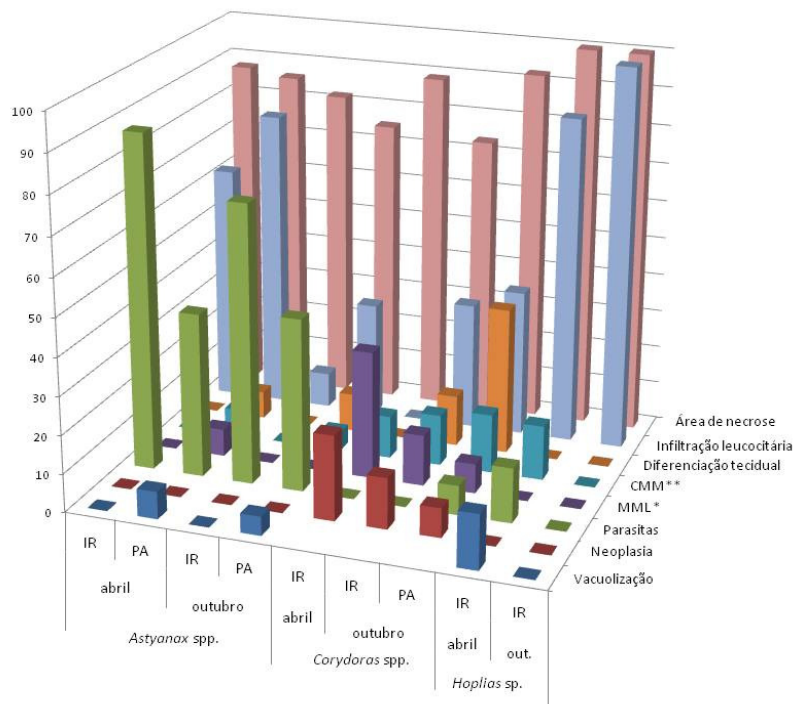


Figura 6: Porcentagem de indivíduos com alterações histopatológicas no fígado dos três gêneros capturados em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA). \*MML – melanomacróforo livre, \*\*CMM – centro de melanomacróforo.

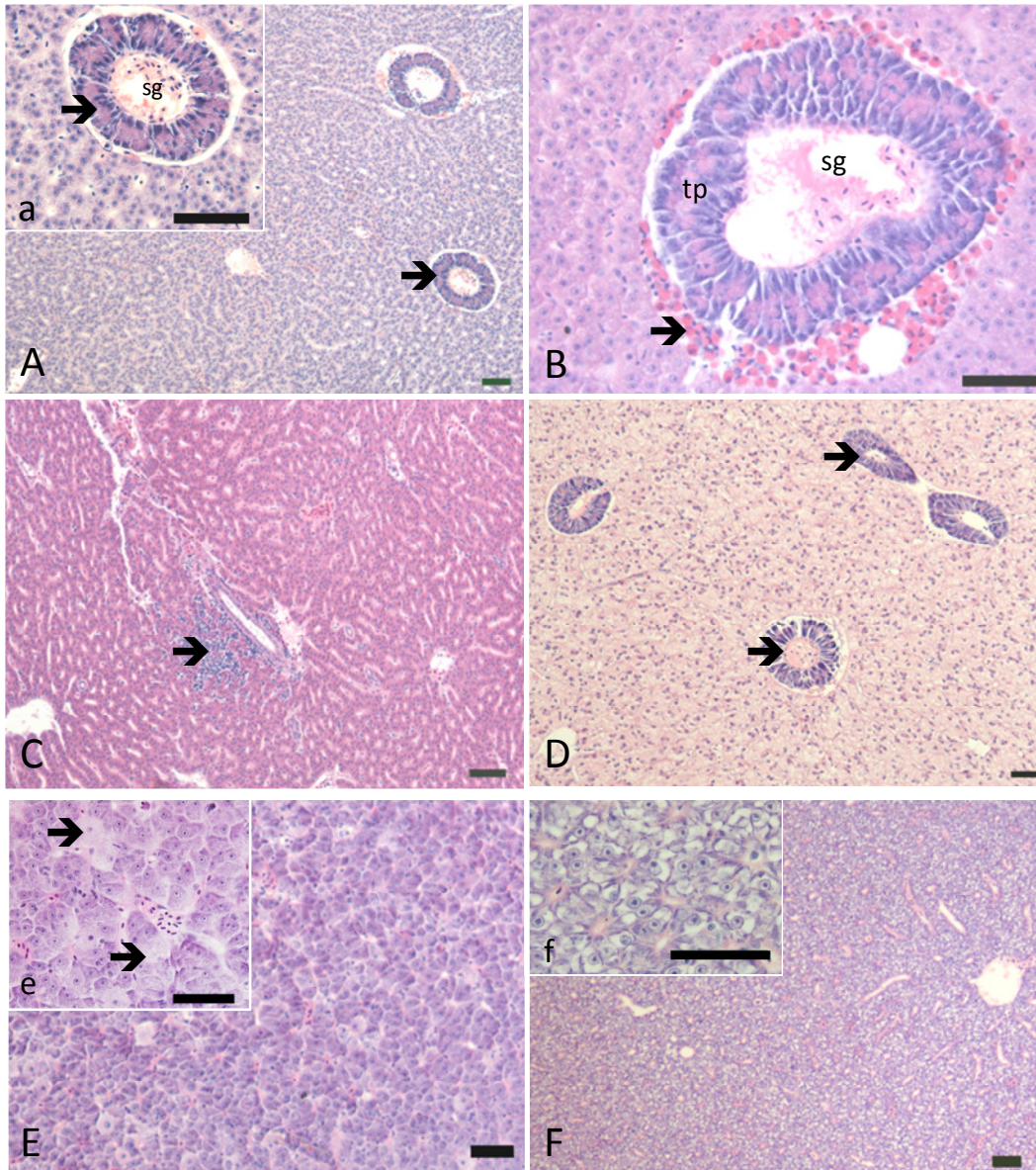


Figura 7: Histologia de fígado de *Astyanax* spp. A - tecido hepático inalterado, tecido pancreático (seta), a - detalhe do tecido pancreático (seta), vaso sanguíneo (sg). B - infestação de parasitas (seta) entre parênquima hepático e tecido pancreático (tp). C - infiltração leucocitária (seta). D - tecido hepático com aspecto acidófilo e tecido pancreático (setas). E - no detalhe (e) observe hipertrofia celular (setas). F - observe a vacuolização em detalhe (f). Coloração: hematoxilina/eosina. Barras = 50  $\mu$ m.

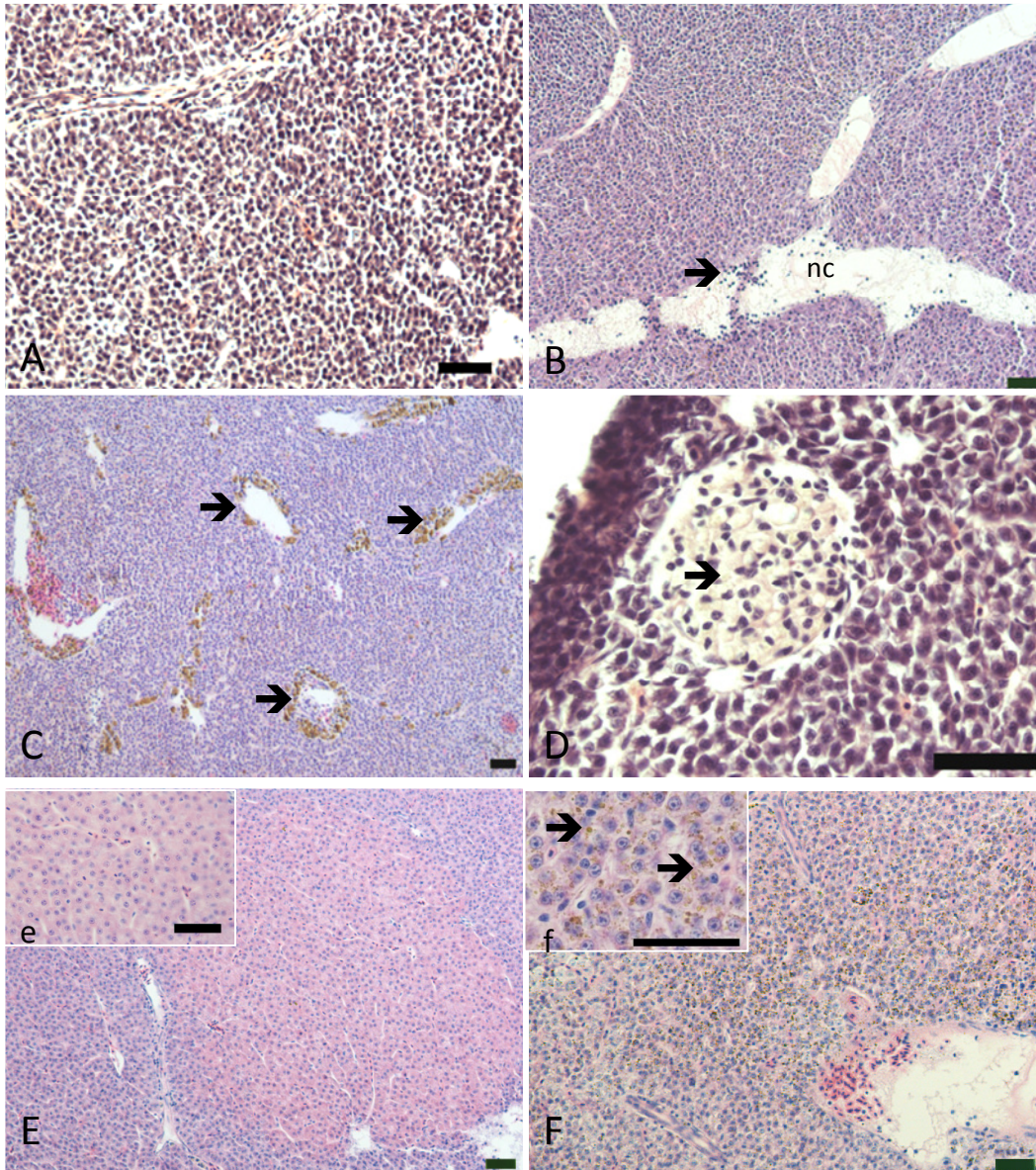


Figura 8: Histologia de fígado de *Corydoras* spp.. A - tecido hepático inalterado mas altamente basófilo. B - área de necrose (nc) e infiltração leucocitária (seta). C - centro de melanomacrófagos (setas) e D - neoplasia (seta). E - foco pré-neoplásico; e - detalhe. F - inclusões citoplasmáticas (seta) melhor evidenciadas em detalhe (f). Coloração: hematoxilina/eosina. Barras = 50 µm. Observar diferença de coloração entre A e D e as demais.

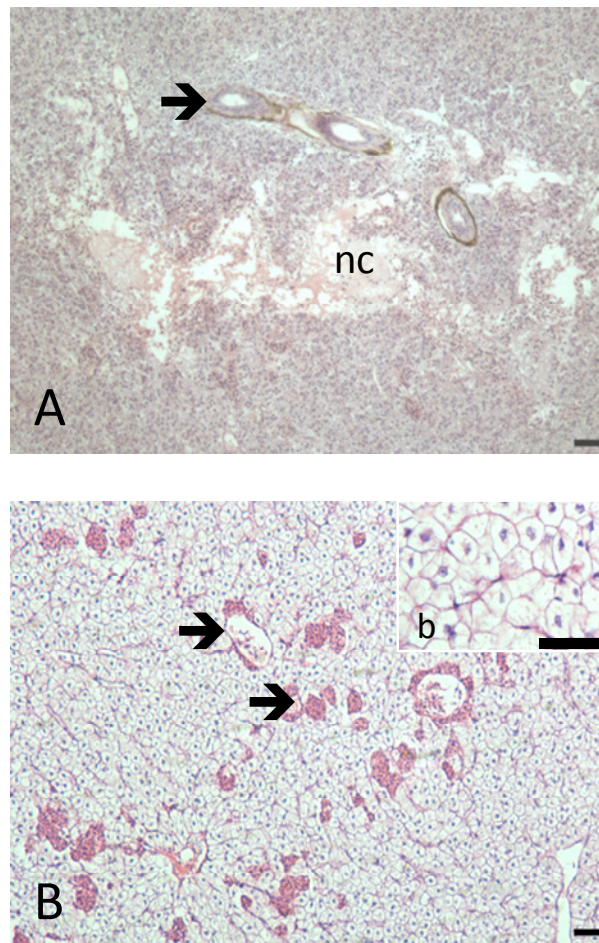


Figura 9: Histologia de fígado *Hoplias* sp.. A - áreas de necrose (nc) e depósito de melanina em torno dos vasos (seta). B - tecido acidófilo com hepatócitos vacuolizados (detalhe) e áreas hemorrágicas (seta). Coloração: hematoxilina/eosina. Barras = 50  $\mu$ m.

As brânquias dos espécimes considerados neste estudo apresentaram-se como o descrito para teleósteos, organizadas em quatro arcos branquiais nos quais se encontram duas fileiras de lamelas primárias que por sua vez sustentam as lamelas secundárias ou respiratórias. O epitélio branquial na lamela primária é um mosaico de células pavimentosas, células secretoras de muco e células de cloreto<sup>2</sup>, estas geralmente localizadas na base da lamela secundária (SARDET *et al.*, 1979; WILSON E LAURANT, 2002). As células de cloreto e de muco foram pouco evidentes nas imagens de ML (microscopia de luz) devido a coloração utilizada, sendo observadas em MEV (microscopia eletrônica de varredura). A lamela secundária possui o epitélio formado por uma camada única de células pavimentosas, apoiada na membrana basal que revestem as células pilares, cujos prolongamentos delimitam o espaço por onde circula o sangue (WILSON E LAURANT, 2002). Tendo esta descrição como a morfologia normal do epitélio branquial e considerando trabalhos anteriores realizados com os espécimes utilizados neste estudo (AKAISHI *et al.*, 2004, SILVA *et al.* 2008; FANTA *et al.*, 2003; MORON *et al.*, 2009), modificações nesta organização foram consideradas como alterações branquiais, abrangendo as lesões, como hiperplasia, aneurisma, hipertrofia e neoplasia, e a presença de parasitas. Os aneurismas são caracterizados como o acúmulo de células sanguíneas numa determinada região devido a algum tipo de distúrbio circulatório, enquanto que a hipertrofia é o aumento do volume celular e a hiperplasia é o aumento do número de células. Nas neoplasias ocorrem a alteração celular com o aumento do número de células alteradas num tecido, podendo ocorrer a formação de uma cápsula ao redor das células alteradas (neoplasia encapsulada) ou não (neoplasia

---

<sup>2</sup> Na literatura, as células de cloreto podem ser referidas como células ricas em mitocôndrias (do inglês, *mitochondria-rich cells*, MRCs) (Wilson e Laurant, 2002).

não encapsulada), sendo que o segundo tipo pode ter caráter invasivo (BERNET *et al.*, 1999). Apesar de encontrados, os edemas e descolamentos de epitélio não foram quantificados por serem facilmente confundidos com artefatos histológicos.

Para os três gêneros analisados foram observadas hiperplasia, aneurisma, neoplasia, fusão lamelar e presença de parasitas (Tab. 4 e Fig. 10). Apesar da maior ocorrência de lesões em Irineópolis em ambos os meses, os índices de lesão de brânquias são estatisticamente iguais, tanto entre gêneros quanto entre as estações e entre os locais de coleta ( $p > 0,05$ ).

Constatou-se a presença de parasitas diversos, principalmente ectoparasitas (Fig.12E e 12F), e a fragilidade do epitélio das lamelas primárias, observada em MEV principalmente em *Astyanax* spp. (Fig.12B). Também em *Astyanax* spp., coletados em PA/out., foi possível observar a ocorrência de neoplasias e a possível exclusão de células da lamela secundária (Fig.11F).

Destacaram-se os aneurismas (Fig.11C, 11D e 11E) e as hiperplasias (Fig. 12C e 12D) observadas em ML (microscopia de luz) e MEV em todos os gêneros. As hiperplasias frequentemente resultam em fusão lamelar (Fig. 12C). Embora as análises estatísticas não mostrem diferença entre os gêneros analisados, *Corydoras* spp. apresentou graves fusões lamelares que se prolongavam por quase toda a lamela primária (Fig. 13C e 13D) e fusões na extremidade das lamelas secundárias, decorrente de neoplasia (Fig. 13E e 13F).

Em *Corydoras* spp., a hiperplasia na lamela secundária conferiu ao tecido um aspecto enrugado (Fig.13A) e a presença concomitante de muco e lesões lamelares, fato não encontrado nos demais gêneros (Fig. 13). Outra particularidade foi a presença de botões gustativos, observados em imagens de ML e MEV (Fig. 13B). O pequeno

tamanho das brânquias de *Corydoras* spp. dificultou seu processamento, limitando o número de amostras analisadas, conseqüentemente reduzindo a observação de lesões neste grupo, principalmente em IR/ abril.

As microdigações ou microcristas<sup>3</sup> são estruturas encontradas na membrana das células pavimentosas da lamela primária, dispostas em anéis concêntricos, provavelmente responsáveis pela distribuição do muco sobre o epitélio. As microdigações foram observadas em *Hoplias* sp. e *Astyanax* spp. com o aspecto inalterado (Fig. 14A) e alterado (Fig. 14B, 14D). Em algumas imagens fica evidente o comprometimento das microdigações pelo inchaço da membrana celular (Fig. 14C). Em *Corydoras* spp. houve dificuldade em observar tais estruturas pelo depósito excessivo de muco e elevado grau de alterações no epitélio.

---

<sup>3</sup> Em inglês são denominadas de *microfolders*, *microridge* ou *microvilli* (WILSON E LAURANT, 2002).



Tabela 4: Porcentagem de ocorrência de alterações histopatológicas na brânquia, número de indivíduos analisados (n) e índice de alterações histopatológicas dos três gêneros capturados no rio Iguaçú em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA).

Mês	Local	Gênero	n	hiperplasia	aneurisma	fusão	parasita	neoplasia	Necrose	índice de alterações histopatológicas
Abril	IR	<i>Astyanax</i> spp.	15	6,7%	26,7%	20,0%	13,3%	6,7%	0,0%	2,31±2,93
		<i>Corydoras</i> spp.	6	100,0%	0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,67±1,03
		<i>Hoplias</i> sp.	5	40,0%	40,0%	40,0%	20,0%	20,0%	0,0%	3,83±3,56
Outubro	PA	<i>Astyanax</i> spp.	11	0,00%	36,36%	36,36%	0,00%	27,27%	9,09%	2,45±2,52
		<i>Astyanax</i> spp.	10	50,0%	0,0%	20,0%	10,0%	0,0%	0,0%	1,60±1,26
Outubro	IR	<i>Corydoras</i> spp.	11	27,3%	18,2%	27,3%	9,1%	9,1%	0,0%	2,73±3,58
		<i>Hoplias</i> sp.	2	100,0%	7,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	4,00±1,41
		<i>Astyanax</i> spp.	19	52,6%	5,3%	0,0%	5,3%	0,0%	0,0%	2,47±1,70
Outubro	PA	<i>Corydoras</i> spp.	13	100,0%	30,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,15±0,55

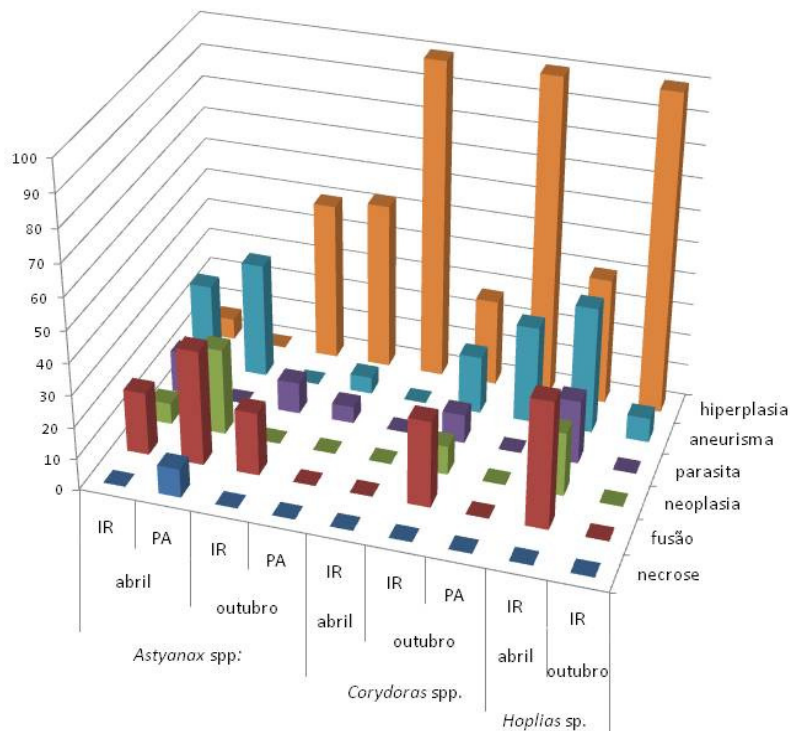


Figura 10: Porcentagem de indivíduos com alterações histopatológicas na brânquia dos três gêneros capturados em abril e outubro de 2008 nas localidades de Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA).

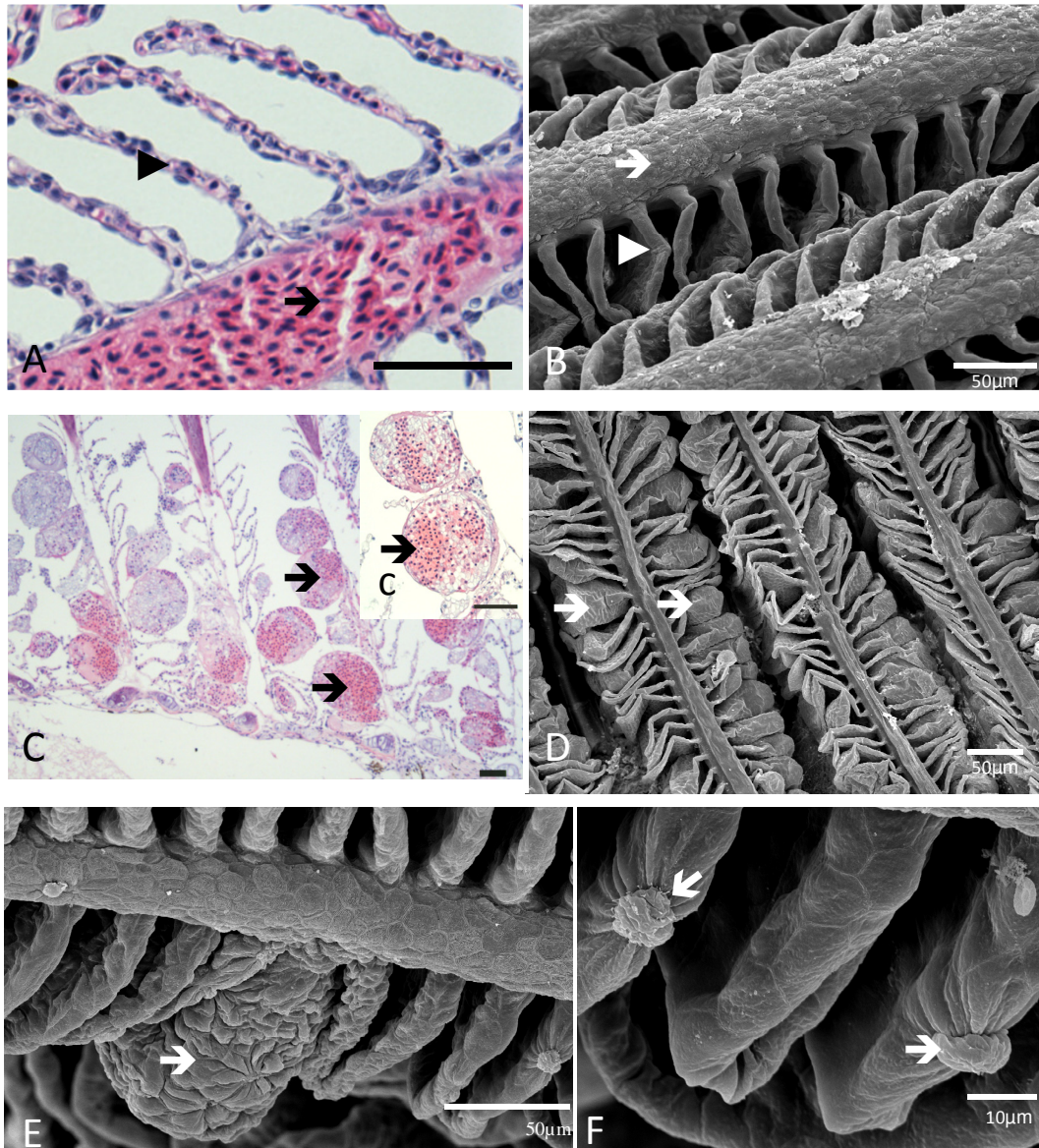


Figura 11: Histopatologia de brânquias de *Astyanax* spp.. A e B - brânquia inalterada, lamela primária (→) e lamela secundária (▶). C, D e E - aneurisma (seta). F - células sendo descartadas do tecido (seta). Coloração: hematoxilina/eosina. Barra = 50μm.

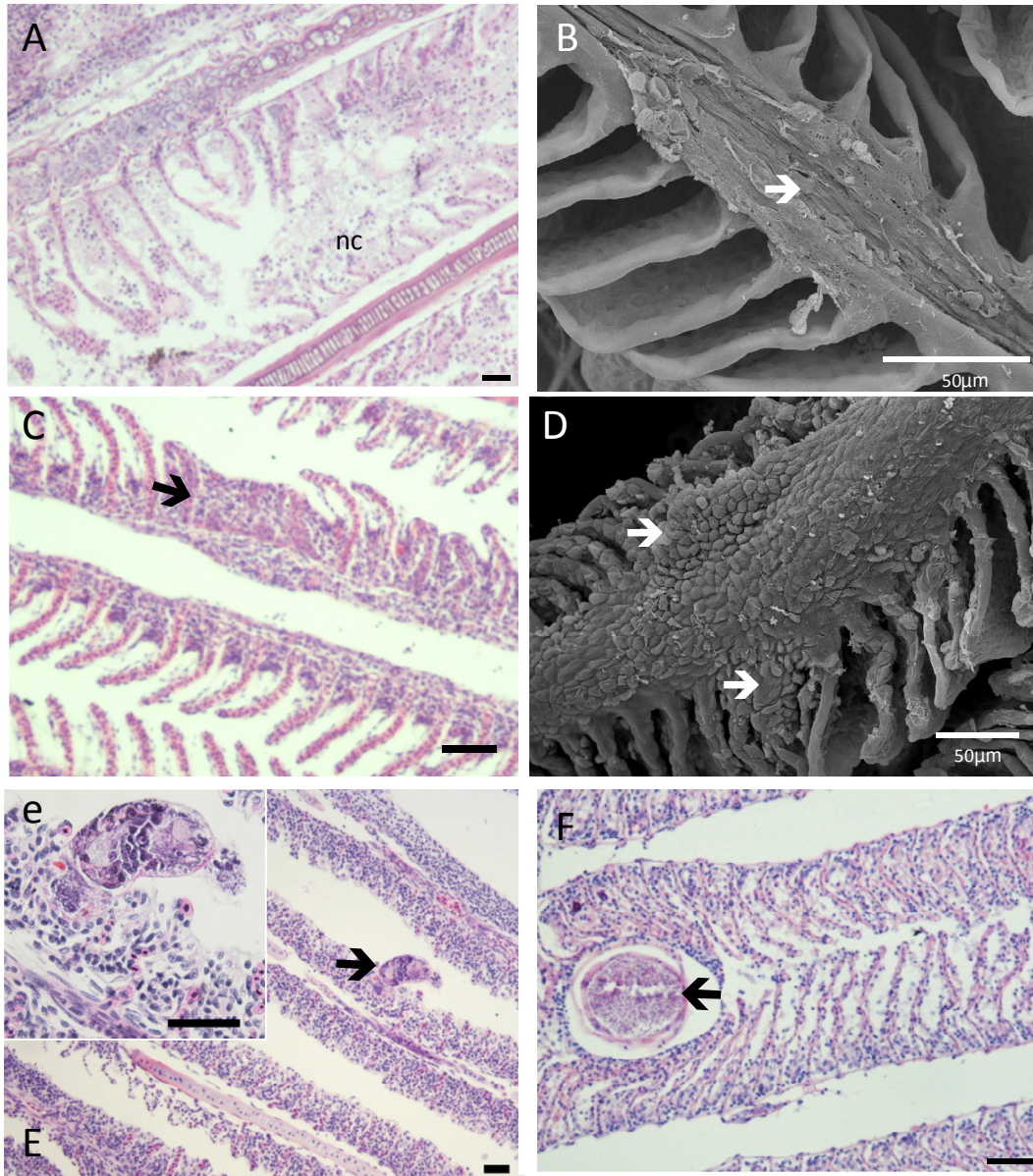


Figura 12: Alterações branquiais. A- necrose (nc); em *Corydoras* spp. B - fragilidade do epitélio da lamela primária em *Astyanax* spp. (seta). C - fusão entre lamelas secundárias decorrente de hiperplasia (seta) em *Hoplias malabaricus*.. D - hiperplasia (seta) em *Astyanax* spp.. E - presença de ectoparasita (seta) em *Corydoras* spp. F - ectoparasita em *Astyanax* spp. (seta). Coloração: hematoxilina/eosina. Barra = 50µm.

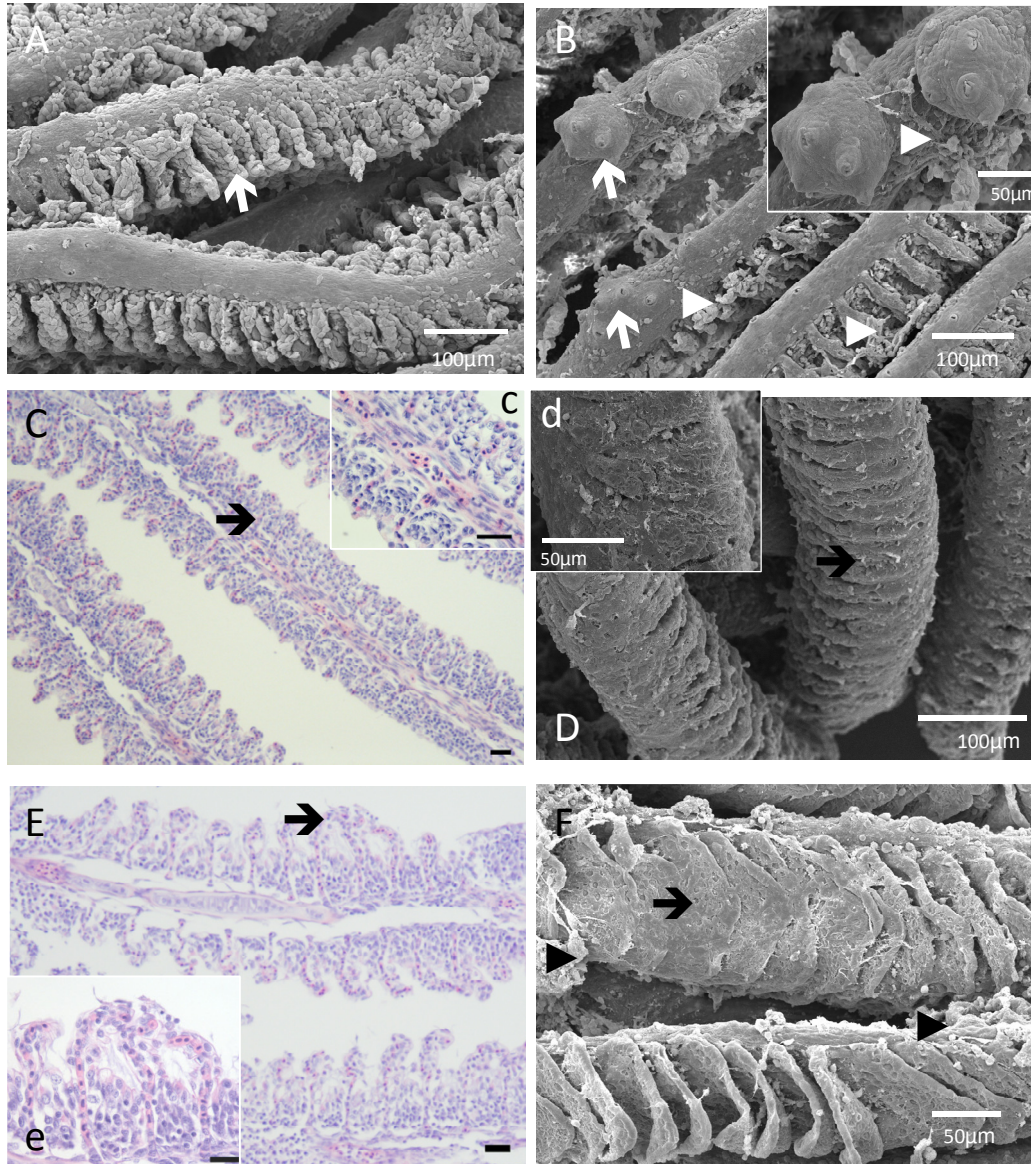


Figura 13: Alterações branquiais em *Corydoras* spp.. A - hipertrofia nas lamelas secundárias (seta). B - presença de botões gustativos nas lamelas primárias (seta). C e D - fusão lamelar decorrente de hiperplasia; c e d detalhe das fusões. E e F- fusão das extremidades das lamelas secundárias. Observar a presença de muco (▶) nas imagens de MEV. Coloração: hematoxilina/eosina. Barra = 50  $\mu$ m.

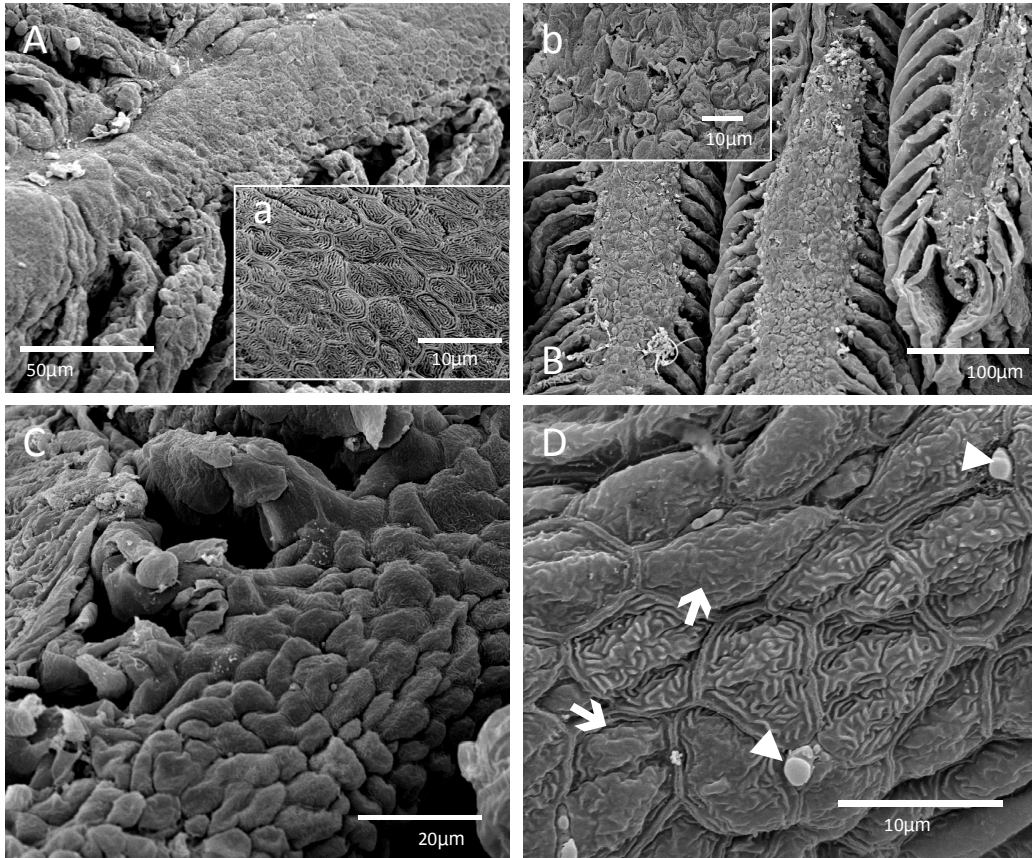


Figura 14: Digitações nas lamelas primárias. A - digitações inalteradas em *Hoplias malabaricus*. B - células pavimentosas alteradas, não foi possível identificar as digitações, em *Astyanax* spp.. C - células pavimentosas alteradas em *Corydoras* spp.. D - alterações no padrão das digitações (→) e abertura das células mucosas (▶), em *Astyanax* spp.

### 4.3 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

A média da concentração dos PAHs mensurados (Fig.15) mostra concentrações mais elevadas em Porto Amazonas, tanto em abril quanto em outubro nos pools de bile de *Astyanax* spp. e *Corydoras* spp.. A concentração de PAHs cresce na ordem *Astyanax* spp. < *Corydoras* spp. < *Hoplias* sp. em IR/abril, não ocorrendo esta mesma relação em outubro. A concentração dos metabólitos de PAHs na bile de acordo com o número de anéis aromáticos está representada na figura 16, determinada após a padronização da diluição da bile em metanol em 1:300 para todos os indivíduos considerados.

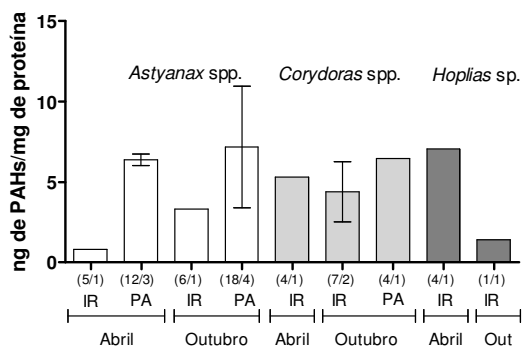


Figura 15: Concentração média do somatório dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) de 2 a 6 anéis na bile de *Astyanax* spp., *Corydoras* spp. e *Hoplias* sp. coletados em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA) em abril e outubro de 2008. (número de indivíduos/número de pools). Barras indicam desvio padrão.

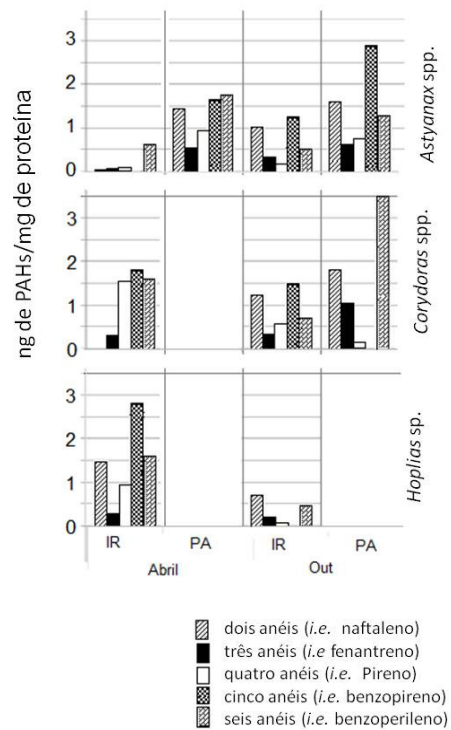


Figura 16: Concentração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) de 2 a 6 anéis por mg de proteína de bile de *Astyanax* spp., *Corydoras* spp. e *Hoplias* sp. coletados em Irineópolis (IR) e Porto Amazonas (PA) em abril e outubro de 2008.

## 5 Discussão

Os dados morfométricos de *Astyanax* spp., *Corydoras* spp. e *Hoplias* sp. estão de acordo com o descrito para estes grupos (AXENROT E KULLANDER, 2003; ALBERTO *et al.*, 2005; SHIBATTA E HOFFMANN, 2005; FANTA *et al.*, 2006; NAVARRO, *et al.*, 2006; ALMEIDA, 2007; BERTOLUCCI, *et al.*, 2008; MIRANDA *et al.*, 2008; PESCE *et al.*, 2008). Alguns fatores contribuíram para o elevado desvio padrão nas médias de massa total encontrado em *Astyanax* spp., como a utilização de todos os indivíduos coletados sem a distinção de sexo ou de espécie, sendo assim incorporados ao desvio padrão as diferenças sexuais, como a massa total devido ao tamanho diferencial das gônadas, e interespecíficas, como a variação de tamanho entre as espécies deste gênero.

Os índices somáticos indicam o estado de saúde geral dos peixes (SUTTON *et al.*, 2000; KLEINKAUF *et al.*, 2004), possíveis distúrbios na alimentação, alocação de energia no fígado e produção de gametas. Segundo os mesmos autores, as alterações nestes índices podem ser atribuídas à interferência dos poluentes no metabolismo e reprodução em peixes. O fator de condição (K) descreve o estado de saúde geral do animal, indicando distúrbios no metabolismo decorrente do acúmulo diferencial de gordura por algum estresse ambiental ou pelo período reprodutivo (BARBIERI E VERANI, 1994). É utilizado na determinação de aspectos ecológicos de espécies de teleósteos (AGOSTINHO *et al.*, 1990; WOLFF, 2007) e para avaliar métodos de manejo em pisciculturas (NAVARRO *et al.*, 2006; ALMEIDA, 2007), geralmente comparando populações. Nestes casos, o maior fator de condição indica as melhores condições para o desenvolvimento do indivíduo, geralmente atribuída a alimentação por se tratar da

relação entre massa e comprimento. Em biomonitoramento, a variação do K é atribuída à qualidade do ambiente, não só pela disponibilidade de alimento, mas também pela interferência dos possíveis contaminantes no metabolismo. A princípio a redução do K seria esperado em locais contaminados pela modificação do ambiente e do estresse nos animais, (WOLF E WOLFE, 2005), mas há relatos da estabilidade e do aumento deste valor. O aumento do valor do K e do IGS foi atribuído a área mais impactada por efluente doméstico numa população de *Astyanax fasciatus* (ALBERTO *et al.*, 2005) e esta mesma relação foi observada em um reservatório que recebe efluente de uma indústria de açúcar no México, nas espécies de peixes *Ameba splendens* e *Goodea atripinnis* (TEJEDA-VERA *et al.*, 2007). Esta relação foi explicada pela grande oferta de alimento e, como estratégia para superar o estresse ambiental, a população “optou” por investir em crescimento, reprodução e longevidade (OOST *et al.*, 2003). As comunidades estabelecidas em Irineópolis e Porto Amazonas estão relativamente adaptadas a sazonalidade das chuvas e a exposição dos poluentes, pois o índice K não mostrou alterações significativas entre os meses considerados. No entanto o mesmo não se pode dizer quanto aos outros biomarcadores utilizados, como as alterações histológicas, e as demais análises paralelas realizadas a este estudo, como estresse oxidativo (TINCANI, 2008) e distúrbios citogenéticos (PIANCINI, 2008).

O aumento concomitante do IGS e do IHS das fêmeas em outubro de *Corydoras* spp. e *Astyanax* spp. caracteriza o início da época reprodutiva, o aumento do volume gonadal pela produção de gametas e a variação do volume hepático pela produção de vitelogenina. Apesar do número insuficiente de coletas para determinar a época reprodutiva de *Astyanax* spp., os dados presentes concordam com os dados apresentados por Wolff (2007) que identifica a época reprodutiva de *Astyanax* aff. *fasciatus* entre os



meses de setembro a fevereiro, em um rio desta mesma bacia. O valor constante de K expressaria o equilíbrio entre a produção de vitelogenina, o acúmulo de energia devido à oferta de alimento e a utilização desta para a reprodução. Durante o período reprodutivo o crescimento do indivíduo pode ser reduzido ou interrompido para favorecer a reprodução. Provavelmente nos meses seguintes houve a redução do K e do IGS devido à reprodução e desova.

A variação do IHS entre os gêneros foi diferente em relação aos locais. Enquanto o IHS de *Corydoras* spp. é maior em PA, no mesmo local *Astyanax* spp. tem o índice menor em relação à Irineópolis. Entende-se que esta variação reflita a diferença entre os dois grupos em relação aos seus hábitos, ambiente e fisiologia. A ocorrência da diferenciação celular (hipertrofia) em hepatócitos de alguns indivíduos de *Corydoras* spp. pode ter contribuído com o aumento do IHS em PA/out. A presença de poluentes pode causar hiperplasia e hipertrofia em hepatócitos, ambos aumentando o IHS. O tamanho do organismo influencia na ocorrência de algumas alterações. A hiperplasia seria a resposta de indivíduos mais jovens, pela capacidade de resposta mais rápida à presença de contaminantes, devido a intensa atividade do tecido jovem (OOST *et al.*, 2003). Por outro lado, a presença de neoplasias tende a aumentar com a idade pelo acúmulo de erros durante a divisão celular e pela exposição prolongada a poluentes carcinogênicos.

Pelas atividades às margens do rio Iguaçu, sabe-se que a fauna deste rio encontra-se exposta a pesticidas, PCBs, dioxinas, metais e PAHs, mesmo que em concentrações não detectáveis pelo monitoramento de rotina. Estes compostos estão associados com o aumento da concentração de radicais livres no citosol, o que leva a peroxidação lipídica, lesionando as membranas celulares e deixando a célula mais

susceptível à morte celular programada ou perda de homeostase e necrose (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005; HINTON *et al.*, 2008). A necrose hepática tem sido foco de atenção no biomonitoramento, pois tende representar danos estruturais e funcionais que propiciam a perda da integridade e falência do órgão, interferindo na saúde dos indivíduos e no equilíbrio populacional (RABITTO *et al.*, 2005; VELMERUGAN *et al.*, 2007). Portanto, a grande ocorrência de necrose nos animais analisados pode ser um alerta para a integridade destas populações. A posição trófica e tamanho dos indivíduos de *Hoplias malabaricus* podem ter contribuído com a grande ocorrência destas lesões, devido aos processos de biomagnificação e bioacumulação. Akaishi *et al.* (2004) também encontrou em *Astyanax* spp. a alta ocorrência de necrose concomitante a outras alterações hepáticas ao aumentar a concentração e tempo de exposição a fração solúvel do petróleo. Em contrapartida, estudos mostraram ausência ou baixa ocorrência de necrose em *Astyanax* spp. coletados em ambientes impactados pela indústria petroquímica (PILCHOWSKI, 2003; FLORES-LOPES E MALABARBA, 2007) e expostos a água coletada neste ambiente (SILVA *et al.*, 2008), sendo notificadas outras alterações hepáticas mais frequentes, como infiltrações leucocitárias e presença de melanomacrófagos. Já em *Corydoras* spp., neste mesmo estudo realizado por Pilchowski (2003), apresentou altos índices de necrose hepática, também observado por Fanta *et al.* (2003) após exposição hídrica a organofosforado.

A alta ocorrência de infiltrações leucocitárias nos três gêneros analisados pode estar relacionada ao elevado índice de necrose e, em *Astyanax* spp., a presença de parasitas. Levando em consideração que a ocorrência de necroses está associada ao comprometimento das membranas celulares, que constituem barreiras físicas, a lesão destas estruturas pode implicar no aumento da presença de antígenos, consequentemente

ativando o recrutamento de leucócitos. Assim como as infiltrações leucocitárias, os melanomacrófagos são relacionados com a primeira linha de defesa do organismo (RABITTO *et al.*, 2005; WOLF E WOLFE, 2005). Os melanomacrófagos possuem pigmentos como melanina e lipofucsina, compostos que agem contra radicais livres, cátions e compostos tóxicos e atuam contra infestações parasitárias (CAMPOS E MORAES, 2008). Somente dois exemplares de *Astyanax* spp. coletados em Porto Amazonas apresentaram melanomacrófagos, também verificado em outros estudos em lagos com grande despejo de esgoto doméstico (LIEBEL, 2007) e em lagoas de estabilização de efluente de indústria petroquímica (FLORES-LOPES E MALABARBA, 2007). Aparentemente este gênero é mais suscetível ao recrutamento e aglomeração de melanomacrófagos em bioensaios do que no ambiente, como encontrado por Akaishi *et al.* (2004) e Silva *et al.* (2008) que sugerem o seu uso como biomarcadores para exposição a hidrocarbonetos. Ao contrário, *Hoplias malabaricus* apresenta estas células tanto no ambiente (MIRANDA *et al.*, 2008) quanto em bioensaios (RABITTO *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2008). Em *Corydoras* spp. os MML facilmente se confundem com inclusões citoplasmáticas em hepatócitos, presentes principalmente nos indivíduos capturados em Porto Amazonas. Esta alteração foi encontrada em *C. paleatus* após exposição à organofosforado e interpretada como estagnação de bile (Fanta *et al.*, 2003) e em estudo com *Hoplias malabaricus* sugeriu-se outros produtos celulares como lipofucsina e esteróides (RABITTO *et al.*, 2005), ambos demonstrando debilidade no processo de exocitose, provavelmente relacionado com a interação destes poluentes com o citoesqueleto. A maior ocorrência de melanomacrófagos em *Corydoras* spp. do que nos outros gêneros pode ser uma

característica da espécie ou um indício da contaminação pelo sedimento devido o hábito bentônico deste gênero, como sugerem alguns autores (WOLF E WOLFE, 2005).

Durante a necropsia foram encontrados parasitas no tubo digestivo e vesícula biliar, assim como na análise histopatológica das brânquias e do fígado. Nas brânquias houve uma grande quantidade e variedade de endo e ectoparasitas e, no tecido hepático de *Astyanax* spp., foi encontrada uma grande quantidade de parasitas do gênero *Calyptospora* semelhantes ao estudo realizado em lagos em Guarapuava, PR (LIEBEL, 2007). Além de relacionada à baixa resistência imunológica, a presença de parasitas induz à perda do equilíbrio oxidativo uma vez que estes acionam a atividade fagocitária resultando no aumento do consumo de oxigênio e na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (BELLÓ *et al.*, 2000; MONSERRAT *et al.*, 2006). Por outro lado, Marcogliese *et al.* (2005) sugere que peixes parasitados são mais suscetíveis ao estresse oxidativo causado pelo ambiente contaminado. Este processo, seja causado ou agravado pelo parasitismo, associado às infiltrações leucocitárias é pertinente com a elevada atividade da catalase nas coletas de abril em *Astyanax* spp. (TINCANI, 2008).

Outras alterações menos frequentes foram a vacuolização e a hipertrofia dos hepatócitos, respostas inespecíficas a contaminantes. O aspecto vacuolizado ocorre pela eliminação das vesículas contendo lipídios durante a preparação das amostras para a análise histológica. O acúmulo de lipídio hepático pode ser vinculado à característica da espécie, ao período reprodutivo, a preparação para períodos de inanição, dietas ricas em gorduras ou intoxicação (WOLF E WOLFE, 2005). Acredita-se que a vacuolização encontrada nos animais capturados em PA esteja relacionado com a presença de contaminantes, visto que em grupos controle de estudos anteriores com a utilização destes mesmos gêneros não relatam a ocorrência de vacuolização. O acúmulo de

lipídios permite a imobilização de compostos lipofílicos como agrotóxicos e PAHs (FANTA *et al.*, 2003; OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005; FLORES-LOPES E MALABARBA, 2007; MATOS *et al.*, 2007). A hipertrofia dos hepatócitos também pode ser observada em fêmeas reprodutivamente ativas e em machos expostos a compostos estrogênicos, pela indução da produção de vitelogenina (WOLF E WOLFE, 2005), o que condiz com as fêmeas de *Astyanax* spp. e os machos de *Corydoras* spp. que apresentaram essas alterações em outubro.

Um dos primeiros efeitos da exposição a xenobióticos é o estresse fisiológico, promovendo a liberação de adrenalina que leva ao aumento da pressão sanguínea e conseqüentemente aumenta o fluxo de sangue lamelar e a superfície de difusão para água, íons e até grandes moléculas orgânicas. Isto pode desencadear um conjunto de mecanismos levando ao desequilíbrio iônico seguido por alterações morfológicas nas brânquias (BONGA E LOCK, 2008). Devido a fragilidade e relativa simplicidade estrutural das lamelas, as brânquias respondem rapidamente aos contaminantes adequando-se fisiologicamente e morfológicamente como forma de defesa, apresentando alterações como aneurismas, hiperplasias, fusões lamelares e produção excessiva de muco, que conseqüentemente acarretam no aumento da distância de difusão entre o contaminante e o vaso sanguíneo, mas principalmente reduzindo a eficiência respiratória e as demais funções branquiais, interferindo por fim no comportamento do animal (FANTA *et al.*, 2003; CENGIZ E UNLU, 2006). Apesar de serem consideradas reversíveis (ORTIZ *et al.*, 2001; MACHADO E FANTA, 2003), a ocorrência destas alterações nos indivíduos capturados em ambas as estações implica na constante presença de agentes estressores.

As microdigações das células pavimentosas são estruturas responsáveis pela distribuição de muco sobre a superfície do epitélio branquial. Distúrbios morfológicos nestas estruturas tem sido relacionadas a presença de contaminantes, como amônia, organofosforados e cádmio (CARDOSO *et al.*, 1996; WONG E WONG, 2000; MACHADO E FANTA, 2003). Desta forma, as alterações encontradas nas microdigações, como visto em *Astyanax* spp. e em *Hoplias malabaricus* e mesmo a não visualização de microdigações em *Corydoras* spp., são fortes indícios da presença de compostos nocivos a saúde destes animais. A ausência destas estruturas em *Corydoras* spp. pode estar relacionada com danos mais severos ou pela inexistência das mesmas, o que é pouco provável, uma vez que constituem a morfologia das brânquias de teleósteos. No entanto, a não observação de digitações em conjunto com a acentuada ocorrência de hiperplasia e fusão lamelar são indícios de que as brânquias de *Corydoras* spp. encontram-se mais afetadas pela exposição a poluentes dissolvidos na água ou adsorvidas no sedimento do rio Iguaçu. Pesce *et al.* (2008), ao expor peixes ao pesticida lindano, também aponta *Corydoras paleatus* como uma espécie cujas brânquias possuem grande sensibilidade a poluentes. Como previamente citado, os poluentes podem interferir na estrutura do citoesqueleto, levando a perda da integridade estrutural das brânquias, resultando na desorganização das digitações e no descolamento das células do epitélio pelo comprometimento das junções celulares. Há evidências que metais, principalmente Cd, Cu e Zn, afetem o citoesqueleto das células de cloreto (LAWRENCE E HEMINGWAY, 2003).

A presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH) na bile indica a contaminação do corpo d'água por derivados de petróleo e a exposição aguda da biota a estes poluentes. As relações entre compostos isômeros de mesmo número de anéis

aromáticos tais como fenantreno/antraceno (compostos tricíclicos), pireno/fluorantreno (compostos tetracíclicos), e benzo[e]pireno/benzo[a]pireno (compostos pentacíclicos), podem ajudar a identificar a fonte de contaminação se de origem petrogênica (petróleo e derivados) ou pirolítica (combustão do petróleo ou derivados) (IKENAKA *et al.*, 2005). Apesar das baixas concentrações em relação a outros estudos (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2005; YANG E BAUMANN, 2006), constatou-se a presença de PAHs na bile de todos os espécimes considerados no presente estudo.

A variação na concentração de PAHs sugere a interferência das chuvas e dos hábitos alimentares nos animais analisados. Uma série de fatores interfere na biodisponibilidade e biotransformação/acumulação dos PAHs: as características destes compostos, as características da água, da microbiota e do próprio organismo. O peso molecular dos PAHs determina o tempo de degradação e deposição na coluna d'água e no sedimento. Os hidrocarbonetos leves, de dois a quatro anéis, permanecem menos tempo no ambiente devido à rápida degradação e depositam-se nas camadas mais profundas do sedimento. Já os hidrocarbonetos pesados, de cinco e seis anéis, que incluem os compostos mais carcinogênicos como benzopireno (BaP) e dimetilbenzoantraceno (DMBA), demoram para serem degradados e são depositados nas camadas mais superficiais do sedimento (KODO, 2006). Visto que os PAHs são lipofílicos, adsorvem em partículas em suspensão e se depositam no sedimento, a alimentação é uma importante via de contaminação, tanto para os animais da coluna d'água quanto para os bentônicos, que ingerem parte do sedimento durante a alimentação e tendem a absorver mais PAHs que os demais organismos, mesmo com a baixa concentração desses compostos (ERICKSON *et al.*, 2008). Assim, durante a época de seca (abril), *Astyanax* spp. mostrou menor concentração de PAHs devido a

pouca disponibilidade de alimento, pois este alimenta-se principalmente de material alóctone na coluna d'água. Por outro lado, o hábito bentônico de *Corydoras* spp. aumenta a concentração dos PAHs na bile destes animais pelo contato com o sedimento e por ser favorecido pelo depósito de alimento sobre o substrato mesmo com o baixo aporte de nutrientes durante o período de seca. O pequeno número de *Hoplias* sp. capturados não permitiu maiores conclusões sobre esta espécie neste estudo. Portanto, *Astyanax* spp. apresentou-se menos suscetível aos PAHs por estar longe do substrato, *Corydoras* spp. encontra-se junto ao substrato podendo estar mais exposto assim como *Hoplias malabaricus* que, embora esteja bastante associado ao substrato, alimenta-se na coluna de água.

Outro fator a ser considerado em futuras investigações, é a influência do sexo na atividade do citocromo P450. Sabendo que O citocromo P450 participa do metabolismo dos PAHs, então fatores que influenciam na atividade do CYP1A, como hormônios sexuais, aparentemente contribuem com a variação dos níveis de metabólitos de PAHs na bile, sendo menor nas fêmeas (VUORINEN *et al.*, 2006). Uma limitação no presente trabalho foi o uso *pools* sem a distinção de sexo devido ao pequeno volume de bile encontrado nos indivíduos, sendo inviável a verificação de tal interação.

A combinação do aporte de matéria orgânica com a contaminação por derivados de petróleo aumenta o potencial tóxico dos PAHs no rio Iguçu. A liberação de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), composto altamente reativo principalmente no ambiente dulcícola, faz parte do processo da degradação da matéria orgânica e de alguns agrotóxicos (EDDY *et al.*, 1983). Estudos mostram que a presença de  $\text{NO}_2^-$  altera o metabolismo dos PAHs, potencializando seus efeitos tóxicos, como descrito por Shailaja *et al.* (2006), levando a deterioração fisiológica após exposição subletal de sete dias de *Oreochromis*



*mossambicus*. Os focos neoplásicos e pré-neoplásicos podem ser efeito dessa combinação pela qual indivíduos que ocorrem em Porto Amazonas estão sujeitos. As maiores concentrações do somatório de PAHs foram encontradas em Porto Amazonas, o que condiz com a proximidade da zona industrial de Curitiba e a própria região metropolitana.

A Sanepar (Companhia de Saneamento e Abastecimento de Água do Paraná) capta água para abastecimento público somente em União da Vitória, cidade que precede Irineópolis; em Porto Amazonas o abastecimento é realizado por poços artesianos. O relatório de qualidade da água de União da Vitória, coletada em agosto de 2008 pela Sanepar (comunicação pessoal, anexo 3), apresentou o fosfato total e o sulfeto de hidrogênio (ácido sulfídrico) acima dos limites recomendados, que são indícios da sobrecarga orgânica no rio e do possível resquício dos efluentes industriais ainda nesse trecho. Apesar dos demais parâmetros estarem de acordo com a resolução CONAMA 357/2005, os animais capturados em ambos os pontos refletem o estresse químico pelo qual a biota está sujeita, mostrando através dos biomarcadores, a presença de agentes neurotóxicos, genotóxicos e hepatotóxicos (PIANCINI, 2008; TINCANI, 2008) e conseqüentemente o comprometimento da saúde desses indivíduos bem como do ecossistema como um todo. .

*Astyanax* é considerado um grupo oportunista, com grande investimento na reprodução e plasticidade alimentar. Por serem mais ativos, os lambaris, quando comparados aos demais gêneros estudados, podem aumentar seu contato com poluentes pela ampla área de natação. Por outro lado, os animais bentônicos, como *Corydoras* spp. e *Hoplias* sp., estão mais suscetíveis aos compostos lipofílicos depositados sob o substrato. As brânquias de *Corydoras* spp. apresentaram maior sensibilidade aos

poluentes, resultando na rápida resposta morfológica e aparentemente sendo eficaz ao impedir a ação de compostos hepatotóxicos, uma vez que há menos alterações histológicas no fígado em relação aos outros animais analisados. Assim, acredita-se que este gênero seja mais resistente que *Astyanax* spp., pois é uma das poucas espécies de peixes que podem ser encontradas mais próximo à Região Metropolitana de Curitiba. As alterações histológicas de *Hoplias* sp. foram atribuídas à sua posição na cadeia trófica e tamanho dos animais, a severidade das lesões seria resultado da exposição crônica aos poluentes pela água e alimentos. A captura de mais exemplares de *Hoplias* sp. e análises de genotoxicidade e das enzimas de estresse oxidativo de *Corydoras* spp. elucidariam melhor a relação entre os níveis tróficos e os mecanismos de toxicidade no ambiente.

O uso de organismos nativos é essencial para o monitoramento ambiental pois reflete as reais ameaças a fauna local. O rio Iguaçu, assim como toda a bacia na qual está inserida, possui espécies endêmicas e passa por unidades de conservação. E, tendo em vista a carência de informações quanto ao impacto sobre a biota principalmente a peixes nativos, estudos deste porte são importantes para a adequação das políticas ambientais e planos de monitoramento e gerenciamento dos corpos hídricos.

## 6 Conclusões

- O grande esforço amostral realizado neste trabalho e o baixo número de indivíduos bem como a baixa diversidade de espécies coletados já é um forte indício de que estes ambientes encontram-se sob forte impacto da atividade antrópica;
- Os índices somáticos, apesar de constituírem ferramentas importantes no biomonitoramento ambiental, neste estudo não foram efetivos e determinantes no diagnóstico final;
- As alterações histopatológicas de fígado e brânquia apontam o comprometimento da qualidade da água em ambos os pontos de coleta e períodos avaliados;
- A presença de PAHs na bile demonstra que estes ambientes encontram-se contaminados por fontes pirogênicas e petrogênicas, observado de forma mais expressiva em Porto Amazonas devido à proximidade com a RMC;
- A influência da sazonalidade na concentração de metabólitos de PAHs totais na bile é mais evidente em Irineópolis nos exemplares de *Astyanax* spp. o que deve estar relacionado com o hábito alimentar da espécie;
- Apesar do pequeno porte dos organismos do gênero *Astyanax* e *Corydoras* dificultar a utilização de diversos biomarcadores em um mesmo indivíduo, estes se mostraram eficientes bioindicadores no biomonitoramento ambiental.

## 7. Referências bibliográficas

- AAS, E., BEYER, J., GOKSOYR, A. Fixed wavelength Fluorescence (FF) of bile as a monitoring tool for polyaromatic hydrocarbon exposure in fish: an evaluation of compound specificity city, inner filter effect and signal interpretation. *Biomarkers*. 5, 9-23, 2000.
- AGOSTINHO, A.A., GOMES, L.C. Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo. EDUEM, Maringá, 1997.
- AGOSTINHO, AA., BARBIERI, G., VERANI, JR, HAHN, N.S. Variação do fator de condição e do índice hepatossomático e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Locariidae) no rio Paranapanema, Porecatum PR. *Ciência e Cultura- Revista da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, 42, 711-714, 1990.
- AKAISHI, F.M., ASSIS, H.C., JAKOBI, S.C., EIRAS-STOFELLA, D.R. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (wsf) of crude oil. *Environmental Contamination and Toxicology*. 253, 244 -253, 2004.
- ALBERTO, A., CAMARGO, A.F., VERANI, J.R., COSTA, O.F., FERNANDES, M.N. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61, 247-255, 2005.
- ALMEIDA, R.B. *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação. Tese de doutorado. Instituto de Biociências de Botucatu. Universidade Estadual Paulista. 2007.
- ALVES COSTA, J.R.M., MELA, M., ASSIS, H.C.S., PELLETIER, E., RANDI, M.A.F., OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Enzymatic inhibition and morphological changes in *Hoplias malabaricus* from dietary exposure to lead (II) or methylmercury. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 67, 82-88, 2007.
- ANDREOLI, C. V.; DALARMI, O.; LARA, A. I.; ANDREOLI, F.N. Limites ao desenvolvimento da Região Metropolitana de Curitiba, impostos pela escassez de água. *SANARE – Revista Técnica da Sanepar*. 12, 12, 1999.
- ANDREOLI, C.V., HOPPEN, C., FERREIRA, A. Avaliação dos níveis de agrotóxicos encontrados na água de abastecimento nas regiões de Curitiba e Londrina. *SANARE – Revista Técnica da Sanepar*. 12, 12, 1999.
- ARIESE, F.; BURGERS, I.; OUDHOFF, K.; RUTTEN, T.; STROOMBERG, G.; VETHAAK, D. Comparison of analytical approaches for PAH metabolites in fish bile samples for marine and estuarine monitoring. *Vrije Universiteit, Institute for Environmental Studies*, 40 p, 1997.
- AXENROT, T.E., KULLANDER, S.O. *Corydoras diphyes* (Siluriformes: Callichthyidae) and *Otocinclus mimulus* (Siluriformes: Loricariidae), two new species of catfishes from Paraguay, a case of mimetic association. *Ichthyol. Explor. Freshwaters*. 14, 249-272, 2003.

- AZEVEDO, L. C., ANDRADE, A. R., SOUSA, P., NERY, J. T. A influência do fenômeno El Niño na vazão da bacia do Rio Iguaçu-PR. *Persp. Geog.* 2, 52-65, 2006.
- BARBIERI, G., PERET, A. L., VERANI, J. R. Notas sobre a adaptação do trato digestivo ao regime alimentar em espécies de peixes da região de São Carlos (SP). *Revista Brasileira de Biologia.* 54, 63-69, 1994.
- BARDDAL, M.L. A influência da saturação hídrica na distribuição de oito espécies arbóreas da floresta ombrófila mista aluvial do rio Iguaçu, Paraná, Brasil. Tese de doutorado. Pós-graduação em Engenharia Florestal. Universidade Federal do Paraná. 2006.
- BELLÓ, A.R., FORTES, E., BELLÓ-KLEIN, A., BELLÓ, A.A., LLESUY, S. F., ROBALDO, BIANCHINI, R. B. A Lipid peroxidation induced by *Clinostomum detrunctatum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Diseases of Aquatic Organisms*, vol. 42, 233-236, 2000.
- BERNET, D., SCHMIDT, H., MEIER, W., BURKHARDT-HOLM, P., WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish. Dis.* 22, 25-34, 1999.
- BERTOLUCCI, B., VICENTINI, C.A., VICENTINI, I.B.F., BOMBONATO, M.T.S. Light microscopy and ultrastructure of the liver of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae). *Acta. Sci. Biol. Sci.* 30, 1, 73-76, 2008.
- BONGA, S.E.W., LOCK, R.A.C. The osmoregulatory system in Giulio, R.T., Hinton, D.E. *The toxicology of fishes.* CRS Press. 401-416, 2008.
- BRADFORD, M. A. rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254, 1976.
- CAMPOS, C.M., MORAES, J.R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxoporídeos, capturados no rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17, 4, 200-205, 2008.
- CARDOSO, E.L., CHIARINI-GARCIA, H., FERREIRA, R. M. A., POLI, C. R. Morphological changes in the gills of *Lophiosilurus alexandri* exposed to un-ionized ammonia. *Journal of Fish Biology.* 49, 778-787, 1996.
- CENGIZ, E.I., UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 21, 246-253, 2006.
- CONAMA. Resolução do CONAMA 357/2005: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes para o seu enquadramento, bem como estabelece condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicação nº 053, de 18/03/2005, 58-63, 2005.
- EDDY, F.B., KUNZLIK, P.A., BATH, R.N. Uptake and loss of nitrite from the blood of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson and Atlantic salmon, *Salmo salar* L. in fresh water and in dilute seawater. *Journal of Fish Biology.* 23, 105-116, 1983.

- ERICKSON, R.J., NICHOLS, J.W., COOK, P.M., ANKLEY, G.T. Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems, em: Di Giulio, R., Hinton, D. Toxicology of fishes. CRC Press, Boca Raton, pp. 55-153, 2008.
- ESTEVEZ, F.A. Fundamentos de limnologia. 2ª ed. Ed. Interciência, Rio de Janeiro, p.602, 1998.
- FANTA, E., RIOS, F.S., ROMÃO, S., VIANNA, A.C., FREIBERGER, S. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. Ecotoxicology and Environmental Safety. 54, 119-130, 2003.
- FISK, A. T., WIT, C. A., WAYLAND, M., KUZYK, Z. Z., BURGESS, N., LETCHER, R., BRAUNE, B., NORSTROM, R., BLUM, S. P., SANDAU, C., LIE, E., LARSEN, H. J., SKAARE, J. U., MUIR, D. C. G. An assessment of the toxicological significance of anthropogenic contaminants in Canadian arctic wildlife. Science and the Total Environment. 351-352, 57-93, 2005.
- FLORES-LOPES, F., MALABARBA, L.R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do lambari *Astyanax jacuhiensis* (COPE, 1894) (Teleostei, Characidae) sob influência de efluentes petroquímicos. Biociências. 15, 166-172, 2007.
- FOWLER, H.W. Os peixes de água doce do Brasil. Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo. 6, 205-404, 1950.
- GODOY, M.P. Peixes do Brasil. Subordem Characida, Franciscana, São Paulo. 1975.
- GOMIERO, L.M., SOUZA BRAGA, F. O lambari *Astyanax altiparanae* (Characidae) pode ser um dispersor de sementes? Acta Scientiarum. Biological Sciences. 25, 353-360, 2003.
- GONÇALVES, R., SCHOLZE, M., FERREIRA, A.M., MARTINS, M., CORREIA, A. The joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on fish behavior. Environmental Research. In press. 2008.
- HASSLER, M.L. A dinâmica das unidades de conservação na região metropolitana de Curitiba. R. RE' E GA. 2, 135-143, 2006.
- HELLOU, J., LEONARD, J., COLLIER., T.K., ARIESE, F. Assessing PAH exposure in feral fish from the Northwest Atlantic. Marine Pollution Bulletin. 52, 433-441, 2006.
- HINTON, D. E., SEGNER, H., AU, D. W.T., KULLMAN, S. W., HARDMAN, R. C. Liver toxicity em Giulio, R.T., Hinton, D.E. The toxicology of fishes. CRS Press. pp.326-400, 2008.
- HURK, P.V. Bile fluorescence, heme oxygenase induction, and increased biliverdin excretion by mixtures of environmental toxicants. Aquatic Toxicology. 77, 202-209, 2006.
- HUTCHINSON, T.H., ANKLEY, G.T., SEGNER, H., TYLER, C.R. Screening and testing for endocrine disruption in fish—biomarkers as “signposts,” not “traffic lights,” in risk assessment. Environmental Health. 106, 106-114, 2006.
- IBGE. Indicadores de desenvolvimento sustentável - Brasil 2008. IBGE p. 472. 2008.

- IKENAKA, Y., EUN, H., WATANABE, E., KUMON, F., MIYABARA, Y. Estimation of sources and inflow of dioxins and polycyclic aromatic hydrocarbons from the sediment core of Lake Suwa, Japan. *Environ. Pollut.* 138, 529–537, 2005.
- INGENITO, L.F.S., DUBOC, L.F., ABILHOA, V. Contribuição ao conhecimento da ictiofauna da bacia do alto rio Iguaçu, Paraná, Brasil. *Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia da UNIPAR.* 7, 23-26, 2004.
- JOBLING, M. *Environmental Biology of Fishes.* Fish and Fisheries Series, vol 16. Chapman & Hall, London. pp. 211-249, 1995.
- JÚLIO JR., H.F., BONECKER, C.C., AGOSTINHO, A.A. Reservatório de Segredo e sua inserção na bacia do rio Iguaçu, in: Agostinho, A.A., Gomes, L.C. (Eds.) *Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo.* EDUEM, Maringá. pp.1-17, 1997.
- KLEINKAUF, A., CONNOR, L., SWARBRECK, D., LEVENE, C., WALKER, P., JOHNSON, P.J., LEAH, R.T. General condition biomarkers in relation to contaminant burden in European flounder (*Platichthys flesus*). *Ecotox. Environ. Saf.* 58, 335–355, 2004.
- KODO, A.K.F. Uso de biomarcadores de contaminação ambiental na avaliação do impacto do vazamento de óleo derivado de petróleo em ecossistemas de água doce. Dissertação de mestrado. Pós-graduação em Ecologia e Conservação. Universidade Federal do Paraná. 2006.
- LAWRENCE, A., HEMINGWAY, K. *Effects of Pollution on Fish.* Blackerll Science. Blackerll Science. 2003.
- LE CREN, E. D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatis*). *Journal of Animal Ecology*, Oxford, 20, 201-219, 1951.
- LIEBEL, S. Caracterização morfológica de brânquias e fígados de *Astyanax aff. fasciatus* (Cuvier, 1819) (Pisces, Characidae). Monografia de conclusão de curso. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Centro-Oeste. 2007.
- MAACK, R. *Geografia Física do Estado do Paraná.* Segunda Ed. Rio de Janeiro. Secretaria da Cultura e do Esporte do Estado do Paraná. p.442, 1981.
- MACHADO, M.R., FANTA, E. Effects of organophosphorus methyl parathion on the branchial epithelium of a freshwater fish *Metynnis roosevelti*. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 46, 361-372, 2003.
- MARCOGLIESE, D.J., BRAMBILLA, L.G., GAGNÉ, F., GENDRON, A.D. Joint effects of parasitism and pollution on oxidative stress biomarkers in yellow perch. *Diseases Of Aquatic Organisms.* 77-84, 2005.
- MATOS, P., PEIXOTO, F., CARROLA, J., ROCHA, E. Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 89, 73-80, 2007.
- MENICONI, M.D. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no meio ambiente: diferenciação de fontes em sedimentos e metabólitos em bile de peixe. Tese de

doutorado. Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2007.

MIRANDA, A.L., ROCHE, H., MENEZES, M.L., RIBEIRO, C.A. Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological, physiological, and immunological findings. *Environment International*. 34, 939 - 949, 2008.

MONSERRAT, J.M., MARTINEZ, P.E., GERACITANO, L.A., AMADO, B.L. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C*, in press. 2006.

MORON, S.E., ANDRADE, C.A., FERNANDES, M.N. Response of mucous cells of the gills of traíra (*Hoplias malabaricus*) and jeju (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) (Teleostei: Erythrinidae) to hypo- and hyper-osmotic ion stress. *Neotropical Ichthyology*. 7,3,491-498, 2009.

NAVARRO, R. D., SILVA, R.F., RIBEIRO FILHO, O.P., CALADO, L.L., REZENDE, F.P., SILVA, C.S., SANTOS, L.C. Comparação morfométrica e índices somáticos de machos e fêmeas do lambari prata (*Astyanax scabripinnis*, Jerenyns, 1842) em diferente sistema de cultivo. *Zootecnia Tropical*. 24,165-176, 2006.

OLIVEIRA RIBEIRO, C.A., FILIPAK NETO, F., MELA, M., SILVA, P. Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. *Environmental Research*. 101, 74-80, 2006.

OLIVEIRA RIBEIRO, C.A., VOLLAIRE, Y., SANCHEZ-CHARDI, A., ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. *Aquatic Toxicology*. 74, 53-69, 2005.

OOST, R.V., BEYER, J., VERMEULEN, N.P. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13, 57-149, 2003.

ORTIZ, J.B., GONZALEZ DE CANALES, M.L., SARASQUETE, C. The impact of a persistent organic contaminant (Lindane, Y-HCH): histopathological alterations in fish tissues. *Ecotox. Environ. Restor.* 4, 45-52, 2001.

PESCE, S.F., CAZENAVE, J., MONFERRÁN, M.V., FREDE, S., WUNDERLIN, D.A. Integrated survey on toxic effects of lindane on neotropical fish: *Corydoras paleatus* and *Jenynsia multidentata*. *Environmental Pollution*. 156, 775-783, 2008.

PIANCINI, L.D. Biomonitoramento do rio iguaçu em dois pontos utilizando como bioindicador peixes do gênero *Astyanax* (Characiforme, Characidae). Monografia de conclusão de curso. Departamento de Genética. Universidade Federal do Paraná. 2008.

PILCHOWSKI, R.W. Avaliação dos impactos de derramamento de óleo sobre a ictiofauna do Altíssimo, Alto e Médio rio Iguazu, Paraná, Brasil. Dissertação de mestrado. Curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Paraná. 2003.



- PIKKARAINEN, A. Ethoxyresoru n-O-deethylase (EROD) activity and bile metabolites as contamination indicators in Baltic Sea perch: Determination by HPLC. *Chemosphere*.65, 1888-1897, 2006.
- RABITTO, I., COSTA, A.J., RANDI, M.A., ASSIS, SILVA, H. Effects of dietary Pb(II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings . *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60, 147-156, 2005.
- REIS, R.E., KULLANDER, S.O., FERRARIS, C.S. (Eds.). Check list of freshwater fishes of South and Central América. Porto Alegre, EDIPUCRS, 729p. 2003.
- ROSA, R., LIMA, F. Peixes, em: Monteiro, A.B., Machado, G.M., Paglia, A.P. (Eds.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção- Volume II. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, p1420. 2008.
- SANTOS, E. Peixes de água doce. Ed. Itatiaia. Belo Horizonte. 1981.
- SARDET, C., PISAM, M., MAETZ, J. The surface epithelium of teleostean fish gills. Cellular and junctional adaptations of the chloride cell in relation to salt adaptation. *J. Cell Biology*. 80,96-117, 1979.
- SHAILAJA, M.S., RAJAMANICKAM, R.,WAHIDULLA, S. Increased formation of carcinogenic PAH metabolites in fish promoted by nitrite. *Aquatic Toxicology*.143, 174-177, 2006.
- SHIBATTA, O.A., HOFFMANN, A.C. Variação geográfica em *Corydoras paleatus* (Jenyns)(Siluriformes, Callichthyidae) do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 22,2, 366-371, 2005.
- SILVA, C., RIBEIRO, C.A., KATSUMITI, A., M.L.P. Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. In press. 2008.
- SROGI, K. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 5, 169-195, 2007.
- SUTTON, S.G., BULT, T.P., HAEDRICH, R.L. Relationships among fat weight, body weight, water weight, and condition factors in wild Atlantic salmon parr. *Trans. Am. Fish. Soc.* 129, 527-538, 2000.
- TEJEDA-VERA, R., LÓPEZ-LÓPEZ, E., SEDEÑO-DÍAZ, J.E. Biomarkers and bioindicators of the health condition of *Ameca splendens* and *Goodea atripinnis* (Pisces: Goodeidae) in the Ameca River, Mexico. *Environment International*. In press. 2007.
- TINCANI, F.O. Biomonitoramento do rio Iguçu através de biomarcadores bioquímicos de contaminação ambiental em *Astyanax* sp. (Pisces, Teleostei). Monografia de conclusão de curso. Curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná. 2008.
- VELMURUGAN, B., SELVANAYAGAM, M., CENGIZ, E.I., UNLU, E. Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 24, 286-291, 2007.
- VUORINEN, P.J., KEINA, M., VUONTISJA, H., BARS, J. Use of biliary PAH metabolites as a biomarker of pollution in sh from the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*.53, 479-487, 2006.

WHO. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., Kraak, G.V. (Eds.) World Health Organization, p.180. 2002.

WILSON, J. M., LAUREN, P. Fish gill morphology: inside out. *Journal of Experimental Zoology*. 293,192–213, 2002.

WOLF, J.C.; WOLFE, M.J. A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicologic Pathology*. 33, 75-85, 2005.

WOLFF, L.L. Estrutura Populacional, Reprodução e Dinâmica Alimentar do lambari *Astyanax* sp. b (Characidae: Tetragonopterinae) em dois trechos do Rio das Pedras, Guarapuava – Paraná. Dissertação de mestrado. Pós-graduação em Ecologia e Conservação. Universidade Federal do Paraná. 2007.

WONG,C.K.C., WONG, M.H. Morphological and biochemical changes in the gills of *Tilapia (Oreochromis mossambicus)* to ambient cadmium exposure. *Aquatic Toxicology*. 48; 517–527, 2000.

YANG, X., BAUMANN, P.C. Biliary PAH metabolites and the hepatosomatic index of brown bullheads from Lake Erie tributaries. *Ecological Indicators*. 6, 567-574, 2006.

ZHOU, Q., ZHANG, J., FU, J., SHI, J.,JIANG, G. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*.606, 135-150, 2008.

## ANEXOS

### ANEXO 1- MICROSCOPIA DE LUZ

#### Fixação

- As porções de fígado e brânquia foram fixadas em:  
ALFAC (para cada 100ml de solução fixadora):  
85 ml Álcool 80%  
10 ml Formaldeído 40%  
5 ml ácido acético glacial (momentos antes de fixar).  
Tempo: mínimo de 16 horas, máximo de 20horas.

#### Desidratação

#### tempo mínimo de permanência nos banhos

Álcool 70%	mínimo de 1h, podendo o material ser armazenado neste.
Álcool 80%	1h
Álcool 90%	1h
Álcool 95%	1h
Álcool 100%	30min
Álcool 100%	30 min

#### Diafanização

Xilol I (100%)	5min
Xilol II (100%)	5min

#### Inclusão

Paraplast (58°C)	2h
------------------	----

### COLORAÇÃO HEMATOXILINA-EOSINA

#### Desparafinização

Xilol I	5min
Xilol II	5min

#### Hidratação

Álcool 100%	5min
Álcool 90%	5min
Álcool 80%	5min
Álcool 70%	5min
Álcool 50%	5min
Água destilada	5min

#### Coloração

Hematoxilina            1 min  
Água corrente até sair limpo  
Eosina                    30 seg  
Água corrente até sair limpo  
Enxágue rápido em água destilada

**Desidratação**

Álcool 70%                2min  
Álcool 80%                2min  
Álcool 90%                30seg  
Álcool 95%                30seg  
Álcool 100% I            2min  
Álcool 100% II           2min

**Montagem**

Xilol I                    5min  
Xilol II                    5min  
Resina Permout<sup>®</sup> e lamínula

**ANEXO 2- Microscopia eletrônica de varredura**

**Fixador**

Glutaraldeído 3% em tampão cacodilato 0,1M, ph 7.2- 7.4 durante 24 h.

**Desidratação (Utilizar álcool Merck ou equivalente)**

Álcool 70%    10 min  
Álcool 80%    10 min  
Álcool 90%    10 min  
Álcool 95%    10 min  
Álcool 100%  10 min

**ANEXO 3 – Laudos de análise de água de União da Vitória de acordo com a Resolução CONAMA 357, disponibilizado pela SANEPAR.**

10:30	LAUDO DE ANALISE DE CROMATOGRAFIA	16/11/2009
UNIDADE: 560 - U R UNIAO DA VITORIA	AMOSTRA: 34585	FREQ: SEMESTRAL
SISTEMA: 283 - UNIAO DA VITORIA		DT COLETA: 05/08/2008
ENDERECO: RIO IGUACU		MATRICULA:
LABORATORIO: 191		COD UT: -----
TIPO: INATURA	MOTIVO: PRO	PONTO COLETA: -----
		COLETOR: SILVIO

PARAMETRO	RESULTADO	VMP
Aldrin + Dieldrin(ug/L)	< 0,0050	0,005
Benzeno(ug/L)	< 0,5000	5,0
Benzo-a-pireno(ug/L)	< 0,0050	0,05
Clordano (total de isomeros)(ug/L)	< 0,0010	0,04
Endrin(ug/L)	< 0,0010	0,004
Heptacloro+Hept. Epoxido(ug/L)	< 0,0050	0,01
Hexaclorobenzeno(ug/L)	< 0,0010	0,0065
Lindano (Gama HCH)(ug/L)	< 0,0010	0,02
Metoxicloro(ug/L)	< 0,0010	0,03
Pentaclorofenol(ug/L)	< 0,2000	9,0
Tetracloroto de Carbono(ug/L)	< 1,0000	2,0
Tetracloroeteno(ug/L)	< 1,0000	10,0
Toxafeno(ug/L)	< 0,0100	0,01
Tricloroeteno(ug/L)	< 1,0000	30,0
1,1 Dicloroeteno(ug/L)	< 1,0000	3,0
1,2 Dicloroetano(ug/L)	< 1,0000	10,0
2,4 D(ug/L)	< 0,2000	4,0
2,4,6 Triclorofenol(ug/L)	< 0,0500	10,0
2,4-Diclorofenol(ug/L)	< 0,0500	0,3
2-Clorofenol(ug/L)	< 0,0500	0,1
Benzidina(ug/L)	< 0,0005	0,001
Benzo(a)antraceno(ug/L)	< 0,0050	0,05
Trifluralina(ug/L)	< 0,0050	0,2
Benzo(b)fluoranteno(ug/L)	< 0,0050	0,05
Benzo(k)fluoranteno(ug/L)	< 0,0050	0,05
Malathion(ug/L)	< 0,0500	0,1
Criseno(ug/L)	< 0,0050	0,05
p,p' (DDE,DDD,DDT)(ug/L)	< 0,0010	0,002
Parathion(ug/L)	< 0,0050	0,04
Dibenzo(a,h)antraceno(ug/L)	< 0,0050	0,05
Indeno(1,2,3-cd)pireno(ug/L)	< 0,0050	0,05
Etilbenzeno(ug/l)	< 5,0000	90,0
Tolueno(ug/l)	< 0,2000	2,0
Xileno(ug/l)	< 10,0000	300,0
Endossulfan(I+II+Sulfato)(ug/l)	< 0,0050	0,056
Diclorometano(ug/L)	< 5,0000	20,0
Estireno(ug/L)	< 5,0000	20,0
Triclorobenzenos(ug/L)	< 5,0000	20,0
Alacloro(ug/L)	< 0,0010	20,0
Atrazina(ug/L)	< 0,0250	2,0

OBSERVACOES: 0(S) PARAMETRO(S) ANALISADO(S) ATENDE(M) AO PF/LAB/0013

NOTAS:

- 1) Os resultados apresentados referem-se a amostras entregues no laboratorio
- 2) (<) = Resultado menor Q (>) = Resultado maior Q
- 3) UG/L=Micrograma por Litro mg/l = Miligrama por litro
- 4) VMP-PORTARIA: Refere-se a portaria 518 que dispoe VMP para agua produzida e distribuida
- 5) VMP-CONAMA: Refere-se a resolucao CONAMA que dispoe VMP para agua bruta
- 6) Resultado com valor zero correnponde a nao detectado

IA/LAB/0036-17

10:30 LAUDO DE ANALISE DE CROMATOGRAFIA 16/11/2009  
 UNIDADE: 560 - U R UNIAO DA VITORIA AMOSTRA: 34585 FREQ: SEMESTRAL  
 SISTEMA: 283 - UNIAO DA VITORIA DT COLETA: 05/08/2008  
 ENDEREÇO: RIO IGUACU MATRICULA:  
 LABORATORIO: 191 COD UT: -----  
 TIPO: INATURA MOTIVO: PRO PONTO COLETA: ----- COLETOR: SILVIO

PARAMETRO	RESULTADO	VMP
Glifosato(ug/L)	< 65,0000	65,0
Metolacoloro(ug/L)	< 5,0000	10
Simazina(ug/L)	< 0,0250	2,0
2,4,5-T(ug/L)	< 0,2000	2,0
2,4,5-TP(ug/L)	< 0,2000	10,0
Tributilestanho(ug/L TBT)	< 0,0100	0,063
Bifenilas Policloradas-PCBs(ug/L)	< 0,0010	0,001
Carbaril(ug/L)	< 0,0050	0,02
Demeton(O+S)(ug/L)	< 0,0050	0,1
Dodecatoropent. (Mirex)(ug/L)	< 0,0010	0,001
Gution(ug/L)	< 0,0050	0,005

OBSERVACOES: O(S) PARAMETRO(S) ANALISADO(S) ATENDE(M) AO PF/LAB/0013

NOTAS:

- 1) Os resultados apresentados referem-se a amostras entregues no laboratorio
- 2) (<) = Resultado menor Q (>) = Resultado maior Q
- 3) UG/L=Micrograma por Litro mg/l = Miligrama por litro
- 4) VMP-PORTARIA: Refere-se a portaria 518 que dispoe VMP para agua produzida e distribuıda
- 5) VMP-CONAMA: Refere-se a resolucao CONAMA que dispoe VMP para agua bruta
- 6) Resultado com valor zero correnponde a nao detectado

IA/LAB/0036-17

10:29 LAUDO DE ANALISE FISICO-QUIMICA DE AGUA 16/11/2009  
 UNIDADE: 560 - U R UNIAO DA VITORIA AMOSTRA: 34585 FREQ: SEMESTRAL  
 SISTEMA: 283 - UNIAO DA VITORIA DT COLETA: 05/08/2008  
 ENDERECO: RIO IGUACU MATRICULA:  
 LABORATORIO: 191 COD UT: -----  
 TIPO: INATURA MOTIVO: PRO PONTO COLETA: ----- COLETOR: SILVIO

PARAMETRO	RESULTADO	VMP
Cor Aparente(uH-Un.Cor)	50,0	75,0
Cianetos(mg/L CN)	< 0,005	0,005
Fluoretos(mg/L F)	< 0,2	1,4
Nitrato (como N)(mg/L N)	1,60	10,0
Turbidez(NTU)	17,10	100,0
Surfactantes (Ag.Tenso Ativo)(mg/L)	0,134	0,5
Cloretos(mg/L Cl)	3,7	250,0
pH(Un. pH)	7,5	6,0 A 9,0
Solidos Totais Dissolvidos(mg/L)	79,0	500,0
Sulfatos(mg/L)	< 10,0	250,0
Nitrito (como N)(mg/L N)	0,007	1,0
Sulfeto de Hidrogenio(mg/L)	0,009	0,002
DBO (5 dias 20 Graus)(mg/L O2)	< 5,0	5,0
Oxigenio Dissolvido(mg/L O2)	6,82	
Nitrogenio Amoniacal Total(mg/L N-NH4)	< 0,10	3,7
DQO(mg/L O2)	< 5,0	
Fosf. Total(ambiente intermed)(mg/L P)	0,090	0,050

OBSERVACOES: SULFETO E FOSFATO TOTAL NAO ATENDEM AO PF/LAB/0013.  
 OG VIRTUALMENTE AUSENTE. FENOL<1UG/L

NOTAS:

- 1) Os resultados apresentados referem-se a amostras entregues no laboratorio
- 2) (<)=Resultado menor Q (>)=Resultado maior Q mg/l=Miligrama por litro
- 3) NTU = Unidade Nefelometrica de Turbidez UH = Unidade de Hazen
- 4) uS/cm = micro Siemens por centimetro BQ/L=Bequerel/Litro
- 5) VMP-PORTARIA: Refere-se ao valor maximo permitido pela Portaria 518
- 6) VMP-CONAMA: Refere-se ao valor maximo permitido pela Resolucao CONAMA 357
- 7) Amostras tipo P (Produzida) o VMP de Turbidez = 1,0 NTU e amostras tipo T(Tratada) o VMP de Turbidez = 5,0 NTU
- 8) Resultado com valor zero corresponde a nao detectado
- 9) Os valores minimo e maximo para o fluor referem-se a Portaria-635.  
 Para o fluor os valores utilizados sao: Minimo 0,6 mg/l e Maximo 1,1 mg/l
- 10) Amostras tipo P(produzida) o valor minimo de cloro = 0,5 mg/l e amostras tipo T(tratada) o valor minimo = 0,2 mg/l. O valor maximo VMP residual para amostras tipo P(produzida) e tipo T(tratada) = 5,0 mg/l

# 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](#)