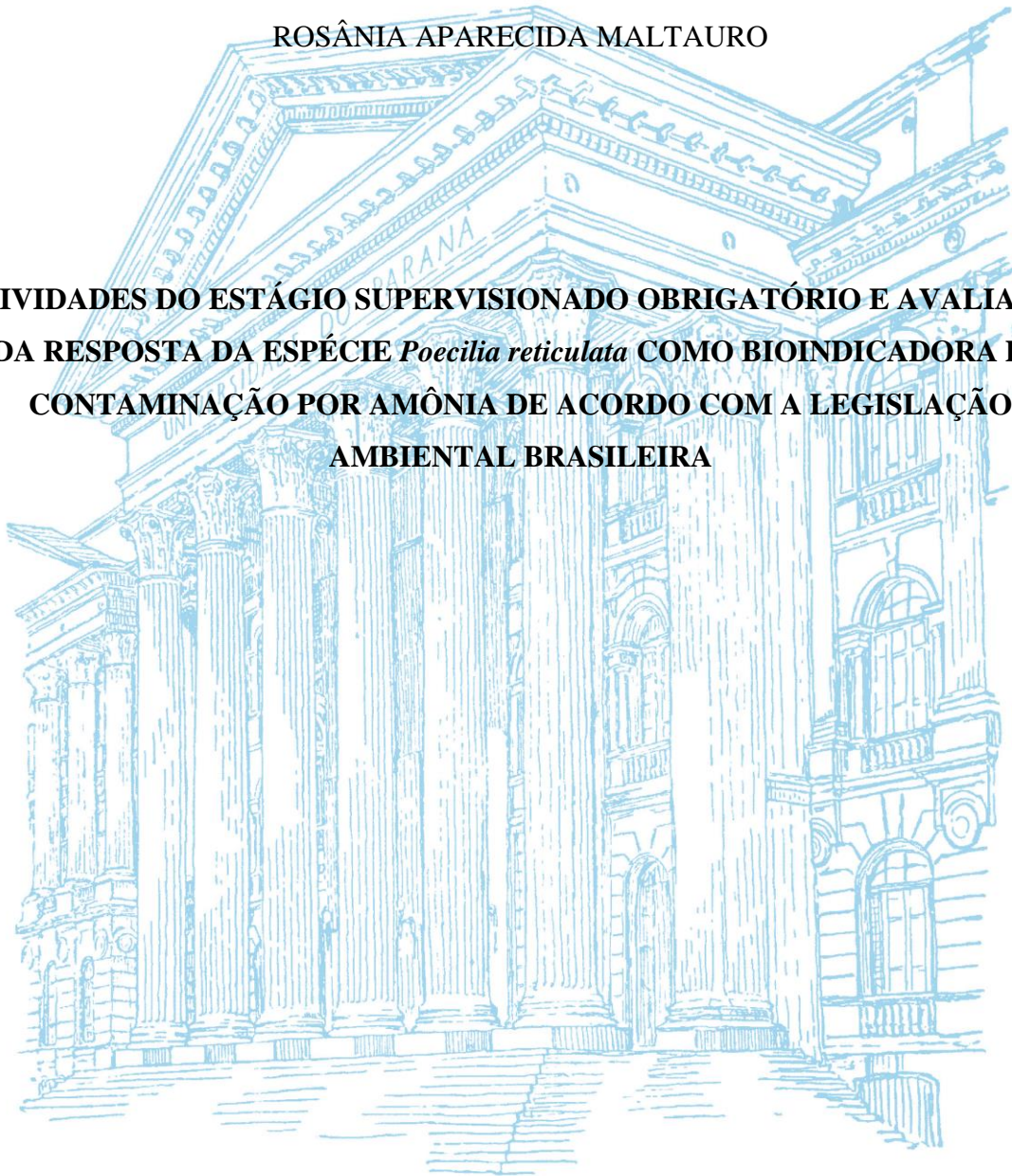


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO DE TECNOLOGIA EM AQUICULTURA

ROSÂNIA APARECIDA MALTAURO

**ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO E AVALIAÇÃO
DA RESPOSTA DA ESPÉCIE *Poecilia reticulata* COMO BIOINDICADORA DA
CONTAMINAÇÃO POR AMÔNIA DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO
AMBIENTAL BRASILEIRA**



PALOTINA-PR

2015

ROSÂNIA APARECIDA MALTAURO

**ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO E
AVALIAÇÃO DA RESPOSTA DA ESPÉCIE *Poecilia reticulata* COMO
BIOINDICADORA DA CONTAMINAÇÃO POR AMÔNIA DE ACORDO COM
A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina.

Orientador: Prof. Dr. Almir Manoel Cunico
Coorientador: Fabrício Martins Dutra

PALOTINA-PR
2015



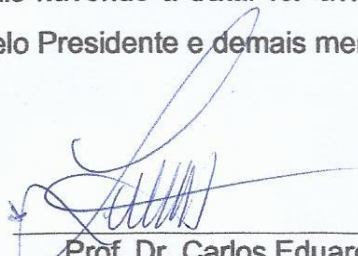
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM
AQUICULTURA
COMISSÃO ORIENTADORA DE ESTÁGIOS



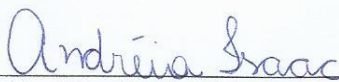
ATA DE DEFESA DE RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO DO CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AQUICULTURA

Às 09:30 horas do dia 18 de dezembro de 2015, reuniu-se na sala 07 do Bloco II da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, a Banca Examinadora infra nomeada para proceder ao julgamento e arguição do relatório de estágio apresentado pelo(a) aluno(a) Rosânia Aparecida Maltauro, orientado(a) pelo(a) Prof. Dr. Almir Manoel Cunico, como um dos requisitos parciais para concluir o curso Superior de Tecnologia em Aquicultura. Iniciado os trabalhos, o(a) orientador(a) e Presidente da Banca concedeu a palavra ao(à) aluno(a), para a exposição do seu relatório. A seguir, foi concedida a palavra em ordem sucessiva aos membros da Banca, os quais passaram a arguir o(a) aluno(a). Ultimada a defesa, que se desenvolveu nos termos normativos, a Banca, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo atribuído ao(à) candidato(a) as seguintes notas: Prof. Dr. Almir Manoel Cunico, nota: 10,0, Prof. Dr. Carlos Eduardo Zarcakim, nota: 10,0, e a Dra Andrei Isaac, nota: 9,4. A nota final do(a) aluno(a), após a média aritmética dos três examinadores, foi 9,8. As considerações e sugestões feitas pela Banca Examinadora deverão ser atendidas pelo(a) aluno(a) sob acompanhamento de seu(ua) supervisor(a). Nada mais havendo a tratar foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada foi assinada pelo Presidente e demais membros da Banca Examinadora.


Prof. Dr. Almir Manoel Cunico
Orientador


Prof. Dr. Carlos Eduardo
Zarcakim

Membro da Banca


Dra Andreai Isaac
Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, pela saúde, e a capacidade de enfrentar desafios, aos meus pais Alberto e Imelde Maltauro, por terem me dado a vida me amado, me educado mostrando o caminho a seguir e me incentivado a enfrentar desafios e lutar pelos meus sonhos.

Aos meus filhos Sandra, Marcos e Adrieli, pela paciência e amor principalmente no início dos estudos e pelos inúmeros cafés nos piores momentos, pelo incentivo nos estudos e muitas vezes não me deixaram desistir.

Ao meu amado neto Bernardo por ser luz e alegria em momentos de tristeza, desânimo e estresse.

Ao meu marido Lair pelo carinho e paciência, por estar ao meu lado mesmo quando a paciência não era minha companheira, por me apoiar e incentivar a nunca desistir.

À minha família, especialmente à Roselene por estar sempre por perto para o que der e vier.

À UFPR, que me acolheu como aluna e servidora, a todos os professores e técnicos, aos quais tive a oportunidade de caminhar junto, e de um modo muito especial ao Professor Dr. Almir Manoel Cunico por aceitar me orientar neste trabalho, ensinando e dividindo seu conhecimento.

Ao Fabrício Martins Dutra pela coorientação neste trabalho e orientação no experimento.

Ao professor Dr. Eduardo L. C. Ballester por ter cedido os equipamentos e local para realização do experimento.

Aos acadêmicos que fizeram parte desta caminhada.

Ao meu genro Fabrício e minha filha Sandra pela leitura crítica e orientações técnicas ao manuscrito, por todo o apoio e carinho que de vocês recebi durante toda a graduação, especialmente no desenvolvimento do experimento e desenrolar deste trabalho.

Aos amigos Welliton França e Claudia Caramelo pela ajuda nas coletas e análises de água.

A todos os servidores da Biblioteca UFPR, especialmente à Rute e ao Daniel, pela compreensão e colaboração durante meus estudos, especialmente na execução deste trabalho.

Não devemos ter medo dos confrontos...
até os planetas se chocam e do caos nascem as estrelas.

“Charles Chaplin”

RESUMO GERAL

O estágio foi realizado no Laboratório de Ecologia, Pesca e Ictiologia – LEPI, na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, sendo parte integrante da disciplina de Estágio Supervisionado Obrigatório do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura. O laboratório desenvolve pesquisas nas áreas de ecologia de ecossistemas aquáticos continentais, ictiologia e pesca, promovendo análises físicas, químicas e biológicas nesses ambientes. No LEPI participei do projeto “Estrutura e composição da ictiofauna em córregos antropizados e suas relações com gradientes de estresse”. Foram inseridos no site Rioevolução os dados referentes ao comprimento, habitat, hábitos alimentares, características reprodutivas e origem das espécies coletadas nos córregos. Os dados obtidos visam o melhor entendimento dos impactos oriundos de alterações antrópicas junto aos ecossistemas aquáticos associados. As atividades foram realizadas sob supervisão e orientação do professor Dr. Almir Manoel Cunico. Paralelamente, foi conduzido um experimento para avaliação da resposta da espécie *Poecilia reticulata* como bioindicadora da contaminação por amônia de acordo com a legislação ambiental brasileira. Foram avaliadas a concentração média letal de amônia para *P. reticulata* e a diferença na mortalidade entre machos e fêmeas da espécie avaliada. *Poecilia reticulata* é amplamente distribuída em todo país e com alta resistência a variações de qualidade de água, mostrando-se adequada para estudos ecotoxicológicos, com potencial para servir como bioindicadora da contaminação por amônia em ambientes aquáticos de acordo com a legislação ambiental vigente.

Palavras-chave: Antropização. Ictiofauna. Amônia. Legislação ambiental.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	- UNIDADES EXPERIMENTAIS.....	16
TABELA 1	- VARIÁVEIS DE QUALIDADE DE ÁGUA DOS TESTES DE CL ₅₀ -96 h, REALIZADO PARA A ESPÉCIE <i>Poecilia reticulata</i>	18
FIGURA 2	- REGRESSÃO LINEAR DA CL ₅₀ PARA AMBOS OS SEXOS DE <i>Poecilia reticulata</i> DURANTE 96 HORAS DE EXPOSIÇÃO À AMÔNIA.....	19

SUMÁRIO

Capítulo 1:

1. Introdução.....	10
2. Caracterização do local do estágio.....	10
3. Descrição das atividades desenvolvidas.....	10
4. Descrição do projeto.....	11
5. Conclusão.....	11
REFERÊNCIAS.....	12

Capítulo 2:

1. Introdução.....	14
2. Materiais e métodos.....	15
3. Resultados.....	17
4. Discussão.....	19
5. Conclusão.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

Capítulo 1:

ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO REALIZADAS NO
LABORATÓRIO DE ECOLOGIA, PESCA E ICTIOLOGIA. UFPR – SETOR PALOTINA

RESUMO

Este trabalho relata as atividades desenvolvidas no LEPI (Laboratório de ecologia, pesca e ictiologia) na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, compondo a disciplina de Estágio Supervisionado Obrigatório do Curso superior de Tecnologia em Aquicultura. O laboratório desenvolve pesquisas nas áreas de ecologia em ecossistemas aquáticos continentais, ictiologia, pesca e aquicultura. No laboratório participei do projeto “Estrutura e composição da ictiofauna em córregos antropizados e suas relações com gradientes de estresse” o qual tem o objetivo de avaliar a estrutura e composição da ictiofauna em um gradiente longitudinal dos córregos Pioneiro e Santa Fé, município de Palotina, PR. A partir dos dados acerca das espécies coletadas pelas equipes de campo, as informações referentes ao comprimento, habitat, hábitos alimentares, características reprodutivas e origem das espécies foram inseridos no site Riovolução e disponibilizadas na mídia virtual. Os dados obtidos visam o melhor entendimento dos impactos oriundos de alterações antrópicas junto aos ecossistemas aquáticos associados, possibilitando desenvolvimento de estratégias futuras para melhor preservação. As atividades foram realizadas sob a orientação e supervisão do professor Dr. Almir Manoel Cunico.

Palavras-chave: Ecologia. Impacto ambiental. Ictiofauna.

1. Introdução

Com a finalidade de conhecer as características ambientais dos afluentes do rio Piquiri, o LEPI desenvolve o projeto “Estrutura e composição da ictiofauna em córregos antropizados e suas relações com gradientes de estresse”. Este projeto fomenta as ações de extensão do projeto “Riovolução, revolucionando ideias para conservação dos recursos hídricos”, o qual, através de mídias virtuais e recursos digitais, promove a divulgação científica das informações levantadas para a sociedade.

Desenvolvido pelo LEPI e em parceria com o IPTEC (Instituto de Pesquisas em Tecnologia, Ecologia e Conservação), o projeto Riovolução proporciona conhecimento sobre a biodiversidade, qualidade da água e impactos antrópicos nos recursos hídricos da região oeste do Paraná. Este projeto integra Universidade, escolas, poder público municipal, empresas e entidades da sociedade civil, criando um espaço para divulgação dos dados e discussão de medidas de manejo e conservação das bacias hidrográficas de maneira sustentável.

O objetivo do estágio foi vivenciar na prática as atividades desenvolvidas por um tecnólogo em aquicultura, aplicando os conhecimentos adquiridos durante o curso.

2. Caracterização do local do estágio

O LEPI (Laboratório de ecologia, pesca e ictiologia) foi criado em 2010 com a finalidade de desenvolver pesquisas nas áreas de ecologia em ecossistemas aquáticos continentais, limnologia, ictiologia, manejo e conservação de recursos pesqueiros em águas continentais. Realiza análises físicas, químicas e biológicas em ambientes lênticos e lóticos, desenvolvendo projetos de pesquisa, na qual avalia e monitora a estrutura e composição das comunidades aquáticas de ambientes continentais e suas relações com alterações antrópicas nas bacias hidrográficas.

3. Descrição das atividades desenvolvidas

O estágio foi realizado no período de 01 de setembro a 06 de dezembro de 2015 totalizando 346 horas. Durante o período do estágio participei das atividades do laboratório no projeto “Estrutura e composição da ictiofauna em córregos antropizados e suas relações com gradientes de estresse”. Atuei na inserção das informações referentes ao comprimento, hábitos

alimentares, habitat, características reprodutivas e origem das espécies coletadas no site do projeto “Riovolução, revolucionando ideias para conservação de recursos hídricos”. Além disso, participei da realização de um experimento para avaliar a resposta da espécie *Poecilia reticulata* como biondicadora da contaminação por amônia de acordo com a legislação ambiental brasileira (Capítulo 2).

4. Conclusão

Ao termino do estágio no LEPI foi possível aprender sobre a importância dos estudos que investigam os impactos causados pela urbanização, agricultura e a aquicultura sobre os ecossistemas aquáticos continentais, em especial os inerentes a introdução de espécies. O Projeto “Estrutura e composição da ictiofauna em córregos antropizados e suas relações com gradientes de estresse” é um projeto ainda em andamento, não apresentando uma conclusão final, porém, já apresenta resultados que destacam os impactos negativos das intervenções antrópicas sobre as assembleias de peixes, especialmente com a captura de espécies exóticas, como *Poecilia reticulata* e *Oreochromis niloticus*.

Durante o estágio tive oportunidade de realizar a digitação dos dados coletados nas atividades das equipes de campo e laboratório obtendo conhecimento da importância de estudos na área ambiental. Desta forma pude adquirir conhecimento sobre a ictiofauna, a biodiversidade e o risco de introdução de espécies, indispensável a minha formação.

REFERÊNCIAS

CUNICO, A. M., **Riovolução, revolucionando ideias para a conservação de recursos hídricos**. Disponível em: <http://riovolucao4.wix.com/riovolucao>. Acesso em: 07 dez. 2015.

Capítulo 2:

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA DA ESPÉCIE *Poecilia reticulata* COMO
BIOINDICADORA DA CONTAMINAÇÃO POR AMÔNIA DE ACORDO COM A
LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA

RESUMO

A presença de derivados nitrogenados na água indica processos biológicos ativos influenciados por poluição orgânica, podendo em altas concentrações causar danos fisiológicos e até mortalidade em organismos aquáticos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta da espécie *Poecilia reticulata* como bioindicadora da contaminação por amônia de acordo com a legislação ambiental brasileira. Foram avaliadas a concentração média letal de amônia para *P. reticulata* e a diferença na mortalidade entre machos e fêmeas da espécie avaliada. O experimento foi realizado com 480 espécimes estocados em 24 unidades experimentais, em delineamento inteiramente casualizado. Os animais foram expostos a seis diferentes concentrações de amônia total (0, 20, 40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹). Os resultados de qualidade de água mantiveram-se adequadas a biologia da espécie. A CL₅₀-96 horas de amônia total para machos e fêmeas foram 34,64 mg.L⁻¹ e 48,31 mg.L⁻¹, respectivamente. Em comparação com a legislação vigente a espécie apresenta valores de LC₅₀ de 1,73 (machos) e 2,42 (fêmeas) vezes superior à concentração máxima definida pela legislação. Sendo assim, o presente trabalho sugere que a espécie *P. reticulata* é eficiente como bioindicadora da contaminação por amônia em ambientes aquáticos.

Palavras-chave: Toxicologia. Composto nitrogenado. Mortalidade. NH₃.

1. Introdução

A água é um recurso natural de extrema importância que compõe e domina totalmente a composição química dos organismos vivos, portanto, um bem natural indispensável e insubstituível (BRANCO, 1995; ARANA, 2010). Entretanto a maioria das atividades humanas tem demonstrado ser fonte poluidora em potencial para os ecossistemas aquáticos (MOZETO e ZAGATTO, 2008), onde o uso indiscriminado da água com descarga de esgoto doméstico e industrial, uso irracional de pesticidas e outros poluentes podem degradá-la reduzindo populações de espécies animais e vegetais (FAO, 1988). Dentre estas fontes poluidoras a poluição orgânica e seus derivados merecem destaque, dentre eles a amônia.

A amônia é um composto nitrogenado que ocorre naturalmente nos ambientes aquáticos, é também resultado da poluição industrial, doméstica, agrícola e por mudanças ambientais (MARTÍN e FREDERICO, 2001; GIROTTO, 2010). Quimicamente a amônia é um gás solúvel em água e em solução sua reação de equilíbrio é: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_4 + \text{OH}^-$, onde a forma não ionizada (NH_3) é a mais tóxica para os organismos aquáticos, pois as membranas branquiais são relativamente permeáveis (WUHRMAMM e WORKER, 1948; ARANA, 2010). Em ambientes aquáticos, níveis letais ou subletais podem ser atingidos devido ao recebimento de águas residuais, dejetos industriais e agrotóxicos, os quais podem conter altas concentrações de substâncias nitrogenadas (BARBIERI et al., 2014).

Quando os níveis de amônia aumentam no meio aquático, a maioria dos animais diminui a excreção deste composto provocando acúmulo de amônia no sangue e nos tecidos podendo afetar seriamente a fisiologia do animal a nível de célula, órgãos e sistemas (COLT e ARMSTRONG, 1981; ARANA, 2010). Com a crescente dificuldade para excretar amônia, a reação dos animais aquáticos pode ser a redução ou paralização da alimentação para minimizar a produção de amônia metabólica, diminuindo assim a taxa de crescimento (COLT e ARMSTRONG, 1981; ARANA, 2010). Além disso, os níveis elevados de amônia podem afetar a osmorregulação das espécies aquáticas pelo aumento da permeabilidade das membranas do animal em relação a água, provocando um decréscimo na concentração iônica interna (BALDISSEROTTO, 2002). Outro efeito é a diminuição na capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos, provocando lesão nas brânquias, incremento no ritmo respiratório e dano histológico nas células do sangue e tecidos (COLT e ARMSTRONG, 1981; ARANA, 2010).

Sendo assim, o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) aprovou a resolução 357, de março de 2005 e alterou com a resolução 397, de 3 de abril de 2008 e a

resolução 430, de 13 de maio de 2011, fixando novos limites para parâmetros de qualidade e de água efluentes, incluindo a amônia, o qual influencia no crescimento, alimentação, sobrevivência e susceptibilidade a parasitos e doenças em organismos aquáticos (ARMSTRONG et al., 1978; FIGEROA-LUCERO, HERNÁNDEZ–RUBIO e GUEVARA, 2012). A Resolução 357/2005 traz diversas definições sobre corpos d'água e fixa os padrões de lançamento de efluentes para diversos compostos orgânicos e inorgânicos entre eles o nitrogênio amoniacal total em 3,7 mg/L para $\text{pH} \leq 7,5$; 2,0 mg/L para $7,5 < \text{pH} \leq 8,0$; 1,0 mg/L para $8,0 < \text{pH} \leq 8,5$ e 0,5 mg/L para $\text{pH} > 8,5$ para águas doces de classe III. Já na resolução 397/2008 fixa o nitrogênio amoniacal total em 20,0 mg/L para lançamento de efluentes, e leva em consideração o pH o que antes não ocorria. Logo estudos toxicológicos através de teste de letalidade média (CL_{50}) tornam-se fundamentais para o fornecimento de informação básica a respeito da tolerância toxicológica das espécies e identificação de bioindicadores (IBAMA, 1990).

Dentre as espécies de peixes amplamente utilizadas em ensaios ecotoxicológicos destaca-se a espécie *P. reticulata*, popularmente conhecido como lebiste (SOUZA, 2008). O lebiste é um peixe teleósteo eurialino com grande capacidade adaptativa, muitas vezes usado como modelo biológico em estudos dos efeitos das variações ambientais sobre seu organismo (SILVA et al., 2003). Devido à sua notável capacidade de adaptação às condições de laboratório, o lebiste é indicado como organismo-teste (APHA, 1992). Desta forma o presente trabalho teve por objetivo avaliar a resposta da espécie *P. reticulata* como bioindicadora da contaminação por amônia por meio de testes de letalidade média, considerando a legislação ambiental brasileira. Bem como avaliar as diferenças nos níveis de tolerância entre machos e fêmeas da espécie.

2. Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Ecologia, Pesca e Ictiologia – LEPI, na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, com duração de 96 horas. Os indivíduos foram coletados de um produtor na cidade de Palotina e mantidos em tanque de 5.000 litros ao ar livre. Posteriormente, foram aclimatados durante 24 horas em caixas de polipropileno com capacidade para 300 litros no local do experimento. Os indivíduos foram separados em fêmeas e machos, medidos ($2,84 \pm 0,39$ cm e $2,38 \pm 0,15$ cm, respectivamente) e pesados ($0,24 \pm 0,11$ g e $0,12 \pm 0,03$ g, respectivamente).

A metodologia utilizada na avaliação da concentração letal média (CL_{50-96h}) seguiu o manual da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (PELTIER e WEBER, 1985). Nos bioensaios foram utilizados 240 machos e 240 fêmeas da espécie *P. reticulata* distribuídos aleatoriamente em 24 unidades experimentais. As unidades foram compostas por recipientes de polipropileno com volume útil de dois litros, devidamente equipados com sistema de aeração forçada e foto período de 12/12 horas (claro/escuro; Figura 1). O delineamento foi inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos relacionados às concentrações de amônia total (0, 20, 40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹ cloreto de amônio P.A.), com quatro repetições por tratamento.



Figura 1. Unidades experimentais.

O critério para avaliação da concentração letal (CL) adotada foi a ausência de qualquer tipo de movimento ou reação a estímulos mecânicos com um bastão de vidro. Os animais foram observados a cada hora, durante as oito primeiras horas. Após esse período até o término das 96 horas, as observações passaram a ser realizadas a cada seis horas (ARMSTRONG, STEPHENSON e KNIGHT, 1976; VINATEA, 2010).

A qualidade da água foi avaliada independentemente para cada tratamento, a fim de estabelecer se os parâmetros físico-químicos se mantiveram em níveis adequados para a biologia da espécie. Foram avaliados diariamente, o oxigênio dissolvido (Oxímetro Alfakit® T-160), a temperatura (Termômetro digital Incoterm®) e o pH (Phametro Tekna® T-100). No início e ao final do experimento foram avaliadas alcalinidade e dureza, por titulação. As concentrações de nitrito e amônia total foram avaliadas conforme APHA (2005) e mensuradas em espectrofotômetro (BEL photonics 2000 UV), também no início e no final do experimento.

A fração de amônia não ionizada foi calculada segundo Emerson et al. (1975), sendo a fração N-NH₃ em relação a amônia total:

$$N - NH_3 = \frac{[N - NH_3 + N - NH_4^+]}{1 + 10^{(pKa-pH)}}$$

Onde:

N-NH₃= Amônia não ionizada;

N-NH₃ + N-NH₄⁺= Amônia total;

pKa = - log Ka, calculada por $pKa = 0,09018 + 2729,92 / T$;

T = Temperatura em ° Kelvin;

pH = Potencial hidrogeniônico.

O nível de segurança (N.S.) foi determinado pela multiplicação do valor obtido no teste de toxidez pelo fator de aplicação de 0,1, conforme recomendado por SPRAGUE (1971). As concentrações letais médias (CL_{50-96h}) de amônia foram calculadas pelo método do probit, Sokal (1958) para 96 horas. O método estabelece a relação entre os “probits” da mortalidade acumulada observada e o logaritmo das concentrações de amônia. Em seguida a relação entre a concentração de amônia e mortalidade foi submetida à análise de regressão linear ($\alpha = 0,05$).

3. Resultados

As variáveis físicas e químicas inerentes a qualidade da água mantiveram-se constantes ao longo do experimento, exceto para a variável teste (Amônia total), indicando a não influência das demais variáveis sobre as taxas de mortalidade da espécie nos diferentes

tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis de qualidade de água dos testes de CL₅₀-96h, realizado para a espécie *Poecilia reticulata*.

Variáveis	Amônia total no experimento com <i>Poecilia reticulata</i>					
	0 mg.L ⁻¹	20 mg.L ⁻¹	40 mg.L ⁻¹	60 mg.L ⁻¹	80 mg.L ⁻¹	100 mg.L ⁻¹
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	6,97 ± 0,21	7,03 ± 0,38	6,98 ± 0,23	7,09 ± 0,30	7,39 ± 0,36	7,42 ± 0,41
pH	7,74 ± 0,04	7,63 ± 0,10	7,65 ± 0,02	7,60 ± 0,04	7,58 ± 0,05	7,54 ± 0,04
Temperatura H ₂ O (°C)	27,13 ± 0,12	26,95 ± 0,10	27,02 ± 0,16	27,08 ± 0,23	26,33 ± 0,22	26,15 ± 0,13
Alcalinidade (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	93,15 ± 3,23	74,03 ± 0,84	69,43 ± 5,40	56,58 ± 9,67	60,58 ± 4,36	57,23 ± 5,76
Dureza (mg.L ⁻¹)	28,25 ± 0,86	29,85 ± 1,04	29,13 ± 2,51	31,65 ± 1,76	29,70 ± 1,56	30,53 ± 2,42
Amônia total (mg.L ⁻¹)	0,014 ± 0,016	21,342 ± 1,069	39,839 ± 2,694	62,333 ± 0,924	80,223 ± 0,941	100,158 ± 0,472
Amônia não-ionizada (mg.L ⁻¹)	0,001 ± 0,001	0,592 ± 0,135	1,126 ± 0,119	1,585 ± 0,157	1,882 ± 0,236	2,117 ± 0,207
Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,055 ± 0,019	0,216 ± 0,222	0,416 ± 0,225	0,174 ± 0,211	0,081 ± 0,072	0,059 ± 0,076

Ao comparar a relação entre a concentração de amônia total e a mortalidade pelo método Probit e análise de regressão, observamos que a concentração letal de 50% dos animais para 96 horas é representada pela equação: $CL_{50} = -0,0715 + 0,0165X$, $R^2 = 0,96$, para machos e $CL_{50} = -0,1618 + 0,0137X$, $R^2 = 0,90$, para fêmeas, resultando em CL_{50} calculada de 34,64 mg.L⁻¹ de amônia total ou 0,914 mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada, para machos e de 48,31 mg.L⁻¹ de amônia total ou 1,275 mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada para fêmeas (Figura 2).

Os machos de *P. reticulata* expostos às soluções de amônia total tiveram mortalidade de 100% para 24 horas na concentração de 60 mg.L⁻¹ de amônia total ou $1,585 \pm 0,157$ mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada. As concentrações de 0, 20 e 40 mg.L⁻¹ de amônia total ou $0,001 \pm 0,001$; $0,592 \pm 0,135$ e $1,126 \pm 0,119$ mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada apresentaram mortalidade média de 2%, 20% e 45%, respectivamente em 96 horas.

As fêmeas de *P. reticulata* apresentaram maior resistência à amônia do que a observada nos machos, onde a mortalidade de 100% para 24 horas ocorreu na concentração de 80 mg.L⁻¹ de amônia total ou $1,882 \pm 0,236$ mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada. As concentrações de 0 e 20 mg.L⁻¹ de amônia total ou $0,001 \pm 0,001$ e $0,592 \pm 0,135$ mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada apresentaram mortalidade média abaixo de 2%, enquanto as concentrações de 40 e 60 mg.L⁻¹ de amônia total ou $1,126 \pm 0,119$ e $1,585 \pm 0,157$ mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada apresentaram mortalidade média de 20% e 73%, respectivamente em 96 horas.

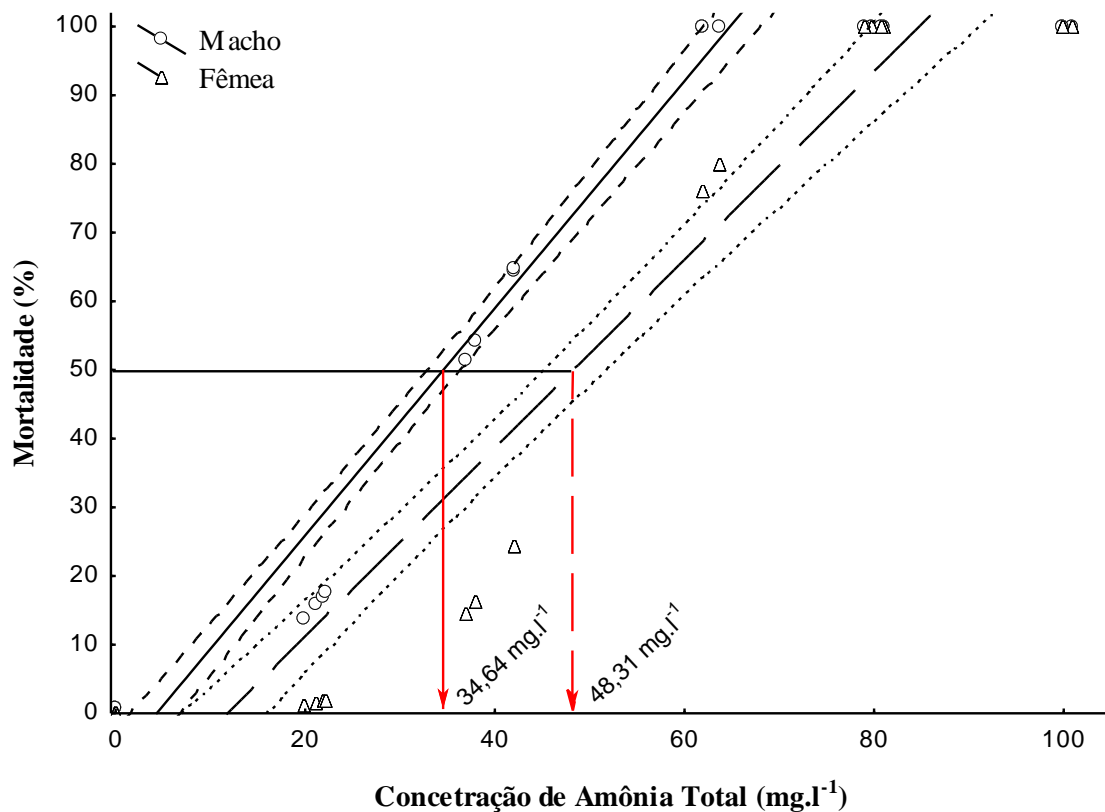


Figura 2. Regressão linear da CL₅₀ para ambos os sexos de *P. reticulata* durante 96 horas de exposição à amônia. As linhas vermelhas contínua e tracejada representam a concentração letal média calculada para machos e fêmeas, respectivamente.

O nível de segurança resultou no valor de 3,46 mg.L⁻¹ de amônia total ou 0,09 mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada para machos. Para fêmeas esse valor é de 4,83 mg.L⁻¹ de amônia total ou 0,12 mg.L⁻¹ de amônia não-ionizada.

4. Discussão

Ao comparar os valores encontrados neste estudo com os valores preconizados pela legislação vigente (Resolução CONAMA, nº 357/2005), que determina que a concentração de amônia total dos efluentes lançados no ambiente mantenha-se abaixo de 20 mgL⁻¹, verifica-se que a LC₅₀ de amônia para *P. reticulata* é 1,73 (machos) e 2,42 (fêmeas) vezes superior à concentração máxima definida pela legislação.

Poecilia reticulata é amplamente relatada na literatura como bioindicador de ambientes eutrofizados. Vieira e Chibatta (2007) observaram sua dominância em ambientes aquáticos impactados pelo meio urbano, com lançamento de esgoto doméstico. Estudos em

riachos neotropicais mostraram que a espécie apresenta maior fator de condição relativo em ambientes onde as condições de eutrofização são mais severas, com maiores concentrações de nutrientes e menores níveis de oxigênio dissolvido (GARUTTI, 2002; DYER, 2003; CUNICO et al., 2006; BARRILLI, 2014), reforçando a ideia de que a espécie não é afetada pela baixa qualidade ambiental. Assim, a espécie pode ser considerada como potencial bioindicadora de ambientes aquáticos contaminados por resíduos nitrogenados, uma vez que a sua dominância em determinados ambientes possa ser reflexo de sua resistência à contaminação por poluentes orgânicos, como a amônia.

Diferença na resistência à amônia entre machos e fêmeas também foi observada, sendo que fêmeas são mais resistentes em relação aos machos. Estudos com outros compostos demonstraram diferenças na mortalidade entre machos e fêmeas de *P. reticulata*. Antunes (2013) observou em estudo com Glifosato (N-fosfometilglicina) em 96 h, LC₅₀ de 68,78 e 70,89 mg.L⁻¹ para machos e fêmeas, respectivamente, demonstrando maior resistência das fêmeas. No ambiente natural diferenças na proporção sexual da espécie com dominância de fêmeas também são relatadas, podendo ser reflexo da maior sensibilidade demonstrada pelos machos a situações de estresse, tais como temperaturas extremas, baixa concentração de oxigênio dissolvido e adensamento populacional, além de machos serem mais suscetíveis à predação e apresentarem envelhecimento fisiológico acelerado (MEFFE e SNELSON, 1989; MONACO, 2013).

5. Conclusão

Sendo assim, o presente trabalho sugere que a espécie *P. reticulata* é eficiente como bioindicadora da contaminação por amônia em ambientes aquáticos, pois a Concentração Letal Média (CL₅₀) e Nível de Segurança (96 h) de amônia para a espécie é 2,42 vezes (fêmeas) e 1,73 vezes (machos) superior à concentração máxima preconizada pela legislação brasileira. A espécie apresenta moderada resistência à amônia, sendo fêmeas mais resistentes em relação a machos.

REFERÊNCIAS

ALBERTI, M. **Advances in Urban Ecology: Integrating Humans and Ecological Processes in Urban Ecosystems**. Nova Iorque: Springer, 2009.

ANTUNES, A. M. **Avaliação da exposição aguda e sub-letal ao glifosato (N-fosfometilglicina) e ao AMPA (ácido amino-metil-fosfônico) em brânquias e fígado de *Poecilia reticulata* com o emprego de biomarcadores moleculares e morfológicos**. 2013. p. 68. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia) – Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2013. Disponível em: <https://pos.icb.ufg.br/up/101/o/Adriana.pdf>. Acesso em: 04 nov. 2015.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18 ed. Washington: Arnold E., 1992. Disponível em: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/apha.method.2510.1992.html>. Acesso em: 04 nov. 2015.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th ed. Washington D.C.: APHA. 2005.

ARANA L. V. **Qualidade da água em aquicultura princípios e práticas**. 3ª Ed rev. e modif. Florianópolis: Ed.da UFSC, 2010.

ARMSTRONG, D. A. et al. 1978. **Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii***. Biol. Bull. 154, 15-31.

ARMSTRONG, D. A.; STEPHENSON, M. J.; KNIGHT, A. W., 1976. **Acute toxicity of nitrite to larvae of the giant Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii***. Aquaculture. 9, 39-46.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: UFMS, 2002.

BARBIERI, E. et al. **Concentrações do nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato em áreas de engorda de ostras no município de Cananeia-SP**. O Mundo da Saúde, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 105-115, 2014.

BARRILLI J. H. C. **Indicadores físicos, químicos e biológicos da integridade ambiental de seis córregos da bacia do rio Monjolinho, São Carlos-SP, Brasil**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014. Disponível em: http://www.btd.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado/tde_arquivos/2/TDE-2014-07-14T091811Z-6047/Publico/5884.pdf. Acesso em: 26/11/2015.

COLT, J. E.; ARMSTRONG, D. A., 1981. **Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs**. In: Allen, L.J. Kinney, E.C. (eds.) Proceedings of the Bioengineering Symposium

for Fish Culture Section, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp. 34-47.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº397, de 03 de abril de 2008. Altera o inciso II do § 4o e a Tabela X do § 5o, ambos do art. 34 da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA no 357, de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasília-DF, p. 68-69, 07 abril. 2008. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=563>. Acesso em: 04 out. 2015.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília-DF, p. 58-63, 18 mar. 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. Acesso em: 04 out. 2015.

CUNICO, A. M.; AGOSTINHO, A. A.; LATINI, J. D. **Influência da urbanização sobre assembleias de peixes em três córregos de Maringá, Paraná.** Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba, v. 23 n. 4, 2006. p. 1101-1110. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbzoool/v23n4/18.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2015.

EMERSON, K. et al. **Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effects of pH and temperature.** J. Fish. Res. Board Can., v. 32 n. 12 p. 2379-2383, 1975.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012. **The state of world fisheries and aquaculture.** Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>. Acesso em: 07 out. 2015.

FAO. 1988. **Soil Map of the World. Revised Legend. Reprinted with corrections.** World Soil Resources Report 60. FAO, Rome.

GIROTTTO, M. V. F. **Efeitos da amônia sobre juvenis de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) e *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936): excreção e toxicidade.** 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Área de Concentração em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp137731.pdf>. Acesso em: 04 de nov. 2015.

GRIMM, N. B. et al. **Global change and the ecology of cities.** Science 2008, 319:756-760.

IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente. Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos: teste para avaliação da mobilidade. 351 p. 2. ed. Brasília, 1990.

MARTÍN, F. E.; FEDERICO, P. O. **Toxicidad de los compuestos del nitrógeno em camaróns. In: Camaronicultura y MEDIO AMBIENTE,** Federico P. O. (editor), El Colegio de Sinaloa, Unam, México. P. 224-242. 2001.

MEFFE, G. K.; SNELSON JR, F. F. **An ecological overview of poeciliid fishes. In: SNELSON JR., F. F.; MEFFE, G.K. (ed). Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae).** New Jersey: Prentice Hall, 1989, p.13-32.

MONACO, I. de A. **Peixes como bioindicadores na microbacia do córrego Tarumã (Naviraí-MS): influência da qualidade ambiental na biologia de *Phalloceros harpagos***. p. 56. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, UEMS, Dourados, MS, 2013.

Disponível em: http://www.uems.br/pgrn/arquivos/7_2013-10-02_08-35-45.pdf. Acesso em: 02/12/2015

MOZETO, A. A.; ZAGATTO P. A. Introdução de agentes químicos no ambiente. In: ZAGATTO P. A.; BERTOLETTI E., **Ecotoxicologia aquática princípios e aplicações**. 2ed. São Carlos, RIMA, 2008. 15-38.

PELTIER, W.H.; WEBER, C. L. 1985. **Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms**, 3. EPA/600/4-85/013, Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, p. 216.

SILVA, L. D. et al. **Análise morfométrica das células do cloro de *Poecilia vivípara* expostas a frações da folha e casca do caule de *Caryocar brasiliensis***. Acta Sci.: Biol. Sci., Maringá. v.25, n.1, p.195-201, 2003. Disponível em: <http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/2107>. Acesso em: 26/11/2015.

SOKAL, R. R., 1958. **Probit analysis on a digital computer**. J. Econ. Entomol. 51, 738-739.

SOUZA, J. P. de. **Toxicidade aguda e risco ambiental do diflubenzuron para *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Lemna minor* na ausência e presença de sedimento**. 2008. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) Aquicultura, UNESP, Jaboticabal-SP, 2008. Disponível em: http://www.caunesp.unesp.br/publicacoes/dissertacoes_teses/dissertacoes/Dissertacao%20Jaqueline%20Perola%20de%20Souza.pdf. Acesso em: 26/11/2015.

SPRAGUE, J. B., 1971. **Measurement of pollutant toxicity to fish-III: Sublethal effects and "safe" concentrations**. Water Research Pergamon Press, Great Britain. 5. 245-266.

VIEIRA, D. B.; SHIBATTA, O. A. Leia sempre o original. Biota Neotropical, v. 7, n. 1, jan/apr. 2007. **Peixes como indicadores da qualidade ambiental do ribeirão Esperança, município de Londrina, Paraná, Brasil**. Disponível em: <http://www.biotaneotropica.org.br/v7n1/pt/abstract?article+bn01407012007> ISSN 1676-0603. Acesso em: 14 nov. 2015.

VINATEA, L. et al. **Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables**. Aquacultural Engineering, 2010, v. 42, p.17-24. Disponível em: <file:///D:/Users/User/Downloads/Photosynthesis,%20water%20respiration.pdf>. Acesso em: 14 out. 2015.

WUHRMANN, K.; WORKER, H. **Experimentelle untersuchungen uber die ammoniak – und blausaurevergiftung**. Schweiz. Z. Hydrol., n. 11, p. 210-244, 1948.