



**ASPECTOS DA ASSIMETRIA FLUTUANTE EM *Astyanax altiparanae* (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) COMO FERRAMENTA EM AVALIAÇÃO DE INTEGRIDADE AMBIENTAL**

Maiane Jardim Pereira

Dourados – MS  
Fevereiro/2015





**ASPECTOS DA ASSIMETRIA FLUTUANTE EM *Astyanax altiparanae* (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) COMO FERRAMENTA EM AVALIAÇÃO DE INTEGRIDADE AMBIENTAL**

Maiane Jardim Pereira  
Yzel Rondon Suárez

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais”.

Dourados – MS  
Fevereiro/2015



P493a Pereira, Maiane Jardim

Aspectos da assimetria flutuante em *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae) como ferramenta em avaliação de integridade ambiental/ Maiane Jardim Pereira. Dourados, MS: UEMS, 2015.

38p.;30cm

Dissertação (Mestrado) – Recursos Naturais –  
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2015.

Orientador: Prof. Dr. Yzel Rondon Suárez.

1. Análise da assimetria flutuante 2. *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae) 3. Monitoramento ambiental I. Título. CDD 23.ed. 574.5265

*Dedico esse trabalho aos meus pais: Ana Gladis e José Danilo.  
Mãe e pai, obrigada por acreditar em mim desde o primeiro dia.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a minha família, vocês sempre vão estar em primeiro lugar. Ao meu pai e a minha mãe por sempre me apoiarem, a força e a fé de vocês sempre me manteve confiante. Ao meu marido, companheiro de todas as horas, melhor amigo, parceiro de trabalho e eterno veterano Marcelo Maldonado de Souza agradeço por tudo, mas principalmente pela paciência e pela segurança que me passa, sei que sempre vou poder contar com você. Agradeço a minha irmã Andressa Jardim Pereira por ser minha maior fã, mesmo que não assuma isso publicamente.

Ao meu orientador Prof Dr Yzel Rondon Suárez, eu agradeço pela grande paciência, pelo apoio, as sugestões, as conversas, pela confiança, respeito e por tudo que me ensinou ao longo de todos esses anos sem nunca perder a humildade.

Aos atuais integrantes do laboratório de Ecologia de Peixes e também amigos, Lucilene, Fabiane, Gabriela, Ana, Mônica e Djalma por todo auxílio prestado, é sempre bom poder contar com vocês seja para os momentos sérios de troca de ideias sobre o trabalho, ou seja, pelos momentos de “procrastinação” em que deixávamos o trabalho de lado e apenas jogávamos conversa fora para poder fugir da tensão, pra essas horas eu digo que aquele “santo” tereré era calmante. E agradeço também a Vanessa de Mauro, Michele Nóbrega e Mônica Anater pela amizade de tantos anos, pelas palavras de conforto, pelo apoio e pelos momentos de descontração.

Pelo apoio durante o processo laboratorial eu agradeço principalmente a Lucas Brandão-Gonçalves e a Patrícia Luna Rondon. O auxílio e os ensinamentos de vocês foram muito importantes para a conclusão do meu trabalho. Obrigada por sempre estarem dispostos a ajudar. E a Ana Paula Lemke pelo auxílio na elaboração do mapa.

Agradeço todos os membros do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais pelo grande aprendizado concedido e a Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, por todas as oportunidades que esta instituição me proporcionou.

Agradeço a CAPES pela concessão da bolsa de estudos e ao FUNDECT e CNPq pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho tenham os meus mais sinceros agradecimentos.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>01</b>
1.1. REFERÊNCIAS.....	07
<b>CAPÍTULO 2 - ANÁLISE DA ASSIMETRIA FLUTUANTE EM <i>Astyanax altiparanae</i> (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) E SUA APLICAÇÃO EM MONITORAMENTO AMBIENTAL.....</b>	<b>14</b>
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
2.1. INTRODUÇÃO.....	15
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.2.1. Área de Estudo.....	17
2.2.2. Amostragem.....	19
2.2.3. Coleta de Dados.....	19
2.2.4. Assimetria Flutuante.....	19
2.2.5. Análise de Dados.....	21
2.3. RESULTADOS.....	21
2.4. DISCUSSÃO.....	22
2.5. CONCLUSÃO.....	24
2.6. REFERÊNCIAS.....	25

## RESUMO

O crescimento demográfico tem, cada vez mais, diminuído a integridade dos ambientes aquáticos, o que torna indispensável a utilização de ferramentas de biomonitoramento para a conservação das bacias hidrográficas. Nesse intuito, foram estudados alguns parâmetros morfológicos de *Astyanax altiparanae* em seis microbacias do Rio Ivinhema, Alto Rio Paraná, a fim de discutir as diferenças na assimetria correlacionando-as com a integridade ambiental. As amostragens foram realizadas no período de Fevereiro a Novembro de 2014 utilizando peneiras, redes de arrasto, redes de espera, anzóis e covos. Por meio de uma análise de covariância (ANCOVA) foi possível estimar as diferenças na assimetria flutuante entre as microbacias independente do tamanho dos indivíduos. Foram constatadas diferenças tanto entre as microbacias quanto na influência do comprimento padrão sobre a assimetria flutuante, contudo, a maior influência é da diferenciação entre as microbacias ( $F= 43,35$ ;  $p< 0,001$ ) quando comparado ao comprimento padrão ( $F= 32,86$ ;  $p<0,001$ ). Os resultados obtidos evidenciaram que as maiores médias de assimetria foram encontradas nas microbacias com elevados níveis de perturbação ambiental, enquanto que os menores valores de assimetria foram obtidos em córregos com melhores níveis de integridade ambiental, sendo possível concluir que o uso a assimetria flutuante é eficiente para diferenciar ambientes perturbados de ambientes não perturbados, além de ser uma ferramenta de baixo custo e ajustável em todos ambientes, sistemas biológicos e tipos de estressores, podendo ser uma opção de fácil acesso para estudos de monitoramento ambiental.

**PALAVRAS-CHAVE:** Estabilidade do Desenvolvimento, Impactos ambientais, Ferramenta de Biomonitoramento

## ABSTRACT

Population growth has increasingly diminished the integrity of aquatic environments, which makes it essential to use of biomonitoring tools for the conservation of watersheds. To that end, we studied some morphological parameters of *Astyanax altiparanae* in six watersheds of Rio Ivinhema, Upper Paraná River, in order to discuss the differences in asymmetry correlating them with environmental integrity. Sampling was carried out from February to November 2014 using sieves, trawls, gill nets, hooks and pots. Through an analysis of covariance (ANCOVA) model was possible to estimate the differences in asymmetry among small basins the floating watersheds independent of the size of individuals. Differences were observed as much among watersheds as in the influence of standard length on the fluctuating asymmetry, however, the greatest influence is the differentiation between the small basins ( $F = 43.35$ ;  $p < 0.001$ ) when compared to the standard length ( $F = 32.86$ ;  $p < 0.001$ ). The results showed that the highest levels of asymmetry found in watersheds with high levels of environmental disturbance, while the smaller asymmetry values were obtained in streams with higher levels of environmental integrity, being possible to conclude that the use the fluctuating asymmetry is efficient to distinguish disturbed environments from not disturbed environments, besides being a low-cost tool and adjustable in all environments, biological systems and types of stressors and may be an option of easy access to environmental monitoring studies.

**KEY-WORDS:** Development of stability, environmental impacts, biomonitoring tool



## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Cada indivíduo possui um genótipo que inclui todos os seus genes, sendo a expressão externa de caracteres denominada fenótipo. Assim, o fenótipo é a tradução de um conjunto de instruções genéticas contidas no genótipo de um organismo. Embora todos os atributos fenotípicos tenham uma base genética, eles também são influenciados por mudanças no ambiente, por meio dos efeitos das condições ambientais sobre os indivíduos (como o efeito do suprimento de comida no crescimento e desenvolvimento) ou das respostas dos indivíduos às mudanças em seus ambientes. Essas variações ambientalmente induzidas no fenótipo são denominadas de plasticidade fenotípica (Ricklefs, 2009).

A plasticidade fenotípica é a capacidade de um determinado genótipo em modificar seus fenótipos em respostas a mudanças no ambiente, ou seja, a plasticidade fenotípica é tradicionalmente definida como a capacidade de um dado genótipo em processar fenótipos alternativos sob diferentes condições ambientais (Gianolli e Valladares, 2012). A capacidade de um determinado genótipo em modificar seus fenótipos está ecologicamente ligado a gradientes ambientais a que os organismos estão sujeitos na natureza (Valladares et al. 2014).

Fatores abióticos tais como luz, pluviosidade, temperatura, pH, salinidade, turbidez e fatores bióticos tais como competição, fatores genéticos e índices hormonais podem atuar como fatores limitantes e afetar naturalmente o fenótipo de um determinado organismo, no entanto, alterações humanas tem trazido mudanças, muitas vezes rápidas em muitos ecossistemas naturais, tendo como consequência mudanças na biologia de organismos e espécies, e na estrutura, dinâmica e padrões de populações e comunidades. A observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar possíveis perturbações (Begon, 2009).

O desenvolvimento industrial, o crescimento da urbanização e a ampliação das áreas agriculturáveis em torno de rios, lagos e riachos introduziram um grande volume de substâncias diferentes nos corpos d'água (Van Der Oost et al. 2003). A descarga de poluentes provindo das mais variáveis fontes afeta negativamente a biodiversidade aquática bem como a saúde dos seres que utilizam esses recursos (Amorim, 2003). Portanto, além das interações bióticas e abióticas e os intercâmbios entre os ambientes aquáticos e terrestres (Lowe Mc-Connell, 1999), é necessário considerar a influência das atividades antrópicas que podem modificar as condições dos habitats aquáticos.

Comparações entre áreas impactadas e não (ou pouco) impactadas permitem uma avaliação sobre a saúde dos organismos em seu próprio ambiente, embora nem sempre seja

possível determinar com precisão o agente causador das mudanças nesses organismos. Assim, trabalhos de biomonitoramento que utilizam organismos bioindicadores tornaram-se relevantes, principalmente na avaliação dos efeitos da poluição agrícola e urbana sendo utilizados como uma ferramenta para a conservação (Brito et al. 2012).

Biomarcadores podem ser definidos como mecanismos para dimensionar a exposição a fatores de estresse expressas no nível biomolecular, fisiológico ou comportamental. Esses biomarcadores são ferramentas de fundamental importância na avaliação dos danos causados pela exposição dos organismos a diferentes níveis de estresse ambiental (McCarty et al. 2002). O conceito de bioindicador pode ser entendido como organismos (espécie-sentinela) sensíveis à saúde do ambiente que assumem algum aspecto quantificável em sua biologia, ou mudanças nos níveis de organização do ecossistema, isto é, a análise biológica de um único indivíduo do ecossistema ou da mudança de comportamento dos indivíduos de uma população (Tysklind et al. 2013). Para a análise biológica de um organismo, no caso um bioindicador, podem ser avaliados diversos parâmetros, tais como, bioquímicos, celulares ou fisiológicos. Nesse caso tais parâmetros são denominados biomarcadores do bioindicador uma vez que essas variáveis irão refletir alterações provenientes da interação entre o poluente e o bioindicador (McCarty et al. 1996).

Estudos da contaminação ambiental utilizando organismos biomarcadores atualmente são os mais recomendados complementando o monitoramento ambiental. Análises usando esses elementos são importantes em estudos de campo, pois são de fácil execução e representam ferramentas de baixo custo para a caracterização dos efeitos da poluição no local. Ferramentas que empregam organismos biomonitores são capazes fornecer dados em relação à saúde da biota e os riscos de exposição para as populações humanas e têm sido utilizadas em numerosos estudos de biomonitoramento (Abdel-Moneim et al. 2012; Brito et al. 2012; Azevedo et al. 2013).

Várias técnicas de avaliação biológica têm sido utilizadas para quantificar os efeitos das atividades humanas sobre a condição biótica dos ecossistemas aquáticos, seguindo a ideia de que componentes biológicos respondem à degradação ambiental, modificando suas características funcionais e estruturais (Berkman e Rabeni, 1987; Gafny et al. 2000).

O monitoramento biológico é realizado principalmente através da aplicação de diferentes protocolos de avaliação, índices biológicos e multimétricos, tendo como base a utilização de bioindicadores de qualidade de água e habitat (Goulart e Callisto, 2003). Tradicionalmente, as técnicas para a avaliação destes impactos utilizando bioindicadores dividem-se em duas abordagens: as que empregam níveis superiores de organização, tais

como populações, comunidades e ecossistemas ou as que trabalham a nível individual – examinando alterações comportamentais, malformações, mudanças nas taxas de crescimento, reprodução, alimentação, alterações bioquímica e fisiológica – que inclui alterações na integridade da membrana celular, no transporte de íons, no metabolismo celular e em atividades enzimáticas (Arias et al. 2007).

Sendo assim, estudos que levem em consideração a estrutura corporal dos indivíduos se mostram uma opção para medir os impactos causados pelas ações antrópicas, já que a estrutura corporal muitas vezes é um importante indicador da saúde do indivíduo, bem como dos estresses que os mesmos podem estar sofrendo (Jakob et al. 1996; Wikelski e Trillmich, 1997).

Características morfológicas de ambos os lados de um organismo bilateral deveriam se desenvolver de forma idêntica, já que seriam expressões do mesmo genoma, e qualquer desvio na programação genética poderia apontar um estresse durante o desenvolvimento, que poderia estar relacionado com a qualidade ambiental (Hoog et al. 2001). Variações e flutuações em características simétricas existem naturalmente, em porcentagens que variam de acordo com a população estudada, mas uma variação maior do que o normal esperado poderia ser um indicativo de saúde do ambiente (Warwick, 1985; Johnson et al. 1993; Servia et al. 1998).

A capacidade de um organismo em resistir aos distúrbios genéticos ou as perturbações ambientais durante seu desenvolvimento por meio de mecanismos com capacidade de produzir um fenótipo pré-determinado, dentro da variação normal da expressão é definida como homeostase do desenvolvimento (Friedrich, 2013), que opera via um mecanismo de canalização, pelo qual a variação do fenótipo é limitada a uma ou a poucas formas sob um conjunto de condições genéticas ou ambientais, reduzindo o efeito destas sobre o desenvolvimento (Bagliano, 2012).

A estabilidade do desenvolvimento de um organismo reflete, então, sua habilidade de desenvolver traços uniformes e produzir uma forma “ideal”, produzida pela seleção natural (Zakharov, 1992; Balmford et al. 1993; Palmer, 1994). Distúrbios que afetam essa habilidade podem ocorrer nos níveis molecular, cromossômico ou epigenético (Parsons, 1992). As morfologias consideradas ideais a princípio não são conhecidas, porém organismos que possuem simetria bilateral podem oferecer um exemplo delas: a simetria perfeita de determinado caractere (Palmer, 1994).

Dessa forma, é possível analisar a estabilidade do desenvolvimento através dos desvios da simetria perfeita, ou assimetria, observando eventuais diferenças entre os lados

direito e esquerdo de um indivíduo em características morfológicas que deveriam possuir simetria bilateral (Palmer e Strobeck, 1986; Palmer, 1994).

Existem três tipos principais de assimetria: a assimetria flutuante, a assimetria direcional e a antissimetria (Figura 1; Palmer e Strobeck, 1986; Palmer, 1994). No entanto, apenas a assimetria flutuante é utilizada para avaliar a estabilidade do desenvolvimento, visto que os outros dois tipos de assimetria decorrem de um desenvolvimento normal do organismo, com um controle genético para a formação do fenótipo assimétrico (Leary e Allendorf, 1989).

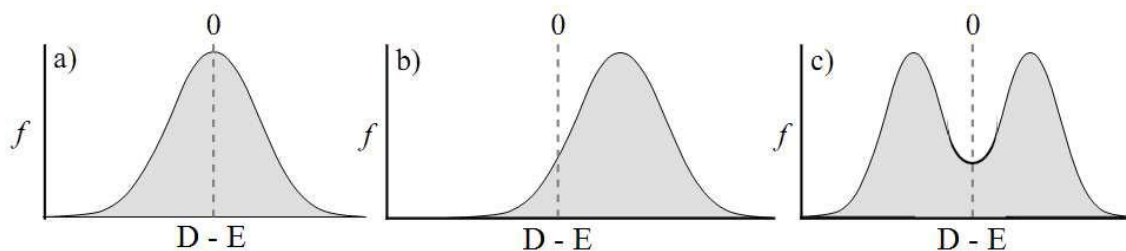


FIGURA 1: Distribuição da diferença entre os lados direito e esquerdo dos três tipos mais comuns de assimetria: a) assimetria flutuante, b) assimetria direcional, c) antissimetria. D - E, diferença entre os lados direito (D) e esquerdo (E). Adaptado de Palmer (1994).

A assimetria direcional acontece quando há normalmente um maior desenvolvimento de um caráter em um ou mais lados do plano de simetria do que do outro (Van Valen, 1962), sendo a maioria dos indivíduos assimétricos na mesma direção (Palmer, 2004). Características direcionalmente assimétricas são na grande maioria das vezes transmitidas a descendentes. Por exemplo, em mamíferos são vistas várias estruturas assimetricamente direcionadas e herdadas, como o coração, o pulmão (lado direito possui mais lobos do que o esquerdo), fígado (possui um lobo do lado direito) e várias estruturas do cérebro.

A antissimetria ocorre quando a maioria dos indivíduos de uma população é assimétrica para um determinado caractere, mas o lado que é maior varia aleatoriamente entre os indivíduos da mesma população (Van Valen, 1962; Palmer, 1994). Exemplo desse tipo de assimetria são as quelas sinalizadoras dos caranguejos do gênero *Uca*, onde um lado sempre é maior que o outro, mas a maior estrutura ocorre nos lados direito ou esquerdo em frequência semelhante na população (Davis, 1978) e a presença de indivíduos destros e canhotos em uma população. A antissimetria é uma característica que pode ser transmitida a descendentes, porém diferente da assimetria direcional o lado que teria o maior desenvolvimento no indivíduo é variável, assim como qual das quelas dos crustáceos terá maior desenvolvimento.

A assimetria flutuante, por sua vez, é a medida mais utilizada para a avaliação da estabilidade do desenvolvimento e reflete os efeitos das perturbações ocorridos durante o desenvolvimento, por meio da expressão de caracteres com mais ou menos desvio de assimetria (Palmer e Strobeck, 1986; Leary e Allendorf 1989; Palmer, 1994). Esse tipo de assimetria possui uma distribuição normal da diferença de (D-E) com média igual a zero. Essa distribuição de frequência indica que a maioria da população é simétrica, com apenas alguns indivíduos apresentando desvios de simetria (Palmer e Strobeck, 1986; Palmer, 1994).

Diversos estudos sugerem que o estresse, ambiental ou genético, aumenta a assimetria flutuante da população (Leary e Allendorf, 1989; Leung e Forbes, 1996; Anciães e Marini, 2000). Condições extremas de temperatura, altitude, poluição e fatores como fragmentação, nutrição, parasitismo, entre outros, bem como estresses genéticos como a diminuição da heterozigose, endogamia e doenças genéticas aumentam a assimetria flutuante em diferentes grupos animais, (Benítez, 2013; Anciães e Marini, 2000; Lens et al. 2002; Wauters et al. 1996).

A relação entre assimetria flutuante e agentes estressores não é uma temática recente (Van Valen, 1962), porém tem ganhado maior atenção nos últimos anos por ser considerada um indicador sensível de contaminantes, sendo possível a obtenção de dados fiáveis e baratos, podendo ser aplicável em populações naturais (Michaelson et al. 2015). O estudo da assimetria flutuante em peixes tem se tornando cada vez mais frequente para o monitoramento de ambientes aquáticos, pela capacidade de detectar o efeito tanto do estresse causado por agentes endógenos quanto exógenos em populações (Lajus et al. 2014), sendo que as condições exógenas influenciam grandemente o desenvolvimento desses organismos, além de estarem presentes em vários ambientes, apresentarem ampla distribuição geográfica e fazerem parte de diferentes níveis tróficos na cadeia alimentar, características que os colocam como excelentes modelos biológicos para o estudo e avaliação de tais ambientes (Jesus e Carvalho, 2008).

Ao escolher um bioindicador, devem ser observadas algumas características importantes de acordo com o estudo que será desenvolvido. Um bioindicador ideal deve sobreviver em ambientes saudáveis, mas também apresentar resistência relativa ao contaminante que está exposto. Outros aspectos que podem facilitar o desenvolvimento de um estudo são a abundância dessa espécie no ambiente e a facilidade em adaptar-se aos ensaios laboratoriais (Akaishi, 2004).

Na América do Sul, o gênero *Astyanax* representa um grupo muito diversificado e amplamente distribuído exibindo complexidade taxonômica e sistemática (Garutti e Britski,

2000). Estes pequenos caracídeos vivem em variados ambientes de água doce, incluindo locais com altos níveis de estresse (Lowe Mc-Connel, 1999), e também pode formar um complexo de espécies mostrando variabilidade morfológica e genética (Langeani, 1989; Moreira-Filho e Bertollo, 1991).

Peixes desse gênero têm muitas características que os tornam eficiente bioindicadores de avaliação ambiental como, por exemplo: são onívoros, podem ser facilmente capturados, apresentam uma ampla distribuição geográfica e são relativamente resistentes (Carrasco-Letelier et al. 2006), além de serem importantes componentes da cadeia alimentar nos rios da América do Sul e compreenderem uma considerável porção da dieta de peixes de maior porte (Prioli et al. 2002). Por apresentar tais características, peixes do gênero *Astyanax* têm sido frequentemente utilizados em estudos de biomonitoramento e bioensaios (Carrasco Letelier et al. 2006; Rossi et al. 2011).

A espécie *Astyanax altiparanae* (Figura 2) pertence a ordem Characiformes, grupo dominante dentre os peixes de água doce da América do Sul, e a família Characidae, a maior e a mais complexa desta ordem (Britski et al. 2007). A ordem Characiformes compreende peixes que possuem uma grande variedade de formas e comportamentos, permitindo, assim, que habitem os mais variados tipos de ambientes (Dala-Corte e Azevedo, 2010). *A. altiparanae* é uma espécie considerada de alta plasticidade ecológica, apresentando ampla distribuição geográfica e relevância ecológica. Considerada uma espécie tolerante e oportunista, exibe versatilidade ecológica, com capacidade de ajuste a diversas situações ambientais e grande capacidade adaptativa exploratória, que utiliza estratégias diferenciadas na estrutura populacional (Orsi et al. 2004). É uma espécie abundante em riachos com variações nas condições ambientais, como em riachos parcialmente degradados e com elevados níveis de condutividade elétrica da água (Schulz e Martins, 2001; Orsi et al. 2002; Cunico et al. 2006).



FIGURA 2: Indivíduo de *Astyanax altiparanae*. Fonte: Arquivo pessoal de Sidnei Eduardo Lima-Júnior

Nesse contexto, foi discutida a importância de estudos que utilizem técnicas de biomonitoramento que sejam de fácil acesso e possibilitem avaliar as condições dos ambientes aquáticos através da utilização de organismos biomonitores e também demonstrar como a pesquisa está organizada nos seguintes capítulos. No segundo capítulo serão apresentadas as informações sobre as análises de assimetria flutuante em *A. altiparanae* e a aplicação deste método para a avaliação de impactos ambientais. Os resultados deste trabalho contribuem para o aperfeiçoamento de ferramentas úteis para avaliação o monitoramento dos ecossistemas aquáticos, além de sugerir o papel da espécie *A. altiparanae* como um bioindicador, podendo servir como uma importante ferramenta para avaliar a condição do ambiente aquático.

## 1.1. REFERÊNCIAS

- Abdel-Moneim A. M., Al-Kahtani, M. A. & Elmenshawy, O. M. (2012). Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere*, 88(8), 1028-1035.
- Akaishi, F. M., Assis, H. C., Jakobi, S. C., Eiras-Stofella, D. R., St-Jean, S. D., Courtnay, S. C., Lima, E. F., Wagener, A. L., Scofield, A. L. & Ribeiro, C. A. (2004).

- Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(2), 244-253.
- Amorim, L. C. A. (2003). Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Revista Brasileira Epidemiologia*, 6(1), 158-170.
- Anciães, M. & Marini, M. A. (2000). The effects of fragmentation on fluctuating asymmetry in passerine birds of Brazilian tropical forests. *Journal of Applied Ecology*, 37(6), 1013-1028.
- Arias, A. R. L., Buss, D. F., Albuquerque, C.; Inácio, A. F., Freire, M. M. & Egler, M.; Mugnai, R.; Baptista, D. F. (2007). Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência e Saúde Coletiva*, 12(1), 61-72.
- Azevedo, J. S., Braga, E. S., Assis H. C. S. & Ribeiro, C. A. O. (2013). Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 96(8), 220-230.
- Bagliano, R. V. (2012) Principais organismos utilizados como biindicadores relatados como avaliadores de danos ambientais. *Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade*, 2(1), 24-40.
- Balmford, A., Jones, I. L. & Thomas, A. L. R. (1993). On avian asymmetry: evidence of natural selection for symmetrical tails and wings in birds. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 252, 245-251.
- Begon, M., Harper, J. L. & Townsend, C. R. (2009). *Ecology: individuals, populations and communities*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Benítez, H. A. (2013). Assessment of Patterns of Fluctuating Asymmetry and Sexual Dimorphism in Carabid Body Shape. *Neotropical Entomology*, 42(2), 164-169.
- Berkman, H. E. & Rabeni, C. F. (1987). Effect of siltation on stream fish communities. *Environmental Biology of Fishes*, 18(4), 285-294.



- Brito, I. de A., Arruda Freire, C. & Yamamoto, F. Y. (2012). Monitoring water quality in reservoirs for human supply through multi-biomarker evaluation in tropical fish. *Journal of environmental monitoring*, 14(2), 615-25.
- Britski, H. A., Silimon, K. Z. S. & Lopes, B. S. (2007). *Peixes do Pantanal: manual de identificação*. 5ª Edição. Embrapa, pp. 230.
- Carrasco-Letelier, L., Eguren, G., de Mello, F. T. & Groves, P. A. (2006). Preliminary field study of hepatic porphyrin profiles of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characiformes) to define anthropogenic pollution. *Chemosphere*, 62(8), 1245-1252.
- Cunico, A. M., Agostinho, A. A. & Latini, J. D. (2006). Influência da urbanização sobre as assembleias de peixes em três córregos de Maringá, Paraná. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(4), 1101-1110.
- Dala-Corte, B. & Azevedo, M. A. (2010). Biologia reprodutiva de *Astyanax henseli* (Teleostei, Characidae) do curso superior do rio dos Sinos, RS, Brasil. *Série Zoologia*, 100(3), 259-266.
- Davis, T. A. (1978). Reversible and irreversible lateralities in some animals. *Behavioral Brain Sciences*, 2(2), 291-93.
- Friedrich K. (2013). Desafios para a avaliação toxicológica de agrotóxicos no Brasil: Desregulação endócrina e imunotoxicidade. *Vigilância Sanitária em Debate*, 1(2), 2-15.
- Gafny, S., Goren, M. & Gasith, A. (2000). Habitat condition and fish assemblage structure in a coastal Mediterranean stream (Yarqon, Israel) receiving domestic effluent. *Hydrobiologia*, 422-423, 319-330.
- Garutti, V. & Britski, H. A. (2000). Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comunicações do Museu Ciência e Tecnologia, Série Zoologia*, 13, 65-88.
- Goulart, M. D. C. & Callisto, M. (2003). Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, 2(1), 1-9.

- Gianoli, E. & Valladares, F. (2012). Studying phenotypic plasticity: The advantages of broad approach. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105(1), 1-7.
- Hogg, I. D., Eadie, J. M. Williams, D. D. & Turner, D. (2001). Evaluating fluctuating asymmetry in a stream-dwelling insect as an indicator of low-level thermal stress: A largescale field experiment. *The Journal of Applied Ecology*, 38(6), 1326-1339.
- Jakob, E. M., Marshall, S. D. & Uetz, G. W. (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos*, 77(1), 61–67.
- Jesus, T. B. & Carvalho, C. E. V. (2008). Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecologia Brasiliensis*, 12(4), 680-693.
- Johnson, R. K., Wiederholm, T. & Rosenberg, D. M. (1993). Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates. p. 40-105. In: D.M. Rosenberg & V.H. Resh, (eds.), *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman & Hall, New York. 488 pp..
- Lajus, D., Arshavsky, D., & Yurtseva, A. (2014). Radiotative contamination causes only minor effect on fluctuating asymmetry of two species from Chernobyl sea. *Journal of Applied Ichthyology*,. 30(4), 740-745.
- Langeani, F. (1989). *Ictiofauna do alto curso do rio Tietê (SP): Taxonomia*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Leary, R. F. & Allendorf, F. W. (1989). Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 4(7), 214-217.
- Lens, L., Van Dongen, S. & Matthysen, E. (2002). Fluctuating asymmetry as an early warning system in the critically endangered Taita Thrush. *Conservation Biology*, 16(2), 479-487.
- Leung, B. & Forbes, M. R. (1996). Fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness: Effects of trait type as revealed by meta-analysis. *Ecoscience*, 3(4), 400-413.

- Lowe Mc-Connell, R. H. (1999). *Estudos Ecológicos De Comunidades De Peixes Tropicais*. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- McCarty, L. S. & Munkittrick, K. R. (1996). Environmental biomarkers in aquatic toxicology: fiction, fantasy, or functional? *Human and Ecological Risk Assessment*, 2(2), 268-74.
- McCarty, L. S., Power, M. & Munkittrick, K. R. (2002). Bioindicators versus biomarkers in ecological risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 8(1), 159-164.
- Michaelsen, S., Schaefer, J. & Peterson, M. S. (2015). Fluctuating Asymmetry in *Menidia beryllina* before and after the 2010 Deepwater Horizon Oil Spill. *Plos One*, 10(2), e0118742, doi:10.1371/journal.pone.0118742.
- Moreira-Filho, O. & Bertollo, L. A. C. (1991). *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): A species complex. *Brazilian Journal of Genetics*, 2(1), 331-357.
- Orsi, M. L., Shibatta, O. A. & Silva-Souza, A. T. (2002). Caracterização biológica de populações de peixes do rio Tibagi, localidade de Sertanópolis, p. 425-432. In: Medri, M. E., Bianchini, E., Shibatta, O. A. & Pimenta, J. A. (Eds). *A bacia do rio Tibagi*. Londrina, UEL. 595pp..
- Orsi, M. L., Carvalho, E. D. & Foresti, F. (2004). Biologia populacional de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) do Médio Rio Paranapanema, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(2), 207-218.
- Palmer, A. R. Fluctuating asymmetry analyses: A primer. In: Markow, T. A. (1994). (Ed.). *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Kluwer, Dordrecht, Netherlands, v. 93, 335-364.
- Palmer, A. R. (2004). Symmetry breaking and the evolution of development. *Science*, 306(5697), 828-833.
- Palmer, A. R. & Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17, 391-421.
- Parsons, P. A. (1992). Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity*, 68(4), 361-364.

- Prioli, S. M. A. P., Prioli, A. J., Júlio, H. F., Pavanelli, C. S., Oliveira, A. V., Carrer, H., Carraro, D. M. & Prioli, L. M. (2002). Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçú River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, 25(4), p. 421-430.
- Ricklefs, R. E. (2009). *A economia da natureza*. 5<sup>o</sup> Edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Rossi, S. C., Piancini, L. D. S. & Ribeiro, C. A. O. (2011). Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87(6), 603-607.
- Schulz, U. H. & Martins-Junior, H. (2001). *Astyanax fasciatus* as bioindicators of water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 61(4), 615-622.
- Servia, M. J., Cobo, F. & González, M. A. (1998). Deformities in larval *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) and their use as bioindicators of toxic sediment stress. *Hydrobiologia*, 385(1-3), 153-162.
- Tysklind, N., Taylor, M. I., Lyons, B. P., Goodsir, F., McCarty, I. D. & Carvalho, G. R. (2013). Population genetics provides new insights into biomarker prevalence in dab (*Limanda limanda* L.): A key marine biomonitoring species. *Evolutionary Applications* 6(6), 891-909.
- Valladares, F., Matesanz, S., Guilhaumon, F., Araújo, M. B., Balaguer, L., Benito-Garzón, M., Cornwell, W., Gianoli, E., Van Kleunen, M., Naya, D. E., Nicotra, A. B., Poorter, H. & Zavala, M. A. (2014). The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecology Letters*, 17(11), 1351-1354.
- Van Der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57-149.
- Van Valen, L. (1962). A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 16(2), 125-142.

- Warwick, W. F. (1985). Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus* Meigen. *Canadian Journal of Fisheries of and Aquatic Sciences*, 42(12), 1881-1914.
- Wauters, L. A., Dhondt, A. A., Knothe, H. & Parkin, D. T. (1996). Fluctuating asymmetry and body size as indicators of stress in red squirrel populations in woodland fragments. *Journal of Applied Ecology*, 33(4), 735-740.
- Wikelski, M. & Trillmich, F. (1997). Body size and sexual size dimorphism in marine iguanas fluctuate as a result of opposing natural and sexual selection: an island comparison. *Evolution*, 51(3), 922–936.
- Zakharov, V. M. (1992). Population phenogenetics: Analysis of developmental stability in natural populations. *Acta Zoologica Fennica*, 191, 7-30.

## **CAPÍTULO 2 - ANÁLISE DA ASSIMETRIA FLUTUANTE EM *Astyanax altiparanae* (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) E SUA APLICAÇÃO EM MONITORAMENTO AMBIENTAL**

Maiane Jardim Pereira<sup>1</sup>, Yzel Rondon Suárez<sup>2</sup>

1 - Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Rodovia Dourados-Itahum, km 12, 79804-970, Dourados, MS.

2 - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/ Centro Integrado de Análise e Monitoramento Ambiental/ Laboratório de Ecologia. , Rodovia Dourados-Itahum, km 12, 79804- 970, Dourados, MS.

**RESUMO:** O aumento da degradação ambiental leva a mudanças na biologia dos organismos afetando a estrutura, dinâmica e padrões das populações e comunidade. Esta mudança implica na necessidade de indicadores cada vez mais simples e eficientes para avaliar estresse ambiental nas populações animais. Vários estudos têm sugerido que a assimetria flutuante é uma ferramenta eficiente para medir a estabilidade no desenvolvimento por que está associada ao estresse ambiental e, como tal, pode ser um indicador útil de perturbação. A fim de comparar ambientes com diferentes níveis de impactos, foi examinada a assimetria do crânio de *Astyanax altiparanae* provenientes de seis microbacias da bacia do Rio Ivinhema, Alto Rio Paraná. Constatamos que existe diferença na assimetria entre as microbacias analisadas assim como ao longo da ontogenia de *Astyanax altiparanae*, sendo que a diferenciação dentre as microbacias foi mais importante. As populações sob efeito da urbanização e rizicultura foram os que apresentaram maiores médias de assimetria, seguido pelos córregos sob efeito de represamento e assoreamento. Os córregos distantes das áreas urbanas e com vegetação ciliar íntegra apresentaram os menores valores de assimetria flutuante. Portanto, com base nas avaliações das condições atuais das microbacias amostradas é possível concluir que a assimetria flutuante é uma ferramenta eficiente para a avaliação de impactos ambientais podendo ser ajustável em todos ambientes e sistemas biológicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Morfometria geométrica, biomonitoramento, impactos ambientais.

**ABSTRACT:** The increase in environmental degradation leads to changes in the biology of organisms affecting the structure, dynamics and patterns of populations and communities. This change implies the need for indicators increasingly simple and efficient to environmental stress in animal populations. Several studies have suggested that the fluctuating asymmetry is an efficient simple tool to measure the stability in development which is associated to environmental stress, and as such it may be a useful indicator of perturbation. In order to compare environments with different levels of impact, we examined the fluctuating asymmetry of the skull of *Astyanax altiparanae* from six small basins of the Ivinhema River Basin, Upper Paraná River. We found a significant difference in asymmetry among the small basin analyzed as well as along the ontogeny of *A. altiparanae*, and the differentiation among the small basins was more important. The populations under urbanization and rice growing effect presented the highest average asymmetry, followed by the streams under effect of dams and siltation. The streams far from urban areas and with preserved riparian vegetation showed the lowest values of asymmetry. Therefore, based on the assessments of the current conditions of the sampled small basins it was possible to conclude that fluctuating asymmetry is an efficient tool for the assessments of environmental impacts and adjustable in all environments, biological systems and types of stressors.

**KEY-WORDS:** Geometric Morphometry, Biomonitoring, Environmental Impacts

## 2.1. INTRODUÇÃO

O crescente aumento da industrialização e urbanização tem trazido mudanças, muitas vezes rápidas e prejudiciais, em vários ecossistemas naturais. A fragmentação de paisagens naturais, diminuição das florestas, represamento de rios, aumento de gases poluentes, aumento da temperatura, poluição de solos e corpos d'água são algumas das alterações humanas que têm como consequência mudanças na biologia dos organismos e na estrutura, dinâmica e padrões de populações e comunidades. A avaliação e uma correta interpretação dessas alterações exigem métodos e medidas que sejam suficientemente sensíveis para detectar qualquer mudança, quer seja em nível de organismo, espécie, população ou comunidade (Sanseverino et al. 2008; Allenback, 2011).

A observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar essas perturbações. Características morfológicas de ambos os lados de um organismo bilateralmente simétrico deveriam se desenvolver de forma idêntica, já que seriam expressões do mesmo genoma (Clarke et al. 1986), e qualquer desvio da programação

genética poderia apontar um estresse durante o desenvolvimento, que poderia estar relacionado com a qualidade ambiental (Leary e Allendorf, 1989).

A capacidade de um organismo para produzir um fenótipo pré-determinado por um desenho do corpo de adaptação sob um conjunto de condições genéticas e ambientes específicos é definido como estabilidade do desenvolvimento (Waddington, 1942). Portanto, refere-se a capacidade específica do organismo em resistir a acidentes e perturbações durante o seu crescimento e desenvolvimento (Clarke, 1998).

A ferramenta mais utilizada para estimar a estabilidade do desenvolvimento é a assimetria flutuante (Almeida et al. 2008; Allenbach, 2011; Ozsoy et al. 2012; Al-Shami et al. 2014). Considerada um bioindicador útil para mensurar o grau de estresse ambiental em uma população (Michaelsen, 2015) tem sido usada para determinar os impactos de um agente estressor em organismos de uma população (Allenbach, 2011). Se um organismo se desenvolve em um ambiente constantemente influenciado pela ação de agentes estressores isso provavelmente será expresso em impactos na simetria do organismo (Michaelsen, 2015).

Os peixes são organismos ideais para avaliar estresse ambiental e assimetria flutuante, porque além de ser um dos maiores grupos de vertebrados e estarem onipresentes entre os ecossistemas aquáticos eles apresentam relação direta com o seu ambiente (Allenbach, 2011). Sendo assim, grande parte de substâncias hidrofílicas são passíveis de absorção pelos peixes através de suas brânquias.

Landres et al. (1988) traz uma série de características que indicam a capacidade de um organismo de ser um indicador biológico como, ampla distribuição, ser um residente permanente, ser relativamente tolerante a degradação entre outros. Peixes do gênero *Astyanax* são amplamente distribuídos na América do Sul e consiste um grupo muito diversificado, apresentando uma série de características que os encaixam como organismos bioindicadores. Espécies desse gênero estão presentes nos mais variados ambientes de água doce, desde ambientes preservados até ambientes com altos níveis de estresse (Lowe Mc-Connel, 1999). Sendo considerados organismos relativamente tolerantes a degradação ambiental, peixes desse gênero têm sido comumente utilizados em estudos de monitoramento ambiental em ecossistemas aquáticos (Schulz e Martins-Junior, 2001; Gross et al. 2004; Alberto et al. 2005; Carrasco Letelier et al. 2006; Rossi et al. 2011).

Devido a tais características apresentadas pelo gênero, a espécie estudada no presente trabalho será o *Astyanax altiparanae*, conhecido como lambari do rabo amarelo (Graça e Pavanelli, 2007) é uma espécie relativamente abundante, podendo ser encontrado em toda a bacia do Paraná (Leuzzi et al. 2004). Viana et al. (2013) os classificou como sendo de ampla



distribuição geográfica, alta plasticidade e relevância ecológica, abundante em riachos com variações nas condições ambientais, como em riachos parcialmente degradados e com elevados níveis de condutividade elétrica da água (Orsi et al. 2002; Cunico et al. 2006).

Sendo considerado como um dos elos mais importantes da cadeia alimentar, formando uma parte significativa da dieta de peixes maiores (Leuzzi et al. 2004) se tornam necessários os estudos com *A. altiparanae* a fim de avaliar os impactos causados por agentes estressores sobre esta espécie, bem como as repostas de suas populações a perturbações ambientais. Nesse contexto o presente estudo foi conduzido buscando responder as seguintes questões: 1) A assimetria flutuante em peixes seria uma ferramenta útil para o monitoramento de ambientes de água doce? 2) É possível distinguir o efeito de ambientes perturbados e não perturbados por meio da assimetria flutuante em *Astyanax altiparanae* na bacia do rio Ivinhema?

## **2.2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### *2.2.1. Área de Estudo*

As amostragens, foram realizadas em seis microbacias da bacia do rio Ivinhema, Alto Rio Paraná, com diferentes tipos de ocupações a fim de verificar se há a influência da forma de ocupação sobre a assimetria nas populações de *A. altiparanae*.

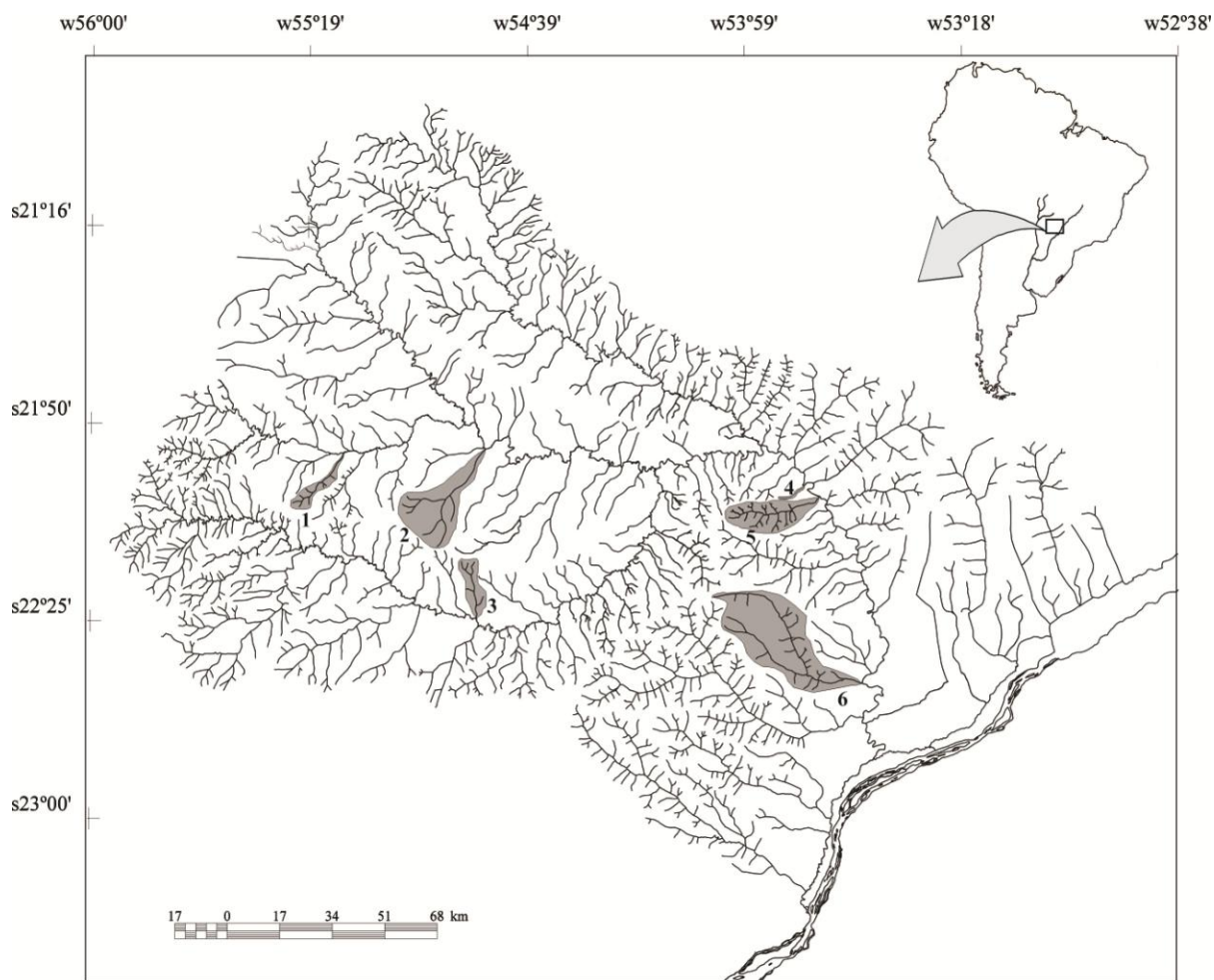


FIGURA 1: Localização das microbacias (1: São Domingos, 2: Capão Alto, 3: Água Boa, 4: Barreiro Puitã, 5: Engano, 6: Vitória) amostradas na bacia do rio Ivinhema, Alto Rio Paraná.

O córrego Água Boa possui baixo nível de integridade de habitat sendo considerado altamente impactado/poluído. Sua nascente está inserida em uma matriz urbana, sofrendo constantemente com a influência antrópica. A maioria da sua vegetação ripária está degradada de tal maneira que a vegetação predominante é de gramíneas durante boa parte do seu curso.

O córrego Capão Alto está localizado em uma área rural, porém sofre forte influência de lavouras de arroz situadas em pequenas áreas alagáveis em seu entorno.

A microbacia do córrego São Domingos possui bom nível de integridade, sua nascente é afastada da área urbana da cidade de Dourados-MS.

O córrego Engano e Barreiro Puitã estão situados no município de Angélica – MS e sofrem com a influência de lavouras de cana-de-açúcar, já que os dois córregos estão dentro da área de plantio de uma usina sulcroatócolica. Apesar de ser uma microbacia pequena o Córrego Barreiro Puitã tem um grande número de represamentos ao longo de sua extensão.

Localizado em uma área rural do município de Ivinhema-MS, o córrego Vitória apresenta uma vegetação ripária considerada degradada em boa parte de seu trajeto, mas em outros trechos possui fragmentos de florestas. A ausência de mata ciliar ao longo da maior porção do córrego está contribuindo para o forte processo de assoreamento que esta microbacia vem sofrendo, alterando assim a largura e a profundidade de alguns trechos amostrados devido a constante entrada de sedimentos no córrego.

### 2.2.2. Amostragem

A fim de capturar o maior número de indivíduos possível foram utilizados diferentes métodos de coleta como redes de espera com malha de 20 mm e 30 mm, rede de arrasto, covos, anzóis e tela de isca (1,2 x 0,8 m), que é uma peneira retangular de armação metálica e tela mosquiteiro (2 mm de abertura de malha) e que cada lance consistia em passar a tela rente ao fundo do riacho no sentido meio-margem, forçando a tela contra as margens desalojando os peixes escondidos sob as plantas aquáticas e gramíneas nas margens. Em todos os locais, os métodos de coleta ativos, foram utilizados no período diurno, enquanto as redes de espera ficaram armadas de um dia para o outro durante aproximadamente 18 ou 20hs. Os exemplares coletados foram fixados em formol a 10% e preservados em álcool etílico 70% para posterior identificação e contagem e análises em laboratório. O período de amostragem ocorreu entre os meses de Fevereiro a Novembro de 2014.

### 2.2.3. Coleta de Dados

As análises morfométricas concentraram-se no estudo na assimetria do crânio de *A. altiparanae*. Com os indivíduos já fixados foram obtidas imagens da superfície superior de cada crânio com uma câmera Nikon (16 megapixels) e zoom óptico de 30x. As imagens foram realizadas sempre pela mesma pessoa e antes da captura de cada imagem era verificada a posição da câmera, ângulo de inclinação, distância e posição do indivíduo. Essas precauções visam diminuir/padronizar os possíveis erros evitando qualquer viés nas análises. As imagens foram nomeadas sequencialmente para evitar repetição durante as etapas de mensuração.

### 2.2.4. Assimetria Flutuante

Para avaliar a ocorrência de assimetria flutuante foram tomadas sete medidas repetidas de cada lado do crânio, em cada indivíduo. Os marcos anatômicos selecionados encontravam-se localizados nas inserções das escamas do crânio. Os caracteres foram escolhidos de modo que representassem toda a superfície do crânio de *A. altiparanae* e se mostravam de fácil

identificação em todos os indivíduos, permitindo uma alta repetibilidade. Além disso, eles apresentam baixa plasticidade fenotípica, visto que dificilmente algum lado do crânio será mais usado que o outro ou irá experimentar uma condição microambiental diferente (Palmer e Strobeck, 2003).

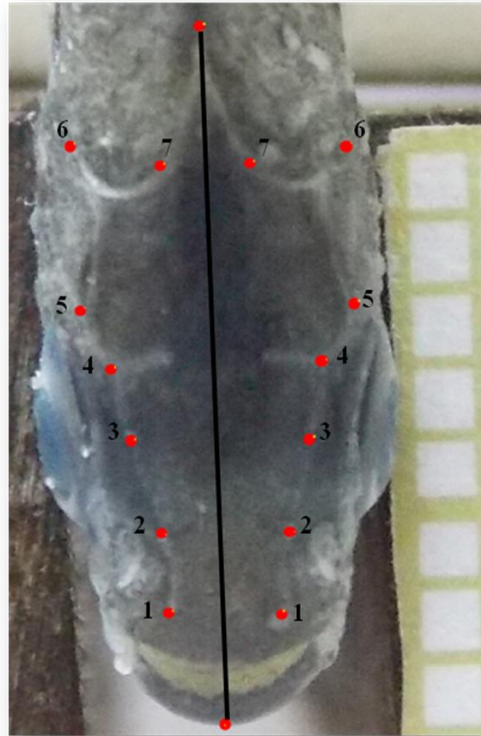


FIGURA 2: Localização dos marcos anatômicos designados para o estudo da assimetria flutuante em *Astyanax altiparanae*, na bacia do Rio Ivinhema, Alto Rio Paraná, entre Fevereiro e Novembro de 2014.

Para a análise de assimetria flutuante foi utilizado o índice  $AF = (|D-E|)$  (Palmer e Strobeck 1986) onde foram extraídos os valores absolutos da diferença entre os lados direito e esquerdo dos marcos anatômicos definidos. Com os valores absolutos, foi calculado um valor de assimetria flutuante para cada marco anatômico em todos os indivíduos amostrados. A fim de obter uma média de assimetria flutuante, foram somados todos os valores absolutos obtidos para cada caractere mensurado, gerando desse modo um valor de assimetria flutuante para cada indivíduo, essa parte do protocolo foi baseada no Índice Composto de Assimetria Flutuante (CFA), proposto por Leung et al. (2000). As medições foram realizadas no software TPSDIG, versão 2.16 (Rohlf, 2008).

### 2.2.5. Análise de Dados

Para verificar a relação do ambiente e da ontogenia sobre a assimetria de *A. altiparanae* foi realizada uma análise de covariância (ANCOVA). Tendo com objetivo estimar a diferença na assimetria entre as microbacias (fator) independente da diferença de tamanho entre os indivíduos (covariável). As análises foram realizadas através do programa estatísticos R, versão 2.14.0 (R Core Team, 2014).

## 2.3. RESULTADOS

Foram capturados e analisados um total de 117 exemplares de *A. altiparanae* distribuídos entre os córregos Água Boa Capão Alto e São Domingos, localizados no município de Dourados – MS, Barreiro Puitã e Engano localizados no município de Angélica – MS e o córrego Vitória situado no município de Ivinhema – MS.

Constatamos diferença tanto entre as microbacias quanto a influência do comprimento padrão sobre a assimetria flutuante, contudo, a maior influência é da diferenciação entre microbacias ( $F=43,35$ ;  $p<0,001$ ) quando comparado ao comprimento padrão ( $F=32,86$ ;  $p<0,001$ ).

As maiores médias de assimetria foram apresentada pelas as microbacias dos córregos Água Boa e Capão Alto, ambos situados no município de Dourados-MS, sugerindo que entre os córregos amostrados estes são os que estão sofrendo os maiores níveis de impactos ambientais, seguidos pela microbacia do córrego Vitória localizado no município de Ivinhema-MS.

Os córregos situados no município de Angélica-MS apresentaram umas das menores médias de assimetria entre as seis microbacias estudadas, porém, comparando os dois, os valores sugerem que córrego Barreiro Puitã está sofrendo maiores níveis de impactos que o córrego Engano que teve sua média muito próxima a encontrada para o córrego São Domingos que foi o que apresentou o menor valor de assimetria (Figura 2).

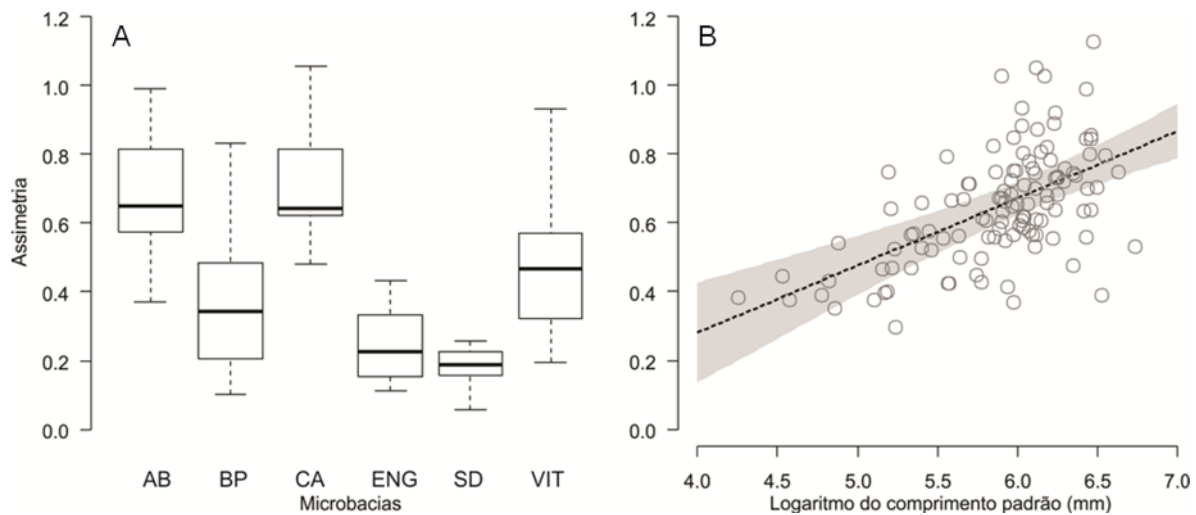


FIGURA 3: Medianas e desvios interquartílicos indicando a influência das microbacias (AB: Água Boa, BP: Barreiro Puitã, CA: Capão Alto, ENG.: Engano, SD: São Domingos, VIT: Vitória) na assimetria flutuante das populações de *Astyanax altiparanae* (Figura A) e diagrama de dispersão representando a variação da ontogenia sobre a assimetria flutuante em indivíduos da espécie *Astyanax altiparanae* (Figura B), coletados em seis microbacias da bacia do Rio Ivinhema, Alto Rio Paraná, entre Fevereiro e Novembro de 2014.

## 2.4. DISCUSSÃO

A diminuição da estabilidade ao longo da ontogenia de um indivíduo é um alerta biológico e é exibida por muitos animais em diferentes situações de estresse ambiental (Moller e Swaddle, 1997). Dentro deste quadro de referência a assimetria flutuante é um indicador sensível do estresse no desenvolvimento, pois mede desvios aleatórios a partir do desenvolvimento simétrico de caracteres morfológicos (Palmer e Strobeck, 1986), detectando em traços bilaterais diferenças entre as medições de um caractere de um dado indivíduo podendo ser considerada como o resultado da presença de ruído no desenvolvimento, ou seja, os efeitos cumulativos de perturbações pequenas, aleatórias ao desenvolvimento ou de acidentes que são exclusivamente de origem ambiental (Palmer e Strobeck, 1992).

Uso da assimetria flutuante como uma ferramenta para monitorar a integridade biológica de ambientes aquáticos utilizando peixes como organismos biomonitoradores têm produzido resultados variados. Kenney e Von Hippel (2014) não encontraram relações significativas entre os valores de assimetria flutuante e os níveis de poluição aquática, no entanto, os autores acreditam que o conjunto de traços medidos não foram adequados, pois estes poderiam estar sendo influenciados por outros fatores estressantes, como a predação. Já Mabrouk et al. (2014) conseguiram distinguir locais poluídos daqueles não poluídos,

encontrando os maiores valores de assimetria flutuante nos locais com maiores níveis de poluição.

Nos resultados obtidos os valores de assimetria entre as microbacias analisadas sugerem que as diferenças de integridade nestas microbacias podem estar interferindo nos níveis de assimetria flutuante nas populações de *A. altiparanae* analisadas. Apesar de estarem localizadas em áreas distintas e com diferentes tipos de ocupação do solo os córregos Água Boa e Capão Alto, apresentaram as maiores médias de assimetria flutuante, o que sugere que tanto a poluição orgânica, originária do esgoto urbano, quanto a adubação proveniente da rizicultura podem influenciar de forma similar o nível de assimetria flutuante das populações avaliadas de *A. altiparanae*.

As maiores médias de assimetria flutuante ocorrendo em riachos com maiores níveis de antropização coincidem com resultados de outros trabalhos que utilizaram a assimetria flutuante para analisar o nível de integridade ambiental e rios com diferentes tipos de poluição antropogênica (Franco et al. 2002; Zhelev et al. 2012) e indicam que o estresse a que as populações de *A. altiparanae* desses locais foram expostas fez com que houvesse um desvio na estabilidade de desenvolvimento, sendo esse desvio expressado em uma assimetria mais acentuada para as populações desses riachos.

Os menores valores de assimetria flutuante foram observados nas microbacias dos córregos Engano e São Domingos. Estas microbacias se localizam em porções diferentes da bacia do rio Ivinhema, contudo apresentam em comum o fato de não possuírem represamentos e apresentarem bom nível de integridade de sua vegetação ripária e baixo nível de urbanização. Por outro lado, as microbacias dos córregos Vitória e Barreiro-Puytã apresentaram valores intermediários de assimetria flutuante, e apresentam como características ambientais o predomínio de áreas assoreadas e de pequenos represamentos ao longo de seu leito, respectivamente.

Na última década diversos estudos avaliando diferentes graus de impactos e estresse ambiental tem utilizado medidas de assimetria flutuante como uma ferramenta de biomonitoramento (Willmore et al. 2005; Vogel et al. 2012; Sánchez-Chardi, et al. 2013), isso por que esta é uma ferramenta que mede desvios na estabilidade do desenvolvimento, independente do fator estressante externo. Portanto, sendo a estabilidade do desenvolvimento uma estimativa indireta de aptidão dos indivíduos de uma população em predizer mudanças em seus fenótipos, a assimetria flutuante seria uma maneira de mensurar as mudanças na estabilidade do fenótipo antes que qualquer mudança detectável ocorra em componentes diretos da aptidão desses indivíduos, tais como fecundidade, taxas de crescimento e

mortalidade (Sanseverino et al. 2008). Neste sentido, é plausível a percepção de que populações submetidas a menores níveis de stress ambiental (eg. Córregos Engano e São Domingos) apresentem menores níveis de assimetria flutuante enquanto populações submetidas à urbanização e/ou eutrofização por rizicultura apresentem elevados níveis de assimetria. Outro resultado interessante é constatar que tanto pequenos represamentos quanto o assoreamento atuam de forma similar sobre este descritor da resposta dos peixes ao stress ambiental.

Apesar de a influência maior ocorrer entre a diferenciação das microbacias, também houve uma tendência do aumento do valor de assimetria com o aumento do crescimento dos peixes, corroborando com os resultados de outros trabalhos que utilizaram a assimetria flutuante em peixes como ferramenta de biomonitoramento em ambientes aquáticos (Al-Mamry et al. 2011; Sadighzadeh et al. 2011; Mabrouk et al. 2014). Thiam (2004) considera justificável que os valores de assimetria aumentem conforme o crescimento dos indivíduos, já que indivíduos maiores consequentemente são mais velhos e tiveram maior tempo de exposição a condições de estresse, perdendo sua capacidade de estabilidade do desenvolvimento para as condições desfavoráveis do meio.

Com base na avaliação das condições atuais de ambientes perturbados e não perturbados os resultados obtidos nesse trabalho sugerem que a assimetria flutuante é uma ferramenta eficaz para a avaliação de impactos ambientais, apontando através da sua aplicação o estado da biota, fornecendo uma avaliação objetiva da condição ambiental das águas.

## **2.5. CONCLUSÃO**

Com base nesse estudo observou-se ser possível distinguir ambientes perturbados de ambientes não perturbados, demonstrando a eficiência da assimetria flutuante como uma ferramenta útil para a avaliação de diferentes fatores estressantes sobre as populações de peixes para *Astyanax altiparanae* na bacia do Rio Ivinhema, Alto Rio Paraná.



## 2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberto, A., Camargo, A. F. M. & Verani, J. R. (2005). Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 61(2), 247-255.
- Allenbach, D. M. (2011). Fluctuating asymmetry and exogenous stress in fishes: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21(3), 335-376.
- Al-Mamry, J. M., Jawad, L. & Ambuali, A. (2011). Fluctuating asymmetry in the otolith length and width of adult Indian mackerel *Rastrelliger kanagurta* (Cuvier, 1817) collected from Muscat waters at the Sea of Oman. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 17(3), 254-259.
- Almeida, D., Almodóvar, A., Nicola, G. G. & Elvira, E. (2008). Fluctuating asymmetry, abnormalities and parasitism as indicators of environmental stress in cultured stocks of goldfish and carp. *Aquaculture*, 279(1-4), 120-125.
- Al-Shami, S. A., Hishamuddin, S. N., Rawi, C. S. M., Abdul, N. H. & Ahmad, A. H. (2014). Developmental instability in Odonata larvae in relation to water quality of Serdang River, Kedah, Malaysia. *Life Science Journal*, 11(7), 152-159.
- Carrasco-Letelier, L. Eguren, G., de Mello, F. T. & Groves, P. A. (2006). Preliminary field study of hepatic porphyrin profiles of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characiformes) to define anthropogenic pollution. *Chemosphere*, 62, 1245-1252.
- Clarke, G. M. (1998). Developmental stability and fitness: the evidence is not quite so clear. *The American Naturalist*, 152(8), 762-766.
- Clarke, G. M., Brand, G. W. & Whitten, M. J. (1986). Fluctuating Asymmetry: A Technique for Measuring Developmental Stress Caused by Inbreeding. *Australian Journal of Biological Science*, 39(2), 145-153.
- Cunico, A. M., Agostinho, A. A. & Latini, J. D. (2006). Influência da urbanização sobre as assembleias de peixes em três córregos de Maringá, Paraná. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(4), 1101-1110.

- Franco, A., Malavasi, S., Pranovi, F., Nasci, C. & Torricelli, P. (2002). Ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity and fluctuating asymmetry (FA) in *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae) as indicators of environmental stress in the Venice lagoon. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 9(4), 239-247.
- Graça, W. J. & Pavanelli, C. S. (2007). *Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes* (p. 241). EDUEM, Maringá.
- Gross, M. C., Schneider, C. H., Matiello, M. C. A., Leite, M. L., Bertollo, L. A. C. & Artoni, R. F. (2004). Population structure, fluctuating asymmetry and genetic variability in a endemic and highly isolated *Astyanax* fish population (Characidae). *Genetics and Molecular Biology*, 27(4), 529-535.
- Kenney, L. A. & Von Hippel, F. A. (2014). Morphological asymmetry of insular freshwater populations of threespine stickleback. *Environmental Biology Fish*, 97(3), 225-232.
- Landres, P. B., Verner, J. & Thomas, J. W. (1988). Ecological use of vertebrate indicator species: A critique. *Conservation Biology*, 2(4), 316-328.
- Leary, R. F. & Allendorf, F. W. (1989). Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 4(7), 214-217.
- Leung, B., Forbes, M. R. & Houle, D. (2000) Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: Comparating efficacy of analyses involving multiple trait. *The American Naturalist*, 155(1), 101-115.
- Leuzzi, M. S. P., Almeida, F. S., Orsi, M. L. & Sodr , L. M. K. (2004). Analysis by RAPD of the genetic structure of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) in reservoirs on the Paranapanema River, Brazil. *Genetic and Molecular Biology*, 27(3), 355-362.
- Lowe-McConnell, R. H. *Estudos ecol gicos de comunidades de peixes tropicais*. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- Mabrouk, L., Guarred, T., Hamza, A., Messaoudi, I. & Hellal, A. N. (2014). Fluctuating asymmetry in grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* Pallas, 1811 inhabiting polluted and unpolluted area in Tunisia. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 248-251.

- Michaelsen, S., Schaefer, J. & Peterson, M. S. (2015). Fluctuating Asymmetry in *Menidia beryllina* before and after the 2010 Deepwater Horizon Oil Spill. *Plos One*, 10(2), e0118742, doi:10.1371/journal.pone.0118742.
- Moller, A. P. & Swaddle, J. P.. (1997). *Asymmetry, Developmental Stability, and Evolution*, pp. 291. Oxford University Press, Inc., New York.
- Orsi, M. L., Shibatta, O. A. & Silva-Souza, A. T. (2002). Caracterização biológica de populações de peixes do rio Tibagi, localidade de Sertanópolis, p. 425-432. In: Medri, M. E., Bianchini, E., Shibatta, O. A. & Pimenta, J. A. (Eds). *A bacia do rio Tibagi* (p. 595). Londrina, UEL.
- Ozsoy, E. D., Erkmen, B., Ozeren, C. & Kolankaya, D. (2012). Detection of aquatic pollution in Meric River by a measure of developmental instability, fluctuating asymmetry, in the fish *Cyprinus carpio*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(8), 1213-1216.
- Palmer, A. R. & Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 17, 391-421.
- Palmer, A. R. & Strobeck, C. (1992). Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zoologica Fennica*, 191, 57-72.
- Palmer, A. R. (1994). Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: Markow T. A. (ed), *Developmental instability: its origins and implications*, p. 335-364.
- Palmer, A. R. & Strobeck, C. (2003). Fluctuating Asymmetry Analyses Revisited. In: Polak, M. *Developmental Instability (DI): Causes and Consequences*, p. 279-319. Oxford: Oxford University Press.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. URL <http://www.R-project.org>
- Rohlf, F. J. (2008). *TPSdig (2.12)*. State University at Stony Brook, New York.

- Rossi, S. C., Piancini, L. D. S. & Ribeiro, C. A. O. (2011). Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87(6), 603-607.
- Sadighzadeh, Z., Jawad, L. & L-Marzouqi, M. (2011). Fluctuating asymmetry in the otolith of the mugilid fish *Liza kluzingeri* (day, 1888) from Persian Gulf near Bandar Abbas. *Thalassia Salentina*, 33, 95-102.
- Sánchez-Chardi, A., Garcia-Pando, M. & López-Fuster, M. J. (2013). Chronic exposure to environmental stressors induces fluctuating asymmetry in shrews inhabiting protected Mediterranean sites. *Chemosphere*, 93(6), 916-923.
- Sanseverino, A. M. & Nessimian, J. L. (2008) Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. *Oecologia Brasiliensis*, 12(3), 382-405.
- Schulz, U. H. & Martins-Junior, H. (2001). *Astyanax fasciatus* as bioindicators of water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 61(4), p. 615-622.
- Thiam, N. (2004). Ecomorphologie de *Trisopterus luscus* (L. 1758), tacaud: Adaptation a la température et l'asymétrie fluctuante. Ph.D. Thesis. Faculté des Sciences. Université de Vigo, 190pp.
- Viana, L. F., Suárez, Y. R. & Lima-Júnior, S. E. (2013). Influence of environmental integrity on the feeding biology of *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000) in the Ivinhema river basin. *Acta Scientiarum*, 35(4), 541-548.
- Vogel, H. F., Zawadzki, C. H., Silva, G. S., Ramos, C. C. O. & Bechara, F. C. (2012). Assimetria flutuante: dados iniciais de uma taxocenose de sabiás (passeriformes, turdidae) ocorrentes em um parque urbano na região centro-sul do estado do Paraná, Brasil. *Ciência e Biologia da Saúde*, 18(1), 25-30.
- Waddington, C. H. (1942). Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150(3811), 563-565.

Willmore, K. E., Klingenberg, C. P. & Hallgrímsson, B. (2005). The relationship between fluctuating asymmetry and environmental variance in rhesus macaque skulls. *Evolution*, 59(4), p. 898-909.

Zhelev, Z., Arnaudov, A., Popgeorgiev, G. & Dimitrov, H. (2012). Assessment of ecological status of two rivers with different types of anthropogenic pollution in southern Bulgaria based on the level of fluctuating asymmetry in the populations of marsh frog *Rana ridibunda* (Amphibia: Ranidae). *Acta Zoologica Bulgarica*. 4, 229-235.