

**MEIO AMBIENTE: ALTERAÇÕES ANTRÓPICAS NO LEITO DE RIOS E EFLUENTES URBANOS PODEM PROMOVER EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS NA ICTIOFAUNA E DE SAÚDE PÚBLICA, UM ESTUDO DE CASO**

**ENVIRONMENT: HUMAN ALTERATIONS IN RIVERS AND URBAN EFFLUENTS CAN PROMOTE ECOTOXICOLOGICAL EFFECTS ON ICHTHYOFAUNA AND PUBLIC HEALTH, A CASE STUDY**

Ana Carolina de Deus Bueno Krawczyk<sup>1</sup>  
Merieli de Melo da Silva<sup>2</sup>  
Jonathan Rosa<sup>3</sup>  
Emanuelli Gemelli<sup>4</sup>  
Marcos Otávio Ribeiro<sup>5</sup>  
Franciele Lima Bettim<sup>6</sup>  
Helena Cristina da Silva de Assis<sup>7</sup>

**RESUMO**

Os rios são sistemas aquáticos integrados que estão sujeitos a ações abióticas e bióticas. Quando um rio sofre alterações, isso acarreta mudança no fluxo natural de nutrientes e sedimentos. Somado a isso, a utilização de organofosforados em monocultivos próximos a córregos e rios, pode culminar na sua contaminação. Alterações físicas no leito do rio, somado a contaminação através de substâncias com potencial mutagênico, podem gerar efeitos deletérios e acumulativos em organismos de ecossistemas aquáticos. Portanto, o estudo de monitoramento de ecossistemas aquáticos se faz necessário e pertinente. Diante o exposto o presente trabalho objetivou avaliar os possíveis efeitos ecotoxicológicos, em *Astyanax bifasciatus*. Espécie endêmica de peixe da região Sul do Brasil. Os peixes foram coletados em

<sup>1</sup>Docente Doutora. Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual do Paraná-UNESPAR *campus* União da Vitória, Paraná. Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5252-6651>. E-mail: [ana.bueno@unespar.edu.br](mailto:ana.bueno@unespar.edu.br)

<sup>2</sup>Mestre. Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual do Paraná-UNESPAR *campus* União da Vitória, Paraná. Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9800-3992>. E-mail: [meri-dm@hotmail.com](mailto:meri-dm@hotmail.com)

<sup>3</sup>Doutor. Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual do Paraná-UNESPAR *campus* União da Vitória, Paraná. Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2407-6240>. E-mail: [jonathandarosa95@gmail.com](mailto:jonathandarosa95@gmail.com)

<sup>4</sup>Graduada. Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual do Paraná-UNESPAR *campus* União da Vitória, Paraná. Brasil. E-mail: [emanuelli\\_mcg@yahoo.com.br](mailto:emanuelli_mcg@yahoo.com.br).

<sup>5</sup>Docente Doutor. Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual do Paraná-UNESPAR *campus* União da Vitória, Paraná. Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8914-6257>. E-mail: [marcos.ribeiro@unespar.edu.br](mailto:marcos.ribeiro@unespar.edu.br).

<sup>6</sup>Graduada. Departamento de Farmacologia Universidade Federal do Paraná- UFPR. Curitiba. Paraná. Brasil. E-mail: [franlimbe@yahoo.com.br](mailto:franlimbe@yahoo.com.br)

<sup>7</sup>Docente Doutora. Departamento de Farmacologia Universidade Federal do Paraná - UFPR. Curitiba. Paraná. Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1944-5726>. E-mail: [helassis2003@yahoo.com.br](mailto:helassis2003@yahoo.com.br)

pontos com diferentes graus de atividade antrópica na bacia do médio Iguaçu-SC. Foi utilizada a metodologia de análise de alterações nucleares (micronúcleo), e atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE). Os resultados de nosso trabalho apontaram que nos três pontos de amostragem, os peixes exibiram anomalias micronucleares. Os testes de atividade da enzima acetilcolinesterase apontaram diferenças de sua atividade quando comparada entre os grupos coletados em diferentes pontos, Rio Timbó-SC e Rio Pintado-SC. Nossos resultados reforçam a hipótese que sistemas hídricos que recebem efluentes urbanos não tratados, combinados com possíveis agentes xenobiontes oriundos de monocultivos próximos e alterações ambientais, podem acarretar alterações celulares em nível nuclear/enzimático. Portanto, o monitoramento constante dos ecossistemas aquáticos, se faz cada vez mais pertinente, frente aos desafios contemporâneos em manter o equilíbrio entre a atividade antrópica e a preservação dos recursos naturais.

**Palavras-chave:** *Astyanax bifasciatus*; micronúcleo; acetilcolinesterase; alterações.

### ABSTRACT

Rivers are integrated aquatic systems that are subject to abiotic and biotic actions. When a river is altered, it changes the natural flow of nutrients and sediments. In addition, the use of organophosphates in monocultures near streams and rivers can result in their contamination. Physical alterations in the river bed, added to contamination through substances with mutagenic potential, can generate deleterious and cumulative effects on organisms in aquatic ecosystems. Therefore, the study of monitoring aquatic ecosystems is necessary and pertinent. Therefore, the present study aimed to evaluate the possible ecotoxicological effects on *Astyanax bifasciatus*, an endemic fish species from southern Brazil. The fish were collected at points with different degrees of anthropic activity in the middle Iguaçu basin (SC). We used the methodology of analysis of nuclear alterations (micronucleus), and activity of the acetylcholinesterase enzyme (AChE). The results of our work pointed out that in the three sampling sites, fish exhibited micronuclear abnormalities. The tests of acetylcholinesterase enzyme activity showed differences in its activity when compared between the groups collected in different sampling sites, Rio Timbó-SC and Rio Pintado-SC. Our results reinforce the hypothesis that water systems receiving untreated urban effluents, combined with possible xenobiont agents from nearby monocultures and environmental changes, can lead to cellular alterations at the nuclear/enzymatic level. Therefore, the constant monitoring of aquatic ecosystems is increasingly pertinent, given the contemporary challenges in maintaining a balance between human activity and the preservation of natural resources.

**Keywords:** *Astyanax bifasciatus*; micronucleus; acetylcholinesterase; alterations.

**Artigo recebido em:** 29/06/2023

**Artigo aprovado em:** 30/10/2023

**Artigo publicado em:** 14/11/2023

## INTRODUÇÃO

Os rios são sistemas que representam um conjunto integrado de fatores bióticos e abióticos que regulam a integridade ambiental e a estrutura populacional<sup>1</sup>. Quando um rio passa por intensas modificações de atividades antropogênicas, como construção de barragens e remoção de areia, há alteração do fluxo natural de nutrientes, sedimentos e redução da heterogeneidade ambiental para a biota residente, conduzindo um rio a um habitat lântico homogêneo<sup>2,3</sup>.

O rio Pintado é um afluente da bacia do rio Iguaçu, localizado no norte do estado de Santa Catarina (sul do Brasil). Nasce da junção dos rios Tamanduá e Liso, e desagua no rio Iguaçu. Este sistema lótico tem uma extensão original de 33.016 km, com meandros. No entanto, esse rio foi alterado para ser mais retilíneo, e sua extensão foi reduzida para 18,460 km (Prefeitura de Porto União, 2013). A retirada dos meandros foi devido a atividades antrópicas<sup>1</sup>. Estudando três bacias hidrográficas no Brasil, verificaram que esse tipo de alteração nos rios caracteriza efeito deletério sobre a distribuição, diversidade e abundância de espécies de peixes, e isso ocorre porque há grandes mudanças na composição de espécies na jusante e poucas espécies conseguem sustentar maiores abundâncias nesses ambientes empobrecidos a jusante. A forma do canal aliada à perda da vegetação ripária altera a ocorrência de espécies, pois a composição e a configuração espacial das comunidades vegetais ripárias, podem ter uma influência importante na forma do canal e nos processos fluviais<sup>4</sup>. No caso do rio Pintado, as alterações físicas na vegetação ripária e na forma do canal, são decorrentes da ocupação das margens para residências urbanas, terras agrícolas e mineração. Além das alterações físicas no rio, essas atividades contribuem potencialmente com esgoto não tratado, fertilizantes e pesticidas, e podem interagir com a biota aquática, através da teia trófica, aumentando o risco ecológico para o ecossistema<sup>5,6</sup>. A preocupação com esse afluente da bacia do Iguaçu aumenta porque há uma lacuna sobre sua ictiofauna.

Um ambiente com a caracterização do rio Pintado pode estar poluído e neste caso, avaliar a saúde dos organismos é muito importante para discutir a qualidade da água e a variedade de produtos químicos<sup>7</sup>. Assim, os biomarcadores podem registrar uma resposta individual dos peixes aos fatores de stress na água<sup>8</sup>. Há estudos que mostraram efeitos neurotóxicos, com redução da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), bem como anormalidades nucleares em rios com mistura de poluentes, e em rios com influência de pesticidas<sup>9,10</sup>. Além disso, alguns estudos sugerem a formação de micronúcleos e anormalidades nucleares em algumas espécies de peixes, quando expostas a concentrações de pesticidas e metais, por exemplo<sup>11,12</sup>. O rio Pintado, por ser afluente do rio Iguaçu, um dos maiores rios do Sul do Brasil e a maior bacia hidrográfica do estado do Paraná, desempenha um papel importante na qualidade da água, pois contribui com o principal rio da bacia. O Rio Iguaçu é um importante recurso hídrico, pois é utilizado para distribuição pública de água potável e abastecimento industrial, e esta bacia possui uma alta taxa de endemismo de sua ictiofauna<sup>13</sup>. É importante discutir que o rio Iguaçu reúne um conjunto de fatores que representa pressão seletiva, como degradação de habitat, introdução de espécies exóticas, poluição e exploração comercial dos recursos

hídricos, por isso é considerado o segundo rio mais poluído do Brasil, sendo que parte deste é originado em afluentes<sup>14,15</sup>.

Como a ocorrência das espécies está relacionada com as condições do rio e o rio Pintado é afluente de um importante rio utilizado para abastecimento público com captação direta, o objetivo foi estudar um biomonitor de acordo com a ictiofauna presente e verificar possíveis efeitos ecotoxicológicos em uma espécie de peixe endêmica. Esta investigação testou a hipótese de que as condições ecológicas empobrecidas conduzem a uma baixa ocorrência de peixes e a efeitos ecotoxicológicos em espécies endêmicas e também estendendo-se, para um problema de saúde pública local.

## **METODOLOGIA**

### **CARACTERIZAÇÃO DO RIO PINTADO/ ÁREA DE AMOSTRAGEM**

O presente estudo foi realizado no rio Pintado, localizado em Porto União, estado de Santa Catarina, sul do Brasil. Com o objetivo de estabelecer espécies bioindicadoras neste rio, foram realizadas coletas de peixes, num total de seis amostras, em uma área de extração de areia (26°16'01.9"S, 51°03'22.1"W). Após identificarmos os peixes presentes na área, escolhemos as espécies endêmicas para avaliar a qualidade da água.

Para testar a qualidade da água através de possíveis efeitos ecotoxicológicos, amostramos as espécies biomonitoras em três pontos amostrais com diferentes características e distâncias do rio Iguaçu. O ponto amostral 1 (26°21'04.9"S, 51°03'41.7"W) foi a confluência dos rios Liso e Tamanduá, localizado na nascente, com vegetação nas bordas, caracterizado por ser mais preservado. O ponto amostral 2 (26°16'01.9 "S,51°03'22.1 "W) é um trecho do rio, após uma cachoeira. Este ponto apresenta o início da interferência antrópica com a extração de areia, agricultura e casas do entorno. O ponto amostral 3 (26°14'37.8 "S, 51°03'47.6"W) está na foz que desemboca no rio Iguaçu, com extração de areia e dejetos de esgoto da população humana do entorno. Assim foi estabelecida uma área de referência para amostragem das espécies de peixes, para servir como grupo de referência para comparação com o rio Pintado. Essa área foi no rio Timbó (26°25' 45.4'S', 50° 50' 46.1"W), um rio sem influência antrópica, com vegetação ripária, fluxo natural e sem evidências de atividade agrícola ou extração de areia.

Foram realizadas seis amostragens, utilizando rede de pesca (30 x 1,70m). Em cada amostragem, foi feito um esforço de 24h com pesca diurna. Todos os peixes coletados no campo, foram previamente identificados, e no laboratório os peixes foram fixados. O material foi depositado na coleção do laboratório de zoologia da UNESPAR, *campus* de União da Vitória, Paraná, Brasil. A captura dos espécimes foi autorizada pela licença do IBAMA número SISBIO 42950-1. Parâmetros químicos e físicos, como: oxigênio dissolvido (OD), pH, temperatura do ar/ água e o total de carbon dissolvido, foram mensurados através de kit de titulação.

## Espécies biomonitoras

Foi estabelecida uma espécie como biomonitor: *Astyanax bifasciatus*. Esta espécie foi escolhida por ser uma espécie nativa, apresentando ocorrência no rio Pintado. Para proceder à análise da qualidade da água tendo em conta a saúde dos peixes, foram escolhidos três pontos de amostragem para a recolha de peixes (5 peixes ponto 1 + 5 peixes ponto 2 + 5 peixes ponto 3 =15). As três amostragens foram efectuadas no período seco.

Peixes do rio Timbó foram coletados e mantidos em aclimação durante 70 dias (n=10). Este rio foi considerado área de referência por não apresentar a mesma pressão na água e na margem que o rio Pintado. Nesse mesmo período os peixes foram coletados no rio Timbó, região caracterizada por ter pouca interferência antrópica e ciliar preservada<sup>11</sup>. Os pontos foram localizados na balsa e na ponte de divisa dos municípios de Irineópolis e Porto União, SC (26°25'45"S, 50° 50'46.1 "W).

No laboratório, os peixes foram anestesiados; e o sangue foi retirado da veia caudal utilizando uma seringa heparinizada para biomarcadores de genotoxicidade e eutanásia por secção medular. Imediatamente, o cérebro inteiro e uma amostra de músculo axial foram retirados e colocados em criotubos e armazenados em nitrogénio líquido. A captura dos espécimes foi autorizada pelo IBAMA no rio Pintado (licença SISBIO 35071-1), rio Timbó (SISBIO 42950-1), e os procedimentos de extração de material biológico em laboratório, foram autorizados pela comissão de ética da UNESPAR, número 63221022014.

## Biomarcadores

Biomarcador de genotoxicidade: o teste do micronúcleo foi efetuado de acordo com a técnica descrita por<sup>16</sup>. Para cada peixe recolhido, foi preparada uma lâmina de vidro utilizando uma amostra de sangue da veia caudal. A lâmina com um esfregaço fino de sangue foi seca à temperatura ambiente durante 24 horas e fixada em etanol absoluto durante 30 minutos. Cada lâmina foi posteriormente corada com solução de Giemsa a 10% durante 13 minutos. Foram analisados dois mil eritrócitos por peixe, com uma ampliação de 400x (microscópio ótico Nikon), e avaliados quanto à presença de micronúcleos típicos e de alterações nucleares (blebbed, lobed, notched e vacuolated) que se manifestavam como alterações da forma elíptica normal dos núcleos<sup>17</sup>.

## Neurotoxicidade

Cérebro e músculo axial foram homogeneizados em tampão fosfato (0,1 M) a pH 7,5 na proporção de 1:10 (massa/volume) e centrifugados a 10000xg durante 20 min, a 4 °C. A atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi medida espectrofotometricamente a 405 nm, modificado para microplaca<sup>18,19</sup>. Cada ensaio enzimático foi realizado em triplicata. A concentração de proteínas do homogenato

tecidual no fígado, cérebro e músculo axial foi realizada de acordo com o método de Bradford, utilizando albumina sérica bovina como padrão <sup>20</sup>.

## ANÁLISE DOS DADOS

Os dados relativos às anomalias nucleares foram testados quanto à normalidade, utilizando os pressupostos estatísticos da normalidade de Shapiro Wilk e da homocedasticidade de Levene. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para avaliar as diferenças nos resultados dos biomarcadores entre os pontos de recolha. Foi considerado um nível de significância de 0,05 para todos os testes aplicados. As análises e gráficos foram realizados no software R 3.3.1.

## RESULTADOS

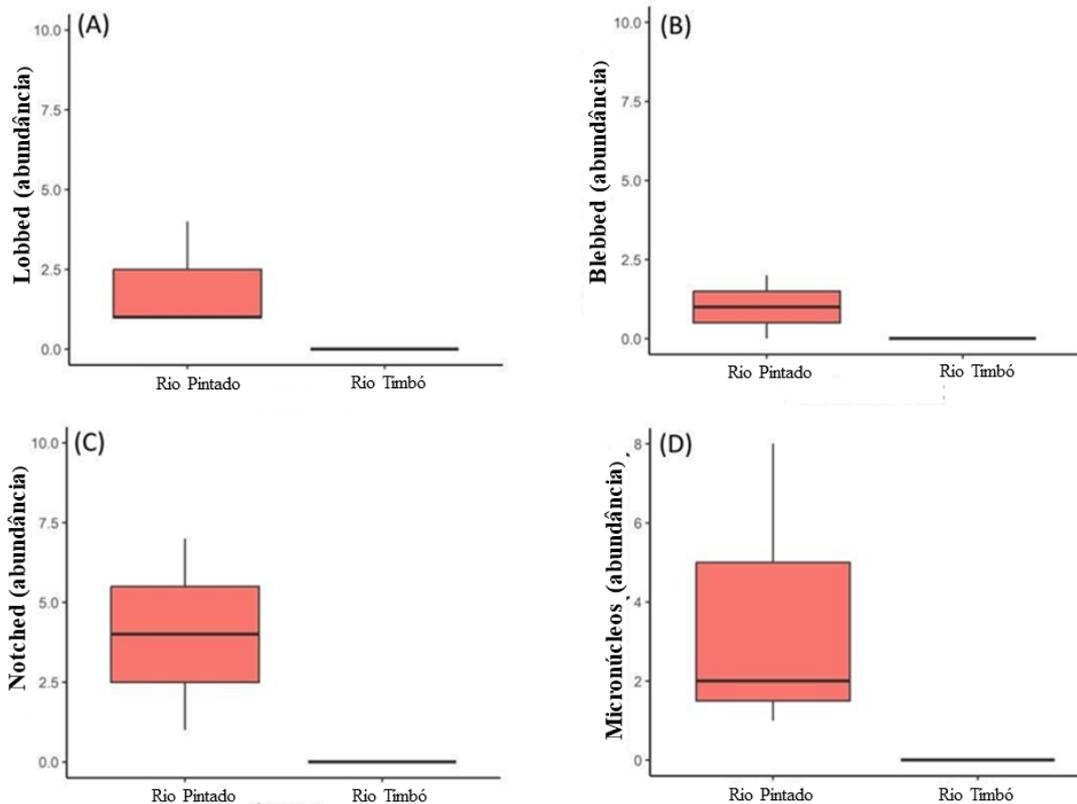
Os parâmetros físicos e químicos da água analisados não apresentaram diferença significativa durante o período de amostragem (Tabela 1).

**Tabela 1** – Variáveis abióticas: OD= oxigênio dissolvido %; pH; T.H<sub>2</sub>O = temperatura da água (°C); T.H<sub>2</sub>O = temperatura do ar; C= condutividade eléctrica. Os valores mais altos e mais baixos estão a negrito

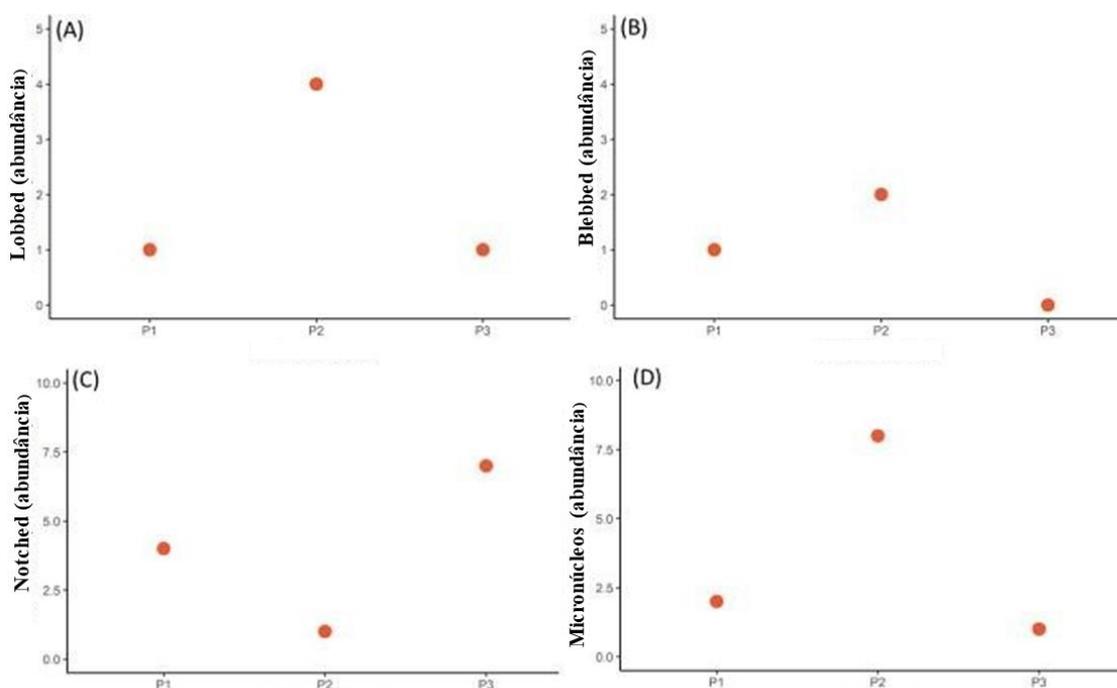
Amostragem	O.D.%	pH	T.H <sub>2</sub> O	T.air	C
Amostragem 1	<b>7.14</b>	7.11	<b>21.1</b>	25.6	42.1
Amostragem 2	89.3	<b>7.61</b>	<b>25.1</b>	<b>28</b>	<b>54.6</b>
Amostragem 3	<b>108.8</b>	7.24	23.7	<b>28</b>	<b>41.0</b>
Amostragem 4	74.1	6.06	22.8	<b>22.5</b>	49.2
Amostragem 5	96.7	<b>5.76</b>	21.6	23.4	49.2

## BIOMARCADORES

Quanto aos biomarcadores, não foram encontradas anormalidades no rio de referência (Rio Timbó) (Figura 1). Em contrapartida, os 3 pontos estabelecidos para os biomarcadores de genotoxicidade, no rio Pintado, as anormalidades encontradas foram lobbed, blebbed, notched e micronúcleos (Figura 2). O ponto 1 foi o menos proeminente em relação às alterações nucleares e micronucleares, o que pode estar relacionado ao fato de haver menor interferência antrópica neste ponto. O contrário foi observado nos pontos 2 e 3 que apresentaram o maior número de anormalidades nucleares (notched), e micronúcleos ( $p < 0,05$ ) (Figura 2).

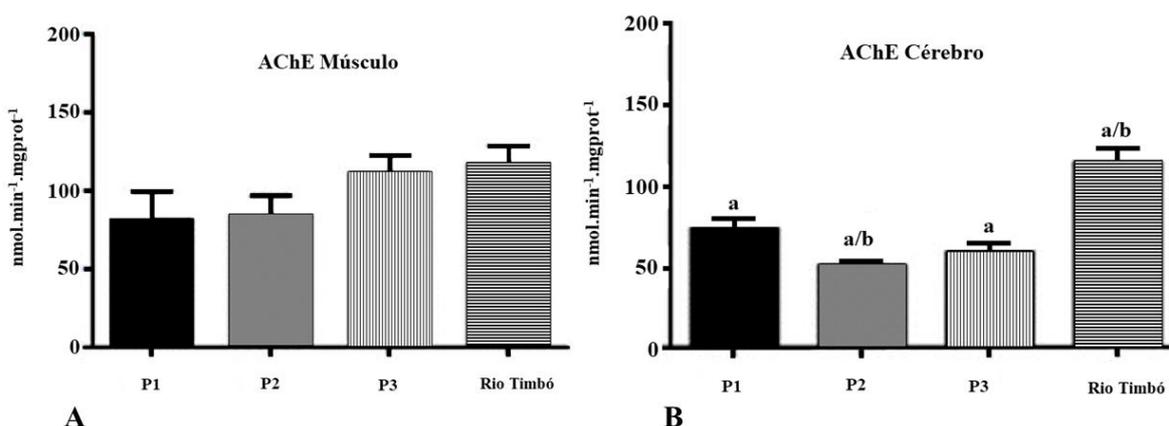


**Figura 1** – Média das anomalias nucleares dos indivíduos coletados nos rios Pintado e Timbó: (A) Lobbed, (B) Blebbed, (C) Notched e (D) Micronúcleos.



**Figura 2.** Frequências de anomalias por lâmina observadas em *Astyanax bifasciatus* entre pontos do rio Pintado.

A análise da atividade enzimática da AChE muscular em *Astyanax bifasciatus*, foi menor nos três pontos analisados do rio Pintado, quando comparado ao rio Timbó, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. No rio Pintado a atividade da AChE muscular foi reduzida nos pontos 1 e 2. Para a atividade da AChE cerebral observamos uma redução significativa entre o ponto 2 e a referência (Rio Timbó) ( $p < 0,05$ ) (Figura 3).



**Figura 3.** Atividade da acetilcolinesterase muscular (A) e cerebral (B) em peixes da espécie *Astyanax bifasciatus*. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

As anormalidades nucleares e micronúcleos, e redução da atividade da AChE foram observadas apenas nos pontos do rio Pintado, corroborando nossa hipótese principal. O rio Pintado é um afluente da porção média do rio Iguaçu, que possui ocupação urbana massiva com evidências de poluição química<sup>21</sup>. Nos pontos analisados, a presença de alterações nucleares, incluindo os micronúcleos e a redução da atividade da AChE, indicam intensa interferência antropogênica (extração de areia, vilas do entorno e agricultura). Entretanto, nos pontos localizados na nascente e no rio Timbó, não foram observadas alterações nucleares e a atividade da AChE não foi reduzida. Resultado de outro estudo fazendo o uso de diferentes biomarcadores denominados Integrated Biomarkers Response Index (IBR), aplicaram esse índice utilizando as alterações biológicas avaliadas em diversos órgãos do peixe neotropical *Astyanax altiparanae* monitorados *in situ* em cinco pontos ao longo de um riacho localizado em área de produção agrícola<sup>22</sup>. Os autores encontraram alterações nos níveis de glutathione-S-transferase (GST), catalase (CAT), aumento do teor de glicose reduzida (GSH) no fígado e nas brânquias, redução da atividade da acetilcolinesterase (AChE) no músculo e no cérebro, aumento das quebras de DNA e da frequência de micronucleose (MN), e alterações nucleares (ENA) nos eritrócitos do peixe<sup>22</sup>.

As frequências de anomalias nucleares observadas em peixes podem estar relacionadas com um período crônico de exposição a xenobióticos no ecossistema aquático<sup>11</sup>. A presença de diferentes concentrações de poluentes pode ser responsável pelo aumento das anormalidades nucleares<sup>23</sup>. Essa ocorrência nos

ambientes aquáticos, têm efeitos tóxicos sobre os organismos, efeitos subletais e não apenas mortalidade, com diferentes tipos de anormalidades nucleares (por exemplo, lobbed, blebbed, notched e micronúcleo), ocasionando um elevado número de anomalias nucleares em peixes expostos a diferentes tipos de pesticidas<sup>12</sup>.

A reduzida atividade da enzima AChE cerebral contribuiu para um sinal de alerta sobre o rio Pintado, neste estudo, pode ser resultado da falta de tratamento adequado das águas residuais, e pelas atividades industriais e agrícolas, que possivelmente utilizam este rio como destino final dos resíduos gerados. *Astyanax* tem sido amplamente utilizado como modelo biológico para biomonitoramento da qualidade da água. Testes de exposição em laboratório com o pesticida Azinfós-Metil em *Astyanax* e o biomonitoramento em campo apontou que, embora *Astyanax* exiba bom comportamento e tolerância vital ao azinfos-metil, a espécie possui uma AChE cerebral que é prontamente inibida pela exposição dos peixes a substâncias em baixas concentrações tóxicas<sup>24</sup>. Além disso, esta AChE cerebral responde de forma previsível e linear a uma vasta gama de concentrações de organofosforados e assim, embora os peixes possam ter uma grande plasticidade, a atividade da AChE mostra uma resposta eficaz a substâncias químicas, especialmente organofosforados<sup>24</sup>. A atividade enzimática da AChE pode ser utilizada como biomarcador do estado fisiológico dos peixes. Os efeitos neurotóxicos desses compostos em peixes podem alterar o comportamento de natação, a capacidade de alimentação e conseqüentemente afetar o crescimento, a sobrevivência e o sucesso reprodutivo<sup>25</sup>.

O Brasil é um país com grande extensão de áreas cultivadas por monoculturas, e os defensivos agrícolas são amplamente utilizados de Sul a Norte. Estudando a toxicidade aguda de um pesticida à base de deltametrina (PBD) no peixe elétrico neotropical *Microsternarchus cf. bilineatus*, foi observado que embora as alterações na AChE não tenham sido significativas, houve um aumento significativo na GST (glutathione S-transferase) nos peixes (músculo e fígado) indicando um mecanismo de eliminação desse xenobiótico nesse tecido, resultante do estresse oxidogenerado<sup>26</sup>. Em condições de campo, a resposta dos biomarcadores não está normalmente relacionada com um contaminante específico, mas sim com uma mistura de substâncias presentes no ambiente, pelo que é complexo interpretar os dados de biomonitorização ambiental, devido às múltiplas fontes de xenobióticos nos ecossistemas de água doce<sup>27,21</sup>. Foi realizado o estudo do efeito do 2-etil-hexil 4-metoxicinamato (EHMC), um filtro ultravioleta orgânico, amplamente utilizado pela população e pela indústria, que tem sido detectado na água e na comunidade ecológica<sup>28</sup>. Nesse mesmo trabalho, foram utilizados dois modelos biológicos, *Oreochromis niloticus* e *Astyanax altiparanae*, embora no seu resultado de alteração à AChE, não tendo sido significativo, foi observado um aumento expressivo da alteração morfológica nuclear do tipo vacuolado em *A. altiparanae* exposto à maior concentração estudada, sugerindo um potencial efeito genotóxico<sup>28</sup>.

Outro xenobiótico muito utilizado em cultivos de peixes para o controle de parasitas é o cobre (CuSO<sub>4</sub>), assim foi utilizado *Rhamdia quelen* e *Oreochromis niloticus* como modelos biológicos, expostos a três concentrações de cobre, e observou-se que houve inibição da acetilcolinesterase, tanto no cérebro quanto no músculo de *R. quelen*, porém em *O. niloticus* não houve alteração na atividade da AChE<sup>29</sup>. Os autores sugerem que houve impactos nas espécies analisadas, mas não

de forma idêntica<sup>29</sup>. A região de Porto União-SC/ União da Vitória-PR, apresenta grande potencial hídrico, o que estimula a atividade da piscicultura familiar na região. Efluentes de tanques frequentemente escavados podem escoar para rios e córregos da região, culminando no aumento de fatores xenobióticos pré-existentes. É importante também considerar até que ponto as alterações bioquímicas de uma determinada população podem vir a afetar a saúde desta ou de todo o ecossistema<sup>30</sup>. Portanto, destaca-se a importância de mais estudos no afluente do Rio Iguaçu para conhecer sua integridade ambiental.

## CONCLUSÃO

Com base nos achados do nosso estudo, é possível indicar que as ações antrópicas associadas à urbanização nas proximidades dos leitos dos rios e córregos têm impacto substancial na qualidade da água. Podemos inferir também que áreas de rios e córregos que são adjacentes à monocultura, são mais suscetíveis ao processo de lixiviação, culminando no lançamento de substâncias mutagênicas e nocivas ao ecossistema aquático que promovem efeitos ecotoxicológicos sobre as espécies endêmicas, principalmente sobre os peixes. Tais eventos mencionados, podem gerar também um problema de saúde pública, através da utilização da água desses córregos para consumo humano sem o devido tratamento, ou até mesmo, substâncias que não conseguem ser retiradas no processo de tratamento convencional em estações de tratamento.

## AGRADECIMENTO

Universidade Estadual do Paraná (UNESPAR), *campus* União da Vitória-PR, por todo o apoio logístico e experimental durante as análises deste trabalho e ao Laboratório de Toxicologia Ambiental da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

## REFERENCIAS

- 1- Ganassin MJM, Muñoz-Mas R., Oliveira FJM, Muniz CM, Santos NCL, García-Berthou E, Gomes LC. Effects of reservoir cascades on diversity, distribution, and abundance of fish assemblages in three Neotropical basins. *Sci. Total Env.* (Online), 778, 146246. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146246>.
- 2- Grill G, Lehner B, Thieme M, Geenen B, Tickner D, Antonelli et al. Mapping the world's free-flowing rivers. *Nature* (Online), 569, 215–221. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1111-9>.
- 3- Santos NCL, Dias RM, Alves DC, Melo BAR, Ganassin MJM., Gomes, LC, Severi W, Agostinho AA. Trophic and limnological changes in highly fragmented rivers predict the decreasing abundance of detritivorous fish. *Ecol. Indic.* (Online), 110, 1–8. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105933>

- 4-Merritt DM. Reciprocal relations between riparian vegetation, fluvial landforms, and channel processes. In: Shroder, J. (Editor in Chief), Wohl, E., ed., *Treatise on Geomorphology*. San Diego, CA: Academic Press, 9, Fluvial Geomorphology, 219–243. 2013.
- 5-Jesus TB, Carvalho CEV. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecol. Bras.*, 12:4, 7. 2008.
- 6-Rosa J, Oliveira FR, Pereira LF, Melo-Silva M, Bueno-Krawczyk ACDD. Temporal variation in Oligochaeta species composition in an anthropized stretch of a Neotropical urban river. *Int. J. Limnol.* (Online), 58, 6. 2022. <https://doi.org/10.1051/limn/2022006>.
- 7-Livingstone DR. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physiol., A: Comp. Physiol.* (Online), 120:1, 43-49.1998. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10008-9](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10008-9).
- 8-Zhou Q, Zhang J, Fu J, Shi J, Jiang G. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta.* (Online), 606 (2), 135-150. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>.
- 9-Calado SLM, Andrade MC, Garrido F, Pelanda A, Lirolla J; Salgado LD; Cestari MM, Silva de Assis HC. Biochemical and genotoxicity assessment of polluted urban river using the native fish *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae). *Ecotoxicol. Environ. Contam.*, 14: 1, 73-77. 2019. <https://doi.org/10.5132/eec.2019.01.09>.
- 10-Sirin GS, Zhang, Y. How Is Acetylcholinesterase Phosphonylated by Soman? An Ab Initio QM/MM Molecular Dynamics Study. *J. Phys. Chem. A* 118, 9132–9139. 2014. <https://doi.org/10.1021/jp502712d>.
- 11-Melo-Silva M, Oliveira FR, Rosa J, Gemelli E, Santos L, De Deus Bueno-Krawczyk AC. Comparison of nuclear abnormalities in *Astyanax bifasciatus* Cuvier, 1819 (Teleostei: Characidae) of two sections of rivers from the middle Iguaçu. *Acta Scien. Bio. Sci.* (Online), 40, 1-8. 2018. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v40i1.40669>.
- 12-Lechinovski L, Bados M, Rosa J, Moda DB, Bueno-Krawczyk ACDD. Ecotoxicological effects of conventional herbicides and a natural herbicide on freshwater fish (*Danio rerio*). *J. Environ. Sci. Health, Part B* (Online), 57:10, 812-820. 2022. <https://doi.org/10.1080/03601234.2022.2122664>.
- 13-Yamamoto FY, Pereira MVM, Lottermann E, Santos GS, Stremel TRO, Doria HB, Gusso-Choueri, P, Campos, SX, Ortolani-Machado, CF, Cestari, MM, Filipak Neto, F., Azevedo, JCR, Oliveira Ribeiro, CA. Bioavailability of Pollutants Sets Risk of Exposure to Biota and Human Population in Reservoirs from Iguaçu River (Southern Brazil). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* (Online), 23, 18111–18128. 2016. <https://doi: 10.1007/s11356-016-6924-6>.

- 14-Ibge. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Dados do Censo., 2010 Retrieved in 2023, May, from <http://www.censo2010.ibge.gov.br/>.
- 15-Souza-Bastos LR, Bastos LP, Carneiro PCF, Guiloski IC, Assis HCS; Padial AA, Freire CA. Evaluation of the Water Quality of the Upper Reaches of the Main Southern Brazil River (Iguaçu River) through *in situ* Exposure of the Native Siluriform *Rhamdia quelen* in Cages. Environ. Pollut. (Online), 231, 1245–1255. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.071>.
- 16-Hoofman RN, Raat WK. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmaea* by ethyl methanesulphonate. Mutat. Res. (Online), 104(1-3), 147-52. 1982. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(82\)90136-1](https://doi.org/10.1016/0165-7992(82)90136-1).
- 17-Ayllon F, Garcia-Vazquez E. Induction of Micronuclei and Other Nuclear Abnormalities in European Minnow *Phoxinus phoxinus* and Mollie *Poecilia latipinna*: Na Assessment of the Fish Micronucleus Test. Mutat. Res. (Online), 467, 177–186. 2000. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00033-4)
- 18-Ellman GL, Courtney KD., Andres Jr V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol., 7:2, 88-95.1961. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- 19-Silva de Assis HC. Der Einsatz von Biomarkern zur Summarischen Erfassung von Gewässerverschmutzungen. 99 p. Tese de Doutorado. Universidade Técnica de Berlim, Alemanha. 1998.
- 20-Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. (Online), 72:1-2, 248-254. 1976. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- 21-Bueno-Krawczyk ACD; Guiloski IC; Piancini LDS; Azevedo JC; Ramsdorf WA; Ide AH; Cestari, MM, Silva de Assis, HC. Multibiomarker in fish to evaluate a river used to water public supply. Chemosphere (Online), 135, 257-264. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.04.064>.
- 22-Vieira CED, Almeida MS, Galindo BA, Pereira L, Martinez CBR. Integrated biomarker response index using a Neotropical fish to assess the water quality in agricultural areas. Neotropical Ichthyology. (Online), 12:1, 153-164. 2014. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252014000100017>.
- 23-Botelho RG, Monteiro SH, Christofolletti CA, Moura-Andrade GCR, Tornisielo VL. Environmentally Relevant Concentrations of Atrazine and Ametrine Induce Micronuclei Formation and Nuclear Abnormalities in Erythrocytes of Fish. Arch. Environ. Contam. Toxicol. (Online), 69, 577–585. 2015. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0171-6>.

- 24-Pistone G, Eguren G, Rodriguez-Ithurralde D. Inhibition, recovery and field responses of *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) brain cholinesterases upon exposure to azinphos-methyl. J. Braz. Soc. Ecotoxicol. (Online), 7, n. 2, 93-102. 2012. <https://doi:10.5132/jbse.2012.02.014>.
- 25-Bridi D, Altenhofen S, Gonzalez J.B, Reolon GK, Bonan CD. Glyphosate and Roundup alter morphology and behavior in zebrafish. Toxicology (Online), 392, 32– 39. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.10.007>.
- 26-Chaves VS, Marcon JL, Duncan WP, Alves-Gomes JA. Acutetoxicity of a delta methrin based pesticide (DBP) to the Neotropical electric fish *Microsternarchus* cf. *bilineatus* (Gymnotiformes). Acta Amazonica (Online), 355-362. 2020. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201904001>
- 27-Ghisi NC, Oliveira EC, Guiloski IC, Lima SB, Assis HCS, Longhi SJ, Prioli AJ. Multivariate nad integrative approach to analyze multiple biomarkers in ecotoxicology: A field study in Neotropical region. Sci. Total Environ., 609, 1208-1218. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.266>.
- 28-Oselmann IB, Nagata WAR. Avaliação da toxicidade do fotoprotetor 2-etilhexil 4-metoxicinamato em *Oreochromis niloticus* e *Astyanax altiparanae*. Dissertação de mestrado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná -UTFPR. 2022.
29. Boareto AC, Giareta EP, Guiloski IC, Rodrigues MS, Freire CA, Silva-de-Assis HC. Effects of short-term exposure to copper on biochemical biomarkers in juvenile fresh waterfish. Pan-Amer. J. Aquat. Sci. (Online), 13(2):135-147, 2018.
30. Van Der Oost R, Beyer J, Vermeulen NP. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol. (Online), 13:2, 57-149. 2003. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6).