



**Universidade Federal do Oeste do Pará**  
**Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação Tecnológica**  
**Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas**  
**Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos**

**CÉLULAS MUCOSAS BRANQUIAIS DE *Hemigrammus levis***  
**DURBIN, 1908 COMO BIOMARCADORAS AMBIENTAIS NO LAGO**  
**JUÁ, SANTARÉM, PA, BRASIL**

**TATIANE DA SILVA SANTOS**

Santarém - PA  
Março de 2019

**TATIANE DA SILVA SANTOS**

**CÉLULAS MUCOSAS BRANQUIAIS DE *Hemigrammus levis*  
DURBIN, 1908 COMO BIOMARCADORAS AMBIENTAIS NO LAGO  
JUÁ, SANTARÉM, PA, BRASIL**

ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. LENISE VARGAS FLORES DA SILVA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestra em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos pela Universidade Federal do Oeste do Pará.

Santarém - PA  
Março de 2019

**TATIANE DA SILVA SANTOS**

**CÉLULAS MUCOSAS BRANQUIAIS DE *Hemigrammus levis*  
DURBIN, 1908 COMO BIOMARCADORAS AMBIENTAIS NO LAGO  
JUÁ, SANTARÉM, PA, BRASIL**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestra em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos pela Universidade Federal do Oeste do Pará.

Aprovado em 27 de fevereiro de 2019.



**Dr. MICHELLE MIDORI SENA FUGIMURA, UFOPA**

Examinador Externo ao Programa



**Dr. YNGLEA GEORGINA DE FREITAS GOCH, UFOPA**

Examinador Interno



**ANDREA PONTES VIANA, UFPA**

Examinador Interno



**Dr. DIEGO MAIA ZACARDI, UFOPA**

Presidente



**TATIANE DA SILVA SANTOS**

Mestrando

Santarém - Pará  
Março de 2019

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

S237c Santos, Tatiane da Silva  
Células mucosas branquiais de *Hemigrammus levis* Durbin, 1908 como biomarcadoras ambientais no lago Juá, Santarém, PA, Brasil / Tatiane da Silva Santos. – Santarém : UFOPA, 2019.  
43 f.: il.  
Inclui bibliografias.

Orientadora: Lenise Vargas Flores da Silva  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos.

1. Peixes. 2. Antropização. 3. Biomonitoramento. I. Silva, Lenise Vargas Flores da, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 597.09811

**Sinopse**

Estudou-se a morfologia branquial das espécies de peixes coletadas no Lago Juá, município de Santarém - PA. Foram avaliadas densidades de células mucosas e variáveis físico-químicas da água.

**Palavras-chave:** antropização, biomonitoramento, brânquias, peixes

Dedico este trabalho aos meus pais **Alonso e Eunice**, por todos os ensinamentos recebidos ao longo da minha vida. Ao meu esposo **Márcio**, pelo apoio incondicional durante esta pesquisa. Aos meus filhos **Márcio Júnior, Henrique Lui e Emanuel Cauê**, meus presentes de Deus.

## **Agradecimentos**

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por me dar forças em todos os momentos que pensei em desistir.

À prof<sup>a</sup> Lenise Vargas Flores da Silva, minha orientadora, por me ensinar a enxergar a pesquisa de forma mais atraente.

À equipe da Coleção Ictiológica da Universidade Federal do Oeste do Pará, em especial ao Prof. Frank Raynner Vasconcelos Ribeiro e aluno Marcos, e aos demais, que ajudaram durante as coletas de peixes.

Aos colegas do Laboratório de Química Multiusuário da UFOPA, em especial ao Hugo Napoleão, pelo auxílio nas análises laboratoriais e estatísticas.

Aos colegas Elcimara, Elen, Sand, Jonas, Lena, Matheus Roger, Daiane e Elzamara, pelo apoio durante as análises de água e processos histológicos.

Aos colegas da turma RACAM/2017, pelo compartilhamento de informações e conhecimento, sempre com muita parceria.

À Coordenação do PPG-RACAM (Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos), pela oportunidade de mestrado.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa.

À minha família, pelo apoio e pela paciência nos momentos de desafios.

Obrigada!

No meio do lago, no meio do lago  
Do lago Juá,  
Mora uma cobra grande  
Conhecida por mbóia,  
Serviçal de perudá (calundum vai passar)...

(Maria Lídia - Calundum da mbóia)



## Resumo

A poluição aquática é um dos grandes problemas ambientais da atualidade e a biota aquática é uma das mais afetadas pelo desenvolvimento urbano. Os peixes são animais extremamente sensíveis, pois podem ser contaminados através da absorção direta de substâncias do meio pelas brânquias ou pelo alimento ingerido. Esta pesquisa teve como objetivo principal avaliar as células mucosas da espécie *Hemigrammus levis* coletados no Lago Juá, Santarém, Pará, Brasil, como biomarcadoras ambientais, além de relacionar a densidade das células com as variáveis-físico-químicas da água do lago. Os pontos amostrais (1 e 2) foram definidos a partir de diferença geográfica e baseado em informações prévias de impacto ambiental e utilizados também para coleta de água. O ponto 1 ficava localizado nas proximidades de área antropizada e o ponto 2 encontrava-se próximo à área mais preservada. Utilizou-se ainda a Flona (Floresta Nacional do Tapajós) como ambiente controle. As coletas ocorreram durante 12 meses, de abril de 2017 a março de 2018. Os peixes ( $n=130$ ; comprimento padrão (cm)  $3,43 \pm 4,2$ , peso (g)  $0,73 \pm 0,24$ ) foram colocados em sacos plásticos com aeração constante antes da biometria e anestesiados em solução de eugenol (100 mg/L) para serem submetidos à dissecação e procedimento histológico das brânquias, além de marcação das células. Os cortes foram corados utilizando solução de Alcian Blue pH-2,5, Ácido Periódico e Reativo de Shiff. As células mucosas branquiais foram identificadas e quantificadas com o auxílio de microscópio acoplado com sistema de captação de imagem e programa de medidas interativas, obtendo-se assim a densidade de células em  $\text{mm}^2$ . As variáveis de água avaliadas foram pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, sódio, potássio, cloreto, amônia, dureza e alcalinidade, submetidas à análise de correlação de Pearson e regressão. A densidade de células mucosas foi analisada a partir do Teste de Mann-Whitney. A análise de variáveis de água mostrou maiores valores de condutividade ao longo de um ano no ponto 1.

As variáveis da Flona aproximaram-se do ponto 2, com maior concentração de oxigênio dissolvido e menor condutividade elétrica, sugerindo um ambiente preservado. Na espécie analisada observou-se que a densidade de células mucosas ácidas e neutras foi modulada mediante as alterações que ocorreram nas variáveis físico-químicas da água principalmente no período de água baixa. Os dados sugerem que o pH e o potássio são as variáveis mais importantes para este efeito. Portanto, sugere-se que o *Hemigrammus levis* é uma espécie potencial para ser visualizada como bioindicadora de qualidade ambiental do Lago Juá, visto que esta mostrou modulação das células mucosas frente a alterações ambientais.

**Palavras-chave:** antropização, biomonitoramento, brânquias, peixes

## Abstract

Water pollution is one of the major environmental problems of today and the aquatic biota is one of the most affected by urban development. Fish are extremely sensitive animals, as they can be contaminated through the direct absorption of substances from the environment by the gills or food ingested. The objective of this research was to evaluate the mucous cells of *Hemigrammus levis* collected in Lake Juá, Santarém, Pará, Brazil, as environmental biomarkers, in addition to correlating the density of the cells with the physical-chemical variables of lake water. The sampling points (1 and 2) were defined based on geographic difference and based on previous environmental impact information and also used for water collection. Point 1 was located near an anthropic area and point 2 was near the most preserved area. Flona (Tapajós National Forest) was also used as the control environment. Samples were collected for 12 months, from April 2017 to March 2018. Fish ( $n = 130$ , standard length (cm)  $3.43 \pm 4.2$ , weight (g)  $0.73 \pm 0.24$ ) were placed in plastic bags with constant aeration before biometry and anesthetized in eugenol solution (100 mg / L) to be submitted to the dissection and histological procedure of the gills, in addition to marking the cells. The sections were stained using Alcian Blue pH-2.5, Periodic Acid and Schiff React solution. The gill mucosa cells were identified and quantified with the aid of a microscope coupled with an image capture system and interactive measurement program, thus obtaining cell density in  $\text{mm}^2$ . The water variables evaluated were pH, temperature, dissolved oxygen, electrical conductivity, sodium, potassium, chloride, ammonia, hardness and alkalinity, submitted to Pearson correlation analysis and regression. The mucosal cell density was analyzed from the Mann-Whitney Test. The analysis of water variables showed higher values of conductivity over a year at point 1. Flona's variables approached point 2, with a higher concentration of dissolved oxygen and lower electrical conductivity, suggesting a preserved environment. In the species analyzed, it was observed that the density of acidic and neutral mucosal cells was modulated by the changes that occurred in the physicochemical variables of water, especially in the low water period. The data suggest that pH and potassium are the most important variables for this purpose. Therefore, it is suggested that *Hemigrammus levis* is a potential species to be visualized as an environmental quality bioindicator of Lake Juá, since it showed modulation of mucous cells in the face of environmental changes.

Key words: anthropization, biomonitoring, gills, fish

## Sumário

INTRODUÇÃO.....	10
1. Aspectos gerais da Amazônia.....	10
2. Impactos da urbanização e biomonitoramento ambiental.....	11
3. Uso de biomarcadores.....	11
4. Santarém-PA: crescimento populacional x impacto ambiental.....	13
OBJETIVOS.....	16
ARTIGO: Células mucosas branquiais de <i>Hemigrammus levis</i> como biomarcadoras ambientais no Lago Juá, Norte do Brasil.....	17
Resumo.....	17
Introdução.....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
Área de estudo.....	20
A espécie <i>Hemigrammus levis</i> .....	20
Pontos amostrais e análises de água.....	21
Análise histológica.....	22
Análise estatística.....	23
RESULTADOS.....	23
Análises de água.....	23
Relação entre as variáveis físico-químicas da água e a densidade de células mucosas.....	29
Densidade de células mucosas em relação aos pontos de coleta.....	32
DISCUSSÃO.....	32
Agradecimentos.....	34
Referências.....	34
Considerações finais.....	39
Referências Bibliográficas.....	39
Anexo A - Normas para submissão de artigo para revista Neotropical Ichthyology.....	44
Anexo B - Autorização para coleta - ICMBio.....	66

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Variáveis de água dos pontos 1 e 2 do Lago Juá e da Flona coletada nos meses de abril e novembro de 2017.....25
- Tabela 2.** Variáveis físico-químicas da água dos pontos amostrais (P1- antropizado) e (P2- preservado) nos períodos de água alta (AA) e água baixa (AB) no Lago Juá – Santarém – Pará - Brazil, entre abril de 2017 e março de 2018.....26
- Tabela 3.** Matriz de correlação gerada no Programa PAST version 3.22 para as variáveis físico-químicas de água mensuradas no Lago Juá de abril de 2017 a março de 2018 nos pontos 1 e 2.....27
- Tabela 4.** Matriz de correlação gerada no Programa PAST version 3.22 para as variáveis físico-químicas de água mensuradas no Lago Juá de abril de 2017 a março de 2018 nos períodos de água alta (março a agosto) e água baixa (setembro a fevereiro).....28
- Tabela 5.** Densidade de células mucosas branquiais dos *Hemigrammus levis* coletados no Lago Juá e Flona no período de abril de 2017 a março de 2018.....30
- Tabela 6.** Matriz de correlação entre variáveis físico-químicas de água e densidade de células mucosas nos pontos 1 e 2 ( $p < 0,05$ ).....31
- Tabela 7.** Matriz de correlação entre variáveis físico-químicas de água e densidade de células mucosas nos períodos de água alta (março/agosto) e água baixa (setembro/fevereiro) ( $p < 0,05$ ).....31
- Tabela 8.** Densidade de células mucosas branquiais (média  $\pm$  desvio padrão  $\text{mm}^2$ ) da espécie *Hemigrammus levis* coletada nos pontos 1 e 2 (Lago Juá) e Flona.....32

## INTRODUÇÃO GERAL

### 1. Aspectos gerais da Amazônia

A Amazônia abrange aproximadamente 60% do território brasileiro, possuindo a maior bacia hidrográfica do mundo com cerca de 6,8 milhões de Km<sup>2</sup> (Goulding *et al.*, 2003; Ropke, 2008). Está localizada na região Norte da América do Sul e seu principal rio, o Amazonas, nasce nos Andes peruanos e recebe águas de aproximadamente 1.100 tributários (Kuhn *et al.*, 2009).

De acordo com Parolin *et al.* (2005) os rios da Amazônia podem diferir fortemente em relação à química da água e aos sedimentos transportados. Três tipos diferentes de rios podem ser distinguidos: 1) rios de água branca, cuja coloração deve-se à carga de sedimentos transportados, oriundos de processos erosivos (várzea) (Ward *et al.*, 2013); 2) rios de água preta, que apresentam processos erosivos mais amenos, conseqüentemente com baixa carga sedimentar (igapó); 3) rios de água clara, que se caracterizam como transparentes, de cores esverdeadas, transportando pouco material em suspensão (Dias, 2007; Cunha, 2012; Cunha, 2013).

Associadas aos grandes rios da Amazônia estão as planícies inundáveis, que apresentam como principais características as florestas alagáveis, os lagos e os bancos flutuantes de plantas herbáceas (Junk *et al.*, 2011; Bleich *et al.*, 2014). Os lagos amazônicos têm baixa profundidade (cerca de 6 – 8 m no nível médio das águas), quase sempre variando com a flutuação anual do nível da água dos grandes rios. Por meio de sua conexão com o rio (paraná, canal de ligação) enchem durante o período de subida das águas e secam à medida que essas águas baixam de nível, sendo que alguns lagos secam parcialmente, enquanto outros ficam completamente secos no nível mais baixo das águas dos rios que os abastecem (Darwich *et al.*, 2005).

Além da grande diversidade de ambientes aquáticos reunidos em uma mesma bacia hidrográfica (Rebouças *et al.*, 1999; Silva, 2013), essa região contém uma das mais ricas diversidades de espécies de peixes de água doce do mundo (Reis *et al.*, 2003), com estimativa que pode variar entre 8.000 e 9.000 (Reis *et al.*, 2016).

## **2. Impactos da urbanização e biomonitoramento ambiental**

A instalação humana às margens dos rios resultou em processos de urbanização intensos em algumas partes da Amazônia. Resíduos são descartados em ambientes aquáticos e lançados em águas interiores. Portanto, a biota aquática é uma das mais afetadas pelo desenvolvimento urbano. Dentre as inúmeras fontes de poluição aquática podemos citar o lançamento de esgotos domésticos e industriais em corpos d'água, o que compromete a qualidade da água de inúmeros mananciais. Além disso, a existência de aterros sanitários e lixões próximos a rios, riachos, igarapés, ou mesmo nascentes, pode representar uma fonte de contaminação bastante perigosa (Piedade *et al.*, 2014).

O monitoramento ambiental é o acompanhamento sistemático da situação dos recursos ambientais dos meios físico e biótico, visando a recuperação, melhoria ou manutenção da qualidade ambiental. Por sua vez, a qualidade ambiental está relacionada ao controle de variáveis ambientais, que se alteram, seja em função das ações antrópicas, seja em função de transformações naturais (MMA, 2014). Um bioindicador ideal deve sobreviver em ambientes saudáveis, mas também apresentar resistência relativa ao contaminante que está exposto (Akaishi, 2004).

Os peixes são excelentes ferramentas no monitoramento de ambientes aquáticos, servindo como importantes bioindicadores, pois respondem de várias maneiras à contaminação (Schulz e Martins-Junior, 2001). Eles são animais extremamente sensíveis a poluentes aquáticos, e em especial, àqueles que afetam a permeabilidade à água e aos íons (Lupi *et al.*, 2007). Estão sujeitos a duplo perigo de contaminação por poluentes, pois podem ser contaminados através de absorção direta de substâncias do meio pelas brânquias ou pelo alimento ingerido (Pereira *et al.*, 2014). Sinais de toxicidade evidentes, como diminuição na tomada de alimento, perda do equilíbrio e da pigmentação, e morte, são precedidas por mudanças bioquímicas, fisiológicas e/ou morfológicas do organismo (Lupi *et al.*, 2007), que funcionam como respostas biológicas.

## **3. Uso de biomarcadores**

As modificações nos diferentes níveis biológicos (celulares, teciduais e sistêmicos) são indicativas dos danos que os contaminantes podem provocar nos peixes (Nogueira *et al.*, 2008). Tais modificações são conhecidas como biomarcadores. As duas características mais

importantes dos biomarcadores são: a) permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos; b) possibilitam a mensuração de efeitos subletais (Jesus e Carvalho, 2008). A histologia é uma ferramenta sensível para se diagnosticar efeitos tóxicos diretos e indiretos que afetem tecidos animais. Por isso é considerada um excelente método de avaliação de bioindicadores de impacto ambiental (Albinati *et al.*, 2009).

As brânquias constituem um órgão “chave” para o estudo das ações dos poluentes no meio aquático porque estão continuamente em contato com a água e possuem uma superfície de contato relativamente grande (Arellano *et al.*, 1999). A utilização de brânquias como biomarcadoras ambientais vem sendo comumente empregada em diversos trabalhos científicos (Winkaler *et al.*, 2001; Lupi *et al.*, 2007; Nogueira *et al.*, 2008; Albinati *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2014).

Este tipo de estudo fornece subsídios para a avaliação do ambiente em que se encontram, pois as brânquias são sensíveis a mudanças físicas e químicas do ambiente aquático e desempenham várias funções vitais, como osmorregulação, respiração e excreção, respondendo às variações ambientais do meio aquático, atendendo a uma necessidade funcional pela modificação quantitativa e constitutiva de suas células (Flores-Loppes e Thomaz, 2011).

As brânquias dos peixes teleósteos são constituídas por quatro arcos em cada lado da faringe. De cada arco branquial estendem-se duas fileiras de filamentos branquiais ou lamelas primárias, e acima e abaixo destes filamentos, a intervalos regulares, elevam-se as lamelas secundárias que são sítios de trocas gasosas. Cada lamela secundária é constituída por células pavimentosas apoiadas na membrana basal que revestem as células pilares. As células pilares possuem prolongamentos ou flanges, que em contato com os prolongamentos das células pilares adjacentes formam espaços por onde circula o sangue (Takashima e Hibiya, 1995).

Nas brânquias o sangue flui na lamela em direção oposta àquela da água, através de um plexo formado pelas células pilares. Este fluxo contracorrente ajuda na utilização eficiente do oxigênio, pois o sangue que abandona as lamelas está em íntimo contato com a água que apresenta máxima tensão de oxigênio e mínima tensão de dióxido de carbono (Schmidt-Nielsen, 1996). Entretanto, a grande superfície epitelial que está em contato com o meio externo e a alta taxa de perfusão também facilitam a entrada dos poluentes (Wendelaar Bonga, 1997). Sendo assim, o epitélio branquial de peixes é um tecido extremamente sensível, altamente dinâmico e metabolicamente ativo (Hinton *et al.*, 1992; Poleksić e Mitrović-Tutundžić, 1994).

Dentre os tipos celulares nas brânquias destaca-se as células mucosas que podem ser moduladas no epitélio branquial frente a algum estressor (Breseghelo *et al.*, 2004), também podem ser encontradas na superfície corporal e caracterizadas por possuírem um grande número de vesículas citoplasmáticas contendo muco que quando estão “maduras” liberam a secreção, participando da mucogênese e auxiliando na proteção do epitélio (Henrikson e Matoltsy, 1968). O muco é normalmente encontrado nos filamentos, mas pode ser encontrado no epitélio respiratório de peixes expostos a condições de estresse (Mallat, 1985). Segundo Moron *et al.* (2009), os tipos de glicoproteínas (ácidas, ácidas sulfatadas e neutras) que compõem o muco das células mucosas podem sofrer alterações histoquímicas quando há mudanças no meio. No entanto, essas alterações histoquímicas podem ser diferentes entre as espécies de peixes.

Devido à delicada estrutura da epiderme dos peixes a presença do muco sobre a superfície corporal representa um importante mecanismo para prevenir injúrias e infecções. Portanto, a camada de muco sobre a pele e brânquias de peixes possui propriedades multifuncionais de proteção, barreira física, química e imunológica (Shepard, 1994).

#### **4. Santarém – PA: crescimento populacional x impacto ambiental**

O município de Santarém está situado ao norte do Brasil, na Mesorregião do Baixo Amazonas e apresenta uma área de 24.154 km<sup>2</sup>. Santarém - PA se localiza na confluência dos rios Tapajós e Amazonas, no interior da floresta Amazônica, é detentor de muitos atrativos devido seus quilômetros de praias fluviais aliados ao clima quente e úmido da região e ao relevo composto por planície e planaltos (Santos Júnior *et al.*, 2015).

A cidade passou por um processo de expansão e crescimento desordenado a partir da criação da BR 163 – a Rodovia Santarém-Cuiabá (Amorim, 1999; Abreu, 2015). Seu desenvolvimento tem provocado múltiplos impactos ambientais, dentre eles o desmatamento com a degradação de matas ciliares, principalmente provocadas pelo acelerado crescimento urbano, pelas queimadas, desvio de cursos d’água e assoreamento de mananciais, que abastecem as comunidades locais para diversos usos (Ramos, 2004; Aguiar *et al.*, 2014).

Com o crescimento demográfico formaram-se novos bairros localizados no entorno da rodovia Fernando Guilhon, uma das principais vias de deslocamento de pessoas, serviços e mercadorias na cidade de Santarém, servindo de acesso às comunidades rurais, ao aeroporto



municipal e às principais praias do Tapajós, entre elas o Juá (onde fica localizado o lago com mesmo nome), Ponta de Pedras e Alter-do-Chão (Abreu, 2015).

A crescente urbanização desordenada em municípios como Santarém tem promovido a degradação de vários ecossistemas, como o complexo de várzea do Lago Juá, que representa um dos mais recentes alvos do processo (Suemitsu *et al.*, 2013). Um exemplo foi a construção no ano de 2012 de empreendimento ao longo da Rodovia Fernando Guilhon: o Residencial Cidade Jardim, sob a responsabilidade de SISA Salvação Empreendimentos Imobiliários LTDA. Esta iniciativa foi apontada como agente de danos ambientais ao Lago Juá, pois parte da área de proteção ambiental (APA) foi desmatada, conforme registros realizados por Abreu (2015).

Pena (2016) realizou a avaliação espacial e temporal das taxas de sedimentação do Lago Juá e seu trabalho indicou concentrações elevadas de material particulado nessas águas, confirmadas por resultados que registraram condutividade elétrica superior durante o período de cheia. Além disso, altas concentrações de turbidez também foram identificadas, possivelmente pelo revolvimento de material particulado, assim como a elevação da temperatura no lago, por conta do material particulado presente na coluna d'água, que possivelmente tenha afetado a sua produção primária e conseqüentemente toda a cadeia trófica. A pesquisa desta autora influenciou no cancelamento de licença do empreendimento referido anteriormente, através de Ação Civil Pública pelo Ministério Público Federal e Ministério Público do Estado do Pará, de 14 de dezembro de 2017.

Cardoso *et al.* (2018) descreveu que as casas construídas às margens dos igarapés pelos moradores de áreas próximas ao Juá, e ainda casas de veraneio, contribuíram para a poluição de suas águas e, conseqüentemente reduziu a reprodução de pescado naqueles locais. O estudo foi realizado através de pesquisa de campo baseada na observação participante e análise de documentos acerca das Unidades de Conservação, mais especificamente sobre as APAs e as relações de sociabilidade que ocorrem no meio ambiente.

Considerando os estudos de Suemitsu *et al.* (2013), Pena (2016) e Cardoso *et al.*, (2018) verificou-se a necessidade de avaliar e monitorar as possíveis alterações no Lago Juá e seus efeitos sobre a ictiofauna, a partir de atividade de biomonitoramento da espécie *Hemigrammus levis* (bioindicador), através da análise da densidade de suas células mucosas como biomarcadoras ambientais. Considera-se que os peixes são excelentes indicadores para o meio aquático nos diferentes níveis de organização biológica e fornecem informações complementares necessárias para a análise de risco ecológico.

Esta dissertação foi organizada em forma de Introdução Geral, Objetivos e Artigo científico a ser submetido para a revista *Neotropical Ichthyology*, Qualis-Capes-B2 (normas em anexo-A). As figuras e tabelas foram inseridas no corpo do texto para melhor compreensão das informações e visualização dos resultados. Posteriormente ao artigo científico foi descrito o tópico considerações finais.

## **OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Analisar a densidade de células mucosas de *Hemigrammus levis* como biomarcadoras ambientais no Lago Juá, Santarém, PA, Brasil.

### **2.2 Específicos**

Caracterizar a densidade de células mucosas branquiais de *Hemigrammus levis* coletados no Lago Juá.

Verificar a possibilidade de uso das células mucosas branquiais de *Hemigrammus levis* como células biomarcadoras ambientais para a espécie.

Identificar a influência das variáveis físico-químicas da água sobre a densidade de células mucosas branquiais de *Hemigrammus levis*.

## Artigo

### **Células mucosas branquiais de *Hemigrammus levis* como biomarcadoras ambientais no Lago Juá, Norte do Brasil**

Tatiane da S. Santos<sup>1, 2\*</sup>, Hugo N. P. da Silva<sup>1</sup>, Elen M. de O. Sousa<sup>1</sup>, Alberto C. F. da Silva<sup>5</sup>, Sand D. dos S. Machado<sup>1,3</sup>, Frank R. V. Ribeiro<sup>2,4</sup>, André L.C. Canto<sup>4</sup>, Lenise V. F. da Silva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Química Multiusuário, Instituto de Ciência e Tecnologia das Águas, Universidade Federal do Oeste do Pará;

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos-PPGRACAM, Universidade Federal do Oeste do Pará;

<sup>3</sup>Graduanda em Bacharelado Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia das Águas. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica-PIBIC-CAPES-Pró Amazônia, Universidade Federal do Oeste do Pará;

<sup>4</sup>Coleção Ictiológica da Universidade Federal do Oeste do Pará, Universidade Federal do Oeste do Pará;

<sup>5</sup>Instituto de Biodiversidade e Florestas, Universidade Federal do Oeste do Pará.

Os peixes são excelentes ferramentas no monitoramento de ambientes aquáticos, pois respondem de várias maneiras à contaminação. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a densidade de células mucosas da espécie *Hemigrammus levis* coletados no Lago Juá, Santarém - Pará - Brazil, como biomarcadoras ambientais. Os pontos amostrais (1 e 2) foram definidos a partir de diferença geográfica e baseada em informações prévias de impacto ambiental, acrescentando-se coletas adicionais na FLONA/Tapajós (ambiente controle). Durante um ano os peixes (n=130; comprimento padrão (cm)  $3,43 \pm 4,2$ , peso (g)  $0,73 \pm 0,24$ ) foram coletados (mensalmente) e armazenados em sacos plásticos com aeração constante antes da morfometria e anestesiados para serem submetidos à dissecação e procedimento histológico das brânquias, além de marcação das células. A densidade de células mucosas foi analisada a partir do teste de Mann-Whitney. A espécie respondeu às alterações do meio, mostrando diferença significativa entre as densidades de células mucosas ácidas e neutras no período de água baixa, sugerindo que o estímulo na produção de células mucosas foi ocasionado pelo aumento do pH. Sugere-se que o *H. levis* pode ser utilizado como bioindicador de qualidade ambiental do Lago Juá, visto que mostrou modulação das células mucosas frente a alterações ambientais.

**Palavras-chave:** antropização, biomonitoramento, brânquias, peixes.

## INTRODUÇÃO

A região amazônica caracteriza-se por possuir uma grande diversidade de ambientes aquáticos reunidos em uma mesma bacia hidrográfica. Esta variedade de ambientes está relacionada com a dimensão da área de drenagem e a forte relação com os fatores ambientais (Rebouças *et al.*, 1999; Silva, 2013) além de conter uma das mais ricas diversidades de espécies de peixes de água doce do mundo (Reis *et al.*, 2003). Estimativas recentes sugerem que o total de espécies de peixes pode variar entre 8.000 e 9.000 (Reis *et al.*, 2016).

Os peixes são animais extremamente sensíveis a poluentes aquáticos, e em especial, àqueles que afetam a permeabilidade à água e aos íons (Lupi *et al.*, 2007). Eles estão sujeitos a duplo perigo de contaminação por poluentes, pois podem ser contaminados através de absorção direta de substâncias do meio pelas brânquias ou pelo alimento ingerido (Pereira *et al.*, 2014) e suas alterações funcionam como respostas biológicas, tornando-os importantes bioindicadores de ambientes aquáticos (Schulz e Martins-Júnior, 2001).

As brânquias dos peixes constituem um órgão “chave” para o estudo das ações dos poluentes no meio aquático porque estão continuamente em contato com a água e possuem uma superfície de contato relativamente grande (Arellano *et al.*, 1999). A utilização de brânquias como biomarcadoras ambientais vem sendo comumente empregada em diversos trabalhos científicos (Winkaler *et al.*, 2001; Lupi *et al.*, 2007; Nogueira *et al.*, 2008; Albinati *et al.*, 2009; Pereira *et al.* 2014).

Dentre os tipos celulares nas brânquias destaca-se as células mucosas que podem ser moduladas no epitélio branquial frente a algum estressor (Breseghelo *et al.*, 2004), também podem ser encontradas na superfície corporal e caracterizadas por possuírem um grande número de vesículas citoplasmáticas contendo muco que quando estão “maduras” liberam a secreção, participando da mucogênese e auxiliando na proteção do epitélio (Henrikson e Matoltsy, 1968). O muco é normalmente encontrado nos filamentos, mas pode ser encontrado no epitélio respiratório de peixes expostos a condições de estresse (Mallat, 1985). Segundo Moron *et al.* (2009), os tipos de glicoproteínas (ácidas, ácidas sulfatadas e neutras) que compõem o muco das células mucosas podem sofrer alterações histoquímicas quando há mudanças no meio. No entanto, essas alterações histoquímicas podem ser diferentes entre as espécies de peixes. As células mucosas neutras (produzem glicoproteínas neutras) possuem baixa viscosidade e protegem e lubrificam o epitélio branquial contra atrito, patógenos e outras injúrias no tecido, enquanto que as células mucosas ácidas (produzem glicoproteínas ácidas) apresentam alta viscosidade e podem auxiliar na adesão de partículas em suspensão,

uma vez que as células mucosas ácidas participam mais ativamente por atraírem uma maior quantidade de íons na osmorregulação (Sibbing e Uribe, 1985).

Devido à delicada estrutura da epiderme dos peixes a presença do muco sobre a superfície corporal representa um importante mecanismo para prevenir injúrias e infecções. Portanto, a camada de muco sobre a pele e brânquias de peixes possui propriedades multifuncionais de proteção, barreira física, química e imunológica (Shepard, 1994).

A crescente urbanização desordenada em municípios como Santarém – PA – Brazil tem promovido a degradação de vários ecossistemas, como o complexo de várzea do Lago Juá – PA – Brazil, que representa um dos mais recentes alvos do processo de degradação (Suemitsu *et al.*, 2013). Pena (2016) realizou a avaliação espacial e temporal das taxas de sedimentação do lago Juá e revelou concentrações elevadas de material particulado e alta condutividade nessas águas. Essa pesquisa, além de sugerir o impacto do lago através de elevação de temperatura, mudanças na característica da água e redução do pescado, favoreceu o cancelamento da licença de empreendimento iniciado nas proximidades do lago (loteamento Residencial Cidade Jardim, sob a responsabilidade de SISA Salvação Empreendimentos Imobiliários LTDA) através de Ação Civil Pública pelo Ministério Público Federal e Ministério Público do Estado do Pará, de 14 de dezembro de 2017. Cardoso *et al.* (2018) descreveu que neste ecossistema a expansão populacional (iniciada em 2014, com a presença de 300 famílias na ocupação Vista Alegre do Juá) provocou a redução das espécies de peixes, assim como diminuiu a qualidade dos peixes ornamentais. É possível ainda citar o Residencial Salvação (empreendimento construído pelo programa Minha Casa Minha Vida do Governo Federal) como um dos responsáveis do assoreamento do Lago Juá (MP, 2017).

Considerando os estudos realizados, verificou-se a necessidade de avaliar as possíveis alterações no Lago Juá e seus efeitos sobre a ictiofauna, com o biomonitoramento da espécie *Hemigrammus levis*, através da análise da densidade de suas células mucosas atuando como biomarcadoras ambientais. Além disso, identificar a influência das variáveis físico-químicas da água sobre a densidade de células mucosas branquiais desta espécie. Acredita-se que esta pesquisa possa contribuir com o estudo e monitoramento de peixes em lagos amazônicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

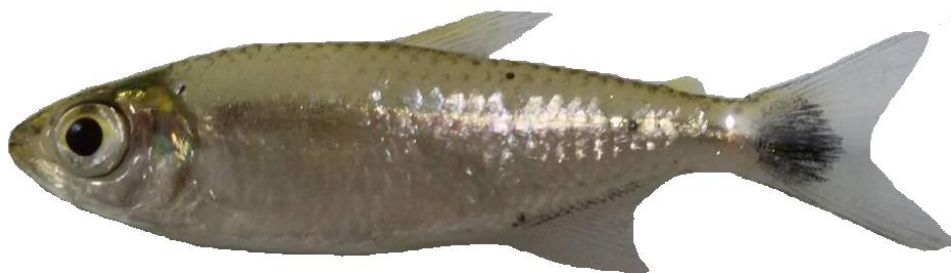
### Área de Estudo

O Lago Juá encontra-se a cerca de 7 km a oeste do centro da cidade de Santarém (Suemitsu *et al.*, 2013), a jusante do rio Tapajós, Pará, Brasil, com o qual se conecta através de um canal ou paraná. Por essa razão, suas águas são alimentadas em grande parte pelo próprio rio Tapajós, que durante a enchente invade as margens do Lago, renovando suas águas, de acordo com seu ciclo hidrológico anual. Durante a vazante do rio Tapajós, este consome parte do volume de águas do Juá, de modo que ao longo do ano o fluxo das correntes assume ambos os sentidos (MP, 2017).

O lago faz parte de um ecossistema envolvendo meio biótico e abiótico, abundante principalmente na área da pesca e sendo envolvido por uma floresta ombrófila densa, típica da floresta amazônica (Santos *et al.*, 2015).

### A espécie *Hemigrammus levis* Durbin, 1908

O *Hemigrammus levis* (Fig. 1) (Characiformes; Characidae), conhecido como piaba, apresenta corpo moderadamente alongado e linha lateral incompleta. É uma espécie comum de lagos de várzea, nada junto à superfície da água e forma grupos grandes (Lima *et al.*, 2013), faz parte da cadeia trófica onívora e é classificado como não-migrador (Pinheiro *et al.*, 2016). Pode ser encontrado associado a bancos de macrófitas (Soares *et al.*, 2014).



**Fig. 1.** *Hemigrammus levis* coletado no Lago Juá. Comprimento padrão (cm)  $3,43\pm 4,2$  e Peso (g)  $0,73\pm 0,24$ . Foto: Tatiane Santos

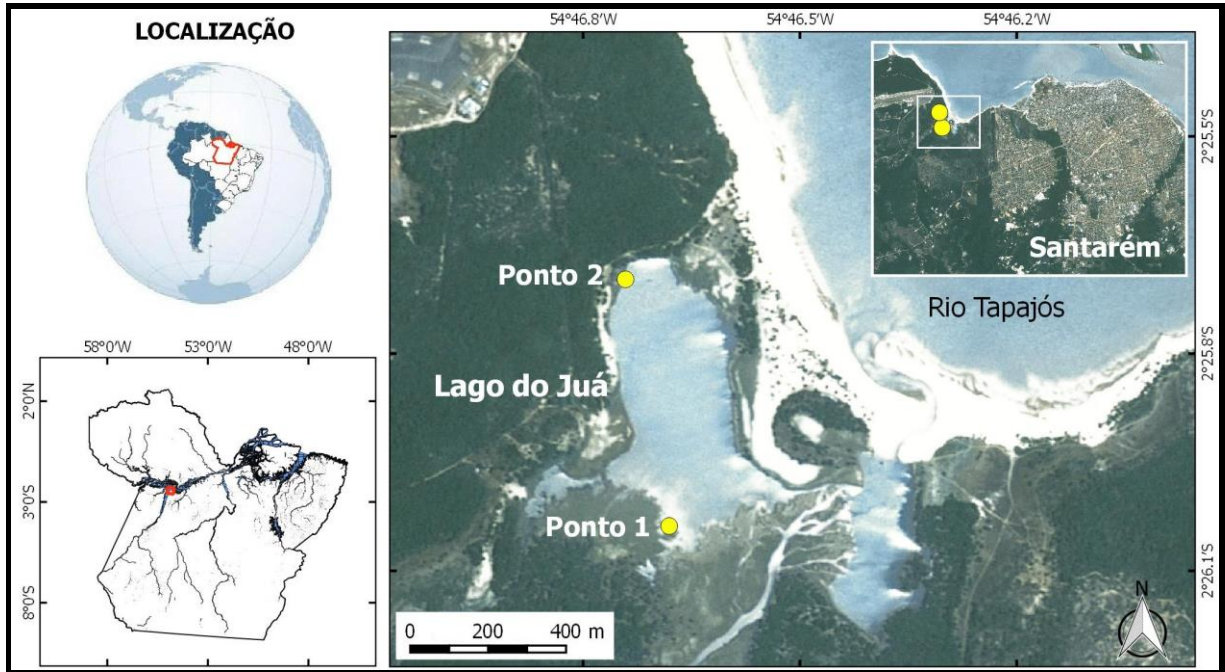
### **Pontos amostrais e análises de água**

No Lago Juá foram estabelecidos 2 pontos amostrais (Fig. 2) para coleta de peixes e de água, localizados ao sul (ponto 1) e a noroeste (ponto 2), com base em critérios fisionômicos, hidrológicos e logísticos, considerando que o ponto 1 fica nas proximidades da área afetada por influência antrópica, conforme os registros de Pena (2016), e o ponto 2 apresenta área mais próxima da vegetação preservada. O período de coleta compreendeu o ciclo hidrológico fluvial (Fig.3), totalizando 12 (doze) coletas realizadas nos 2 (dois) pontos amostrais indicados, com início em abril de 2017 e término em março de 2018, sempre nas primeiras horas do dia, cerca de 8h30.

Devido às prévias informações sobre a antropização do Lago Juá, conforme Suemitsu *et al.* (2013) e Pena (2016), foram realizadas duas coletas adicionais de *Hemigrammus levis* (em novembro de 2017 e abril de 2018) no Lago Pinin, localizado na Floresta Nacional do Tapajós – FLONA (ambiente controle). Destaca-se que a FLONA-Tapajós é uma unidade de conservação da natureza localizada na Amazônia, às margens do Rio Tapajós, Estado do Pará e foi criada em 1974, abrigando pesquisas científicas (ICMBio 2019).

Para a coleta de peixes foram utilizadas redes de arrasto de tração manual de 5 mm, 7 m comprimento e 1,3 m de altura, nas margens dos corpos d'água, da região mais profunda para a mais rasa. Em cada ponto amostral foi realizado uma média de cinco arrastos. Os exemplares foram mantidos em sacos plásticos com aeração constante durante a coleta e posteriormente transportados até o Laboratório de Química Multiusuário – ICTA - UFOPA/Tapajós. A água coletada (uma amostra para cada ponto) foi armazenada em recipiente esterilizado e mantida em refrigeração até o transporte para o laboratório.





**Fig. 2.** Mapa dos pontos amostrais das coletas de peixes e de água, Lago Juá-Santarém-PA. Elaboração: LAGIS/ICTA – UFOPA.

As variáveis físico-químicas da água foram mensuradas na superfície antes da coleta dos peixes. A temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido ( $\text{mg/L}$ ), pH e condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}$ ) foram medidos *in loco* utilizando equipamentos portáteis. As amostras de água coletadas foram submetidas às seguintes análises em laboratório: amônia total ( $\text{mg/L}$ ) pelo método de salicilato segundo Eaton *et al.*, 2005; amônia total e não-ionizada, calculados segundo Colt (2002), dureza ( $\text{mg/LCaCO}_3$ ) pelo método trimétrico com EDTA (Boyd e Tucker, 1992), alcalinidade ( $\text{mg/L CaCO}_3$ ) de acordo com (APHA, 1998), níveis de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  com o auxílio de fotômetro de chama e análise de cloreto, determinada segundo Zall *et al.*, 1956 em espectrofotômetro.

### **Análise histológica**

Um total de 130 exemplares foram submetidos à morfometria e anestesiados em solução de eugenol ( $100 \text{ mg/L}$ ) para serem dissecados e fixados em formol a 10% (por 24h) e posterior armazenamento em etanol 70% até o processamento histológico. Foram extraídos os quatro arcos branquiais, sendo utilizados seis filamentos branquiais do terceiro arco e em seguida, feita a inclusão em parafina. Utilizou-se secções de cinco cortes/animal, em perfil sagital com espessura de  $5 \mu\text{m}$  em micrótomo (marca Leipzig).

Os cortes foram corados utilizando solução de Alcian Blue pH-2,5 para marcação de células mucosas ácidas e Ácido Periódico e Reativo de Schiff (Solução PAS) para marcação de células mucosas neutras. As células mucosas branquiais foram identificadas e quantificadas com o auxílio de microscópio (ZEISS Axio modelo-AGmbH37081) acoplado com sistema de captação de imagem (ZEISS, modelo Axio Cam Erc 51) e programa de medidas interativas (Image-PRO PLUS), obtendo-se assim a área dos filamentos branquiais para identificação da densidade de células mucosas branquiais em mm<sup>2</sup>.

### **Análise estatística**

Os dados foram analisados no programa PAST Paleontological Statistics Version 3.22 e os gráficos foram organizados no programa Excel 2007. A relação entre as variáveis físico-químicas da água e as células mucosas foi avaliada através da análise de correlação de Pearson, com consequente análise de regressão ( $p < 0,05$ ). As densidades de células mucosas foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, não apresentando normalidade, posteriormente aos testes de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ).

## **RESULTADOS**

### **Análises da água**

A partir da análise das variáveis físico-químicos da água do Lago Juá (Tab. 2) nos pontos onde a espécie *Hemigrammus levis* foi coletada, observou-se características distintas nos ambientes. O ponto 1 apresentou maiores valores de condutividade elétrica ao longo de um ano de coleta. Neste ponto também foram observados maiores valores de sódio e potássio no período de água alta e elevada taxa de amônia no período de água baixa. O ponto 2 mostrou maiores valores de oxigênio dissolvido, considerando que esse ponto amostral está mais próximo de áreas preservadas e com mais vegetação. A partir da correlação de Pearson e regressão, as variáveis sódio e potássio apresentaram relações significativas nos pontos 1 e 2. (Tab. 3). As variáveis físico-químicas de água da Flona se aproximaram do ponto 2, com maiores valores de oxigênio dissolvido e menores valores de amônia e condutividade (Tab. 1).

Nos pontos amostrados do Lago Juá, o pH variou de 4,7 (sendo o menor valor aferido durante as coletas dos meses de maio de 2017 e janeiro de 2018, no ponto 1), a 6,6 (maior valor registrado, encontrado na coleta do mês de março de 2018, no ponto 2). Tais resultados revelam um ambiente mais ácido, padrão natural para as águas amazônicas em virtude dos tipos de solo, bem como a presença de ácidos húmicos e fúlvicos, resultado da decomposição da floresta alagada, descrito por Junk *et al.*, 2014.

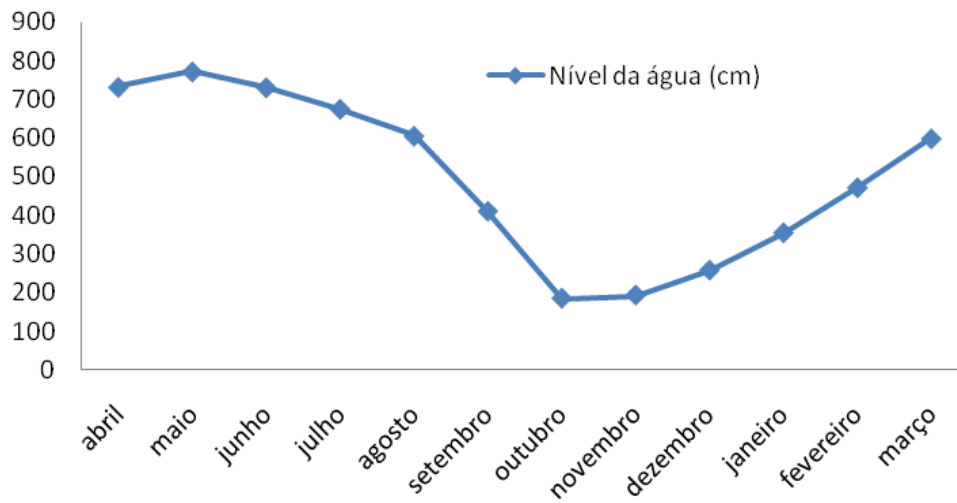
Quanto à temperatura, o maior valor registrado foi de 29,6°C no mês de junho de 2017, no ponto 2, quando este ponto apresentou o menor valor de oxigênio dissolvido, 2,8 mg/L. Carvalho *et al.* (2001) afirmam que em lagos tropicais as concentrações de oxigênio dissolvido são determinadas principalmente pela temperatura e pelas características morfométricas do lago, já que estas podem favorecer ou dificultar a ação do vento que tem importante papel na distribuição do oxigênio, aumentando sua concentração na superfície dos corpos d'água, assim como no interior do ecossistema.

Os maiores valores de condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) foram mensurados no período de água alta (Ponto 1 =  $20,96 \pm 6,44$ ), quando foi observado também o aumento de sódio e potássio. Para Silva *et al.* (2008), a condutividade é um indicador da capacidade que a água possui de conduzir corrente elétrica e pode ser influenciado pela temperatura e concentração de íons dissolvidos. Quanto maior essas concentrações, maior será a condutividade elétrica da água. Altos valores de condutividade elétrica encontrados em ecossistemas aquáticos podem relacionar-se com processos antrópicos (CETESB, 2009).

O potássio apresentou valores de 0,039 mg/L no ponto 2, no mês de outubro de 2017 a 2,652 mg/L no ponto 1, no mês de abril de 2017. Este íon apresentou relação significativa com outras variáveis (entre pontos e períodos de sazonalidade), principalmente com o íon sódio e mostrou-se relações significativas nos períodos sazonais. De acordo com Alfaro (2014), o potássio é um dos poucos compostos encontrados naturalmente em corpos d'água. Suas concentrações elevadas são principalmente encontradas em águas residuais (Monaco, 2011). Segundo a CETESB (2012), as concentrações de sódio em águas superficiais variam consideravelmente por fatores como a geologia do local e descargas de efluentes.

O maior valor de amônia total foi identificado no mês de dezembro de 2017, 0,25 mg/L, quando foi observado um dos maiores valores de pH, 6,5. Segundo Mercante (2012), quanto maior o pH do ambiente, maior será a taxa de amônia, que influenciará no desenvolvimento do peixe.

### Índice Fluviométrico – Santarém – PA – Brasil – 2017/2018



**Fig. 3** - Índice Fluviométrico – Santarém – PA. Fonte: Agência Nacional de Águas (ANA)

**Tab. 1.** Variáveis de água dos pontos 1 e 2 do Lago Juá e da Flona coletada nos meses de abril e novembro de 2017. P= ponto; F= Flona

	pH	Temp (°C)	OD (mg/L)	Cond. Elét. (µS/cm)	Na <sup>+</sup> (mg/L)	K <sup>+</sup> (mg/L)	Cl <sup>-</sup> (mg/L)	Amônia Total (mg/L)	Dureza (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	Alcalinidade (mg/L CaCO <sub>3</sub> )
P1 Abr	5,3	28,8	2,0	17,5	1,37	2,65	0,0	0,07	1,2	5,88
P1 Nov	4,87	26,6	7,8	13,3	0,45	0,07	0,09	0,07	1,6	4,09
P2 Abr	6	28,1	3,8	9,6	0,30	0,49	0,0	0,0	0,6	5,88
P2 Nov	5,2	28,3	7,1	9,0	0,0	0,03	0,03	0,03	1,6	4,78
F Abr	7,26	29,6	5,7	12,0	0,22	0,78	0,04	0,0	3,2	9,5
F Nov	4,89	31,1	8,0	12,4	0,22	0,35	0,07	0,0	2,8	8,1

**Tab. 2.** Variáveis físico-químicas da água dos pontos amostrais P (P1- antropizado) e P (P2- preservado) nos períodos de água alta (AA) e água baixa (AB) no Lago Juá – Santarém – Pará-Brazil, entre abril de 2017 e março de 2018.

	pH		Temperatura (°C)		Oxigênio dissolvido (mg/L)		Condutividade Elétrica (µS/cm)		Sódio (mg/L)		Potássio (mg/L)		Cloreto (mg/L)		Amônia total (mg/L)		Dureza (mg/L CaCO <sub>3</sub> )		Alcalinidade (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
<b>Mar</b>	5,5	6,6	26,4	28	2,9	4,4	<b>30</b>	10	0,22	0,22	0,27	0,31	0,05	0,05	0,0	0,0	3,2	4,4	8,19	8,19
<b>Abr</b>	5,3	6	28,8	28,1	2	3,8	<b>17,5</b>	9,6	<b>1,37</b>	0,35	<b>2,65</b>	0,49	0,0	0,0	0,07	0,0	1,2	0,6	5,88	5,88
<b>Mai</b>	4,7	4,8	29	29	2,7	4,3	13,9	10,9	0,45	0,45	0,52	0,52	0,0	0,0	0,03	0,03	0,8	0,8	7,84	7,84
<b>AA Jun</b>	5,17	5,7	29	29,6	1,9	2,8	<b>27,9</b>	11,8	<b>2,51</b>	0,45	<b>2,02</b>	0,48	0,0	0,0	0,01	0,03	0,8	0,8	5,88	7,84
<b>Jul</b>	5,7	6,03	28,2	29,3	10,1	12	<b>19,1</b>	12,2	0,53	0,45	0,54	0,54	0,0	0,0	0,0	0,08	0,8	0,8	7,84	7,19
<b>Ago</b>	5,76	6,5	28,6	29,5	2,9	3,6	<b>17,4</b>	11,2	<b>0,91</b>	0,38	0,48	0,35	0,0	0,0	0,0	0,02	1,2	0,6	7,84	6,53
<b>Set</b>	5,22	5,14	29,4	28,6	2,4	2,2	8,8	8,8	0,45	0,68	0,07	0,22	0,0	0,0	0,03	0,04	0,8	0,8	5,23	5,23
<b>Out</b>	4,79	4,74	27,6	29,2	8,2	7,7	15,1	6,8	0,45	0,30	0,11	0,03	0,1	0,05	<b>0,16</b>	<b>0,15</b>	2,8	1,2	5,46	4,78
<b>AB Nov</b>	4,87	5,2	26,6	28,3	7,8	7,1	13,3	9	0,45	0,0	0,07	0,03	0,09	0,03	0,07	0,03	1,6	1,6	4,09	4,78
<b>Dez</b>	<b>6,5</b>	<b>6,5</b>	27,8	28,7	2,7	3,2	14	10	0,45	0,53	0,11	0,11	0,09	0,07	<b>0,25</b>	<b>0,13</b>	3,2	2,4	5,46	5,46
<b>Jan</b>	4,7	4,9	26	27,5	7,9	7,7	20	14	0,38	0,45	0,20	0,15	0,09	0,08	0,0	<b>0,16</b>	3,2	2	6,83	6,14
<b>Fev</b>	5,65	5,65	29,5	29,2	6,2	7,1	18	12	0,38	0,38	0,32	0,20	0,08	0,08	0,0	0,08	4,4	2,8	8,19	6,83

\* Em destaque os maiores valores de variáveis físico-químicas abordadas nesta pesquisa.

**Tab. 3.** Matriz de correlação gerada no Programa PAST version 3.22 para as variáveis físico-químicas de água mensuradas no Lago Juá de abril de 2017 a março de 2018 nos pontos 1 e 2.

	pH	Temperatura	Oxigênio dissolvido	Condutividade Elétrica	Sódio	Potássio	Cloreto	Amônia total	Dureza	Alcalinidade
Ponto 1	pH	1,00000								
	Temperatura	0,20684	1,00000							
	Oxig. Dissolv.	-0,23966	-0,42719	1,00000						
	Condut. Elét.	0,05643	-0,27992	-0,11056	1,00000					
	Sódio	-0,03196	0,3825	-0,42304	0,40326	1,00000				
	Potássio	-0,04329	0,37027	-0,42767	0,35246	<b>0,82071</b>	1,00000			
	Cloreto	-0,03157	-0,60882	0,48163	-0,07329	-0,48942	-0,5367	1,00000		
	Amônia total	0,32418	-0,11233	-0,059739	-0,40353	-0,12337	-0,13193	0,4473	1,00000	
	Dureza	0,22443	-0,3649	0,24021	0,18051	-0,46679	-0,40681	<b>0,82009</b>	0,22295	1,00000
	Alcalinidade	0,19021	0,14148	-0,001307	0,43959	-0,18927	-0,05810	-0,26142	-0,58183	0,19699
Ponto 2	pH	1,00000								
	Temperatura	0,10004	1,00000							
	Oxig. Dissolv.	-0,2106	0,01609	1,00000						
	Condut. Elét.	0,14152	-0,05657	0,23638	1,00000					
	Sódio	-0,03585	0,22353	-0,27475	0,26029	1,00000				
	Potássio	0,27225	0,29796	-0,06267	0,39267	0,25621	1,00000			
	Cloreto	-0,04446	-0,42747	0,23371	0,14146	-0,15824	<b>-0,70071</b>	1,00000		
	Amônia total	-0,36044	-0,04635	0,4465	0,07369	0,25186	-0,57693	0,64604	1,00000	
	Dureza	0,33629	-0,42362	0,03176	0,07125	-0,27254	-0,36815	<b>0,73678</b>	0,07337	1,00000
	Alcalinidade	0,32622	0,20907	-0,04821	0,55756	0,11877	<b>0,72532</b>	-0,2005	-0,44513	0,24231

**Tab. 4.** Matriz de correlação gerada no Programa PAST version 3.22 para as variáveis físico-químicas de água mensuradas no Lago Juá de abril de 2017 a março de 2018 nos períodos de Água alta (março a agosto) e Água baixa (setembro a fevereiro).

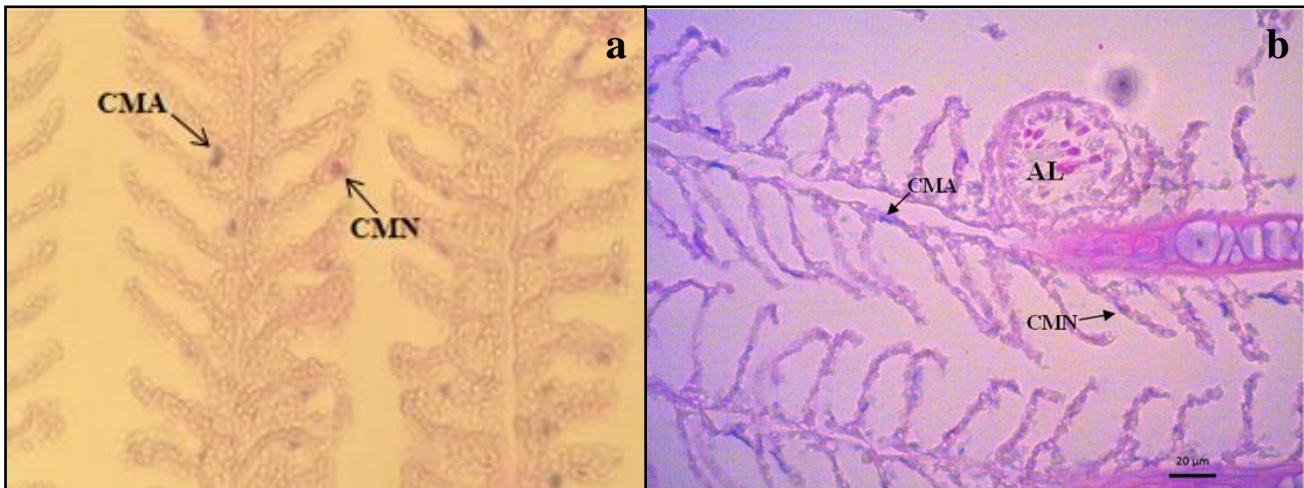
	pH	Temperatura	Oxigênio dissolvido	Condutividade Elétrica	Sódio	Potássio	Cloreto	Amônia total	Dureza	Alcalinidade
Água alta	pH	1,00000								
	Temperatura	-0,05838	1,00000							
	Oxig. Dissolv.	0,28547	0,06817	1,00000						
	Condut. Elét.	-0,34299	-0,52025	-0,20381	1,00000					
	Sódio	-0,3585	0,24527	-0,31189	<b>0,5333</b>	1,00000				
	Potássio	-0,35849	0,20072	-0,30314	0,35581	<b>0,81989</b>	1,00000			
	Cloreto	0,3238	-0,75276	-0,11448	0,26372	-0,32916	-0,29434	1,00000		
	Amônia total	-0,14636	0,54345	0,27623	-0,23273	0,12631	0,43609	-0,39056	1,00000	
	Dureza	0,35035	-0,66077	-0,12333	0,17438	-0,26381	-0,20693	<b>0,96829</b>	-0,34392	1,00000
	Alcalinidade	-0,02578	-0,29329	0,20269	-0,03418	-0,57671	-0,68011	0,47287	-0,31164	0,47093
Água baixa	pH	1,00000								
	Temperatura	0,35425	1,00000							
	Oxig. Dissolv.	-0,62653	-0,40653	1,00000						
	Condut. Elét.	-0,06369	-0,55441	0,37409	1,00000					
	Sódio	0,16884	-0,03854	-0,5019	0,06564	1,00000				
	Potássio	0,13883	0,09969	-0,051307	<b>0,60893</b>	0,36316	1,00000			
	Cloreto	0,08972	-0,53216	0,57294	<b>0,7406</b>	-0,04966	0,21421	1,00000		
	Amônia total	0,34201	-0,05534	-0,08120	-0,1777	0,17983	-0,39694	0,3236	1,00000	
	Dureza	0,36474	-0,11757	0,24032	<b>0,80987</b>	-0,07830	0,62409	<b>0,75031</b>	0,01421	1,00000
	Alcalinidade	0,17498	0,1794	0,11954	0,65814	0,03768	<b>0,86948</b>	0,34282	-0,32383	<b>0,77682</b>

## Relação entre as variáveis físico-químicas da água e a densidade de células mucosas

No ponto 1 a densidade de células mucosas ácidas de *H. levis* mostrou relação significativa com o pH, considerando que este ponto apresentou menores valores dessa variável. No ponto 2 as células mucosas ácidas mostraram relação positiva de aumento com o oxigênio dissolvido e as células mucosas neutras e totais apresentaram relação significativa de aumento com o potássio ( $p < 0,05$ ) (Tab. 6).

A maior densidade de células mucosas ácidas ocorreu no mês de dezembro (Tab. 5), quando observou-se valores maiores de pH (correlação significativa com células mucosas ácidas) e amônia, especialmente no ponto 1. Identificou-se ainda nesta coleta a presença de aneurisma lamelar (Fig. 4b). O aneurisma geralmente resulta do colapso do sistema de células pilares, que prejudica a integridade vascular com a liberação de grande quantidade de sangue, empurrando o epitélio lamelar para fora (Hinton e Laurén, 1990), o que pode causar a ruptura do epitélio e conseqüentemente hemorragia. Essa alteração vascular pode estar associada a contaminantes químicos, lesões parasitárias ou resíduos metabólicos.

As células mucosas mostraram relação significativa com o oxigênio dissolvido no período de água alta e relação significativa com o pH no período de água baixa (Tab. 7).



**Fig. 4.** (a) Identificação de células mucosas ácidas e células mucosas neutras em imagem do microscópio. (b) Marcação de aneurisma lamelar (AL) em lâmina de coleta do mês de dezembro.



**Tab. 5.** Densidade de células mucosas branquiais dos *Hemigrammus levis* coletados no Lago Juá e Flona no período de abril de 2017 a março de 2018.

Meses	Pontos amostrais	CMA	CMN	CMT
Abril	P1	41,06±14,19	21,61±5,47	62,68±18,85
	P2	41,06±14,19	21,61±5,47	62,68±18,85
Maio	P1	172,47±48,09	139,32±63,39	311,79±81,98
	P2	136,57±17,22	144,19±22,18	280,76±32,98
Junho	P1	68,88±10,76	31,20±10,25	100,09±10,93
	P2	109,54±74,56	84,04±47,81	193,59±98,45
Julho	P1	142,48±51,56	84,83±56,80	227,31±87,93
	P2	241,55±53,27	158,69±22,22	400,25±58,95
Agosto	P1	84,16±13,65	55,95±8,98	140,11±13,10
	P2	60,98±24,12	41,38±9,64	102,37±24,93
Setembro	P1	146,63±67,31	104,61±20,40	251,24±72,88
	P2	54,42±17,24	28,57±16,35	82,99±32,30
Outubro	P1	46,24±12,20	23,09±10,41	69,34±20,06
	P2	94,29 ±23,84	44,03±15,56	138,32±34,85
Novembro	P1	72,73±23,20	60,16±22,86	132,89±37,05
	P2	113,91±31,08	42,19±16,35	156,1±44,44
Dezembro	P1	267,57±81,23	157,06±83,30	424,64±100,57
	P2	95,79±31,42	67,26±16,92	163,05±59,89
Janeiro	P1	49,97±3,37	18,9±0,89	68,9±2,48
	P2	135,46±65,25	68,14±40,52	203,6±54,52
Fevereiro	P1	92,87±28,17	77,55±25,23	170,42±41,57
	P2	136,4±32,65	38,86±26,84	175,26±42,63
Março	P1	76,96±18,44	38,42±9,37	115,39±20,65
	P2	98,6±22,02	73,7±0,67	172,3±22,69
Novembro	FLONA	63,89±10,75	29,97±5,34	93,87±37,08
Abril	FLONA	95,41±31,00	59,86±22,31	155,28±45,25

CMA – células mucosas ácidas; CMN – células mucosas neutras; CMT – células mucosas totais

**Tab. 6.** Matriz de correlação entre variáveis físico-químicas de água e densidade de células mucosas nos pontos 1 e 2 ( $p < 0,05$ ). CMA=células mucosas ácidas; CMN=células mucosas neutras; CMT=células mucosas totais.

		pH	Temp.	Oxigênio dissolvido	Condut. elétrica	Sódio	Potássio	Cloreto	Amônia total	Dureza	Alcalin.	CMA	CMN	CMT
Ponto 1	CMA	<b>0,58415</b>	0,23505	-0,22554	-0,38984	-0,27409	-0,34374	-0,05313	0,46828	-0,03494	0,00531	1,00000		
	CMN	0,43953	0,35142	-0,2192	-0,51778	-0,34032	-0,38302	-0,09579	0,34967	-0,08636	0,04213	0,95274	1,00000	
	CMT	0,53071	0,28629	-0,22551	-0,44768	-0,30491	-0,36413	-0,07146	0,4243	-0,05666	0,02076	0,99195	0,98353	1,00000
Ponto 2	CMA	-0,01594	0,03822	<b>0,77626</b>	0,45839	-0,06993	0,45962	-0,05447	0,11533	-0,08355	0,3196	1,00000		
	CMN	0,09534	0,00682	0,25048	0,27402	0,07065	<b>0,79636</b>	-0,44132	-0,26009	-0,29025	0,47044	0,73939	1,00000	
	CMT	0,04128	0,02455	0,5566	0,39484	-0,00124	<b>0,66946</b>	-0,26132	-0,07324	-0,19802	0,42182	0,93558	0,9295	1,00000

**Tab. 7.** Matriz de correlação entre variáveis físico-químicas de água e densidade de células mucosas nos períodos de água alta (março/agosto) e água baixa (setembro/fevereiro) ( $p < 0,05$ ). CMA=células mucosas ácidas; CMN=células mucosas neutras; CMT=células mucosas totais.

		pH	Temp.	Oxigênio dissolvido	Condut. elétrica	Sódio	Potássio	Cloreto	Amônia total	Dureza	Alcalin.	CMA	CMN	CMT
Água alta	CMA	-0,07491	0,19543	<b>0,73904</b>	-0,38633	-0,39378	-0,42883	-0,21921	0,29851	-0,24603	0,27128	1,00000		
	CMN	-0,1507	0,21329	0,48993	-0,59282	-0,482	-0,46752	-0,26613	0,17887	-0,29181	0,19598	0,89518	1,00000	
	CMT	-0,11369	0,20942	0,63835	-0,49695	-0,44726	-0,45924	-0,24793	0,24864	-0,27493	0,24213	0,97637	0,97034	1,00000
Água baixa	CMA	<b>0,62406</b>	0,2031	-0,41575	-0,11121	-0,09223	-0,17815	0,03660	0,54776	0,12596	-0,01146	1,00000		
	CMN	<b>0,64289</b>	0,19822	-0,56157	-0,03056	0,11333	-0,11827	0,02060	0,43677	0,14202	-0,02983	0,87783	1,00000	
	CMT	<b>0,65071</b>	0,20731	-0,4874	-0,08184	-0,01188	-0,15923	0,03131	0,51948	0,13642	-0,01912	0,98103	0,95403	1,00000

### Densidade de células mucosas em relação aos pontos de coleta

No período de água alta e nos pontos 1 e 2 não foi observada relação significativa entre as densidades das células mucosas do *H. levis*. Porém, observou-se relação significativa entre densidade de células mucosas ácidas e células mucosas neutras quando relacionadas ao período de água baixa (Tab.8). Importante destacar que no período de água baixa as células mucosas (ácidas, neutras e totais) apresentaram relação significativa com o pH.

**Tab. 8.** Densidade de células mucosas branquiais (média  $\pm$  desvio padrão mm<sup>2</sup>) da espécie *Hemigrammus levis* coletada nos pontos 1 e 2 (Lago Juá) e Flona.

	CMA	CMN
Água alta	121,86 $\pm$ 24,65	66,56 $\pm$ 29,24
Água baixa	101,12 $\pm$ 18,60*	61,85 $\pm$ 13,91*
Ponto 1	93,84 $\pm$ 28,24	70,24 $\pm$ 23,51
Ponto 2	117,45 $\pm$ 18,87	51,80 $\pm$ 18,95
Flona	79,65 $\pm$ 22,28	49,91 $\pm$ 21,13

\*p significativo (p<0,05) através do Teste de Mann-Whitney. CMA=células mucosas ácidas; CMN=células mucosas neutras.

## DISCUSSÃO

Corpos naturais de água, como os rios e córregos, são ecossistemas frequentemente influenciados pela intensificação da degradação ambiental causadas por atividades humanas, especialmente associadas ao aumento da densidade populacional (Botelho *et al.*, 2012; Roland *et al.*, 2012; Barreto *et al.* 2014).

A análise de parâmetros físicos e químicos da água constitui importante ferramenta para monitorar a qualidade hídrica do ecossistema aquático (Matsuzaki *et al.*, 2004). Porém, somente o uso destes parâmetros não é suficiente para retratar a realidade de um ambiente, necessitando de indicadores biológicos para serem mais eficientes (Smith *et al.*, 1997), e os peixes são excelentes para esse propósito (Araújo, 1998). O termo bioindicador pode ser reconhecido como sendo de espécies sentinelas que são utilizadas como primeiros indicadores de efeito da contaminação de seu habitat (Adams, 2002).

Em relação às variáveis de água do Lago Juá, observou-se uma tendência de ambiente mais preservado no ponto 2, com maiores valores de oxigênio dissolvido e baixa condutividade, considerando ainda sua maior aproximação com as variáveis da Flona (ambiente preservado). O ponto 1 sugeriu maior antropização, relacionando-a aos maiores valores de condutividade ao longo do ano, além de maior sódio e potássio na água alta e maior amônia na água baixa.

O pH é um fator de grande importância para o ambiente aquático, pois influencia as reações e fenômenos químicos que acontecem na água (Ostrensky e Boeger, 1998). De acordo com Von Sperling (2007), fatores naturais como a dissolução de rochas e a fotossíntese, ou fatores antrópicos como os esgotos domésticos e industriais afetam o pH. Estudos anteriores verificaram que quanto mais ácido o pH, maior é a produção de muco em peixes, conseqüentemente devido ao aumento do número de células mucosas (Wood *et al.*, 1998). Por outro lado, quando o pH do meio aquático é mais alcalino, ocorre uma maior perda de nitrogênio para o meio (Sipaúba-Tavares, 1994), pois há uma maior transformação do íon amônio ( $\text{NH}_4$ ) em amônia livre e gasosa ( $\text{NH}_3$ ), o que pode influenciar no desenvolvimento da biota aquática. Esta pesquisa mostrou relação significativa das células mucosas com o pH levemente alcalino.

De acordo com Varsamos *et al.*, (2005) possivelmente existe uma influência indireta das células mucosas na osmorregulação, em função da disponibilidade iônica do ambiente. Uma razão que possibilita a inferência de que o muco pode auxiliar na regulação iônica é que a maioria das glicoproteínas possuem pH ácido ou próximo ao neutro e conseqüentemente o muco pode proporcionar trocas iônicas (Powell *et al.*, 1994).

A densidade de células mucosas e conseqüentemente a produção de muco varia entre as diferentes espécies de peixes e também pode variar em diferentes condições ambientais, como tentativas adaptativas de se conservar funções fisiológicas (Laurent, 1984). As relações significativas das células mucosas neutras de *H. levis* com potássio da água sugerem que o Lago Juá tenha recebido águas residuais provenientes de esgotos domésticos. Observou-se aumento de amônia no período de água baixa, mas sem relação significativa, porém as células mucosas apresentaram relação significativa com a variável pH, que influencia na concentração de amônia.

O *Hemigrammus levis* respondeu à modulação celular frente às alterações ambientais naturais, fato evidenciado pelo aumento da densidade de células mucosas ácidas e neutras em água baixa. Castro *et al.*, 2018 identificaram que no período de estiagem os peixes apresentaram maior frequência de lesões do que no período chuvoso.

Contudo é necessário continuar os estudos de biomonitoramento dessa espécie para melhor caracterização de suas respostas frente a estresses ambientais.

### **Agradecimentos**

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo financiamento e concessão de bolsa de estudo;

À equipe da Coleção Ictiológica – UFOPA, pelo apoio durante as coletas;

Ao Laboratório de Química Multiusuário – UFOPA, pelo apoio às análises.

### **REFERÊNCIAS**

\_\_\_\_\_. Ação Civil Pública. MPF e Ministério Público do Estado do Pará n. 1.23.002.000648/2012-58, de 14/12/2017.

Adams, S. M. 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. *American Fishers Society*, v. 3, p. 104-112.

Albinati, A. C. L.; Moreira, E. L. T.; Albinati, R. C. B.; Carvalho, J. V.; Lira, A. D.; Santos, G. B.; Vidal, L. V. O. 2009. Biomarcadores histológicos - toxicidade crônica pelo Roundup em piaçu (*Leporinus macrocephalus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.61, p. 621-627.

Alfaro, J. D. B. Determinación de cationes en agua potable del cantón de Grecia, Costa Rica por absorción atómica. *Revista. Inter Sedes*, v 15, p. 95-106, 2014.

American Public Health Association. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington.

Araújo, F.G. 1998. Adaptação do índice de integridade biótica usando a comunidade de peixes para o rio Paraíba do Sul. *Rev. Bras. Biol.* 58(4):547-558.

Arellano, J.M.; Storch, V.; Sarasquete, C. 1999. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotox. Environ. Safe.*,v.44, p.62-72.

Barreto, L. V.; Fraga, M. S.; Barros, F. M.; Rocha, F. A.; Amorim, J. S.; Carvalho, S. R.; Bonomo, P.; Silva, D. P. 2014. Relação entre vazão e qualidade da água em uma seção de rio. *Ambiente & Água*, v. 9, n. 1, p. 118-129.

Botelho, R. G.; Froes, C. M.; Santos, J. B. 2012. Toxicity of herbicides on *Escherichia coli* growth. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72, n. 1, p. 141-146.

Boyd, C.E.; Tucker, C.S. 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Alabama Agricultural Experiment, Auburn University, Alabama. 183pp.

Breseghele, L.; Cardoso, M. P.; Borges, O. R.; Costa, M. F.; Barreto, J. C. B.; Saboia-Morais, S. M. T.; Yamada, Á. T. 2004. Effects of sodium fluoride in Gill epithelium of Guppy fish (*Poecilia vivipara*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 41:274-280.

Cardoso, M. C.; Silva, R. E.; Silva, A. D. B.; Chiba, H. S. A. 2018. Pescadores artesanais, conflito de interesses e os recursos pesqueiros vistos como capital natural crítico: o caso do Lago do Juá em Santarém, Pará. *O Social em Questão* - 309 – 332.

Carvalho, P; Bini, L.M; Thomaz, S. M.; Oliveira, L. G.; Robertson, B.; Tavechio, W. L. G.; Darwisch, A. J. 2001. Comparative limnology of South American flood plain lakes and lagoons.

Castro, J.S., França, C. L., Fernandes, J. F. F., Silva, J. S., Carvalho-Neta, R. N. F., Teixeira, E. G. 2018. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.70, n.2, p.410-418.

CETESB. 2009. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Qualidade das Águas.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2012 [recurso eletrônico] / CETESB. - - São Paulo.

Colt, J. 2002. *Fish Hatchery Management*. ([www.fisheries.org/hatchery](http://www.fisheries.org/hatchery)). Acesso em: 19 de fevereiro de 2019.

Eaton, A. D.; Clesceri, L. S.; Rice, E. W.; Greenberg, A. E. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. The American Public Health Association, 1325pp.

Henrikson, R. C.; Maltoltsy, A. G. 1968. The fine structure of teleost epidermis: Mucus cell. *Journal Ultrastructure Research*, v.21, p.213- 221.

Hinton, D.E.; Lauren, D.J. 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. In: S. M. ADAMS (Ed) *Biological Indicators of*

Stress in Fish. Bethesda, Maryland: AMERICAN FISHERIES SOCIETY SYMPOSIUM. p.51-66.

ICMBio. <http://www.icmbio.gov.br/flonatapajos/>. Acesso em 15 de janeiro de 2019.

Junk, W.J.; Piedade, M.T.F.; Lourival, R.; Wittmann, F.; Kandus, P.; Lacerda, L.D.; Bozelli, R.L.; Esteves, F.A.; Maltchik, L.; Shögart, J.; Schaeffer-Novelli, Y.; Agostinho, A. A.; Nobrega, R.L.B.; Camargo, E. 2014. Definição e Classificação das Áreas Úmidas (AUs). Brasileiras: Base científica para uma nova política de proteção e manejo sustentável. Instituto Nacional de Áreas Úmidas (INAU). Cuiabá, MT 13-76.

Laurent, P. 1984. Internal morphology of the gill. Pp. 73-183. In: Hoar W. S. & D. J. Randall (Eds.). Fish Physiology, vol X. Orlando, Academic Press, 454p.

Lima, F. C. T.; Pires, T. H. S.; Ohara, W. M.; Jerep, F. C.; Carvalho, F. R.; Marinho, M. M. F.; Zuanon, J. 2013. Peixes do rio Madeira. Characidae, cap. 19, v. I. São Paulo. Lisboa, 919p.

Lupi, C.; Nhacarini, N. I.; Mazon, A. F.; Sá, O. R. 2007. Avaliação da poluição ambiental através de alterações morfológicas das brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilápia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. Revista Fafibe on line, Bebedouro, n. 3.

Mallatt, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. Can. J. Aquatic. Sci., v. 42, p. 630-648.

Matsuzaki, M.; Mucci, J. L. N.; Rocha, A. A. 2004. Comunidade fitoplanctônica de um pesqueiro na cidade de São Paulo. Saúde Públ., v.38, p.679- 686.

Mercante, C. T. J.; Martins, Y. K.; do Carmo, C. F. *et al.* A. 2012. Qualidade da água em viveiro de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. Bioikos, v.21, p.79-88.

Monaco, P. A.; Matos, A. T.; Silva, N. C. L.; Lima, C. R. da.; Moreira, R. M. 2011. Estimativa da concentração de potássio a partir da condutividade elétrica em água residuárias da lavagem e despolpa dos frutos do cafeeiro. Universidade Federal de Viçosa.

Moron, S.E; Andrade, C.A; Fernandes, M.N; 2009. Response of mucus cells of the gills of traira (*Hoplias malabaricus*) and jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) (Teleosti: Erythrinidae) to hypo-osmotic stress. *Neotropical, Ictyology*. 7,491-498.

Nogueira, D. J.; Castro, S. C.; Sá, O. R. 2008. Avaliação da qualidade da água no reservatório UHE Furnas - MG, utilizando as brânquias de *Pimelodus maculatus* (LACÈPÈDE, 1803) como biomarcador de poluição ambiental. Ciência Praxis. V.1, p.15-20.

Ostrensky, A.; Boeger, W. 1998. *Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo*. Guaíba: AGROPECUÁRIA. 211p.

Pena, Z. C. 2016. Avaliação espacial e temporal das taxas de sedimentação de um lago de água clara associado ao rio Tapajós, lago do Juá, Santarém, Pará, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Oeste do Pará. Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas. Santarém, Pará. 46 pp.

Pereira, D. P.; Santos, D. M. S.; Carvalho Neta, A. V.; Cruz, C. F.; Carvalho Neta, R. N. F. 2014. Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (pisces, cichlidae) como biomarcadores de poluição aquática na Laguna da Jansen, São Luís, MA (Brasil) Biosci. J., Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1213-1221, July/Aug.

Pinheiro, D. T.; Corrêa, J. M. S.; Chaves, C. S.; Campos, D. P. F.; Ponte, S. C. S.; Zacardi, D. M. 2016. Diversidade e distribuição da ictiofauna associada a bancos de macrófitas aquáticas de um lago de inundação amazônico, estado do Pará, Brasil. Acta Fish. Aquat. Res. 4 (2): 59-70.

Powell, M. D.; Speare, D. J.; Wright, G. M. 1994. Comparative ultrastructural morphology of lamellar epithelial, chloride and mucous cell glycocalyx of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Gill. Journal Fish Biology, v. 44, p. 725-730.

Rebouças, A.C.; Braga, B.; Tundisi, J.G. 1999. Águas Doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. Escrituras. São Paulo. 717 p.

Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris-Jr, C. J. 2003. (Eds.). Check List of the Fresh water Fishes of South and Central America. Edipuc, Porto Alegre. 729pp.

Reis, R.E., Albert, J.S., Didario, F., Mincarone, M.M., Petry, P. & Rocha, L.A. 2016. Fish biodiversity and conservation in South America. Journal of Fish Biology, in press.

Roland, F.; Huszar, V. L. M.; Farjalla, V. F.; Enrich-Prast, A.; Amado, A.M.; Ometto, J. P. H. B. 2012. Climate change in Brazil: perspective on the biogeochemistry of inland waters. Brazilian Journal of Biology, v. 72, n. 3, p. 709-722.

Santos Júnior, G. J.; Peregovich, B. G.; Dantas, A. B.; Silva, C. G. C.; Sousa, I. P. N.; Silva, V. M. 2015. Levantamento dos impactos causados pelos empreendimentos nas proximidades do Lago do Juá - Santarém/PA. 15º Congresso Brasileiro de Geologia de Engenharia e Ambiental. Bento Resumo. Gonçalves, RS. 9 pp.

Schulz, U. H. e Martins-Junior, H. 2001. *Astyanax fasciatus* as bioindicator of water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brasil. Brazilian Journal Biology, v.61, n.4, p.1-8.

Shepard, K.L. 1994. Functions for fish mucus. Review Fish Biology for Fisheries, v.4, p. 410-429.



Sibbing, F.A; Uribe, R. 1985. Regional Specialization in the oro- pharyngeal wall and food processing in the carp *Cyprinus carpio*. *Neth. Journal. Zoology.*, Leiden, 35:377-422.

Silva, A. E. P.; Angelis, C. F.; Machado, L. A. T.; Waichaman, A.V. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. *Acta Amazonica*, v. 38, n. 4, p. 733- 742. 2008.

Silva, M. S, R. 2013 - Classification of amazonian rivers: a strategy for the preservation of these resources. *Holos Environment*, v.13 n.2. - P. 163 ISSN:1519-8634 (online)

Sipaúba-Tavares, L.H. *Limnologia aplicada à aquicultura*. São Paulo: FUNEP, 1994. 72p.

Soares, M. G. M.; Freitas, C. E.C.; Oliveira, A. C. B. 2014. Assembleias de peixes associados aos bancos de macrófitas aquáticas em lagos manejados da Amazônia Central, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônia*. v. 44(1)143 – 152.

Suemitsu, C.; Novais, J. S.; Vargas, J. T. 2013. Notas florísticas sobre o entorno do lago do Juá, margem direita do rio Tapajós, baixo amazonas, Pará. 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte.

Varsamos, S.; Nebel, C. & Charmantier, G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 141(4):401-429.

Von Sperling, M. 2007. Estudos de modelagem da qualidade da água de rios. Belo Horizonte: UFMG. Vol. 7. 452 p.

Winkaler, E. U.; Silva, A. G.; Galindo, H. C.; Martinez, C. B. 2001. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum*. 23:507-514.

Wood, C. M.; Wilson, R. W.; Gonzalez, R. J.; Patrick, M. L.; Bergman, H. L.; Narahara, A.; Val, A. L. Responses of an Amazonian teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*), to low pH in extremely soft water. *Physiological Zoology*, Chicago, v. 71, n. 6, p. 658-670, 1998.

Zall, D. M.; Fisher, M. D.; Garner, Q. M. 1956. Photometric determination of chlorides in water. *Analytical Chemistry*, 28: 1665-1678.

### Considerações Finais

O monitoramento ambiental é importante para a manutenção da qualidade dos ambientes, especialmente pelo uso dos peixes como excelentes ferramentas nessa atividade.

Este é o primeiro trabalho que verificou o potencial de *Hemigrammus levis* como bioindicador ambiental. Destaca-se que há necessidade de mais estudos que favoreçam o aprofundamento e conhecimento dessa espécie, a fim de identificar outros biomarcadores, além das células mucosas.

A utilização dessa espécie (a mais abundante a partir da primeira coleta) foi importante para avaliar possíveis agentes estressores no Lago Juá.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, J. R. P. 2015. Gestão Ambiental Aplicada ao Urbanismo: Estudo de caso: Expansão Urbana no Município de Santarém – Pará – Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia. Mestrado em Processos Construtivos e Saneamento Urbano. Belém, Pará.

Ação Civil Pública – Ministério Público Federal/ Ministério Público do Estado do Pará, nº 1.23.002.000648/2012-58.

Aguiar, C. P. O. de; Peleja, J. R. P.; Sousa, K. N. S. 2014. Qualidade da água em microbacias hidrográficas com agricultura nos municípios de Santarém e Belterra, Pará. Rev. Árvore [online]. vol.38, n.6, pp.983-992.

Akaishi, F. M. 2004. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Atyanaxsp.*) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil.

Albinati, A. C. L.; Moreira, E. L. T.; Albinati, R. C. B.; Carvalho, J. V.; Lira, A. D.; Santos, G. B.; Vidal, L. V. O. 2009. Biomarcadores histológicos - toxicidade crônica pelo Roundup em piaçu (*Leporinus macrocephalus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.61, p. 621-627.amb\_jul 09\_6.pdf>. Acesso em: 18 de janeiro de 2019.

Amorim, A. T. S. 1999. Santarém: uma síntese histórica. Canoas: Ed. ULBRA. Santarém. p. 209-227.

Arellano, J.M.; Storch, V.; Sarasquete, C. 1999. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotox. Environ. Safe.*,v.44, p.62-72.

Bleich, M. E.; Piedade, M. T. F.; Knopki, P. B.; Castro, N. G. D.; Jati, S. R.; Sousa, R. N. 2014. Influência das condições do habitat sobre a estrutura de herbáceas aquáticas na região do Lago Catalão, Manaus, AM. *Acta Amazônica*. 44. 481 – 490.

Brasil. Programa Nacional do Meio Ambiente II PNMA II - Fase 2 - 2009 – 2014. Componente Desenvolvimento Institucional. Subcomponente monitoramento ambiental. Disponível em:<[http://www.mma.gov.br/estruturas/pnma/\\_arquivos/04\\_02\\_manual\\_monitor\\_](http://www.mma.gov.br/estruturas/pnma/_arquivos/04_02_manual_monitor_)

Breseghele, L.; Cardoso, M. P.; Borges, O. R.; Costa, M. F.; Barreto, J. C. B.; Saboia-Morais, S. M. T.; Yamada, Á. T. 2004. Effects of sodium fluoride in Gill epithelium of Guppy fish (*Poecilia vivipara*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 41:274-280.

Cardoso, M. C.; Silva, R. E.; Silva, A. D. B.; Chiba, H. S. A. 2018. Pescadores artesanais, conflito de interesses e os recursos pesqueiros vistos como capital natural crítico: o caso do Lago do Juá em Santarém, Pará. *O Social em Questão* - 309 – 332.

Cunha, A. C. 2013. Revisão descritiva sobre qualidade da água, parâmetros e modelagem de ecossistemas aquáticos tropicais. *Biota Amazônia*. v. 3, n. 1, p. 124 – 143.

Cunha, E. D. S. 2012. Levantamento Florístico, Dinâmica Espaço-Temporal e Quantificação da Biomassa do Fitoplâncton dos Rios Araguari e Falsino (Amapá- Brasil). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Amapá, Amapá. 85 pp.

Darwich, A. J.; Aprile, F. M.; Robertson, B. A.; Alves, L. F. 2005. Biotupé: Meio Físico (Cap.3), Diversidade Biológica e Sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central, INPA, Manaus. Amazonas. p. 35-67.

Dias, M.B. 2007. Composição e abundância do fitoplâncton do sudoeste da Reserva Biológica do Lago Piratuba (Amapá, Brasil). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Amazonas. *Biologia de Água Doce e Pesca Interior*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Amazonas. 109 pp.

Flores-Lopes, F.; Thomaz, A.T. 2011. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring, *Brazilian Journal of fish biology*, vol. 71.

Goulding, M; Barthem, R.; Ferreira, E. J. G. 2003. The Smithsonian atlas of the Amazon. Smithsonian Books. Washingyon. 253pp.

Henrikson, R. C.; Maltoltsy, A. G. 1968. The fine structure of teleost epidermis: Mucus cell. *Journal Ultrastructure Research*, v.21, p.213- 221.

Hinton, D. E.; Baumann, P. C.; Gardner, G. R.; Hawkins, W. E.; Hendricks, J. D.; Murchelano, R. A.; Okihira, M. S. Histopathologic Biomarkers. In: Huggett, R. J.; Kimerli, R. A.; Mehrle, P. M.; Bergman, H. L. 1992. Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton: Lewis Publishers. cap. 4, p. 155 – 196.

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*, v.12, p.680-693.

Junk, W. J.; Piedade, M. T. F.; Schöngart, J.; Cohn-Haft, M.; Adeney, J. M.; Wittmann, F. 2011. A Classification of major naturally occurring Amazonian lowland wetlands. *Wetlands*, 31: 623–640.

Kuhn, P. A. F.; Dallarosa, R. L. G.; Souza, E. B.; Senna, R. C. 2009. Hidrologia da Amazônia. Coleção Caderno da Amazônia. Governo do Estado do Amazonas. Secretaria de Estado da Cultura. Manaus, Amazonas. 80p.

Lupi, C.; Nhacarini, N. I.; Mazon, A. F.; Sá, O. R. 2007. Avaliação da poluição ambiental através de alterações morfológicas das brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilápia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro - SP. *Revista Fafibe on line*, Bebedouro, n. 3.

Mallatt, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Aquatic. Sci.*, v. 42, p. 630-648.

Moron, S. E.; Andrade, C. A.; Fernandes, M. N. 2009. Response of mucous cells of the gills of traíra (*Hoplias malabaricus*) and jeju (*Hoplerthrinus unitaeniatus*) (Teleostei: Erythrinidae) to hypo - and hyper - osmotic ion stress. *Neotrop. ichthyol.* vol.7, n.3. Porto Alegre.

Nogueira, D. J.; Castro, S. C.; Sá, O. R. 2008. Avaliação da qualidade da água no reservatório UHE Furnas - MG, utilizando as brânquias de *Pimelodus maculatus* (LACÈPÈDE, 1803) como biomarcador de poluição ambiental. *Ciência Praxis*. V.1, p.15-20.

Parolin, P.; Piedade, M. T. F. e Junk, W. J. 2005. Os rios da Amazônia e suas interações com a floresta. *Ciência e Ambiente*. 31. Jul-Dez, p. 49-64.

Pena, Z. C. 2016. Avaliação espacial e temporal das taxas de sedimentação de um lago de água clara associado ao rio Tapajós, lago do Juá, Santarém, Pará, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Oeste do Pará. Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas. Santarém, Pará. 46 pp.

Pereira, D. P.; Santos, D. M. S.; Carvalho Neta, A. V.; Cruz, C. F.; Carvalho Neta, R. N. F. 2014. Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (pisces, cichlidae) como biomarcadores de poluição aquática na Laguna da Jansen, São Luís, MA (Brasil) Biosci. J., Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1213-1221, July/Aug.

Piedade, M. T. F.; Almeida-Val, V. M. F.; Lopes, A.; Henrique, H. S. S.; Fé, L. M. L.; Wittmann, F. 2014. Organismos aquáticos e de áreas úmidas em uma Amazônia em transição. Cienc. Cult. vol. 66; n.3 São Paulo.

Poleksić, V.; Mitrović-Tutundžić, V. 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: Müller, R.; Lloyd, R. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Oxford: Fishing News Books. cap. 30, p. 339-352.

Ramos, J. R. B. 2004. A Urbanização de Santarém e a Preservação Ambiental do Lago Mapiri: um estudo de caso. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano e Regional. Rio de Janeiro, RJ. p. 43-74.

Rebouças, A.C.; Braga, B.; Tundisi, J.G. 1999. Águas Doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. Escrituras. São Paulo. 717 p.

Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris-Jr, C. J. 2003. (Eds.). Check List of the Fresh water Fishes of South and Central America. Edipuc, Porto Alegre. 729pp.

Reis, R.E., Albert, J.S., Didario, F., Mincarone, M.M., Petry, P. & Rocha, L.A. 2016. Fish biodiversity and conservation in South America. Journal of Fish Biology, in press.

Ropke, C. P. 2008. Estrutura trófica das assembleias de peixes em biótopo de herbáceas aquáticas nos rios Araguaia (Tocantins) e Trombetas (Pará), Brasil. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 91 pp.

Santos Júnior, G. J.; Peregovich, B. G.; Dantas, A. B.; Silva, C. G. C.; Sousa, I. P. N.; Silva, V. M. 2015. Levantamento dos impactos causados pelos empreendimentos nas proximidades do Lago do Juá - Santarém/PA. 15º Congresso Brasileiro de Geologia de Engenharia e Ambiental. Bento Resumo. Gonçalves, RS. 9 pp.

Schmidt – Nielsen, K. 1996. Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente. 5. ed. São Paulo: Santos. 600 pp.

Schulz, U. H. e Martins-Junior, H. 2001. *Astyanax fasciatus* as bioindicator of water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brasil. Brazilian Journal Biology, v.61, n.4, p.1-8.

Shepard, K.L. 1994. Functions for fish mucus. Review Fish Biology for Fisheries, v.4, p. 410-429.

Silva, M. S, R. 2013. Classification of amazonian rivers: a strategy for the preservation of these resources. *Holos Environment*, v.13 n.2. - P. 163 ISSN:1519-8634 (on-line)

Suemitsu, C.; Novais, J. S.; Vargas, J. T. 2013. Notas florísticas sobre o entorno do lago do Juá, margem direita do rio Tapajós, baixo amazonas, Pará. 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte.

Takashima, F.; Hibiya, T. 1995. An atlas of fish histology normal and pathological features. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag.

Ward, N. D; Keil, R. G.; Medeiros, P. M.; Brito, D. C.; Cunha, A. C.; Dittmar, T.; Yager, P. L; Krusche, A. V.; Richey, J. E. A. 2013. Degradation of terrestrially derived macromolecules in the Amazon River. *Nature Geoscience*. v. 6, p. 530-533.

Wendelaar Bonga, S. E. 1997. The Stress Response in Fish. *Physiological Review*, E.U.A., v. 77, n. 3, p. 591- 620.

Winkaler, E. U.; Silva, A. G.; Galindo, H. C.; Martinez, C. B. 2001. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum*. 23:507-514.

## Anexo A

Normas para submissão de artigo para revista Neotropical Ichthyology. Esta revista possui o qualis-CAPES B2 na área de Biodiversidade.

### Submission of manuscripts

All **Neotropical Ichthyology** submission system is exclusively online through the portal ScholarOne. Manuscripts must be submitted as digital files at <http://mc04.manuscriptcentral.com/ni-scielo>. The Editor-in-Chief will screen each manuscript submitted to **Neotropical Ichthyology** verifying whether it is within the journal's scope, presents original research and follows the instructions of the journal to authors. After passing through the initial screening, articles will be assigned to a Section Editor, who will assign an Associate Editor and start the single blind review process. The journal is open for submissions to all researchers on Neotropical ichthyofauna.

With each new *manuscript* submission, *authors* must include a **cover letter** stating that the article constitutes original research and is not being submitted to other journals. Your letter should also explain to editors why your article should be published, highlight the strengths of your research and outline the recommendations that can be drawn from your work. In multi-authored papers, the author responsible for submission must declare in the cover letter that all coauthors are aware of and agree with the submission. To that end, please ensure that all your coauthors have read and approved the final version.

The mailing addresses and valid e-mail addresses for all authors must be entered in the appropriate forms during manuscript

submission. We strongly encourage you to register in <http://orcid.org/>, ask your coauthors to do the same and provide ORCID numbers for all authors during submission. At least the ORCID of the corresponding author is mandatory. Do not translate Institution names. During the submission, indicate at least five possible reviewers, providing name, institution, country, and valid e-mail addresses. You may also indicate your opposition to particular reviewers or conflicts of interests, if applicable.

Please, read carefully and follow all applicable rules prior to submission. Manuscripts that do not meet the journal formatting requirements, lack required files, or are written in poor English will be returned to authors without review.

### **Costs**

Paper charges will be billed to the corresponding author upon initial distribution of page proofs with costs of R\$400 reais for articles of up to 20 printed pages, adding R\$5 reais for each page added. For authors from outside Brazil the values will be converted to US dollars based on the official quotation of the budget day.

All charges are waived when one or more authors are current SBI members (with the membership fee of the current year paid) or when the paper has been invited through the system. Contact the SBI Secretary (<http://www.sbi.bio.br/en/membership>) for membership rates and payment procedures.

## **Form and preparation of manuscripts**

### **General form and preparation of manuscripts**

Do not duplicate information among the text, figures and tables. Submit only figures and



tables that are strictly necessary. Supplementary files such as appendices, and videos should be uploaded already formatted, as pdf or video files. They will be available only in the online version.

For taxonomic papers, please also refer to: *Neotropical Ichthyology* taxonomic style below.

### **Licensing**

Until 2015, Neotropical Ichthyology published under a Creative Commons BY-NC license (Attribution-Non commercial). In 2015 the journal changed to the more permissive Creative Common BY license (Attribution). Articles accepted for publication become property of the journal.

### **Formatting rules**

Please, be sure you have carefully read all the items below

**FILE AND PAGE SETUP** Manuscript files must be in the DOC, DOCX or RTF formats. Do not lock or protect the file. Formats such as XLS, XLSX or PDF will NOT be accepted.

The document file cannot include headers, footers, or footnotes (except page number). If your manuscript, figures or tables contain footnotes, move the information into the main text, captions or the reference list, depending on the content. Do not format text in multiple columns. Although no page limit is imposed, manuscripts should always be as concise as possible.

Text should be aligned to the left (except if otherwise mentioned), not fully justified, not indented by tab or space and not underlined. Do not hyphenate words at line breaks (though hyphens can be used in compound constructions, such as dorsal-fin rays, as appropriate).

All text must be Times New Roman font size 12, with 1.5 line spacing. Do not number lines. The font “symbol” can be used to represent the following characters: χμθωερτΨυιοπασδΦγηφκλΞϖβν≅ΘΩΣΔΦ. Spell out numbers from one to nine, except those that refer to numerical values, scale counts, and when referencing figures and tables. Also, spell out numbers that begin a sentence.

Abbreviations used in the text must be listed under Material and Methods; except for those in common use (*e.g.*, min, km, mm, kg, m, sec, h, ml, L, g). For measurements, use the metric system. Never use n- or m-dashes anywhere in the manuscript; always use hyphens instead.

**LANGUAGE** Text must be submitted in English. If none of the authors are native English speakers, we recommend that you contract with a professional language-editing and copyediting services or have the manuscript read by a native English speaking colleague prior to submission. Authors are free to choose any certified service, but Neotropical Ichthyology authors receive a discount from these two companies.



<http://www.aje.com/c/SBI10> (10% discount) and

<http://www.enago.com.br/forjournal/> (CODE: PESQUISA, 20% discount)

Avoid clichés, slang, and colloquial words or expressions such as “In the present study”. Use the word “very” sparingly.

**TITLE** New taxa names should not appear in the title or abstract. *E.g.*, this title meets the guidelines: A new species of loricariid catfish from the rio Ribeira de Iguape basin, Brazil (Ostariophysi: Siluriformes).

Center the title and present it in boldface, without quotation marks, with sentence-style capitalization, and with subordinate taxa separated by “:” *e.g.*, ...**(Siluriformes: Loricariidae)**. Titles must reflect the contents of the paper and use scientific names rather than vernacular names. Do not provide taxonomic authorship in the title, but do provide it in the first appearance of the name in the text. See Nomenclature Section below for further instructions.

**AUTHORS** As the submitting author will be responsible for completing information at submission, it is mandatory that all authors have reviewed, discussed, and agreed with the contents of the manuscript and the order of authorship prior to submission. All co-authors must have contributed substantially to all article steps. Collectors and contributors of resources and equipment without substantial intellectual involvement in the project should

be mentioned in the Acknowledgments, but not included as authors.

Capitalize only the initial letters of authors' names. Do not abbreviate first name of authors and separate the names of the last two authors by "and". We encourage presenting the full middle names of the authors, except when the number of authors is more than four. In case of authors from different institutions, use superscript numerals to identify each one in regular font (not italics). Superscript numerals can also be used to identify multiple addresses for each individual author. For Hispanic surnames, insert a hyphen between the paternal and the maternal surname if the author wishes to be cited with both (*e.g.*, Javier Maldonado-Ocampo).

**AUTHORS ADDRESSES** Full mailing addresses and email of all authors must be provided, including institution name, ZIP codes, cities (no comma between ZIP and city), states and countries. For Brazilian and American states, use standard abbreviations preceded by comma, and always present the country name in English. Footnotes should not be used. List emails as part of the institutional address. When there is more than one author at a given institution, insert initials of each author name before their respective email address. Indicate the corresponding author by adding (corresponding author) after the appropriate email address. Do not use period.

*E.g.*, Heraldo A. Britski<sup>1</sup>, Naércio A. de Menezes<sup>1</sup>, Javier Maldonado-Ocampo<sup>2</sup> and John Lundberg<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Seção de Peixes, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Av. Nazaré, 481, Ipiranga, 04263-000 São Paulo, SP, Brazil. (HAB) heraldo@usp.br (corresponding author), (NAM) [naercio@usp.br](mailto:naercio@usp.br)

<sup>2</sup>Unidad de Ecología y Sistemática (UNESIS), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Edf. 53, Laboratorio de Ictiología 108B, Carrera 7 No. 43-82, Bogotá, DC, Colombia. [gymnopez@gmail.com](mailto:gymnopez@gmail.com)

<sup>3</sup>Department of Ichthyology, The Academy of Natural Sciences of Drexel University, 1900 Benjamin Franklin Parkway, 19103-1195 Philadelphia, PA, USA. [lundberg@ansp.org](mailto:lundberg@ansp.org)

**RUNNING HEAD** Provide a suggested running head of up to 50 characters. It must concisely reflect the content of the article. Do not include vernacular names or species

authorship here.

**ABSTRACT** Abstracts must appear as a single paragraph with fewer than 200 words in English. Do not include new taxa names, authorship or references. Do not indent. Remember that this is the first piece of your article that will be viewed by each potential reader. Include information showing the importance and relevance of your article to encourage the reader to read your entire paper.

**RESUMO or RESUMEN** Provide a concise (maximum 200 words) and accurate Portuguese or Spanish translation of the English abstract.

**KEYWORDS** Provide up to five capitalized keywords in English, in alphabetic order and separated by commas. Do not use words already contained in the title, nor Neotropical (which appears in the name of the journal). If the article provides an identification key, include that as keyword in the English and translated lists. The order of the Palavras-chave or the Palabras clave also is arranged alphabetically, but the sequence of the words might differ from those in English.

**TEXT** The body of text may employ named heading and subheadings, which cannot be lettered or numbered. All sections are left justified, except the primary headings, which should appear centered in small caps and bold font. Employ the following heading, in the cited order: **Title** (do not include the word Title before the title proper); **Abstract** (in English); **Resumo** or **Resumen** (choose only one, in Portuguese or Spanish); **Keywords** (in English and in the same language of the Resumo or Resumen you provided, literally translated from the English); **Running Head; Introduction; Material and Methods; Results; Discussion; Acknowledgments** (optional); and **References**. Do not unite Results and Discussion as a unique section or provide a separate Conclusion section. However, we encourage highlighting conclusions as the last paragraph(s) of the Discussion. If two heading levels are used, follow this format:

### **Material and Methods**

**Sampling sites.** Collections were carried out in...

**Statistical analyses.** Data were analyzed...

In case of listing Examined Material, provide a list of institutional acronyms in Material and Methods section OR a reference to a published paper with a list of acronyms in Material and Methods. Also, reference(s) for species identification and classification used must be provided.

**VOUCHER SPECIMENS** Voucher specimens of all species examined must be deposited in a recognized scientific research collection, even in studies focusing on a single well-known species. A list of catalog numbers of voucher specimen(s) must be furnished in all manuscripts.

**NOMENCLATURE** Species, genera, and Latin terms (*et al.*, *in vitro*, *in vivo*, *vs.*, *i.e.*, *e.g.*) must be in italics. Cite scientific names according to the ICZN (<http://iczn.org/iczn/index.jsp>).

Authorship should be given at the first reference to a species or genus. Spelling, valid names and authorship of species must be checked in the Catalog of Fishes at <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Latin terms presented between the generic and specific names (*cf.*, *aff.*, *etc.*) are not in italics (*e.g.*, *Hoplias cf. malabaricus*).

The genus name must always be fully spelled at its first appearance, at the beginning of a sentence and at least once in each figure and table caption(s). After first mention, the first letter of the genus name followed by the full species name may be used (*e.g.*, *H. malabaricus*) as long as the abbreviation leaves no possibility of confusion with another generic name mentioned in the manuscript. In the case of possible confusion, the abbreviation can include more than the first letter to allow the differentiation of genera beginning with the same letter.

**ACKNOWLEDGMENTS** Acknowledgments are optional but encouraged. If included, they must be concise and include both first and last names of persons. Abbreviate institutions, where the full name has been provided in the Material and Methods. Names of sponsor institutions should be listed in their original spelling and not translated to English. Collections permit numbers and approvals of ethics committees can be listed here OR in the Material and Methods section.

**TABLES** Tables must be numbered sequentially in Arabic numerals according to the order of citation in the text and be cited in the text using the following formats: Tab. 1, Tabs. 1-2, Tabs. 1, 4. Approximate locations where tables should be inserted must be indicated in upper case, along the right margin of the text, as in:

TABLE 1

In table captions, the word Tab., its respective number and final period after the number should be in bold (*e.g.*, **Tab. 1**...). End the caption in a period. Captions must be self-explicative. If genus names appear in a caption, spell out the name at least once.

Tables must be constructed in cells using lines and columns. Do not format tables with “tab” or “space”. Tables should not contain visible vertical lines or footnotes [contents of footnotes must be included in the caption].

List all captions at the end of the manuscript, in the following format: *e.g.*, **Tab. 1**. Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma pyrrhopteryx* and *D. speculiferum*...

**FIGURES** Figures must be numbered sequentially in Arabic numerals according to their order of citation in the text. Cite figures in the text using the following formats: Fig. 1, Figs. 1-2, Fig. 1a, Figs. 1a-b, Figs. 1a, c. Indicate the approximate locations where figures should be inserted in upper case, along the right margin of the text, as in:

FIGURE 1

In each figure caption, the word Fig., its respective number and period are in bold (*e.g.*, **Fig. 1**...). End each caption with a period. Captions must be self-explicative. If genus names appear in a caption, spell out the name at least once. Do not include symbols in the caption, but rather replace them with text (*e.g.*, black triangle) or include a legend in the figure itself.

Indicate figure subsections in lower case and bold letters in both in the figure and caption (*e.g.*, **Fig. 1**. Olfactory epithelium of representatives of Otophysi. **a.** *Cyprinus carpio*; **b.** *Brycon orbignyanus*; **c.** *Pimelodus maculatus*; and **d.** *Sternopygus macrurus*. Scale bars = 1 mm). Do not use capital letters, or parentheses after letters.

Cite figures from other articles using the same formats as figures published in the present article, but do not capitalize them (*e.g.*, ...according to the figs. 2b of Vari, Harold (2001)...).

Figures cannot be submitted as images inserted in Word files. Figures must be submitted as high quality individual files. For b&w figures, they must be saved in TIFF format, gray scale, 8.5 or 17.5 cm width, 600 dpi. Color figures must be in TIFF format, CMYK, 8.5 or 17.5 cm width and 300 dpi.

Composed figures must fit either the page (17.5 cm) or column width (8.5 cm). Text included in graphs and pictures must have a font size compatible with reductions to page or column width.

Illustrations must include either a scale or reference to the size of the item in the figure caption.

List all captions at the end of the manuscript, in the following format: *e.g.*, **Fig. 1.** Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma pyrrhopteryx* and *D. speculiferum*...

**SUPPLEMENTARY FILES** Upload appendices, videos, datasets and other complementary materials as supplementary files. Identify these in the text by a bolded letter **S** followed by sequential numbers in Arabic numerals. Indicate in the text that those will appear only in the online version (*e.g.* ... as shown in the video **S1**, available only in the online version,...). List all captions at the end of the manuscript, in the following format: **S1.** Video of variation of tides...

**PERSONAL COMMUNICATION** Personal communication should be included in the text of your document – cited in text only and not be included in your reference list. *It is recommended you get permission from the source/author of your personal communication.*

Personal communication in the text of your document must include: Date of communication; Type of communication – oral, written (*e.g.*, letter, written communication) or email (include email address); Affiliation (university, organization) and highest academic degree are optional. *E.g., Conversation:* In a conversation with C. A. Silva (April 2010)...

**Letter:** According to a letter by C. A. Silva (Assoc. Prof., Dept of Biology, Universidade de São Paulo, SP) in November 2016... **OR** According to C. A. Silva, PhD (written communication, November 2016)...

**E-mail: In-text:** In an email from E. Anderson, PhD (e.anderson@usp.br) in August 2016...

**REFERENCES** References must be cited in the following formats in the text: Eigenmann (1915, 1921) or (Eigenmann, 1915, 1921; Fowler, 1945, 1948) or Eigenmann, Norris (1918) or, for more than two coauthors, Eigenmann *et al.* (1910a, 1910b), always in chronological order after alphabetical order in case of more than one author cited.

Do not include undergraduate monographs, conference papers, abstracts or technical reports. Include Masters Thesis or Ph.D. dissertations only if extremely necessary. Do not format references with “tab” or “space” and present references in rigorous alphabetical order. In case of authors with surnames with prepositions, in Portuguese do not include the preposition (*e.g.*, Carlos Alberto da Silva = Silva CA). In Spanish do not include “de” (*e.g.*, María de Rueda = Rueda M), but include “Del” (*e.g.*, Angel Del Río = Del Río A). Ignore prepositions for the purpose of alphabetization, as in the following example:

E.g. of sequence De Carli F  
 Devincenzi GJ  
 Eigenmann CH  
 Maldonado-Ocampo J  
 De Pinna MCC  
 Del Río A  
 Rueda M  
 Silva CA

**Note:** In case of self-citations using a convention other than those exemplified, please cite using your usual convention and, in the cover letter, mention your intention to maintain and standardize that usage in all your self-citations in this and other journals.

Ensure that all citations in the text and the References coincide before submitting a manuscript. Use the reference style outlined by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), also referred to as the “Vancouver” style. Example formats are



listed below.

**Book Author(s) – Family name and initials, Multiple authors separated by a comma. Title of book. Edition of book if later than 1st ed. Place of Publication: Publisher Name; Year of Publication.**

**One author**

Bailey KD. Methods of social research. 4th ed. New York: Free Press; 1994.  
Nelson JS. Fishes of the world. 4th ed. Hoboken (NJ): J. Wiley; 2006.

**Two to six authors**

Borcard D, Gillet F, Legendre P. Numerical ecology with R. New York: Springer; 2011.  
Graça WJ, Pavanelli CS. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. Maringá: Eduem; 2007.

Pillar VP, Müller SC, Castilhos ZMS, Jacques AVA. Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. Brasília (DF): Ministério do Meio Ambiente; 2012.

**Six or more authors**

Baumgartner G, Pavanelli CS, Baumgartner D, Bifi AG, Debona T, Frana VA. Peixes do baixo rio Iguazu. Maringá: Eduem; 2012.  
Maldonado-Ocampo JA, Oviedo JSU, Villa-Navarro FA, Ortega-Lara A, Prada-Pedrerros S, Jiménez LF, Jaramillo-Villa U, Arango A, Rivas TS, Garcés GCS. Peces dulceacuícolas del Chocó biogeográfico de Colombia. Bogotá (DC): WWF Colombia, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Universidad del Tolima, Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca; 2012

**OR**

Maldonado-Ocampo JA, Oviedo JSU, Villa-Navarro FA, Ortega-Lara A, Prada-Pedrerros S, Jiménez LF et al. Peces dulceacuícolas del Chocó biogeográfico de Colombia. Bogotá (DC): WWF Colombia, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Universidad del Tolima, Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca; 2012.

**Different Editions**

Zar JH. Biostatistical analysis. 5th ed. Upper Saddle River (NJ): Prentice Hall; 2010.

**Edited book**

Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS, editors. Phylogeny and classification of Neotropical fishes. Porto Alegre: Edipucrs; 1998.

Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ, Jr., organizers. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs; 2003.

**Book in a series**

Fink WL, Weitzman SH. The so-called Cheirodontin fishes of Central America with descriptions of two new species (Pisces: Characidae). Washington (DC): Smithsonian Institution Press; 1974. (Smithsonian contributions to Zoology; No. 172).

Legendre P, Legendre L. Numerical ecology. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 1998. (Developments in environmental modeling; 20).

Meek SE. The fresh-water fishes of Mexico north of the isthmus of Tehuantepec. Chicago: Field Columbian Museum; 1904. (Field Columbian Museum. Publication, Zoological series; vol 5).

Wootton RJ. Ecology of teleost fishes. London: Chapman & Hall; 1990. (Fish and fisheries series; 1).

**Electronic book - from a full text database**

Eschmeyer WN, Fong JD. Species by family/ subfamily in the Catalog of Fishes. [Electronic version]. San Francisco (CA): California Academy of Sciences; 2017. [cited 2017 Oct 29]. Available from:

<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>

(NOTE HYPERLINKS HAVE NO PERIOD).

Froese R, Pauly D, editors. FishBase. [World Wide Web electronic publication]. Penang (MA), Rome: FAO; 2017 [cited 2017 Oct 29]. Available from: <http://fishbase.org>

Stoddard, WO. Among the lakes. [eBook]. New York: C. Scribner's Sons; 1890 [cited 2017 Oct 29]. Available from: <https://archive.org/stream/amonglakes00stod#page/n7/mode/2up>

**Translation of a book**

Lowe-McConnell RH. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. Vazzoler AEAM, Agostinho AA, Cunningham PTM, tradutores. São Paulo: Edusp; 1999. (Coleção Base). Original title: Ecological studies in tropical fish communities.

**Chapter in an edited book**

Britto MR. Família Callichthyidae. In: Buckup PA, Menezes NA, Ghazzi MS, editores. Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Rio de Janeiro: Museu Nacional; 2007. p. 75-81. (Série Livros; 23).

Campos-da-Paz R, Albert JS. The gymnotiform “eels” of Tropical America: a history of classification and phylogeny of the South American electric knifefishes (Teleostei: Ostariophysi: Siluriphysi). In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS, editors. Phylogeny and classification of Neotropical fishes. Porto Alegre: Edipucrs; 1998. p.401-417. (NOTE ALL DIGITS ARE PROVIDE IN PAGE NUMBERS OF BOOK CHAPTERS).

Reis RE. Family Callichthyidae (Armored catfishes). In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ, Jr., organizers. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs; 2003. p.291-309.

**Chapter in a book**

Gerking SD. Feeding ecology of fish. London: Academic Press; 1994. Chapter 3, Feeding variability; p.41-53.

**Chapter from an electronic book**

Darwin C. On the origin of species by means of natural selection or the preservation of favored races in the struggle for life [Internet]. London: John Murray; 1859. Chapter 5, Laws of variation. [cited 2010 Apr 22]. Available from: <http://www.talkorigins.org/faqs/origin/chapter5.html>

**Journal Articles Author(s) – Family name and initials. Title of article. Title of journal. – Abbreviated Publication year, month, day (month & day only if available); volume(issue):pages.**

**Note:** Journal titles may be abbreviated according to the style used in the sites: <http://cassi.cas.org/search.jsp>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>, [http://images.webofknowledge.com/WOK46/help/WOS/A\\_abrvjt.html](http://images.webofknowledge.com/WOK46/help/WOS/A_abrvjt.html). **In case you do not**

**find the journal name in the above links, provide the full name of the journal and highlight it in yellow.**

**Standard journal article – one author** Winemiller KO. Spatial and temporal variation in tropical fish trophic networks. *Ecol Monogr.* 1990; 60(3):331-67. (NOTE YOU MUST PRESENT ONLY TWO DIGITS FOR LAST PAGES IF THE PREVIOUS DIGITS COINCIDE WITH THE PREVIOUS DIGITS OF THE FIRST PAGE).

**Standard journal article – two authors** Abudayah WH, Mathis A. Predator recognition learning in rainbow darters *Etheostoma caeruleum*: specific learning and neophobia. *J Fish Biol.* 2016; 89(3):1612-23.

Winemiller KO, Jepsen DB. Effects of seasonality and fish movement on tropical river food webs. *J Fish Biol.* 1998; 53(Suppl.A):267-96.

**Standard journal article – three to six authors**

Morris MR, Batra P, Ryan MJ. Male-male competition and access to females in the swordtail *Xiphophorus nigrensis*. *Copeia.* 1992; (4):980-86.

Vari RP, Ferraris CJ, Jr., De Pinna MCC. The Neotropical whale catfishes (Siluriformes: Cetopsidae: Cetopsinae), a revisionary study. *Neotrop Ichthyol.* 2005; 3(2):127-238.

**Journal article – more than six authors**

Xavier JHA, Cordeiro CAMM, Tenório GD, Diniz AF, Paulo Júnior EPN, Rosa RS, Rosa IL. Fish assemblage of the Mamanguape Environmental Protection Area, NE Brazil: abundance, composition and microhabitat availability along the mangrove-reef gradient. *Neotrop Ichthyol.* 2012; 10(1):109-22.

**OR**

Xavier JHA, Cordeiro CAMM, Tenório GD, Diniz AF, Paulo Júnior EPN, Rosa RS et al. Fish assemblage of the Mamanguape Environmental Protection Area, NE Brazil: abundance, composition and microhabitat availability along the mangrove-reef gradient. *Neotrop Ichthyol.* 2012; 10(1):109-22.

**Journal article – in press**

Melo MRS, Buckup PA, Oyakawa OT. A new species of *Characidium* Reinhardt, 1867 (Characiformes: Crenuchidae) endemic to the Atlantic Forest in Paraná State, southern Brazil. *Neotrop Ichthyol.* Forthcoming 2016.

**Note 1: Cite only if the paper is about to be published. If your article is accepted, be**

sure to provide full details of the article already published in the proofs.

**Note 2: You can include date, volume and issue number if provided.**

**Electronic journal article – with DOI number**

Pessanha ALM, Araújo FG. Spatial and size feeding niche partitioning of the rhomboid mojarra *Diapterus rhombeus* (Cuvier, 1829) in a tropical Brazilian Bay. *Mar Biol Res* [serial on the Internet]. 2012; 8(3):273-83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/17451000.2011.615326>

**Electronic journal article – without DOI number**

Koike Y, Koya Y. Viable periods of fertilizability of eggs and sperm of Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Japan. J. Ichthyol* [serial on the Internet]. 2014; 61(1):9-14. Available from: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jji/61/1/61\\_9/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jji/61/1/61_9/_pdf)

**Journal article from a full text database**

Fletcher D, Wagstaff CRD. Organizational psychology in elite sport: its emergence, applications and future. *Psychol Sport Exerc* [serial on the Internet]. 2009; 10(4):427-34. Available from: <http://www.sciencedirect.com/>

**Reports and other Government Publications Author(s). Title of report. Place of publication: Publisher; Date of publication – year month if applicable.**

**Government /Organisation /Scientific /Technical report**

International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN). International Code of Zoological Nomenclature. 4th ed. London: International Trust for Zoological Nomenclature Natural History Museum; 1999. International Union for Conservation of Nature (IUCN). Standards and Petitions Subcommittee. Guidelines for using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 13 [Internet]. 2017 [updated 2017 Mar]. Available from: <http://cmsdocs.s3.amazonaws.com/RedListGuidelines.pdf>

**Thesis Printed Thesis: Author. Thesis title [type of thesis]. Place of publication: Publisher; Year.**

**Online Thesis: Author. Thesis title [type of thesis on the internet]. Place of publication: Publisher; Year [cited date – year month day]. Available from: Name of database. webaddress**

**Thesis**

Langeani Neto F. Estudo filogenético e revisão taxonômica da família Hemiodontidae

Boulenger, 1904 (sensu Roberts, 1974) (Ostariophysi, Characiformes). [PhD Thesis]. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo; 1996.

**Thesis – retrieved from fulltext database/internet**

Bifi AG. Revisão taxonômica das espécies do grupo *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae) da bacia do rio da Prata. [PhD Thesis on the Internet]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2013 [cited 2010 Mar 24]. Available from: Biblioteca digital Universidade Estadual de Maringá. [HTTP://http://nou-rau.uem.br/nou-rau/document/?code=vtls000205331](http://nou-rau.uem.br/nou-rau/document/?code=vtls000205331)

Vaz GDA. Estudo da ecomorfologia comparada de Pantodontidae (Teleostei: Osteoglossiformes) e Gasteropelecidade (Teleostei: Characiformes). [MSc Dissertation on the Internet]. Ribeirão Preto: USP, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto; 2016 [cited 2016 Oct 29]. Available from: Biblioteca digital Universidade de São Paulo. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59139/tde-29072016-091155/pt-br.php>

**Webpages Author. Title of publication [type of medium – Internet]. Place of publication (if available): Publisher (if available); Date of publication – year month day (supply year if month and day not available) [updated year month day; cited year month day]. Available from: web address**

Web page – with author

Eschmeyer WN, Fricke R, van der Laan R, editors. Catalog of fishes: genera, species, references [Internet]. San Francisco: California Academy of Science; 2016 [updated 2016 Sep 29; cited 2016 Oct 15]. Available from: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

**Web Article with DOI**

Frota A, Deprá GC, Petenucci LM, Graça WJ. Inventory of the fish fauna from Ivaí River basin, Paraná State, Brazil. *Biota Neotropica* [serial on the Internet]. 2016 Jun 27 [cited 2016 Jun 06]; 16(3):e20150151. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/bn/v16n3/1676-0611-bn-1676-0611-BN-2015-0151.pdf> DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2015-0151>

**Image or map on a webpage**

IBGE. Maringá-PR [Image on the internet]. 2010 [cited 2016 Sep 12]; Available from: [ftp://geoftp.ibge.gov.br/cartas\\_e\\_mapas/mapas\\_para\\_fins\\_de\\_levantamentos\\_estatisticos/censo\\_demografico\\_2010/mapas\\_municipais\\_estatisticos/pr/maringa\\_v2.pdf](ftp://geoftp.ibge.gov.br/cartas_e_mapas/mapas_para_fins_de_levantamentos_estatisticos/censo_demografico_2010/mapas_municipais_estatisticos/pr/maringa_v2.pdf)

R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing [Computer software manual - Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2014. Available from: <https://www.r-project.org/>  
 StatSoft, Inc. STATISTICA [Data Analysis Software System], version 10. Available from: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)

### **Taxonomic style instructions**

This summary provides information specific to taxonomic manuscripts. For large taxonomic revisions and reviews, see additional recommendations below. Items with \* are required, others are recommended whenever applicable.

Taxon accounts should be in alphabetical order. For original descriptions, the words “**new genus**” or “**new species**” should appear after the name of the new genus or species, preceded by a comma. The designation also must appear in the caption of the holotype’s figure, in the case of a new species. For species mentioned in the Diagnosis section but for which no comparative material was examined, please formally cite their original descriptions and provide the full references.

**Note:** Prior to submitting a description of a new taxon, please register new nomenclatural act(s) and the paper (as unpublished manuscript) at URL: <http://zoobank.org/> and provide the nomenclatural act code just below the new taxon name (e.g., urn:lsid:zoobank.org:act:XX9XX9XX-X1X2-99XX-9X19-9XXX0XX99X12. After publication, please update the ZooBank article status from unpublished to published. This must be done by the author who made the initial registration

### **Generic accounts**

***Genus* Author, year (or new genus - do not abbreviate) (bolded and**

**centered)**

urn:lsid:zoobank.org:act:XX9XX9XX-X1X2-99XX-9X19-

9XXX0XX99X12 (in case of new genus only)

(centered)

**Synonymy.**

**Type species.\***

**Diagnosis.\***

**Description.\***

**Etymology.** for new genus only\*

**Remarks.**

**Key to species.**

Comments on above:

**Synonymy** Provide a complete synonymy listing all validly published names that have been applied to the genus, including all references in systematic treatments or identification guides that can help link the present concept of the genus to past concepts. The senior synonym is usually the correct and valid name. If applicable, include invalid names and mistakes in identity with suitable annotation to indicate their nature. For each name listed, include minimally: the original form of the name; the author and date of publication; reference and page number; basic information on the genus in the paper cited (modified from Wiley EO, Lieberman BS. *Phylogenetics: theory and practice of Phylogenetic Systematics*. 2nd edition. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2011). Provide full references of all listed sources as part of the References section. If applicable, discuss the synonymy and cite relevant literature in the Remarks section. E.g., *Parodon Valenciennes*, 1849

*Parodon Valenciennes*, in Cuvier, *Valenciennes*, 1849:50 (original description; type-species by original designation and monotypy: *Parodon suborbitalis Valenciennes*). –Günther, 1864:31 (redescription). –Eigenmann, 1912:274 (diagnosis). –Schultz, Miles, 1943:251 (diagnosis in key). –



Schultz, 1944:288 (diagnosis in key). –Campos, 1945:440 (diagnosis). –Miles, 1947:132 (diagnosis). –Travassos, 1955:4 (synonymic list). –Böhlke, 1958:83 (comments). –Ringuelet et al., 1967:180 (diagnosis in key). –Roberts, 1974b:433 (osteology). –Godoy, 1975:451 (diagnosis in key). –Géry, 1977:202 (diagnosis in key). –Britski et al., 1988:26 (diagnosis in key).

Nematoparodon Fowler, 1943:226 (original description; type-species by original designation and monotypy: *Parodon apolinari* Myers).

**Type-species** For proposed new genera, the original name of the proposed type-species, followed by author and year of publication (or new species) is sufficient. For previously proposed generic names, the following additional information is required (in this order): Nature of type designation (e. g., original designation, monotypy, absolute tautonymy, etc). Whether the type-species was not designated in the original publication, the author, year and page of the subsequent designation should be cited (e. g., Type by subsequent designation by Jordan, 1919: 45).

**Diagnosis** Diagnosis should NOT be written in telegraphic style (for purposes of clarity). A generic diagnosis should preferably list the unique synapomorphies of the genus, followed by homoplastic derived characters and/or other useful distinguishing characteristics.

**Description** In telegraphic style (i.e., no verbs nor articles).

**Etymology** For new names, state the gender, even though it may be obvious from the construction. Do not give an etymology for preexisting names. If it is necessary to discuss the etymology of an old name (for example, to justify an interpretation of its gender), include that in the Remarks section.

**Key to species** If a key for identification of species is provided and it was not mentioned in the title, add “dichotomous key” or “identification key” as a keyword.

**Specific accounts**

Order of presentation:

**Species Author, Year (or new species - do not abbreviate) (bolded and centered)**

urn:lsid:zoobank.org:act:XX9XX9XX-X1X2-99XX-9X19-

9XXX0XX99X12 (in case of new species only)  
(centered)

**Synonymy.**

**Holotype.\*** for new species only - include full collection data (see details, below)

**Paratype(s).** for new species only - include full collection data (see details, below)

**Non-types.** for new species only - include reduced collection data (see details, below) (Justification for separating non-types from types should be provided in the Material and Methods section)

**Diagnosis.\*** see below for instruction on how to prepare a species diagnosis

**Description.\***

**Coloration in alcohol.\***

**Coloration in life.**

**Sexual dimorphism.**

**Geographical distribution.\***

**Ecological notes.**

**Etymology.** for new species only\*

**Conservation status.**

**Remarks.**

**Material examined.** for accounts of previously named species

Comments on the above:

**Synonymy** Provide a complete synonymy listing all validly published names that have been applied to the species, including all references in

systematic treatments or identification guides that can help link the present concept of the species to past concepts. The senior synonym is usually the correct and valid name. If applicable, include invalid names and mistakes in identity with suitable annotation to indicate their nature. For each name listed, include minimally: the original form of the name; the author and date of publication; reference and page number; country or basin and basic information on the species in the paper cited (modified from Wiley EO, Lieberman BS. *Phylogenetics: theory and practice of Phylogenetic Systematics*. 2nd edition. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2011). Provide full references of all listed sources as part of the References section. If applicable, discuss the synonymy and cite relevant literature in the Remarks section.

*E.g., Parodon caliensis* Boulenger, 1895

*Parodon caliensis* Boulenger, 1895:480 (original description; type-locality: near Cali, Colombia). –Eigenmann, 1922(reprint 1976):109 (*partim*; Paila, río Cauca basin; diagnosis in key). –Miles, 1943:47 (río Cauca; redescription). –Miles, 1947:132 (río Magdalena; meristics). –Roberts, 1974b:416 (osteology; osteological illustrations). –Roberts, 1975:269 (dentition).

*Parodon saliensis* [sic]. –Roberts, 1975:269 (dentition).

*Parodon Parodon caliensis*. –Géry, 1977:203 (diagnosis in key).

**Types** For new species, list types separately from other comparative material examined. Include full collection data, in the following order: Museum acronym and catalog number, number of specimens (except for holotype), size range separated by hyphen, number and size range of measured specimens, if different (in parentheses along with size range) locality (country, state, municipality, locality, basin, coordinates), date of collection [in dd, Month (3 letter abbreviation) and yyyy], and collector(s) [*e.g.*, Paratypes.LIRP 5640, 25, 38.5-90.3 mm SL (12, 75.0-90.3 mm SL), Brazil, São Paulo, Município de Marapoama, rio Tietê basin, ribeirão

Cubatão at road between Marapoama and Elisiário, 21°11'35"S 49°07'22"W, 10 Feb 2003, A. L. A. Melo]. Group paratypes by country or basin, in alphanumeric order of museum acronym and catalog numbers inside each group. **Note:** Except in cases where no actively-curated scientific research collection exists, Holotypes must be deposited in collections in the country of origin of the species. When a species occurs in multiple countries, the holotype must be deposited in the country of the type-locality, with paratypes distributed among countries in which the species occurs. Even in cases of species endemic to one country, we encourage dissemination of paratypes.

**Diagnosis** Do NOT write the diagnosis in telegraphic style (for purposes of clarity). A species diagnosis is typically a paragraph constructed of full sentences that list the most important traits that allow the reader to unequivocally identify the species. Ideally, the diagnosis includes one or more features that are unique to the species, preferably autapomorphic characters. If unique features were not discovered, the next best option is a differential diagnosis, within which a series of direct comparisons are made among species and the alternative character states specified by contrasts are stated explicitly (using "vs." followed by the condition found in the species, or group of species, being compared, for each diagnostic feature). Diagnoses that consist only of a combination of characters (*i.e.*, traits listed sequentially which, when considered together, distinguish the species from congeners) in many cases fail to make a convincing case that the species warrants recognition, mostly because too little information is offered in the way of direct comparisons with congeners. They also make it very difficult for readers not already expert in the systematics of the group in question to recognize the new species. For that reason, this form of diagnosis should be avoided. In the event of listing species in the diagnosis without associated comparative material, please formally cite their original descriptions and provide full references.

**Description** Write the description section in telegraphic style (*i.e.*, without verbs and articles). Treat bilaterally paired structures in the singular

(*e.g.*, pelvic fin short, not pelvic fins short). Compound adjectives that include a noun should be connected by a hyphen (*e.g.*, pectoral-fin spine, NOT pectoral fin spine). Fin-ray formulae should be reported with unbranched rays in lower case Roman numerals, spines in upper case Roman, and branched rays in Arabic numerals. Transitions between different types of rays should be indicated by a comma (,) and not a plus sign (+), or dash (-) (*e.g.*, iii,7 or II,9. Not iii-7 or iii+7; no spaces should be inserted after the comma). We treat the catfish spinelet as a spine, so dorsal fin counts that include a spinelet should be reported as II,6 (or whatever the branched ray count is). Do not include space between numerals and % (*e.g.*, 25%, not 25 %).

**Coloration** Write this section in telegraphic style (*i.e.*, without verbs or articles). This section may be divided into Coloration in alcohol and Coloration in life.

**Geographic distribution** Geographic descriptors must NOT be translated and should be capitalized or not according to the standard usage in the language in question. English usage typically uses capitals (*e.g.*, Amazon River, Parana River, Paraguay River) while Portuguese and Spanish do not (*e.g.*, rio Solimões, río Magdalena, rio Paraná, río Parana, río Paraguay, rio Paraguai). When referring to a municipality or geopolitical region that includes the names of a water body, capitalize the entity as a proper noun in all languages (*e.g.*, Municipality of Arroio dos Ratos, State of Rio Grande do Sul).

**Etymology** For new names, state the usage (adjective, noun, patronym, etc.), even though it may be obvious from the construction. For more information, see article 31 of the online International Code of Zoological Nomenclature (<http://www.iczn.org/iczn/index.jsp>). Do not provide an etymology for preexisting names, unless the etymology is necessary to justify the spelling. In such cases, include this information in the Remarks Section and not as a separate heading.

**Conservation status** Please consider providing the conservation status, at least for new species, based on the IUCN criteria and categories [e.g., **Conservation status**. According to the International Union for Conservation of Nature (IUCN) categories and criteria (IUCN Standards and Petitions Subcommittee, 2016), *Genus species* can be classified as Category (category abbreviation)]. In such case, the reference to be provided is: International Union for Conservation of Nature (IUCN). Standards and Petitions Subcommittee. Guidelines for using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 12 [Internet]. 2016 [updated 2016 Feb]. Available from: <http://cmsdocs.s3.amazonaws.com/RedListGuidelines.pdf>

**Material examined** Provide only taxa, museum acronym, catalog number, number of specimens and size range. Indicate any types by: (Holo- Syn-, etc.) type of *Genus species* Author, date. For lectotypes or neotypes, also cite the source of designation (e.g., USNM 123456, lectotype of *Genus species* Author, date, designated by Author (year: pp) [or designated herein]). Specimen lots should be arranged taxonomically, and then by country or basin (in bold), in alphanumeric order of museum acronym and catalog numbers inside each group proposed (e.g., *Auchenipterichthys coracoideus*: **Peru**: CAS 220574, 2, 104.0-107.0 mm SL, syntypes of *Trachycorystes coracoideus* Eigenmann, Allen, 1942). Deviation from this order is permissible only if an alternate arrangement shortens the text. If another arrangement is chosen, its use must be explained and justified in the Material and Methods section. List material of non-focal species as **Comparative material examined**, using the same rules of arrangement stated above.

### **Large taxonomic revisions and reviews**

Before presenting the taxonomic accounts, provide a table at the beginning, cited early, that lists all the species included in the revision that are new and those that are being redescribed. Taxon accounts can be arranged in two ways: presenting the new species descriptions first (in alphabetic order) and

then the redescribed species (in alphabetic order), OR reporting all the species in alphabetic order without separating new and redescribed ones. In either case, mentioning the words **new genus** or **new species** after the name of each new taxon presented, preceded by a comma. The chosen order of presentation should focus on brevity and comprehensibility

## Anexo B



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 10227-3	Data da Emissão: 16/05/2017 17:54	Data para Revalidação*: 15/06/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: FRANK RAYNNER VASCONCELOS RIBEIRO	CPF: 614.741.422-49
Título do Projeto: SISTEMÁTICA E ECOLOGIA DOS PEIXES DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DO PARÁ, BRASIL	
Nome da Instituição : Universidade Federal do Oeste do Pará	CNPJ: 11.118.393/0001-59

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de Material Biológico	08/2016	07/2016
2	Análise de dados	08/2016	12/2016
3	Elaboração de relatórios e publicações científicas	01/2017	06/2017

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal, em caso de atividades científicas realizadas em sua área.