

TOLERÂNCIA DE *Poecilia* spp. À SALINIDADE: USO EM BIOENSAIOS COM AMOSTRAS SALINIZADAS

Jorge Luís Ferreira Nogueira¹ & Ricardo Luvizotto-Santos^{2*}

¹ Bacharel em Oceanografia, Departamento de Oceanografia e Limnologia, CCBS, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA. CEP 65080-805.

² Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, Campus Dom Delgado, São Luís, MA. CEP 65080-805.

*Autor correspondente: luvizottosantos@ufma.br

RESUMO

Os bioensaios podem ser empregados em complementação às análises químicas tradicionais nos trabalhos de avaliação e monitoramento ambiental. Entretanto, não existe um protocolo definido no Brasil para peixes eurihalinos para avaliação de amostras estuarinas cuja salinidade varia de forma significativa, e a escolha de organismos-teste adaptados se torna imperativa. Este trabalho avaliou a sobrevivência das espécies *Poecilia latipinna*, *P. reticulata*, *P. sphenops* e *P. vivipara* expostas por 96h a diferentes salinidades (zero, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 g/kg) após 7 dias de aclimação em água doce ou salobra (15 g/kg) visando determinar a espécie mais indicada para bioensaios com amostras de água salinizada. Nos grupos aclimatados à água doce, no geral, houve um aumento progressivo da mortalidade dos peixes a partir da salinidade 20 g/kg, exceto para *P. vivipara* que apresentou 100% de sobrevivência em toda a faixa de salinidade estudada. As CLs 50_(96h) determinadas pelo método *Trimmed Spearman-Kärber* foram: 23,67 g/kg para *P. reticulata*, 23,35 g/kg para *P. sphenops*, e 31,86 g/kg para *P. latipinna*. Estas espécies quando aclimatadas à água salobra apresentaram maior sobrevivência quando expostas às salinidades mais elevadas. Considerando a tolerância à uma ampla faixa de salinidade e o fato de ser uma espécie nativa, *P. vivipara* é a espécie mais indicada para realização de bioensaios com amostras de água de origem estuarina, sendo recomendada uma aclimação prévia à água salobra.

Palavras-chave: Bioensaio, eurihalino, organismo-teste, *Poecilia latipinna*; *Poecilia reticulata*; *Poecilia sphenops*; *Poecilia vivipara*.

ABSTRACT

Tolerance of *Poecilia* spp. to salinity: use in bio-essays with salinized samples

Bioassays can be used in addition to the traditional chemical analyzes in environmental assessment and monitoring. However, there is no protocol defined in Brazil for euryhaline fish for evaluation of estuarine samples whose salinity varies significantly, and the choice of adapted test organisms becomes imperative. This work evaluated the survival of the species *Poecilia latipinna*, *P. reticulata*, *P. sphenops* and *P. vivipara* exposed for 96h at different salinities (zero, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 g/kg) after 7 days of acclimatization in fresh or brackish water (15 g/kg) to determine the most suitable species for bioassays with salinized water samples. In the groups acclimatized in freshwater, in general, there was a progressive increase in fish mortality from the salinity 20 g/kg, except for *P. vivipara* that presented 100% survival in the salinity range studied. The LCs 50_(96h) determined by the *Trimmed Spearman-Kärber* method were 23.67 g/kg for *P. reticulata*, 23.35 g/kg for *P. sphenops*, and 31.86 g/kg for *P. latipinna*. These species when acclimated to brackish water showed higher survival when exposed to high salinities. Considering the tolerance to salinity and the fact that it is a native species, *P. vivipara* is the best species to perform bioassays with samples of water of estuarine origin and we recommend a previous acclimatization in brackish water.

Keywords: Bioassay, euryhaline, *Poecilia latipinna*; *Poecilia reticulata*; *Poecilia sphenops*; *Poecilia vivipara*, test organism.

INTRODUÇÃO

A partir da revolução industrial, a capacidade do homem para modificar o ambiente tem se intensificado e um grande número de substâncias químicas tem sido lançado nos ecossistemas aquáticos. A poluição de corpos hídricos altera as características ambientais e a avaliação do nível dessa degradação se dá através de análises físicas, químicas e biológicas, as quais são utilizadas como parâmetros de qualidade ambiental. Em complementação às estas análises tradicionais, os testes de toxicidade auxiliam na avaliação dos efeitos dos contaminantes sobre os sistemas biológicos. Diferentes bioensaios que quantificam as reações adversas em decorrência da exposição aos agentes estressantes têm auxiliado nos trabalhos de monitoramento e avaliação ambiental.

Com relação à seleção de organismos-teste para os ensaios ecotoxicológicos, Domingues & Bertolotti (2014) ressaltam a percepção dos seguintes critérios, 1) ter sensibilidade a uma diversidade de agentes químicos; 2) a sensibilidade deve ser relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo uma boa exatidão e reprodutibilidade dos resultados, 3) conhecimento de sua biologia, fisiologia e hábitos alimentares; 4) ser preferencialmente de pequeno porte e ciclo de vida curto; 5) ser de fácil manuseio em laboratório e 6) distribuição ampla.

Powers (1989) discute as diversas características que fazem dos peixes excelentes modelos biológicos, entre elas o fato de serem os vertebrados mais antigos e diversos, ocuparem diferentes ambientes, e ainda o fato de serem apropriados tanto para ensaios em campo quanto em laboratório. Além disso, há abundante informação disponível para diversas espécies permitindo sua manutenção e reprodução em laboratório.

Os peixes estão presentes em quase todos os ambientes aquáticos e desempenham um importante papel ecológico na cadeia alimentar sendo que algumas espécies têm a função de transferir a energia dos níveis tróficos inferiores para os mais altos. Dessa forma, conhecer as respostas frente à exposição aos agentes tóxicos possui elevada relevância ecológica, sendo os peixes, um grupo importante na avaliação de contaminantes no ambiente (Powers, 1989; van der Oost *et al.*, 2003). Ensaios agudos com peixes têm sido amplamente utilizados por diversas agências de controle ambiental, sendo que no Brasil, a ABNT através da NBR 15088 (2016) estabeleceu a norma para a determinação da toxicidade aguda

para os peixes *Danio rerio* e *Pimephales promelas*. Entretanto, estas espécies são restritas a água doce, sendo que não há um protocolo estabelecido no Brasil para as espécies estuarinas ou marinhas.

Os peixes da família Poeciliidae, conhecidos popularmente como barrigudinhos, guaru ou *guppy*, são abundantes e habitam as regiões dulcícolas e estuarinas desde os Estados Unidos até a Argentina (Neves & Monteiro, 2003). Estes organismos são eurihalinos e encontrados em ambientes lênticos (Amaral *et al.*, 2001), se alimentando principalmente de pequenos invertebrados e algas (Bizerril & Primo, 2001). Apresentam dimorfismo sexual sendo as fêmeas de algumas espécies maiores que os machos, os quais possuem um órgão especializado para fecundação interna chamado gonopódio formado a partir da nadadeira anal (Monteiro, 2013).

Os poecilídeos são qualificados como bons modelos para pesquisa em biologia do desenvolvimento devido ao seu pequeno tamanho e facilidade de manejo, elevada prolificidade, altas taxas de natalidade e número embriões por fêmea. Essas características favorecem a amostragem, processamento, manutenção e manuseio em laboratório, bem como a visualização de características macro e microscópicas (Rocha *et al.*, 2010).

Segundo Meffe & Snelson Jr (1989) os poecilídeos são bastante utilizados como espécies-modelo por apresentar elevada capacidade de resposta à presença dos contaminantes. A tolerância à salinidade difere significativamente entre as espécies de poecilídeos, sendo associada tanto a fatores genéticos quanto ambientais (Shikano & Fujio, 1995; Shikano & Fujio, 1997). Vale ressaltar que muitas espécies desta família são conhecidas por sua resistência à poluição orgânica, sendo comumente encontradas em córregos contendo esgoto doméstico (Araújo *et al.*, 2001, Paulo *et al.*, 2012).

Para a avaliação toxicológica de amostras estuarinas, o organismo-teste deve estar adaptado a sobreviver em certa faixa de salinidade sem que isso altere significativamente a resposta (sensibilidade) frente ao agente tóxico. Nesse sentido, conhecer esses limites são importantes para a definição da espécie candidata a organismo-teste. O objetivo deste trabalho foi determinar a sobrevivência de quatro espécies de poecilídeos ao choque osmótico sendo duas exóticas (*Poecilia latipinna* e *Poecilia sphenops*) e duas nativas (*Poecilia reticulata* e *Poecilia vivipara*), após a aclimação em água doce e salobra.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os bioensaios foram feitos no Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Federal do Maranhão (DEOLI-UFMA), no período de novembro de 2014 a junho de 2015. A espécie *P. reticulata*, foi coletada no Campus Dom Delgado da UFMA (latitude 9717499.62 m S e longitude 577296.70 m O), utilizando rede de malha de 3 mm do tipo puçá. A espécie *P. vivipara* foi coletada em um tanque de maré de uma piscicultura de Camurupim (*Megalops atlanticus*) localizada no Porto do Braga, município de Raposa, MA (latitude 9732363.35 m S e longitude 600418.76 m O) também com rede de malha de 3 mm do tipo puçá.

As espécies exóticas *P. sphenops* e *P. latipinna* foram cultivadas no Laboratório de Aquicultura Continental do DEOLI-UFMA, sendo os reprodutores das espécies (n=20) adquiridos em pisciculturas de peixes ornamentais na região. Os adultos foram cultivados em tanques de PVC 500 L (água de poço artesiano) contendo macrófitas (*Eichhornia crassipes*) para manter a qualidade da água e para proteger os recém-nascidos.

Os testes de exposição à salinidade seguiram as recomendações da norma ABNT NBR 15088 (2016) com relação à quantidade de peixe por frasco-teste, quantidade de réplicas por salinidade, parâmetros monitorados durante o ensaio, sistema e tempo de exposição e tempo de aclimação.

Antes da exposição às diferentes salinidades, os peixes foram divididos em dois grupos em aquários de 30 L com sistema de filtragem, temperatura ambiente de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, foto período de 12 h e alimentados 3 vezes ao dia com ração comercial (Tetra, Alemanha), sendo um grupo aclimatado por 7 dias à salinidade zero (50% de água destilada e 50% de água de poço artesiano) e outro aclimatado à salinidade 15 g/kg. As soluções salinas foram preparadas a partir de sal marinho sintético (Prodac Ocean Fish, Itália).

Após o período de aclimação, os peixes foram transferidos para frascos de vidro contendo 1,0 L de água nas salinidades zero, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 g/kg, com 3 réplicas e 5 peixes em cada frasco-teste, totalizando 15 organismos por salinidade.

Foram utilizados pós-alevinos (Rocha *et al.*, 2010) de *P. latipinna* com comprimento médio de $8,01 \pm 4,30$ mm e peso corpóreo de $0,09 \pm 0,03$. Para *P. sphenops* foram utilizados pós-alevinos com comprimento médio de $7,85 \pm 3,50$ mm e peso corpóreo de $0,06 \pm 0,03$ g. Para a espécie *P. reticulata* foram utilizados machos com comprimento médio

de $15,82 \pm 1,78$ mm e peso corpóreo de $0,16 \pm 0,04$ g. Para *P. vivipara* foram utilizados machos com comprimento médio de $14,17 \pm 3,58$ mm e peso corpóreo de $0,16 \pm 0,08$ g. Os peixes foram mantidos em sistema semi-estático com renovação diária de 25% do volume (por sifonamento), sob aeração constante, sem alimentação e fotoperíodo de 12h. A cada 24 horas os organismos mortos foram contados e retirados e os parâmetros oxigênio dissolvido, pH, temperatura e salinidade foram medidos utilizando um sensor multiparâmetro (YSI- 556 MPS) antes da troca parcial de água. A biometria dos lotes foi feita ao final do ensaio (96h) em 30 % dos peixes, com auxílio de um paquímetro e balança com 0,001 g de precisão. Os dados de mortalidade nos diferentes tratamentos foram submetidos a ANOVA-Tukey ($p < 0,05$) com auxílio do programa *Statistica 10* (StatSoft, 2011) e apresentados nos gráficos como média e desvio padrão das réplicas de cada salinidade testada. A $CL_{50(96h)}$ foi estimada através do método *Trimmed Spearman-Kärber* (Hamilton *et al.*, 1977) com auxílio do programa TOXSTAT (3.4).

RESULTADOS

Os parâmetros monitorados durante os ensaios apresentaram pouca variação em torno das médias, sendo que a temperatura ficou em $26,15 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$; pH em $8,05 \pm 0,32$ e oxigênio dissolvido em $6,35 \pm 1,01$ mg/L. Os valores de salinidade em cada frasco-teste medidos após 96h de exposição apresentaram variação inferior a 5% em relação ao início dos ensaios.

Todos os indivíduos de *P. vivipara* aclimatados tanto à salinidade zero quanto à 15 g/kg sobreviveram nas diferentes salinidades testadas. Para as demais espécies, observou-se um efeito na mortalidade em função do aumento da salinidade.

Com relação ao grupo de *P. reticulata* aclimatado à salinidade zero, houve um aumento significativo na mortalidade a partir da salinidade 25 g/kg ($p=0,00024$) (Figura 1), sendo que a $CL_{50(96h)}$ foi de 23,67 g/kg (22,53 – 25,06 g/kg). Por outro lado, quando os indivíduos foram aclimatados à salinidade 15, houve mortalidade significativa apenas na salinidade 40 g/kg ($p=0,00030$).

Nos ensaios com *P. sphenops* também houve efeito significativo a partir da salinidade 25 g/kg ($p=0,00017$) nos indivíduos aclimatados à salinidade zero, sendo que a $CL_{50(96h)}$ foi de 23,35 g/kg (21,72 – 25,12 g/kg) (Figura 2). Para os indivíduos aclimatados à água salobra, houve mortalidade somente na salinidade 40 g/kg.

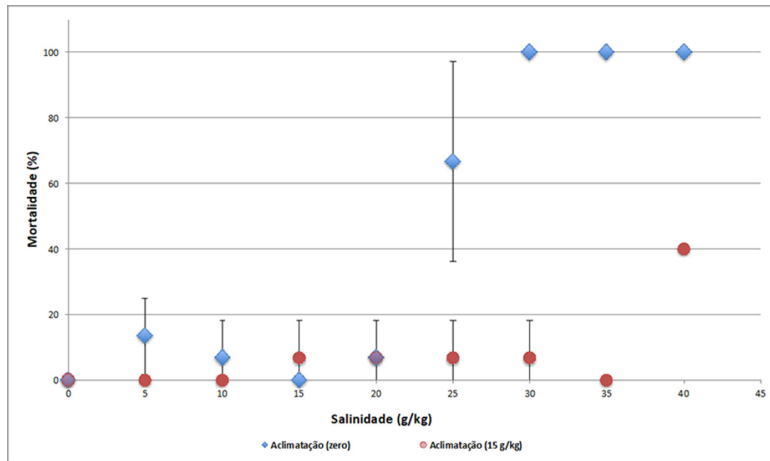


Figura 1. Mortalidade média ($\pm s$) de *Poecilia reticulata* após transferência a diferentes salinidades em duas condições de aclimação. * indica efeito significativo (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

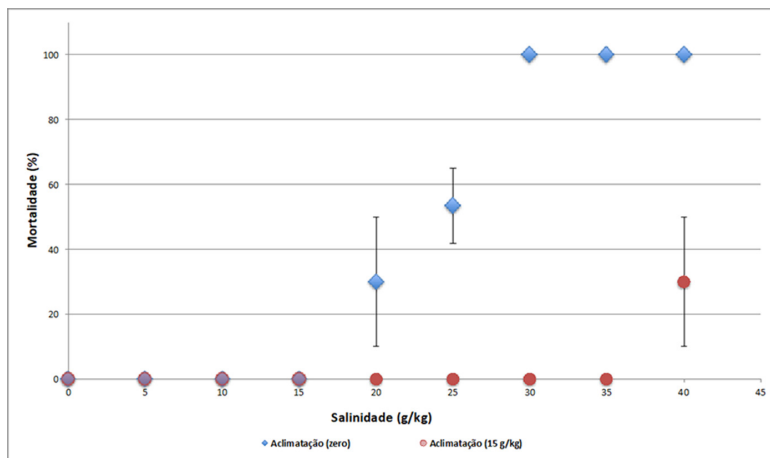


Figura 2. Mortalidade média ($\pm s$) de *Poecilia sphenops* após transferência a diferentes salinidades em duas condições de aclimação. * indica efeito significativo (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

Os resultados dos ensaios com *P. latipinna* indicaram mortalidade significativa a partir da salinidade 35 g/kg para os organismos aclimatados à salinidade zero ($p=0,00024$), sendo que a $CL_{50}^{(96h)}$ foi de 31,86 g/kg (28,87 – 35,18 g/kg). Para os organismos aclimatados à salinidade 15 g/kg, não foi observada mortalidade para a espécie (Figura 3).

DISCUSSÃO

Em linhas gerais, os peixes eurihalinos são capazes de manter relativamente constante a osmolalidade e a composição iônica de seus fluidos internos, independentemente da composição do meio externo, através de processos osmorregulatórios (Nordlie, 2009; Kültz, 2015). Porém, sabe-se que variações de salinidade afetam o metabolismo desses organismos principalmente o crescimento e

a sobrevivência (Boeuf & Payan, 2001; Varsamos *et al.*, 2005; Nordlie, 2006). Diversas espécies, quando submetidas às salinidades próximas ao seu ponto isosmótico, apresentam menor gasto energético para osmorregulação e quanto mais distante, maior a necessidade de ativar mecanismos reguladores e compensatórios os quais demandam mais energia (Gaumet *et al.*, 1995; Boeuf & Payan, 2001; Altinok & Grizzle 2001; Herrera *et al.*, 2009; Nordlie, 2009; Kültz, 2015).

A eurihalinidade de poecilídeos está diretamente relacionada às adaptações morfofuncionais que permitem sua sobrevivência em condições de estresse osmótico, tendo as brânquias como órgão-chave nos processos de trocas gasosas, iono-osmorregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção de compostos nitrogenados (Vigliano *et al.*, 2006). Além de variar de espécie para espécie, a eurihalinidade é

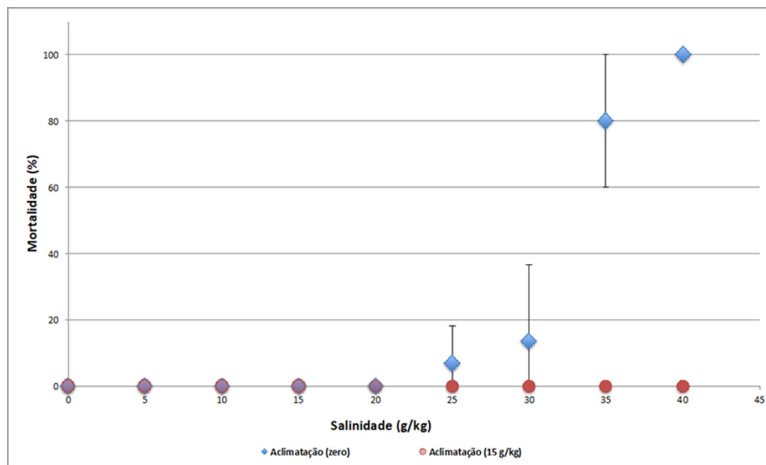


Figura 3. Mortalidade média ($\pm s$) de *Poecilia latipinna* após transferência a diferentes salinidades em duas condições de aclimação. * indica efeito significativo (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

influenciada por condições de exposição ambiental durante seu desenvolvimento ontogenético (Araújo *et al.*, 2001). Sabe-se que fêmeas quando expostas a maior salinidade produzem descendentes mais tolerantes à salinidade (Shikano & Fujio, 1997; Shikano & Fujio, 1999).

A tolerância de *P. vivipara* à salinidade já foi descrita por Sabóia-Moraes *et al.* (1996), Rocha *et al.*, (2010) e Antunes *et al.* (2011), sendo que o desempenho demonstrado nos bioensaios corrobora com o que se conhece da espécie. Vale ressaltar que neste estudo, os indivíduos dessa espécie foram coletados em tanques de maré sujeitos a longos períodos de exposição a salinidades elevadas, conforme verificado por Silva (2014) e, portanto, acredita-se que estavam melhor adaptadas ao estresse salino que as demais espécies que foram cultivadas em água doce.

A espécie *P. reticulata* também é reconhecida por sua tolerância aos ambientes de maior salinidade, entretanto, a mortalidade aqui observada nos ensaios pode estar relacionada ao tempo de aclimação adotado o qual, aparentemente, não foi suficiente para a ativação dos mecanismos osmorregulatórios desta espécie. De fato, Schwerdtfeger & Bereiter-Hahn (1978) verificaram aumento nas células de cloreto em indivíduos aclimatados por três semanas à água do mar. Assim, acredita-se que um maior período de aclimação possa aumentar a sobrevivência em condições hipersalinas.

Diversos autores têm indicado que *P. sphenops* é extremamente tolerante à variação de salinidade, tendo a espécie sido encontrada em águas com salinidade até 87 g/kg (Sublette *et al.*, 1990), embora, prefiram águas salobras com menos de 10 g/kg (Boschung Jr. & Mayden, 2004), com crescimento maior nessa condição quando comparado à água doce (Travis *et al.*, 1989). De forma similar, a

ocorrência de *P. latipinna* tem sido relatada em ambientes aquáticos desde a água doce até água hipersalina (Gonzalez *et al.*, 2005; Kumaraguru-Vasagam *et al.*, 2005; Bachman & Rand, 2008; Hussain *et al.*, 2009). De acordo com Nordlie *et al.* (1992), um longo período de aclimação à água salobra permitiu a sobrevivência de indivíduos até a salinidade 80, e que o isolamento dessas espécies em águas doces ou salobras não altera sua capacidade osmorregulatória. De fato, Evans (1973; 1975) e Gustafson (1981) examinaram a capacidade osmorregulatória da espécie e concluíram que *P. latipinna* é fisiologicamente adaptada para grandes variações de salinidade do meio.

Neste estudo, foram utilizados pós-alevinos de *P. sphenops* e *P. latipinna*, seguindo classificação adotada por Rocha *et al.* (2010): “peixe jovem que se alimenta exclusivamente de itens exógenos”. Estes autores verificaram que nesta fase os indivíduos possuem brânquias bem desenvolvidas com elevada capacidade para as trocas gasosas e iônicas, sendo que a variação da salinidade do meio induziu mudanças no conteúdo de glicocompostos secretados pelas células de muco, assim como verificado para adultos (Sabia-Moraes *et al.*, 1996). Além disso, Mac Manus & Travis (1998) verificaram que a variação de salinidade não afetou a alocação de biomassa nem as reservas lipídicas em *P. latipinna* desde a eclosão até a fase adulta. Nesse sentido, desconsideramos as possíveis variações na resposta adaptativa entre pós-alevinos e machos adultos.

A mortalidade observada a partir de 20 g/kg nos lotes aclimatados em água doce indica que estas duas espécies são sensíveis a partir deste gradiente osmótico (entre os fluidos corporais e meio externo), mesmo se tratando de espécies capazes de sobreviver em ambientes hipersalinos. Nesse sentido, mais uma vez destaca-se a importância da aclimação

na ativação dos mecanismos osmorregulatórios que permitirão a manutenção da homeostase durante o estresse hipersalino.

Nesse ponto cabe a discussão sobre a distribuição natural entre os poecílídeos estudados para a definição da espécie mais indicada como organismo-teste. Apesar da espécie exótica *P. latipinna* ter demonstrado bom desempenho nos ensaios, sendo inclusive considerada por Large (1985) e Trexler *et al.* (1990) como sendo característica de água salobra, espécies endêmicas com ampla distribuição devem preferencialmente ser utilizadas nos trabalhos de biomonitoramento.

No período em que as principais agências ambientais do mundo estabeleciam os critérios de qualidade de água, houve a preocupação em utilizar valores de toxicidade a partir de resultados obtidos com organismos da fauna local. Os EUA, por exemplo, excluíram dos documentos os resultados obtidos com espécies que não ocorriam (se reproduziam) nos ecossistemas daquele país (USPA, 1986). No Canadá, recomendava-se que resultados obtidos com espécies exóticas seriam utilizados somente até o momento em que os resultados com espécies endêmicas estivessem disponíveis (CCREM, 1987).

É importante considerar que quando a toxicidade de um químico em particular é avaliada antes do lançamento no ambiente, a espécie testada seja daquele ambiente (Sunderam *et al.*, 1992). Além disso, Pandrangi *et al.* (1995) discutindo sobre a preferência entre espécies endêmicas e exóticas para ensaios ecotoxicológicos (genotoxicidade), indicaram que o uso de organismos endêmicos como sentinelas ambientais será sempre preferível ao uso de espécies exóticas.

No Brasil, Magalhães e Ferrão-Filho (2008) sugeriram a necessidade de se intensificarem os estudos na utilização de espécies nativas e consequente estabelecimento de novos protocolos de ensaios ecotoxicológicos. Nessa linha, Bertoleti (2009) avaliou a toxicidade de substâncias de referência para diferentes espécies de peixes nativos e exóticos e concluiu que os resultados obtidos para as espécies nativas foram semelhantes aos verificados para a espécie padronizada *Danio rerio* (zebrafish). Entretanto, outras duas espécies exóticas como a carpa e a tilápia demonstraram menor sensibilidade aos agentes tóxicos testados.

Sendo assim, sugerimos que a espécie nativa *P. vivipara* deva receber maior atenção no estabelecimento de protocolos de bioensaios por se tratar de uma espécie eurihalina de ampla distribuição, tanto em ambientes dulcícolas como em águas salobra/salinas.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados de tolerância à salinidade e por se tratar de uma espécie endêmica

de ampla distribuição em diversas regiões e habitats do Brasil, considera-se que a espécie nativa *P. vivipara* seja a mais indicada para realização de bioensaios com amostras de água de origem estuarina. Recomenda-se uma aclimação prévia à água salobra no caso de lotes coletados ou cultivados em água doce, de preferência por um período maior que o adotado neste estudo, considerando-se o tempo necessário para a ativação dos mecanismos osmorregulatórios (limitantes e compensatórios) dos peixes os quais demandam energia e podem interferir nas respostas frente ao estresse químico dos bioensaios. Uma alternativa que também deve ser considerada é o cultivo desses peixes em salinidade entre 15 e 20 g/kg, o que permitiria a oferta constante de organismos-teste prontos para serem utilizados nos ensaios de amostras estuarinas.

REFERÊNCIAS

- ABNT. 2016. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. NBR 15088. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas. 22p.
- ALTINOK, I.; & GRIZZLE, J.M. 2001. Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juveniles euryhaline and freshwater stenohaline fishes. *J. Fish Biol.*, 59(5): 1142-1152.
- AMARAL, M.D.C.; BONECKER, A.C.T.; & ORTIZ, C.H. 2001. Activity determination of Na⁺ K⁺-ATPase and Mg⁺⁺-ATPase enzymes in the gill of *Poecilia vivipara* (Osteichthyes, Cyprinodontiformes) in different salinities. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 44(1): 1-6.
- ANTUNES, A.M.; ROCHA, T.L.; MORAIS, J.O.R.; & SABÓIA-MORAIS, S.M.T. 2011. Miogênese do tecido muscular branquial do peixe eurihalino *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) exposto à salinidade. *Ciênc. Anim. Bras.*, 12(3): 478-486.
- ARAÚJO, A.E.J.; MORAIS, J.O.R.; SOUZA, P.R., & SABÓIA-MORAIS, S.M.T. 2001. Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Acta Sci. Biol. Sci.*, 23(2): 391-399.
- BACHMAN, P.M.; & RAND, G.M. 2008. Effects of salinity on native estuarine fish species in South Florida. *Ecotoxicology*, 17(7):591-597.
- BERTOLETTI E. 2009. Sensibilidade de algumas

- espécies de peixes de água doce utilizadas no Brasil. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., 4(1-3): 9-13.
- BIZERRIL, C.R.S.F.; & PRIMO, P.B.S. 2001. Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro. FEMAR-SEMADS, Rio de Janeiro. 417p.
- BOEUF, G.; & PAYAN, P. 2001. How should salinity influence fish growth? Comp. Biochem. Physiol. C, 130(4):411-423.
- BOSCHUNG Jr., H.T.; & MAYDEN, R.L. 2004. Fishes of Alabama. Smithsonian Books, Washington, D.C. 736 p.
- CCREM - Canadian Council of Resource and Environment Ministers 1987. Canadian Water Quality Guidelines. Protocols for Deriving Water Quality Guidelines for the Protection of Agricultural Water Uses, Ottawa, Ontario.
- DOMINGUES, D.F.; & BERTOLETTI, E. 2006. Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: Zagatto, P.A. & Bertoletti, E. (eds), Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações. São Carlos. RiMa. p.153-184.
- EVANS, D.H. 1973. Sodium uptake by the sailfin molly, *Poecilia latipinna*: Kinetic analysis of a carrier system present in both fresh-water-acclimated and sea-water-acclimated individuals. Comp. Biochem. Physiol. A., 45(3): 843-850.
- EVANS, D.H. 1975. The effects of various external cations and sodium transport inhibitors on sodium uptake by the sailfin molly, *Poecilia latipinna*, acclimated to seawater. J. Comp. Physiol. B., 96(2): 111-115.
- GAUMET, F.; BOEUF, G.; SEVERE, A.; LE ROUX, A.; & MAYER-GOSTAN, N. 1995. Effects of salinity on the ionic balance and growth of juvenile turbot. J. Fish Biol., 47(5): 865-876.
- GONZALEZ, R.J.; COOPER, J.; & Head, D. 2005. Physiological responses to hyper-saline waters in sailfin mollies (*Poecilia latipinna*). Comp. Biochem. Physiol. A, 142(4): 397-403.
- GUSTAFSON, D.L. 1981. The influence of salinity on plasma osmolality and routine oxygen consumption in the sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Lesueur), from a freshwater and an estuarine population. Thesis (M.S.), University of Florida, Gainesville.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; & THURSTON, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol. 11(7): 714-719; Correction 12(4):417 (1978).
- HERRERA, M.; VARGAS-CHACO, L.; HACHERO, I.; RU, I.; & RODILES, A. 2009. Osmoregulatory changes in wedge sole (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881) after acclimation to different environmental salinities. Aqua. Res., 40(7):762-771.
- HUSSAIN, N.A.; MOHAMED, A.R.M.; AL-NOO, S.S.; MUTLAK, F.M.; ABED I.M.; & COAD, B.W. 2009. Structure and ecological indices of the fish assemblages in the recently restored Al-Hammar Marsh, Southern Iraq. BIORISK - Biodiversity and Ecosystem Risk Assessment, 3: 173-186.
- KÜLTZ, D. 2015. Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. J. Exp. Biol., 218(12): 1907-1914.
- KUMARAGURU-VASAGAM, K.P.; RAJAPOGAL, S.; & BALASUBRAMANIAN, T. 2005. Effect of salinity on gestation period, fry production, and growth performance of sailfin molly (*Poecilia latipinna* Lesueur) in captivity. The Israeli Journal of Aquaculture, 57(3): 191- 196.
- LARGE, H L. 1985. Life history tactics of the sailfin molly (*Poecilia latipinna*) in contrasting environments. Retrospective Theses and Dissertations. 4791. Disponível em: <http://stars.library.ucf.edu/rtd/4791>
- MC MANUS, M. G.; & TRAVIS, J. 1998. Effects of temperature and salinity on the life history of the sailfin molly (Pisces: Poeciliidae): lipid storage and reproductive allocation. Oecologia, 114(3), 317-325.
- MAGALHÃES, D.P.; & FERRÃO-FILHO, A. 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. Oecologia Brasiliensis, 12(3): 355-381.
- MEFFE, G.K.; & SNELSON Jr, F.F. 1989. An ecological overview of Poeciliid fishes, in: G.K. Meffe & E.E. Snelson Jr. (Eds.), Ecology and evolution of livebearing fishes. Prentice-Hall, New Jersey, 730-757.
- MONTEIRO, A.B. 2013. Biogeografia evolutiva: a seleção sexual e o índice de predação como fatores evolutivos do Lebistes (*Poecilia reticulata*) em comunidades íctias. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista, 98 p.
- NORDLIE, F.G. 2006. Physiochemical environments and tolerances of cyprinodontoid fishes found in estuaries and salt marshes of eastern North America. Rev. Fish Biol. Fisher., 16(1):51-106.
- NORDLIE, F.G. 2009. Environmental influences on regulation of blood plasma/serum components in teleost fishes: A review. Rev. Fish Biol. Fisher., 19(4): 481-564.
- NORDLIE, F.G.; HANEY, D.C.; & WALSH, S.J. 1992. Comparisons of salinity tolerances and osmotic regulatory capabilities in populations of Sailfin Molly

- (*Poecilia latipinna*) from brackish and fresh waters. *Copeia*, 1992(3): 741-746.
- NEVES, F.M.; & MONTEIRO, L.R. 2003. Body shape and size divergence among populations of *Poecilia vivipara* in coastal lagoons of southeastern Brazil. *J. Fish Biol.*, 63(4): 928-941.
- PAULO, D.V.; FONTES, F.M.; & FLORES-LOPES, F. 2012. Histopathological alterations observed in the liver of *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) as a tool for the environmental quality assessment of the Cachoeira River, BA. *Braz. J. Biol.*, 72(1): 131-140.
- PANDRANGI, R.; PETRAS, M.; RALPH, S.; & VRZOC, M. 1995. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp. *Environ. Mol. Mutagen.*, 26(4), 345-356.
- POWERS, D.A. 1989. Fish as model systems. *Science*, 246(4928): 352-358.
- ROCHA, T.L.; CARVALHO, R.; YAMADA, A.T.; & SABÓIA-MORAIS, S.M.T. 2010. Morphologic analysis of developmental phases and gill ontogenesis in neotropical species *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) exposed to different salinities. *Zoologia*, 27 (4): 554-562.
- SABÓIA-MORAES, S.M.T.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; MOTA, D.L.; & BITTENCORT, A.M. 1996. Mucous cell types in the branchial epithelium of the euryhaline fish *Poecilia vivipara*. *J. Fish Biol.*, 49(3): 545-548.
- SCHWERDTFEGER, W.K.; & BEREITER-HAHN, J. 1978. Transient occurrence of chloride cells in the abdominal epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, adapted to sea water. *Cell tissue Res.*, 191(3), 463-471.
- SILVA, J.S. da. 2004. Caracterização do cultivo do camurupim (*Megalops atlanticus*, Valenciennes, 1847) no município da Raposa, MA. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão. 49 p.
- SCHEWERDTFEGER, W.K.; & BEREITER-HAHN, J. 1978. Transient occurrence of chloride cells in the abdominal epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, adapted to sea water. *Cell Tissue Res.*, 191(3): 463-471.
- SHIKANO, T.; & FUJIO, Y., 1995. Strain difference in the acclimation to artificial sea water of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Tohoku Journal of Agricultural Research*. 45(3-4): 79-85.
- SHIKANO, T.; & FUJIO, Y. 1997. Successful propagation in seawater of the guppy *Poecilia reticulata* with reference to high salinity tolerance at birth. *Fisheries Sci.*, 63(4): 573-575.
- SHIKANO, T.; & FUJIO, Y. 1999. Changes in salinity tolerance and branchial chloride cells of newborn guppy during freshwater and seawater adaptation. *J. Exp. Zool.*, 284(2): 137-146.
- SHIKANO, T.; NAKAJIMA, M.; & FUJIO, Y. 1997. Difference in osmoregulatory function in seawater among strains of the guppy *Poecilia reticulata*. *Fisheries Sci.*, 63(1), 69-72.
- SUBLETTE, J.E.; HATCH, M.D.; & SUBLETTE, M. 1990. The fishes of New Mexico. University of New Mexico Press, Albuquerque, New Mexico. 303p.
- SUNDERAM, R.I.M.; THOMPSON, G.B.; & CHENG, D.M.H. 1992. Toxicity of endosulfan to native and introduced fish in Australia. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11(10): 1469-1476.
- TRAVIS, J.; FARR, J.A.; Mc MANAUS, M.; & TREXLER, J.C. 1989. Environmental effects on adult growth patterns in the sailfin molly *Poecilia latipinna* (Poeciliidae). *Environ. Biol. Fisher* 26(2): 119-128.
- TREXLER, J.C.; JOSEEP, T.; & TREXLER, M. 1990. Phenotypic plasticity in sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Pisces; Poeciliidae) II. Laboratory Experiment. *Evolution*, 44(1): 157-167.
- TRUHAUT, R. 1977. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. *Ecotox. Environ. Safe*, 1(2): 151-173.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. 1986. Quality criteria for water 1986. EPA 440/5-86-001. Office of Water Regulations and Standards. Washington, DC. 395p.
- VARSAMOS, S.; NEBEL, C.; & CHARMANTIER, G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. *Comp. Biochem. Phys. A*, 141(4):401- 429.
- VIGLIANO, F.A.; ALEMAN, N.; QUIROGA, M.I.; & NIETO, J.M. 2006. Ultrastructural characterization of cills in juveniles of the Argentinian Silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes). *Anatomia Histologia Embriologia*, 35(2): 76-83.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; & VERMEULEN, N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxic. Pharmac.*, 13(2): 57-149.