RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DA TILÁPIA-DO-NILO E VARIÁVEIS LIMNOLÓGICAS APÓS DECOMPOSIÇÃO DE MACRÓFITAS UTILIZANDO HERBICIDA

Daniela Takahashi NOMURA¹, Juliana Oliveira MENESES², Fabiana PILARSKI³, Flavio Ruas de MORAES³, Higo Andrade ABE⁴, Rodrigo Yudi FUJIMOTO⁵

RESUMO

As macrófitas são importantes na biocenose aquática, porém, em certas condições, sua população aumenta, tornando-se um problema, como é o caso de Egeria densa. Para controle dessas plantas, o CONAMA dispôs sobre critérios para autorização de uso de produtos químicos, porém estudos de viabilidade e segurança de uso devem ser realizados. Assim, o presente estudo avaliou o efeito da decomposição de Egeria densa morta pelo herbicida diquat sobre parâmetros limnológicos e respostas fisiológicas da tilápia-do-nilo. Para tanto, 176 exemplares de tilápia foram distribuídos em 16 tanques e submetidos a quatro tratamentos (tilápias sem macrófita; tilápias com macrófita; tilápias+macrófitas mortas por diquat; e tilápias+plantas mortas por congelamento). Os valores de pH, temperatura, oxigênio dissolvido, alcalinidade e condutividade não variaram entre os tratamentos (p<0,01). No entanto foi observado aumento dos valores de nitrogênio amoniacal e fósforo total e redução do nitrito nos tratamentos com macrófita morta pelo herbicida. Concentrações de clorofila-a não diferiram entre tratamentos, porém, o valor de feofitina-a aumentou na água com plantas mortas por congelamento. Após 21 dias de exposição ao herbicida, não se verificaram diferenças nos valores de glicemia, cortisol, leucócitos, eritrócitos, hemoglobina, índices hepato e esplenossomático nos peixes, concluindo-se assim que a exposição crônica a macrófitas em decomposição mortas pelo diquat não alterou o padrão fisiológico das tilápias.

Palavras-chave: estresse crônico; impacto ambiental; plantas aquáticas; Oreochromis niloticus.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF NILE TILAPIA AND WATER PARAMETERS AFTER DECOMPOSITION OF MACROPHYTE USING HERBICIDE

ABSTRACT

Macrophytes are important for aquatic biocenosis, however under certain conditions it's population can raise becoming a problem in reservoirs such as the *Egeria densa*. To control these plants CONAMA discuss for the use of chemicals, but feasibility and safety studies should be conducted to allow the use for such purpose. Thus the present study evaluated the effects of decomposition *Egeria densa* killed by the herbicide diquat on water quality variables and physiological responses of Nile tilapia. Thus, 176 tilapia was distributed in 16 tanks and submitted to four treatments (tilapia without macrophyte; tilapia and macrophyte; tilapia and macrophytes died by diquat and macrophytes died by freezing). The values of pH, temperature, dissolved oxygen, alkalinity and conductivity did not differ between treatments. However, it observed an increase in total ammonia and phosphorus and reduction of nitrite concentrations in treatment with macrophyte killed by the herbicide. Chlorophyll-a concentration did not differ between treatments, however, phaeophytin-a increased in water submitted to plants died by freezing. After 21 days of experiment, no differences were observed in blood glucose, cortisol, leukocytes, erythrocytes and hemoglobin. Thus, tilapia does not alter their physiological patterns after chronic exposure to decomposing macrophytes killed by diquat.

Key words: cronic stress; environmental impact; aquatic plants; *Oreochromis niloticus*.

Nota Científica: Recebido em 22/06/2017; Aprovado em 11/09/2017

¹ Trouw Nutrition, Rod. Armando Sales de Oliveira, 35600, Km 356, CEP: 14.750-000, Pitangueiras, SP, Brasil.

² Universidade Tiradentes –UNIT, Avenida Murilo Dantas, 300, CEP: 49032-490, Farolândia, Aracaju, SE, Brasil.

³ Centro de Aquicultura da Unesp, Rod. Paulo Donato Castellane, s/n, Bairro Rural, CEP: 14.884-900, Jaboticabal, SP, Brasil

⁴ Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Correia, CEP: 66075-110, Belém, PA, Brasil.

⁵ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar, nº 3.250, Bairro Jardins, Caixa Postal 44, CEP: 49025-040, Aracaju, SE, Brasil. E-mail: rodrigo. fujimoto@embrapa.br (autor correspondente)

NOMURA et al.

INTRODUÇÃO

As macrófitas são componentes importantes da biocenose aquática, pois, além de constituir fonte de alimento e abrigo para a reprodução de organismos aquáticos, promovem a heterogeneidade espacial e sazonal com a diversificação do habitat e da biologia do sistema (MARCONDEZ et al., 2003). Porém, dependendo das condições ambientais, determinadas espécies de macrófitas são favorecidas e desenvolvem densas e extensas colonizações, como é o caso da Egeria densa. Esse fenômeno causa efeitos nocivos ao ambiente, reduz a disponibilidade de oxigênio dissolvido na água e a diversidade biológica, proporciona condições para intensa procriação de organismos indesejáveis como insetos e moluscos vetores de doenças, assim como pode interferir na navegação, no funcionamento e segurança de usinas hidrelétricas e estações de captação de água, na prática de esportes náuticos e na pesca esportiva e profissional (HENARES et al., 2011).

Assim, observando o crescimento desordenado dessas macrófitas em reservatórios de hidrelétricas e o impacto por elas causado e pela avaliação da viabilidade técnica do controle por meio químico, o Conselho Nacional do Meio Ambiente, por meio da Resolução nº 467, de 16 de julho de 2015, dispôs sobre a aplicação de produtos químicos (herbicidas) para controle do crescimento indesejável de organismos da flora e fauna, podendo liberar a sua utilização em caso de aprovação pelo órgão competente (CONAMA, 2015). Surge assim a preocupação sobre influência tanto do produto químico liberado no corpo de água quanto da massa vegetal em decomposição que poderá afetar organismos-não alvo, como os peixes.

Alterações da qualidade da água e a presença de xenobióticos são fatores que podem atuar como agentes estressantes nos peixes e, como resposta do organismo, ocorre diminuição do consumo de alimento, com consequente redução da taxa de crescimento, distúrbios reprodutivos e maior predisposição á enfermidades infecciosas e parasitárias (NOGA, 2010). Nesse cenário, a criação de tilápias em tanques-rede, que é realizada em reservatórios de hidrelétricas, pode ser afetada pelo uso de herbicidas, podendo causar efeito econômico negativo, pois esse segmento da cadeia produtiva se destaca pela produção de proteína alimentar utilizando reservatórios, principalmente das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil (BRABO *et al.*, 2016).

Não há informações sobre os efeitos crônicos da exposição do organismo ao herbicida bem como da decomposição da matéria orgânica resultante sobre a homeostase dos peixes, principalmente aquela relacionada a respostas fisiológicas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição crônica do ambiente à decomposição da macrófita *Egeria densa* morta pelo herbicida diquat sobre fatores de qualidade de água e parâmetros fisiológicos de tilápia-do-nilo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 176 exemplares de tilápia (comprimento total médio de 18,22 ± 2,6 cm e peso médio de 113 ± 43 g), distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, constituído de quatro tratamentos com quatro repetições controle negativo: tilápias criadas sem presença de plantas; controle positivo: tilápias criadas com presença de macrófitas vivas; tratamento com tilápias criadas com presença de plantas mortas pelo herbicida diquat (1 mg L-1 ingrediente ativo i.a.) (CAS 2764-72-9 produto comercial Syngenta REGLONE® 200 g i.a. L-1); e tilápias criadas com presença de plantas mortas por congelamento. Ressalta-se que o tratamento com plantas mortas por congelamento foi utilizado para avaliar somente a influência da massa de macrófitas em decomposição sem resíduos de herbicida.

As macrófitas (Egeria densa) utilizadas no experimento foram cultivadas em vasos alocados dentro de caixas d'água experimentais (capacidade de 350 L), em densidades iguais (500 g de macrófita por caixa) e distribuídas homogeneamente, de forma que não ocupassem toda a área das caixas (GUIMARÃES et al., 2003). Para a realização dos experimentos utilizando matéria em decomposição, as plantas foram mortas na própria caixa d'água por ação do herbicida diquat aplicado na concentração de 1 mg.L-1 do ingrediente ativo (MARTINS et al., 2007), já as plantas mortas por congelamento permaneceram 18 horas em congelador a oito graus negativos, sendo então inseridas nas parcelas desse tratamento (GUIMARÃES et al., 2003). Após detecção da morte das plantas pelo herbicida, as tilápias foram distribuídas nas 16 caixas (n=11 tilápias por caixa), com 350 L de água e aeração constante. Para a alimentação das tilápias foi utilizada ração comercial com 28% de proteína bruta, na quantidade de 1% do peso vivo, diariamente distribuída em duas alimentações.

As variáveis limnológicas da água como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica foram mensurados diariamente com auxílio de equipamentos multiparâmetros. Semanalmente foram determinadas as concentrações de nitrogênio amoniacal total (NAT) pelo método KOROLEFF (1976), nitrito (MACKERETH *et al.*, 1978), fósforo total (BOYD e TUCKER, 1992), clorofila-a e feofitina-a (NUSCH, 1980), assim como avaliada a alcalinidade (GOLTERMAN *et al.*, 1978).

Após a exposição crônica durante 21 dias nas condições experimentais, três peixes (30%) de cada repetição foram capturados e anestesiados em solução de benzocaína (0,06 g.L⁻¹) para determinação de comprimento total e peso total e retirada do sangue para avaliação dos parâmetros fisiológicos. Aproximadamente 3,0 mL de sangue periférico foram colhidos por punção do vaso caudal e, dessa quantidade, 0,3 mL foi armazenado em tubo plástico de 2 mL contendo 15 µL de EDTA (1:50), e outra igual porção (0,3 mL), dispensada em tubo plástico de 2 mL contendo Glistab®. O restante, 0,4 mL, foi dispensado em tubo de vidro para coagulação por 45 minutos à temperatura ambiente. Após este período, o sangue coagulado foi centrifugado a 1500 G por cinco minutos, sendo o soro armazenado em ultrafreezer (-70°C).

A concentração de hemoglobina foi registrada em grama.dL-1, e o número de leucóticos totais e o de eritrócitos foram estabelecidos com auxílio de contador automático de células (Celm, modelo CC510). O hematócrito foi determinado por meio da centrifugação do sangue contendo anticoagulante em centrífuga de microhematócrito a 1500 G por cinco minutos (GOLDENFARB *et al.*, 1971). O cortisol plasmático foi avaliado por radioimunoensaio (I125), utilizando o kit comercial TKCO5 (Medlab, Brasil).

Após colheita de sangue, os peixes foram mortos por aprofundamento do plano anestésico para retirada do baço e fígado para pesagem e posterior determinação da relação hepatossomática

(RHS%=peso do fígado/peso corporal x 100) e esplenossomática (RSS%=peso do baço/peso corporal x 100). Os resultados obtidos foram submetidos aos testes de premissa de normalidade (Shapiro Wilk) e homocedasticidade (Bartlet) e posteriormente, ao teste F, para análise de variância, e ao teste de Tukey, para comparação de médias em nível de 5% de significância entre os tratamentos.

RESULTADOS

As variáveis limnológicas da água apresentaram os seguintes resultados: temperatura $25,60 \pm 2,87$ °C; oxigênio dissolvido 6,96 ± 0,36 mg.L-1; pH 7,20 ± 0,78; alcalinidade 67,2 ± 14,6 mg.L-1 CaCO3 e condutividade 203,55 ± 12,28 µS.cm⁻¹, sem diferenças significativas (p>0,05) entre os tratamentos. No entanto, as concentrações de nitrito e nitrogênio amoniacal total (NAT) apresentaram diferença significativa entre os diferentes tratamentos (p<0,05), sendo que a macrófita decomposta por ação do herbicida proporcionou o menor e o maior valor, respectivamente (Tabela 1). Os valores médios de clorofila-a não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos, mas os de feofitina-a foram mais elevados no tratamento em que se utilizaram plantas mortas por congelamento (p<0,05) (Tabela 1).

As concentrações médias de fósforo total foram maiores nos grupos com plantas em decomposição, com os maiores valores sendo observados nos tratamentos com as plantas mortas pelo herbicida (p<0,05). Nos grupos-controle (positivo e negativo), observou-se que a concentração média de fósforo total na água foi inferior à observada nos outros tratamentos. Com relação aos peixes, a média de peso e de comprimento total, os índices hepato e esplenossomático (Tabela 2), assim como as variáveis hematológicas (glicemia, cortisol, leucócitos totais, eritrócitos e hemoglobina) não diferiram entre os diferentes tratamentos (p>0,05) (Tabela 3).

Tabela 1. Coeficiente de variação (CV) e média da concentração de nitrito (mg.L $^{-1}$), nitrogênio amoniacal total (mg.L $^{-1}$), fósforo total (mg.L $^{-1}$), clorofila-a (µg.L $^{-1}$) e feofitina-a (µg.L $^{-1}$) nos diferentes grupos experimentais.

		Nitrogênio				
Tratamento	Nitrito amoniacal total		Fósforo total	Clorofila-a	Feofitina-a	
	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	$(\mu g.L^{-1})$	(μg.L ⁻¹)	
F para Tratamentos	11,44**	8,00**	2,48**	1,03ns	3,57**	
CV (%)	58,46	111,03	102,48	97,50	91,38	

continua...

	mm 1		-
continuação	T a	hela	П
commuacao	1 U	ocia	_

Controle sem plantas	0,96a	0,61b	0,00004b	3,64	6,06b
Controle com plantas	1,04a	0,82b	0,00004b	2,5	3,34b
Plantas mortas pelo herbicida	0,12b	3,28a	0,0001a	2,16	5,89b
Plantas mortas por congelamento	1,16a	0,85b	0,07ab	2,61	11,21a

CV: coeficiente de variação (%); ns: Não significativo em nível de 5%; ** Significativo em nível de 5% (p<0,05).

Tabela 2 . Médias de peso (g), comprimento total (CT - cm) e relações hepatossomática (RHS) e esplenossomática (RSS) de tilápias-do-nilo nos diferentes tratamentos.

Tratamento	Peso (g)	CT (cm)	RHS	RSS
F para Tratamentos	1,96ns	1,84ns	0,27ns	0,04ns
CV (%)	33,94	13,36	37,08	13,66
Controle sem plantas	138,04	19,38	2,69	0,32
Controle com plantas	115,61	18,32	2,79	0,19
Plantas mortas pelo herbicida	106,64	17,55	3,26	0,19
Plantas mortas por congelamento	148,57	19,95	2,34	0,22

CV: coeficiente de variação (%);ns: Não significativo em nível de 5%.

Tabela 3. Valores médios de glicemia (mg.dL⁻¹), cortisol (ng.mL⁻¹), número de leucócitos totais (x10³.mL⁻¹), número de eritrócitos (x10⁶.mL⁻¹) e concentração de hemoglobina (g.dL⁻¹), em tilápias-do-nilo nos diferentes tratamentos.

Tratamento	Glicemia (mg.dL ⁻¹)	CT (cm) (ng.mL ⁻¹)	totais (x10 ³ .mL ⁻¹)	Eritrócitos (x106.mL-1)	Hemoglobina (g.dL ⁻¹)
F para Tratamentos	0,23ns	1,52ns	1,48ns	0,81ns	0,27ns
CV (%)	33,04	94,76	44,80	13,88	34,32
Controle sem plantas	51,95	3,64	3990,00	2,29	6,98
Controle com plantas	52,99	3,33	4456,30	2,16	6,56
Plantas mortas pelo herbicida	53,45	2,68	3751,40	2,26	6,93
Plantas mortas por congelamento	50,88	2,25	4677,10	2,37	6,97

CV: coeficiente de variação (%); ns: Não significativo em nível de 5%.

DISCUSSÃO

A utilização de herbicidas para o controle de macrófitas em grandes reservatórios está se tornando uma opção real permitida, segundo a Resolução 467/2015 (CONAMA, 2015), porém é necessário

compreender os efeitos tanto do herbicida quanto da matéria em decomposição sobre as variáveis físicas e químicas da água e sobre os organismos-não alvo. No presente trabalho, diferenças nos valores de nitrito e nitrogênio amoniacal foram observadas entre os diferentes tratamentos. O valor de nitrogênio

amoniacal total no tratamento com plantas mortas por herbicida (3,2 mg L^{-1} em pH 7,20) está próximo do limite aceitável de 3,7 mg L^{-1} (Tabela 1) quando comparados com o determinado na Resolução 357 de 2005 (CONAMA, 2005). Ainda segundo a Resolução CONAMA, os valores de nitrito estão acima do indicado (1 mg. L^{-1}) no tratamento-controle somente com plantas e no tratamento com plantas mortas por congelamento.

Valores baixos de nitrito e elevados de nitrogênio amoniacal foram observados apenas no tratamento com herbicida. O nitrito e o nitrogênio amoniacal total estão relacionados à reação de nitrificação, em que a amônia sofre oxidação, resultando em nitrato, sendo o nitrito metabólico intermediário nesse processo. Assim, uma explicação para tais valores é que a presença de herbicida poderia interferir no processo, possivelmente reduzindo a população de bactérias no gênero *Nitrosomonas*, responsáveis por tal transformação (LEVINE e MEADE, 1976; ENRICH-PRAST, 2006; CYCÓN *et al.*, 2013), resultando em maior concentração de nitrogênio na forma de amônia não ionizada (NH³) no tratamento em que a macrófita foi morta por herbicida.

Outro parâmetro avaliado que mostrou alterações decorrentes dos tratamentos foi a feofitina-a, que é resultado da degradação da clorofila. A morte da planta promove acidificação dos tecidos, o que favorece a feofitinização, processo em que uma molécula de magnésio da clorofila é substituída por duas moléculas de hidrogênio, que confere uma cor amarronzada à planta em decomposição, indicando a formação de grande quantidade de feofitina (HEATON et al., 1996; MARTINS e SILVA, 2002; STREIT et al., 2005). No tratamento em que a macrófita foi morta por herbicida, mesmo com a rápida ação deste, a degradação da clorofila foi provavelmente mais lenta que aquela das plantas mortas por congelamento, já que os maiores valores de feofitina-a ocorreram neste tratamento.

Além disso, o processo de decomposição das plantas também foi avaliado, verificando-se maior concentração do fósforo total liberado na água nos tratamentos com plantas mortas tanto por herbicida quanto por congelamento. O fósforo é um nutriente que, após o início da decomposição de macrófitas aquáticas, é lixiviado, aumentando as concentrações na água até o 14º dia de decomposição, com maiores lixiviações ocorrendo no 2º dia (SILVA et al., 2011). Porém, mesmo havendo aumento dos teores de fósforo total, estes ficaram abaixo do

limite estabelecido em CONAMA 357/2005 (0,025 mg L-1). O contrário foi verificado nos tratamentos com plantas vivas, pois estas, além de absorver fósforo (POMPÊO e MOSCHINI-CARLOS, 2003), só contribuem com o nutriente por meio de eventuais decomposições.

No presente estudo, mesmo com as variações observadas nas concentrações de nitrito e amônia total, os valores médios são considerados aceitáveis para o crescimento das tilápias (MERCANTE *et al.*, 2007), refletindo-se na sobrevivência total e na não diferença entre as médias de peso e de comprimento total dos peixes.

A condição de decomposição da macrófita *Egeria densa* não interferiu no desenvolvimento dos peixes, como confirmado também pela não diferença entre os índices hepato e esplenossomático, o que demonstra não ter havido alterações metabólicas. Uma possível alteração dos índices poderia indicar algum processo patológico (TAVARES DIAS *et al.*, 2000), fato não observado nos peixes deste estudo. Isso corrobora o registrado por HENARES *et al.* (2008), ou seja, ocorrência de alterações morfológicas nesses órgãos metabólicos somente em concentrações de diquat acima de 35 mg.L-1, valores esses bem mais elevados que o utilizado para o controle das macrófitas.

Apesar das variações observadas nos parâmetros da água, não foram registradas alterações fisiológicas nos peixes, que confirmariam algum estresse crônico causado pela exposição ao herbicida e à decomposição de matéria orgânica.

Neste estudo, os valores verificados para a glicemia, contagem de eritrócitos, cortisol e hemoglobina foram semelhantes aos encontrados para tilápia não submetida à ação de agentes estressores (BARRETO e VOLPATO, 2006; MOREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2012; BOSISIO et al., 2017). O valor médio de leucócitos totais observado no presente trabalho foi menor do que o registrado por GHIRALDELLI et al. (2006) (>30 x 103 leucócitos. μL⁻¹), que consideravam o sistema de criação como estressante, mas semelhante ao encontrado em tilápia aureus, Oreochromis rendalli (9.670 e 216.360 leucócitos. μL⁻¹) (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004), e tilápia-do-nilo (O. niloticus) (1,7 x 103 µL-1 a 21,2 x 103 µL-1) em ambientes de criação considerados não estressantes (AZEVEDO et al., 2006), demonstrando assim variações intraespecíficas definidas pelo ambiente de criação em que se encontram os peixes, contudo, no presente trabalho, dentro dos padrões normais, sem estresse para a espécie.

NOMURA et al.

CONCLUSÕES

A utilização do herbicida diquat no controle de macrófitas *Egeria densa* provoca alterações nos parâmetros de qualidade de água dos tanques de criação de tilápias, porém a presença da macrófita viva ou sua decomposição pelo herbicida ou por congelamento não alterou a homeostase da tilápiado-nilo.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) o apoio financeiro concedido a R.Y. Fujimoto (305195/2016-6).

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, T.D.; MARTINS, M.L.; YAMASHITA, M.M.; FRANCISCO, C.J. 2006 Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e em pesque-pague no vale do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 32(1): 41-49.
- BARRETO, R.E.; VOLPATO, G.L. 2006 Ventilatory frequency of Nile tilapia subjected to different stressors. *Journal of Experimental Animal Science*, 43(3): 189-196.
- BOSISIO, F.; REZENDE, K.F.O.; BARBIERI, E. 2017 Alterations in the hematological parameters of juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted to different salinities. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 12(2): 146-154.
- BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. 1992 Water quality and pond soil analysis for aquaculture. Opelika: Auburn University. 183p.
- BRABO, M.F.; PEREIRA, F.L.S.; SANTANA, J.V.M.; CAMPELO, D.A.V.; VERAS, G.V. 2016 Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 4(2): 50-58.
- CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). 2005 Resolução no. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos

- corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília: 18 de março de 2005, no. 53, p.58-63.
- CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). 2015 Resolução n°. 467, de 16 de julho de 2015. Dispõe sobre critérios para a autorização de uso de produtos ou de agentes de processos físicos, químicos ou biológicos para o controle de organismos ou contaminantes em corpos hídricos superficiais e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília: 17 de julho de 2015, nº 135, seção 1, p. 70 -71.
- CYCÓN, M.; WÓJCIK, M.; BORYMSKI, S.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. 2013 Short-term effects of the herbicide napropamide on the activity and structure of the soil microbial community assessed by the multi-approach analysis. *Applied Soil Ecology*, 66(1): 8-18.
- ENRICH-PRAST, A. 2006 Effect of pesticides on nitrification in aquatic sediment. *Brazilian Journal of Biology, 66*(2a): 405-412.
- GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M.L.; YAMASHITA, M.M.; JERÔNIMO, G.T. 2006 Hematologia de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) e *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) mantidos em diferentes condições de manejo e alimentação no Estado de Santa Catarina, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(4): 319-325.
- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E. 1971 Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal* of Clinical Pathology, 56(1): 35-39.
- GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. 1978 Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. London, IBP: Blackweel Science Publisher. 214p.
- GUIMARÃES, G.L.; FOLONI, L.L.; PITELI, R.; MARTINS, A.T. 2003 Metodologia para avaliação de impacto ambiental de macrófitas em mesocosmos. *Planta daninha*, 21(spe): 37-42.
- HEATON, J.W.; LENCKI, R.W.; MARANGONI, A.G.

- 1996 Kinetic model for chlorophyll degradation in green tissue. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44(2): 399-402.
- HENARES, M.N.P.; CRUZ, C.; GOMES, G.R.; PITELLI, R.A.; MACHADO, M.R.F. 2008 Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 30(1): 77-82.
- HENARES, M.N.P.; REZENDE, F.R.L.; GOMES, G.R.; CRUZ, C; PITELLI, R.A. 2011 Eficácia do diquat no controle e *Hydrilla verticillata*, *Egeria densa e Egeria najas* e toxicidade aguda para o guaru (*Phalloceros caudimaculatus*), em condições de laboratório. *Planta Daninha*, 29(2): 279-285.
- KOROLEFF, F. 1976 Determination of Nutrients. In: K. GRASSHOF (Ed.), *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie Wenheim, German. p. 117-181
- LEVINE, G.; MEADE, T.L. 1976 The effects of disease treatment on nitrification in closed system aquaculture. *Journal of World Aquaculture Society*, 7(1-4): 483-493.
- MACKERETH, F.I.H.; HERON, J.; TALLING, J.F. 1978 Water analysis: some revised methods for limnologist. London: Freshwater Biological Association. 121p.
- MARCONDES, D.A.S.; MUSTAFÁ, A.L.; TANAKA, R.H. 2003 Estudos para manejo integrado de plantas aquáticas no reservatório de Jupiá. In: THOMAZ, S.M.; BINI, L.M. *Ecologia e Manejo de macrófitas aquáticas*. Ed. EDUEM, Maringá. p. 299-318.
- MARTINS, R.C.; SILVA, C.L.M. 2002 Modelling colour and chlorophyll losses of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris*. L.). *International Journal of Refrigeration*, 25(7): 966-974.
- MARTINS, D.; TRIGUEIRO, L.R.C.; DOMINGOS, V.D.; TERRA, M.A.; COSTA, N.V. 2007 Sensibilidade de diferentes acessos de *Egeria najas* e *Egeria densa* aos herbicidas diquat e fluridone. *Planta Daninha*, 25(2): 351-358.
- MERCANTE, C.T.J.; MARTINS, Y.K.; CARMO, C.F.;

- OSTI, J.S.; MAINARDES-PINTO, C.S.R.; TUCCI, A. 2007 Qualidade de água em viveiro de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. *Bioikos*, 21(2): 79-88.
- MOREIRA, A.G.L.; TEIXEIRA, E.G.; MOREIRA, R.L.; FARIAS, W.R.L. 2011 Glicose plasmática em juvenis de tilápia do nilo anestesiados com óleo de cravo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(3): 794-804.
- NOGA, E.J. 2010 *Fish Disease: diagnosis and treatment*. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book. 367p.
- NUSCH, E.A. 1980 Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archives Hydrobiologie*, 4(1): 14-36.
- POMPÊO, M.L.M.; MOSCHINI-CARLOS, V. 2003 Macrófitas aquáticas e perifíton: espectos ecológicos e metodológicos. São Paulo: RiMa Editora e FAPESP. 134p.
- SILVA, R.D.; ROCHA, L.O.; FORTES, B.D.A.; VIEIRA, D.; FIORAVANTI, M.C.S. 2012 Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(1): 99-107.
- SILVA, D.S.S.; CUNHA-SANTINO, M.B.; MARQUES, E.E. 2011 Decomposição e dinâmica de liberação de nitrogênio e fósforo de frações vegetais de *Salvinia auriculata* Aubl. em um reservatório da Amazônia legal. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 33(1): 21-29.
- STREIT, N.M.; CANTERLE, L.P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. 2005 As clorofilas. *Ciência Rural*, 35(3): 748-755.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. 2004 Características hematológicas de *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) cultivada. *Bioscience Journal*, 19(1): 107-114.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. 2000 Relação Hepatossomática e Esplenossomática em peixes teleósteos de cultivo intensivo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 17(1): 273-281.