

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE
E PESCA INTERIOR – BADPI**

**EFEITO DE COMBUSTÍVEIS DERIVADOS DO PETRÓLEO NA
DESCARGA DO ÓRGÃO ELÉTRICO DE *PARAPTERONTUS
HASEMANI* (ELLIS 1913) (OSTARIOPHYSI, GYMNOTIFORMES)**

DIANA JOSÉ DOS SANTOS FERREIRA

Manaus, Amazonas

Abril, 2016

DIANA JOSÉ DOS SANTOS FERREIRA

**EFEITO DE COMBUSTÍVEIS DERIVADOS DO PETRÓLEO NA
DESCARGA DO ÓRGÃO ELÉTRICO DE *PARAPTERONTUS*
HASEMANI (ELLIS 1913) (OSTARIOPHYSI, GYMNOTIFORMES)**

ORIENTADOR: JOSÉ ANTÔNIO ALVES GOMES, Ph. D.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

Manaus, Amazonas

Abril, 2016

DIANA JOSÉ DOS SANTOS FERREIRA

**EFEITO DE COMBUSTÍVEIS DERIVADOS DO PETRÓLEO NA
DESCARGA DO ÓRGÃO ELÉTRICO DE *PARAPTERONTUS
HASEMANI* (ELLIS 1913) (OSTARIOPHYSI, GYMNOTIFORMES)**

BANCA JULGADORA

Dra. Adília dos Prazeres da Rocha Nogueira/INPA/Nappa

Dra. Alzira Miranda de Oliveira/INPA/Nilton Lins

Dr. Jansen Alfredo Sampaio Zuanon/INPA

Dr. Jaydione Luiz Marcon/UFAM

Dr. Márcio Nogueira Rodrigues/UFAM/ESBAM

Data da Defesa: 12 de abril de 2016.

Ficha Catalográfica

F383

Ferreira, Diana José dos Santos

Efeito de combustíveis derivados do petróleo na descarga do órgão elétrico de *Parapteronotus hasemani* (Ellis 1913) (Ostariophysi, Gymnotiformes) / Diana José dos Santos Ferreira. ---

Manaus: INPA, 2016.

xxi, 147 f.: il. (algumas color).

Tese (doutorado) -- INPA, Manaus, 2016.

Orientador: José Antônio Alves Gomes

Área de concentração: Biologia de Água Doce e Pesca Interior

1. Peixes elétricos da Amazônia. 2. Biomonitoramento. 3. Gasolina. 4. Óleo diesel. 5. Análise de medidas repetidas. 6. Ritmo circadiano. I. Título.

CDD 597.48

Sinopse:

Estudou-se o ritmo circadiano, o efeito da gasolina e do óleo diesel sobre a taxa de repetição, coeficiente de variação, amplitude e a forma da onda na Descarga do Órgão Elétrico (DOE) do peixe elétrico neotropical *Parapteronotus hasemani*. Na avaliação do ritmo circadiano houve diferenças entre o período noturno (12h) e diurno (12h) na taxa de repetição, na área 1, área 3 e na relação da área 1 com a área 3. O óleo diesel causou aumento na taxa de repetição em 440 µl/5L, distorção da forma da onda na área 3 e na relação da área 1 com a área 3 e diminuição da taxa de repetição na concentração 110 µl/5L. A gasolina não causou efeito significativo nas concentrações testadas. A espécie mostrou ter um ótimo potencial para ser utilizado como organismo biomonitor em ambientes controlados, porque o efeito do óleo diesel determinou as mínimas concentrações detectáveis no tempo máximo de três horas dentro de quatro horas de exposição.

Palavras-chave: Peixes elétricos da Amazônia. 2. Biomonitoramento. 3. Gasolina. 4. Óleo diesel. 5. Análise de medidas repetidas. 6. Ritmo circadiano.

*Ao meu filho Douglas,
Minha motivação.*

Agradecimentos

Agradeço a **Deus** por sempre ter me dado fé para lutar, força para vencer, ânimo pra continuar e nunca desistir.

Aos **meus pais**, ao **meu querido filho** e ao **meu irmão** pelo carinho e atenção sempre presente.

A todos meus **familiares, amigos e parentes** que com amor e carinho cuidaram e fizeram companhia ao *Douglas*, enquanto estive ausente para realização desta. *Eternamente grata!*

Ao meu **orientador** pelo aprendizado, pela oportunidade em participar de sua equipe de pesquisa e conhecer um pouco mais sobre o mundo interessante dos peixes elétricos.

Aos **amigos** do Curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior – BADPI/INPA pelo companheirismo e amizade, os momentos de alegria serão sempre lembrados. *Saudades!*

Aos **amigos e colegas de trabalho** do Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução – LFCE/INPA, que estiveram próximos e distantes, mas que fizeram parte dessa caminhada e proporcionaram um cotidiano mais feliz e saudável, com aprendizado, trocas de ideias, conversas produtivas e principalmente a amizade e companheirismo durante as coletas, viagens e reuniões. *Aquele abraço!*

Aos **amigos** que hoje mesmo distantes fizeram parte de alguma forma para a realização desta, *minhas sinceras lembranças.*

Ao **Urbano** pela ajuda nas análises estatísticas. *Valeu mesmo!*

Aos **pesquisadores docentes** do Curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior – BADPI/INPA/UFAM pelos ensinamentos, aprendizado, sugestões, conselhos e compreensão nos momentos necessários.

Aos **cinco examinadores** por valiosas correções, questões e sugestões, pois contribuíram com diferentes abordagens para o enriquecimento desta Tese. *Fico satisfeita!*

Aos **funcionários** da Coordenação de Biodiversidade – CBio /INPA incluindo secretários, motoristas, pescadores que contribuíram para realização desta pesquisa sendo prestativos e esforçados.

Ao **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA** pelo apoio financeiro, pela logística, pelas instalações cedidas para o desenvolvimento e realização desta.

A **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM** pela bolsa de estudo.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq** e à **Financiadora de Estudos e Projetos - FINEP** pelo apoio financeiro.

Resumo

Este estudo determinou o ritmo circadiano durante o período de 24 horas e o efeito dos combustíveis automotivos (gasolina e óleo diesel) sobre a taxa de repetição, coeficiente de variação, amplitude e a forma da onda da Descarga do Órgão Elétrico (DOE) de *Parapteronotus hasemani* (Ostariophysi, Gymnotiformes), a fim de testar a viabilidade desta espécie como biomonitora na detecção de contaminantes derivados do petróleo. Os indivíduos foram expostos às concentrações de 110, 220 e 440 µl/5L e estas corresponderam a 25, 50 e 100% da concentração permitida para peixes em águas continentais. Cada experimento durou 9 horas, sendo que as duas primeiras horas foram usadas para a aclimatação, a pré-contaminação iniciou na terceira hora e as DOEs desta fase foram comparadas com as gravações feitas após a adição do contaminante, que seguiram por mais quatro horas e da quinta até a nona hora foi usada como período de pós-contaminação. O sinal bioelétrico foi captado por meio de eletrodos colocados nos aquários experimentais, amplificado, monitorado e visualizado por meio de um osciloscópio digital em tempo real. O sinal foi gravado com o auxílio um conversor analógico/digital (resolução de 16 bits) e analisado com o programa MATLAB[®]. As gravações das DOEs foram de 2 minutos de duração, em intervalos de 15 minutos. As análises estatísticas do ritmo circadiano foram feitas por meio do Teste t - Student pareado ($p \leq 0,05$), para comparação entre os valores normalizados do período noturno e diurno. Nos experimentos com a gasolina e o óleo diesel foram realizados por meio das análises de medidas repetidas no tempo (ANOVA MR), seguida do pós-teste de Bonferroni ou LSD de Fisher. O ritmo circadiano teve diferenças entre o período noturno e diurno na taxa de repetição ($p = 0,000$), na área 1 ($p = 0,017$), área 3 ($p = 0,000$) e na relação da área 1 com a área 3 ($p = 0,05$). A variação foi maior no período diurno devido apresentar valores maiores dos desvios padrão, determinando regularidade e estabilidade destes parâmetros no período noturno pelo fato de estarem associados à atividade alimentar da espécie. O óleo diesel causou aumento na taxa de repetição ($p = 0,000$) em 440 µl/5L, distorção da forma da onda na área 3 ($p = 0,049$) e na relação da área 1 com a área 3 ($p = 0,045$) e diminuição da taxa de repetição na concentração 110 µl/5L. A gasolina não causou efeito significativo pelo pós-teste de Bonferroni nessas concentrações para a área 1 da DOE. Variações teriam ocorrido devido à tolerância diferencial dos indivíduos aos contaminantes no sistema nervoso central no núcleo marcapasso. Sugere-se que *P. hasemani* tem um ótimo potencial para ser utilizada como biomonitora de ambientes aquáticos, porque o efeito do diesel determinou as mínimas concentrações detectáveis pela espécie no tempo máximo de três horas dentro de quatro horas de exposição. Esta pesquisa apresentou novas possibilidades para estudos futuros, onde se possam aprofundar as investigações iniciadas aqui, pela utilização de maiores concentrações, principalmente para exposição à gasolina.

Palavras-chave: Peixe elétrico da Amazônia, análise de medidas repetidas, biomonitoramento, gasolina, óleo diesel, ritmo circadiano.

Abstract

This study determined the circadian rhythm during for 24 hours period and the effect of automotive fuels (gasoline and diesel) on the discharge rate, coefficient of variation, amplitude and waveform shape oscillations of the Electric Organ Discharge (EOD) in the weakly electric fish *Parapteronotus hasemani* (Ostariophysis, Gymnotiformes), with the objective of testing the viability of this species as biomonitor to detect contaminants derived from petroleum. The individuals were exposed to concentrations of 110, 220 and 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ and those concentrations corresponded to 25, 50 and 100% of concentration allowed for fish in continental waters. Each experiment lasted for 9 hours, as the 1st two hours were used to acclimate the individuals in the experimental tanks, pre-contamination started at the 3rd time, and EODs of this phase were compared with the recordings made after the addition of the contaminant, which followed by 4 more hours and from the 5th until 9th hour was considered as a pos-contamination period. The bioelectric signal was captured through a pair of electrodes placed in the experimental tanks, amplified, monitored, and visualized in real time a digital oscilloscope. The signal was recorded with an analog/digital converter (16-bit resolution) and analyzed with the program MATLAB[®], Mathworks. EODs recordings were 2 minutes duration, in 15 minutes intervals. Statistical analyzes of the circadian rhythm was detected through the paired Student's t-Test ($p \leq 0.05$) was applied comparing the normalized values of the night and day period. Oscillations from gasoline and diesel experiments were detected through the analysis of repeated measures (ANOVA RM) followed by Bonferroni or Fisher's LSD post-hoc tests. The circadian rhythm had differences between the day-night oscillations in the discharge rate ($p = 0.000$), 1st area ($p = 0.017$), 3rd area ($p = 0.000$) and the ratio of the 1st area to 3rd area ($p = 0.05$) of the waveform shape. The variation was higher during the day, due higher values of standard deviations, determining regularity and stability of these parameters at night because they are synchronized to the feeding activity. The diesel oil caused an increase in discharge rate ($p = 0.000$) in 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$, oscillation of the waveform shape in the 3rd area ($p = 0.049$) and the ratio of the 1st area to 3rd area ($p = 0.045$) and decreased the discharge rate in the concentration 110 $\mu\text{l}/5\text{L}$. The gasoline caused no significant oscillations waveform shape in the 1st area by Bonferroni post-hoc test. Variations have occurred due to the individual tolerance to the contaminants in the central nervous system in pacemaker nucleus. It is suggest *P. hasemani* has a great potential to be utilized as a biomonitor species in aquatic environments, because the effect of diesel determined by the minimum detectable species concentrations in a maximum time of 3 hours within 4 hours of exposure. This research presented new possibilities for future studies, where the investigations started here could be complemented by the utilization of higher concentrations, especially for exposure to gasoline.

Key words: electric fish from the Amazon, repeated measures analysis, biomonitoring, gasoline, diesel oil, circadian rhythm.

Sumário

INTRODUÇÃO	01
Peixes elétricos e o biomonitoramento.....	05
Biomonitoramento.....	07
Ritmo circadiano.....	10
Gasolina e Óleo diesel.....	11
Efeito da gasolina e do óleo diesel em organismos aquáticos.....	13
Espécie de Estudo.....	16
OBJETIVOS	19
Geral.....	19
Específicos.....	19
HIPÓTESES	19
Ritmo circadiano.....	19
Gasolina e óleo diesel 110, 220 e 440 µl/5L.....	19
MATERIAL E MÉTODOS	20
Descrição da área de estudo.....	20
Coleta de dados.....	21
Gravação das DOEs.....	24
Parâmetros físico-químicos da água, biometria dos espécimes e protocolo de gravação das DOEs do ritmo circadiano.....	24
Parâmetros físico-químicos da água e biometria dos espécimes nas gravações das DOEs com gasolina e óleo diesel.....	25
Protocolo de gravação das DOEs com gasolina e óleo diesel.....	27
Análise dos dados.....	29
RESULTADOS	32
Ritmo circadiano de <i>Parapteronotus hasemani</i>	32
Taxa de Repetição (Hz) da DOE.....	32
Coeficiente de Variação (CV) da DOE.....	35
Relação Pico a Pico (PPrel) da DOE.....	38
Áreas 1 (A1) , 2 (A2), 3 (A3) e 4 (A4) da DOE.....	41
Relação entre área 1 e área 3 (A1/A3) da DOE.....	46
Relação entre área 2 e área 4 (A2/A4) da DOE.....	49
Relação entre área 2 e área 1 (A2/A1) da DOE.....	52
Relação entre área 3 e área 4 (A3/A4) da DOE.....	55

Efeito da gasolina 110, 220 e 440 µl/5L sobre a DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i>.....	58
Taxa de Repetição (Hz) da DOE.....	58
Coeficiente de Variação (CV) da DOE.....	61
Relação Pico a Pico (PPrel) da DOE.....	63
Área 1 (A1) da DOE.....	65
Área 2 (A2) da DOE.....	69
Área 3 (A3) da DOE.....	71
Área 4 (A4) da DOE.....	73
Relação entre área 1 e área 3 (A1/A3) da DOE.....	75
Relação entre área 2 e área 4 (A2/A4) da DOE.....	77
Relação entre área 2 e área 1 (A2/A1) da DOE.....	79
Relação entre área 3 e área 4 (A3/A4) da DOE.....	81
Efeito do óleo diesel 110, 220 e 440 µl/5L sobre a DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i>.....	83
Taxa de Repetição (Hz) da DOE.....	83
Coeficiente de Variação (CV) da DOE.....	87
Relação Pico a Pico (PPrel) da DOE.....	89
Área 1 (A1) da DOE.....	91
Área 2 (A2) da DOE.....	93
Área 3 (A3) da DOE.....	95
Área 4 (A4) da DOE.....	99
Relação entre área 1 e área 3 (A1/A3) da DOE.....	101
Relação entre área 2 e área 4 (A2/A4) da DOE.....	105
Relação entre área 2 e área 1 (A2/A1) da DOE.....	108
Relação entre área 3 e área 4 (A3/A4) da DOE.....	110
DISCUSSÃO	112
Ritmo circadiano de <i>Parapteronotus hasemani</i>	112
Efeito da gasolina e do óleo diesel sobre a DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i>	114
CONCLUSÕES	120
Ritmo circadiano de <i>Parapteronotus hasemani</i>	120
Efeito da gasolina e do óleo diesel sobre a DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i>	121
PERSPECTIVAS	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
ANEXO	139

Lista de Tabelas

- Tabela 1:** Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a taxa de repetição (Hz) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes. 33
- Tabela 2:** Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais da taxa de repetição (Hz) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos. 33
- Tabela 3:** Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre o coeficiente de variação (CV) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média normalizada \pm DP (desvio padrão). 35
- Tabela 4:** Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais do coeficiente de variação (CV) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos. 36
- Tabela 5:** Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média normalizada \pm DP (desvio padrão). 38
- Tabela 6:** Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais da relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos. 39
- Tabela 7:** Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre as áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes. 41
- Tabela 8:** Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais das áreas: A1, A2, A3 e A4 (%), de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos. 42
- Tabela 9:** Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais das áreas: A1, A2, A3 e A4 (%), de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos. 43
- Tabela 10:** Análise do teste t-Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 1 com a área 3 do sinal elétrico (A1/A3) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão). 46
- Tabela 11:** Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A1/A3 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos. 47

Tabela 12: Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 2 com a área 4 do sinal elétrico (A2/A4) de <i>Parapteronotus hasemani</i> durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).	49
Tabela 13: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A2/A4 de <i>Parapteronotus hasemani</i> durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.	50
Tabela 14: Análise do teste t-Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 2 com a área 1 do sinal elétrico (A2/A1) de <i>Parapteronotus hasemani</i> durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).	52
Tabela 15: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A2/A1 de <i>Parapteronotus hasemani</i> durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.	53
Tabela 16: Análise do teste t-Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 3 com a área 4 do sinal elétrico (A3/A4) de <i>Parapteronotus hasemani</i> durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).	55
Tabela 17: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A3/A4 de <i>Parapteronotus hasemani</i> durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.	56
Tabela 18: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) e grupo controle sobre a taxa de repetição (Hz) de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).	59
Tabela 19: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a taxa de repetição (Hz) de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).	59
Tabela 20: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) e grupo controle sobre o coeficiente de variação (CV) de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).	61
Tabela 21: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre o coeficiente de variação (CV) de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).	62
Tabela 22: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) e grupo controle sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (grupo).	63

- Tabela 23:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 64
- Tabela 24:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 66
- Tabela 25:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes. 66
- Tabela 26:** Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 µl/5L de óleo diesel em função do tempo sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani* realizado com o pós-teste de Bonferroni. Não houve diferença significativa. 67
- Tabela 27:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 69
- Tabela 28:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 70
- Tabela 29:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferente (heterogêneo). 71
- Tabela 30:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 72
- Tabela 31:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferente (heterogêneo). 73
- Tabela 32:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 74

- Tabela 33:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 75
- Tabela 34:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 1 (A1) e a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 76
- Tabela 35:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 77
- Tabela 36:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) e a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 78
- Tabela 37:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 79
- Tabela 38:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) e a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 80
- Tabela 39:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). 81
- Tabela 40:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 3 (A3) e a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 82
- Tabela 41:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 84
- Tabela 42:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes. 84

- Tabela 43:** Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 µl/5L de óleo diesel em função do tempo sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani* realizado com o pós-teste de Bonferroni. (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes. 85
- Tabela 44:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre o coeficiente de variação (CV) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). 87
- Tabela 45:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre o coeficiente de variação (CV) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 88
- Tabela 46:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 89
- Tabela 47:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 90
- Tabela 48:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 91
- Tabela 49:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 92
- Tabela 50:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferente (heterogêneo). 93
- Tabela 51:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 94
- Tabela 52:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 96

Tabela 53: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes.	96
Tabela 54: Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 µl/5L de óleo diesel em função do tempo sobre a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> realizado com o pós-teste da mínima diferença significativa de Fisher (LSD, “Least Significant Difference”). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes.	97
Tabela 55: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes (heterogêneos).	99
Tabela 56: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).	100
Tabela 57: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes (heterogêneos).	102
Tabela 58: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes.	102
Tabela 59: Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 µl/5L de óleo diesel em função do tempo sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> realizado com o pós-teste da mínima diferença significativa de Fisher (LSD, “Least Significant Difference”). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes.	103
Tabela 60: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de p≤0,05 significativamente diferentes (heterogêneos).	106
Tabela 61: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).	106

- Tabela 62:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos). 108
- Tabela 63:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 109
- Tabela 64:** Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). 110
- Tabela 65:** Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). 111
- Tabela 66:** Censo atualizado das 216 espécies, 34 gêneros e 7 famílias (Alves-Gomes *et al.*, 1995) de Gymnotiformes a partir de Cramptom e Albert (2005): 134 espécies, Crampton (2011): 179 espécies e censo realizado por Maldonado-Ocampo (2011): 184 espécies. 139
- Tabela 67:** Valores absolutos da aclimatação, pré e pós-contaminação dos parâmetros da DOE de *Parapteronotus hasemani* (taxa de repetição (Hz), coeficiente da variação (CV), relação pico a pico do sinal (PPrel), as quatro áreas (A1, A2, A3 e A4%) e a relação entre as áreas (A1/A3, A2/A4, A2/A1 e A3/A4%) para o controle e a gasolina 110, 220 e 440 µl/5L. Média ± desvio padrão (DP). n= n° de indivíduos. 144
- Tabela 68:** Valores absolutos da aclimatação, pré e pós-contaminação dos parâmetros da DOE de *Parapteronotus hasemani* (taxa de repetição (Hz), coeficiente da variação (CV), relação pico a pico do sinal (PPrel), as quatro áreas (A1, A2, A3 e A4%) e a relação entre as áreas (A1/A3, A2/A4, A2/A1 e A3/A4%) para o controle e a óleo diesel 110, 220 e 440 µl/5L. Média ± desvio padrão (DP). n= n° de indivíduos. 146

Lista de Figuras

- Figura 1:** Anatomia do sistema de controle neural da DOE de origem miogênica. Adaptada de Bullock *et al*, 1979. 04
- Figura 2:** *Parapteronotus hasemani*. Comprimento total: 210 mm. Foto: Arquivo pessoal, 2014. 17
- Figuras 3:** Anatomia e descarga do órgão elétrico de *Sternarchus* (= *Apteronotus*, Apteronotidae). A) Posição do órgão elétrico (OE). B) Diagrama da medula espinhal. A ramificação ventral mostra o segmento do nervo espinhal (Ne), dentro deste passa o nervo do órgão (No) e entra no nervo motor (Nm). Na figura mostra um único eletrócito na medula espinhal e o axônio do órgão elétrico. C) Eletócito e Nódulos de Ranvier. D) Forma spectral da descarga do órgão elétrico, bifásica e do tipo onda, sem intervalo de silêncio entre uma descarga e outra. Adaptado de Waxman *et al.*, 1972. 18
- Figura 4:** Principais pontos de coleta dos espécimes de *Parapteronotus hasemani*: lago do Catalão, costa do lago do Catalão (ex.: n^{os} 4, 5, 6, 25 e 26), ilha Marchantaria (n^o 16), costa da Comunidade do Curari (n^o 11), tendo como referência a cidade de Manaus no topo da figura. Fonte: Imagem do Google Earth, 2016. 21
- Figura 5 e 6:** (1) Termocirculador; (2) caixa de Faraday aberta; (3) aquário banho-maria; (4) aquário experimental com 5L de água, que será colocado dentro do aquário banho-maria; (5) abrigo vazado; (6) três eletrodos de ouro; (7) bioamplificador diferencial AC/DC[®]; (8) caixa de Faraday fechada durante os experimentos para as gravações das DOEs. 23
- Figura 7:** Representação gráfica da origem dos cálculos da taxa de repetição (Hz) e da ralação do pico positivo com o pico negativo do sinal elétrico (amplitude= mV/mV= 1) de *Parapteronotus hasemani*. A figura mostra um exemplo de como é feito o cálculo da Hz. $Hz = 1/T$, onde T= período (tempo). 31
- Figura 8:** Representação gráfica das áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) de *Parapteronotus hasemani*. A área vazia no centro do retângulo do sinal elétrico não entrou nos cálculos. 31
- Figura 9:** Variação do ritmo circadiano (24h) das taxas de repetição (Hz) normalizadas de *Parapteronotus hasemani*, representando maiores taxas de descargas no período de 12h durante a noite. A 1^a hora representa às 19h até a 24^a hora que representa às 18h. Padrão de variação irregular diurno. (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes entre o período noite e dia. 34
- Figura 10:** Variação do ritmo circadiano de 24h sobre o coeficiente de variação (CV) normalizado de *Parapteronotus hasemani*. A 1^a hora representa às 19 h até a 24^a hora que representa às 18h. Diferença não significativa e padrão de variação irregular noturno. 37
- Figura 11:** Variação do ritmo circadiano (24h) da amplitude calculados sobre a relação pico a pico (PPrel) do sinal elétrico de *Parapteronotus hasemani*. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno. 40

- Figura 12:** Ritmo circadiano entre os períodos dia e noite sobre as áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. O círculo em preto representa variações marcantes dos desvios padrões. Padrão irregular diurno (A1, A2 e A4) e padrão irregular noturno e diurno (A3). (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes entre o período noite e dia para A1 e A3. 45
- Figura 13:** Ritmo circadiano (24h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 1 com a área 3 do sinal elétrico. (*)= valores médios \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes entre o período noite e dia. Padrão de variação irregular diurno. 48
- Figura 14:** Ritmo circadiano (24h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 2 com a área 4 do sinal elétrico. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno. 51
- Figura 15:** Ritmo circadiano (24h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 2 com a área 1 do sinal elétrico. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno. 54
- Figura 16:** Ritmo circadiano (24 h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 3 com a área 4 do sinal elétrico. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno. 57
- Figura 17:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados da taxa de repetição (Hz) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 60
- Figura 18:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados do coeficiente de variação (CV) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 62
- Figura 19:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados na relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 64
- Figura 20:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados da área 1 (A1) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa para o pós-teste de Bonferroni. 68
- Figura 21:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados da área 2 (A2) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 70
- Figura 22:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados da área 3 (A3) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 72
- Figura 23:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados da área 4 (A4) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 74
- Figura 24:** Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios da relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa. 76

Figura 25: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de <i>P. hasemani</i> . Não houve diferença significativa.	78
Figura 26: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de <i>P. hasemani</i> . Não houve diferença significativa.	80
Figura 27: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de <i>P. hasemani</i> . Não houve diferença significativa.	82
Figura 28: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Variação significativa para 110 e 440 µl em direções opostas. A concentração 110 µl foi detectada na 2ª hora de exposição no T3_14h e a 440 µl (preta) foi detectada na 3ª hora de exposição no T4_15h. (*)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes na análise horizontal (tempo) e († ▼)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes na análise vertical (entre os grupos).	86
Figura 29: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre o coeficiente de variação (CV) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	88
Figura 30: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre o a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	90
Figura 31: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a área 1 (A1) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	92
Figura 32: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a área 2 (A2) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	94
Figura 33: Efeito do óleo diesel sobre a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Variação significativa para 110, 220 e 440 µl/5L. A concentração 440 µl (preta) foi detectada na 1ª hora de exposição no T2_13h. (*)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.	98
Figura 34: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	100
Figura 35: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Variação significativa para 110, 220 e 440 µl. A concentração 440 µl (preta) foi detectada na 1ª hora de exposição no T2_13h. (*)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.	104
Figura 36: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	107
Figura 37: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	109
Figura 38: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de <i>Parapteronotus hasemani</i> . Não houve diferenças significativas.	111

INTRODUÇÃO

Os rios Neotropicais com aproximadamente 6.025 espécies de peixes (Reis *et al.*, 2003), podendo exceder a 7.000 espécies (Albert e Reis, 2011) sustentam uma diversa variedade de espécies endêmicas, incluindo os peixes elétricos da ordem Gymnotiformes (Cox Fernandes *et al.*, 2004), que perfazem cerca de 3% do total das espécies nestes rios (Marrero e Taphorn, 1991). Os Gymnotiformes estão distribuídos desde o rio San Nicolás do Chiapas no México (18° N) até o rio Salado nos Pampas da Argentina (36° S) (Albert, 2000); Albert e Reis, 2011). A bacia Amazônica, considerada a maior rede hidrográfica de água doce, contém a mais rica ictiofauna existente na região Neotropical, assim como também no mundo, com mais de 3.000 espécies de peixes, e é onde os Gymnotiformes apresentam maior diversidade e abundância (Chao, 2001; Albert e Reis, 2011). Em sua linhagem evolutiva este grupo de peixes elétricos está inserido na série Otophysi e apresenta um ancestral comum imediato com os Bagres (Alves-Gomes, 1997).

Segundo Crampton e Albert (2005) existiam 134 espécies, 179 espécies (Crampton, 2011) e após o censo realizado por Maldonado-Ocampo (2011) existiam 184 espécies de gymnotídeos descritos, com a atualização da contagem das espécies descritas observou-se que atualmente existem 216 espécies de peixes dentro da Ordem Gymnotiformes (ver ANEXO, **Tabela 66**), 34 gêneros e que podem ser divididas em seis famílias: Sternopygidae, Gymnotidae, Electrophoridae, Rhamphichthyidae, Hypopomidae e Apterontidae, de acordo com características morfológicas (Mago-Leccia, 1994), ou ainda, em sete famílias em função de análises de sequências de DNA, sendo elas: Sternopygidae, Gymnotidae, Electrophoridae, Rhamphichthyidae, Hypopomidae, Eigenmanniidae e Apterontidae (Alves-Gomes *et al.*, 1995).

Gymnotiformes possuem o corpo alongado, cilíndrico (Electrophoridae) ou comprimido lateralmente (outras famílias), ausência de nadadeira dorsal, ausência de nadadeira caudal (exceção da família Apterontidae, que tem nadadeira caudal reduzida), nos demais gymnotiformes há ocorrência de filamento caudal, nadadeira anal longa, e todos os órgãos vitais localizados na parte mais anterior do corpo, sendo que a abertura genital e o ânus estão posicionados ventralmente, na altura das nadadeiras peitorais (Mago-Leccia, 1994; Triques, 2005). Além disso, apresentam órgão elétrico e eletrorecepção que é uma de suas características mais marcantes (Keynes, 1957; Hopkins, 1974; Hopkins, 1988; Hopkins, 1995; Bullock *et al.*, 1979; Dye e Meyer, 1986; Heiligenberg, 1993; Bastian, 1994; Alves-Gomes,

1997; Alves-Gomes, 2001; Stoddard, 1999; Stoddard, 2002). Seu hábito é noturno e em sua maioria se alimentam principalmente de material autóctono, especialmente larvas de insetos aquáticos (Marrero e Taphorn, 1991). Vivem nos mais variados tipos de ambientes, incluindo igarapés e rios, lagos calmos e igapós, sobre o fundo de areia e sobre lodo, em águas brancas, águas pretas e águas cristalinas, em estuários, cachoeiras, poças temporárias durante águas baixas, savanas e no fundo do canal de grandes rios a mais de 35 metros de profundidade (Crampton, 1996; Alves-Gomes, 1997; Bullock *et al.*, 1979). Este grupo de peixes compreende a maior parte da biomassa nas calhas de alguns rios, por exemplo, rio Orinoco, Negro, Amazonas e tributários do Amazonas (Marrero e Taphorn 1991; Cox Fernandes *et al.*, 2004; Barletta, 1995; Cox Fernandes, 1995) constituindo desta maneira uma das principais fontes de alimento para os grandes bagres, ordem Siluriformes (Marrero e Taphorn, 1991; Kirschbaum, 1995; Barthem e Goulding, 1997; Duque e Winemiller, 2003). Popularmente são conhecidos como: sarapó, peixe-espada, sarapó-branco (*Eigenmannia virescens*), ituí-cavalo, tuvira (*Gymnotus carapo*), espírito negro ou fantasma negro (*Apteronotus albifrons*) e enguia elétrica (poraquê) (Bullock *et al.*, 1979).

Os peixes elétricos são caracterizados por possuírem a capacidade de produzir corrente elétrica alternada, por meio de um tecido especializado denominado órgão elétrico (Alves-Gomes, 1997), que por sua vez é constituído de células modificadas denominadas eletrócitos (Bullock *et al.*, 1979). Durante cada descarga do órgão elétrico, a membrana dos eletrócitos se despolariza, onde ocorre a entrada e saída de sódio (Na^+) e potássio (K^+) do eletrócito, e é formado um campo elétrico aproximado ao dipólo no espaço circundante ao redor do corpo destes peixes. O sistema eletrogênico e eletrosensório (SEE) é um composto formado pelo órgão elétrico e pelos eletroreceptores. Paralelamente ao sistema eletrogênico (órgão elétrico) os gymnotiformes possuem um sistema eletrosensório formado por células eletroreceptoras espalhadas pela superfície do corpo que permitem monitorar o gradiente de tensão do campo elétrico (Alves-Gomes, 1997; Alves-Gomes, 2014). São constituídas pelos órgãos ampulários que são conectados com o lado de fora (meio externo) por um canal que é preenchido com uma substância gelatinosa servindo de suporte para as células e possuem alta condutividade elétrica e pelos órgãos tuberosos, estes não apresentam conexão direta com o lado de fora, mas possuem uma camada de células que fazem uma conexão com o meio externo (Heiligenberg, 1993). Os receptores tuberosos possuem um conjunto de inervações associadas que derivam para um segmento da musculatura, denominados órgãos elétricos miogênicos, mas diferenciado para uma única família Apterontidae, em que este segmento origina dos

neurônios, denominado órgão elétrico neurogênico, esse tecido nervoso, então diferenciado, é que assume o papel de gerar descargas elétricas (Heiligenberg, 1993). O sistema eletrogênico e eletrosensório (SEE) funcionando em conjunto, permitem monitorar o campo formado durante a descarga e interagir com o meio em que eles vivem como, por exemplo, na detecção de objetos em geral (plantas, obstáculos) e de alimento. Permitem também a comunicação e interação social entre os indivíduos, atuando durante a escolha de parceiros no período de reprodução, e permitindo a diferenciação entre adultos e juvenis, por meio de modificações ao longo do seu estágio de desenvolvimento embrionário, e ser distinta entre machos e fêmeas para algumas espécies (Bullock *et al.*, 1979; Hopkins, 1972; Hagedorn e Carr, 1985; Hagedorn e Zelick, 1989; Sullivan, 1997).

O órgão elétrico possui eletrócitos de origem muscular, os miogênicos e os de origem neural, os neurogênicos, em que os neurônios funcionam como eletrócitos, porém segundo Kirschbaum (1977 e 1983) peixes neurogênicos possuem um órgão predecessor miogênico na fase larval e que, na fase juvenil a adulta são totalmente neurogênicos, nesses estão inclusos exclusivamente as espécies pertencentes da Família Apterontidae (ver **Tabela 66** no ANEXO). O controle neural dos peixes de origem miogênica, seja de onda ou pulso, as suas DOEs são acionadas por um núcleo medular chamado núcleo marcapasso (NM), dentro deste núcleo possuem de 50-100 neurônios ativos. Neurônios do NM fazem sinapses elétricas e químicas uns sobre os outros, e o segundo grupo de neurônios no NM chamadas células de relé (CR), estas CR são espontaneamente ativas e descarregam em altas frequências, com taxas altamente regulares (centenas de Hz) nos peixes onda, e em taxas mais lentas e menos precisas nos peixes de pulso (dezenas de Hz). As CR projetam para fora do núcleo e para baixo por meio da medula espinhal (ME) para as sinapses dos neurônios motores espinhais especializados chamadas os neurônios eletromotor (NE), estes por sinapses químicas inervam para as células derivadas de músculos do órgão elétrico, os eletrócitos, que pela junção neuromuscular recebem o impulso elétrico devido à liberação de acetilcolina (**Figura 1**). Os eletrócitos são geralmente dispostos em fileiras orientadas no mesmo eixo e no tecido conjuntivo eletricamente resistivo por membranas. A membrana resistiva possuem canais de corrente ao longo do eixo do órgão elétrico, que migram para o meio aquoso, e de volta para a outra extremidade do órgão elétrico, em corrente alternada (AC). Essa troca de íons, que ocorre na membrana excitável, entre os eletrócitos funcionam por meio da bomba de sódio e potássio (Na^+/K^+), em que se torna positiva (+) fora do eletrócito em direção da cabeça e negativa (-) em direção à cauda do peixe, formando um dipolo. A quantidade de potencial de

ação que ocorre na face da membrana do eletrócito vai determinar o tipo do sinal elétrico, se ambas as faces forem excitáveis, bifásico, se for uma face excitável, é monofásico e se mais de duas faces e/ou possui órgão elétrico acessório é trifásico ou multifásico (Stoddard *et al.*, 2006). O controle neural dos apteronotídeos está descrito a seguir na página 16.

Cada espécie de Gymnotiformes tem uma DOE própria e podem ser subdivididos em dois grandes grupos, de acordo com o aspecto temporal da descarga: pulsadores (Gymnotidae, Electrophoridae, Rhamphichthyidae e Hypopomidae) e peixes onduladores (Eigenmanniidae, Sternopygidae e Apterontidae) (Bullock *et al.*, 1979; Alves-Gomes *et al.*, 1995). Peixes com descarga do tipo pulso possuem DOE de curta duração, com longo intervalo de silêncio entre duas descargas consecutivas, podem descarregar entre menos de 5 e a mais de 120 Hz, enquanto nos onduladores descarregam em uma taxa de repetição constante e estável, com regulares intervalos, descarregam entre 60 e 2100 Hz (Alves-Gomes, 1997). Pelo fato da DOE ser espécie-específica, esta pode ser utilizada como uma ferramenta útil nos estudos de sistemática, de ecologia e de neurofisiologia (Kawasaki e Heiligenberg, 1988 e 1989; Alves-Gomes, 1995; Alves-Gomes, 1997; Alves-Gomes, 1999; Moortgat *et al.*, 2000; Crampton *et al.*, 2008). Além disso, alguns destes animais encontram-se dentre as espécies de peixes ornamentais de interesse em aquarofilia, por exportadores, desportistas e aquaristas (Chao, 2001).

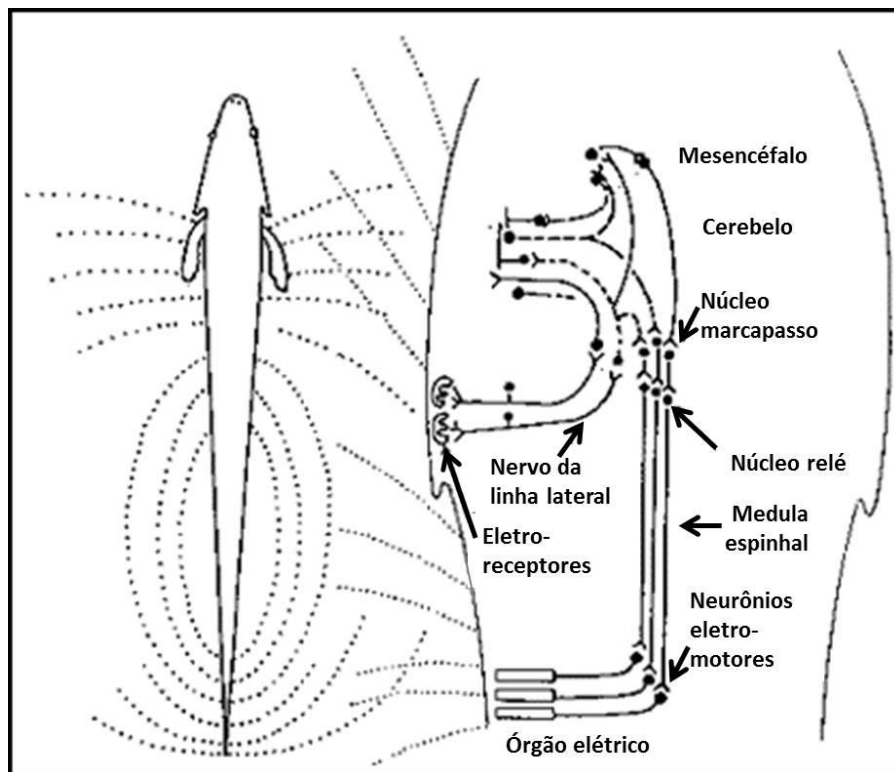


Figura 1: Anatomia do sistema de controle neural da DOE de origem miogênica. Adaptada de Bullock *et al.*, 1979.

Peixes elétricos e o biomonitoramento

A ideia de utilizar peixes elétricos como biomonitores teve início na década de 60, quando pesquisadores intrigados pela frequente mudança na taxa de repetição da DOE dos mormorídeos (peixes elétricos africanos) e então, mais tarde sugeriram o uso de *Gymnotus carapo* e *Eigenmannia sp.* (peixes elétricos sul americanos) como tema de bioensaios para drogas neurotrópicas (Krivoy *et al.*, 1962 e 1963; Holmstedt *et al.*, 1964). Na década de 80 iniciaram-se os estudos com a utilização de peixes elétricos e eletrosensitivos para detecção de substâncias químicas. Grove e Moller (1979) observaram que o padrão da DOE do peixe elétrico africano, *Brienomyrus niger*, foi afetado como o aumento da frequência (Hz) ao longo de dois dias consecutivos quando exposto ao pesticida malatião (1µg/L) e somente no terceiro dia aumentou a Hz quando exposto ao inseticida dieldrina (1µg/L). Geller (1984) estudou alterações causadas por mercúrio, cobre, cianeto e arsênio nas DOEs do peixe elétrico africano *Gnathonemus petersi*, ocorreu diminuição das taxas de repetições (Hz) em 150 minutos (2h30) quando expostos ao mercúrio (Hg) em 0,100mg/L durante 20h, cobre (Cu) em 0,500mg/L durante 4h, cianeto (CN) em 0,100mg/L durante 4h e arsenito de sódio (NaAsO₂) em 12mg/L durante 28h. Kay e Lewis (1993) utilizaram a mesma espécie citada anteriormente e verificaram aumento da sensibilidade juntamente com a diminuição das taxas de repetições (Hz) quando expostos ao cianeto (CN) a 5 e 25 µg/L, o tempo de resposta foi entre 15 a 45 minutos do início da dosagem durante 1 hora de exposição. Em Peters *et al.* (1993) testaram o comportamento de uma espécie de siluriformes eletrosensitivos (*Ictalurus nebulosus*) para quantificar o impacto causado pela poluição aquática. Lewis *et al.* (1993) utilizaram peixes elétricos do gênero *Gnathonemus* (família Mormyridae), no intuito de criarem um sistema biológico para determinar os níveis de poluição da água, porém não houve adequação de *Gnathonemus* para o propósito de biomonitoramento devido sua descarga ser muito variável mesmo em condições de água padrão.

Na utilização com Gymnotiformes, Pimentel-Souza (1988) examinou o efeito da concentração de dióxido de carbono na frequência instantânea das DOEs de *Apteronotus albifrons* e *Eigenmannia virescens* e propuseram um projeto de biomonitoramento de águas doces utilizando uma espécie pulsadora, *Gymnotus carapo*. Thomas *et al.* (1996a e 1996b) testaram a influência de cianeto de potássio (KCN) na DOE de *Apteronotus albifrons* após 2h de exposição. No primeiro trabalho testaram três concentrações: 34,6, 44,0 e 69,6 µg.L⁻¹ e no segundo testaram 0, 35, 45, 70, 125 e 180 µg.L⁻¹, considerando que 180 µg.L⁻¹ foi a

concentração letal em que os indivíduos morreram em 10 minutos de exposição e a concentração de $70 \mu\text{g/L}^{-1}$ considerada intermediária nas comparações dos resultados. Para ambos os trabalhos os resultados mostraram que esta espécie pode detectar concentrações de $35 \mu\text{g.L}^{-1}$ de KCN em menos de meia hora (27 minutos) causando diminuição da frequência instantânea e aumento da forma da onda, correspondendo aos requisitos de um indicador de poluição por KCN em estações de monitoramento de água. Para esta mesma espécie, Thomas *et al.* (1997) avaliaram o efeito de variações no pH e na condutividade sobre a taxa de repetição da DOE e observaram que esta diminuiu em condições ácidas (pH 3,6) e aumentou em condições básicas (pH 10,6), houve aumento linear significativo da taxa de repetição das DOEs nos intervalos de pH 5,5 a 7,6 e 9,2 a 10,5. Os autores não observaram efeito da condutividade sobre a taxa de repetição e forma da onda. Em 1998, esses mesmos autores testaram o efeito da temperatura em dois protocolos de variação, foi diminuída e aumentada num intervalo de 22 a 32°C. Os resultados obtidos foram que existe dependência significativa, crescente e decrescente para cada unidade em graus Celcius da temperatura da água, sobre a taxa de repetição da DOE, confirmando a necessidade de um controle da variação da temperatura para utilizar o peixe elétrico como indicador da qualidade da água. Corrêa e Hoffmann (1999) testaram a injeção intramuscular de pentobarbital de sódio (10, 20 e 30 mg/kg) e diazepam (1, 2 e 4 mg/kg) na influência de diferentes graus de vigilância, estado de alerta, “humor” e resposta de percepção em *Gymnotus carapo*. Os resultados foram que pentobarbital de sódio induziu perda parcial da postura e redução dos movimentos das nadadeiras e do batimento opercular, bem como redução da taxa de repetição na linha de base e da resposta ao estímulo elétrico de alerta, com interrupções frequentes na descarga do órgão elétrico, e diazepam com a dose mais elevada (4 mg/kg) apresentou interrupções nas descargas dos órgãos elétricos, mas nenhuma alteração na taxa de repetição, sugerindo o stress, estado depressivo ou sedativo como novidade de efeito para *G. carapo*. Thomas (2000) utilizando descargas elétricas de *Apteronotus albifrons* propôs um sistema integrado de monitoramento funcionando como dispositivo de vigilância e proteção dos recursos aquáticos atuando em casos de alarme, o Gymnotox, localizado proximidades do rio Moselle na cidade de Nancy na França. Este sistema consiste em combinar dados físico-químicos da água com informações dos monitores biológicos.

Rossoni (2005) testou *Parapteronotus hasemani* em água de formação, um produto secundário da exploração do petróleo, nas seguintes concentrações: 1:10000 (1ml:10L), 2:10000 (2ml:10L) e 4:10000 (4ml:10L). Foi observada uma resposta imediata, associada à

queda na frequência instantânea a partir do tempo inicial de exposição para as três concentrações. Porém, não se tem certeza se o efeito se deu pelo poluente ou pelo aumento de condutividade da água. Uma vez que, a amplitude do sinal diminuiu com o aumento da condutividade. Schwertner (2005) expôs a mesma espécie *Apteronotus hasemani* em diferentes concentrações de benzeno, tuoleno e xileno (BTX): 2 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, 100 mg/L e 100 mg/L + etanol (30%). Seus resultados evidenciaram uma diminuição para a maioria dos valores das frequências fundamentais dos peixes submetidos ao contaminante, nas concentrações 10 mg/L, 100 mg/L e 100 mg/L + etanol. Foi possível inferir com segurança que a espécie detectou BTX em concentrações a partir de 100 mg/L, devido à variação das frequências fundamentais nos primeiros 15 minutos de exposição e esta diminuição foi notoriamente marcante quando comparadas ao padrão normal. Ferreira (2009) estudou o efeito da gasolina comum e do óleo diesel sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE do peixe elétrico neotropical *Microsternarchus bilineatus* e constatou variações significativas na taxa de repetição em 80% dos indivíduos testados desta espécie quando expostos aos contaminantes em concentrações de 110 e 220 µl/5L, sendo que, em 85,30% dos casos, as mudanças ocorreram na primeira hora de exposição. Ferreira (2012) utilizou a mesma metodologia do experimento da Ferreira (2009), porém realizou com a concentração de 440 µl/5L da gasolina comum e do óleo diesel sobre a taxa de repetição (Hz) de *Microsternarchus bilineatus* e resultou que 100% dos peixes testados diminuíram a taxa de repetição. Apesar das baixas concentrações testadas e variações individuais, *Microsternarchus* mostrou ter um ótimo potencial para ser utilizado como organismo biomonitor em ambientes controlados, principalmente quando se utiliza como variável resposta à taxa de repetição ou frequência instantânea (Hz) desta espécie, uma vez que, esta variação foi comportamental resultando em aumento e diminuição da Hz. Porém, não foi possível afirmar se as concentrações utilizadas causaram efeito severo no metabolismo ou nas propriedades biofísicas (circuitos bioquímicos), uma vez que os peixes não foram a óbito e o objetivo era estabelecer a detecção do contaminante dentro do tempo máximo de três horas.

Biomonitoramento

Estima-se que dentro de poucas décadas a água potável torne-se um bem raro no planeta, de altíssimo valor intrínseco e que poderá ser determinante para uma nova relação econômica e geopolítica entre as nações. Neste cenário, o Brasil detém cerca de quase 30% da

água de superfície do globo e, só na Amazônia, estão aproximadamente 22% de toda água doce mundial (Clarke e King, 2005). A Amazônia, além do manancial hidrológico, ainda possui outros recursos naturais de valor incalculado, que incluem, entre outras coisas, uma megabiiodiversidade (e todas as suas aplicações, desde fármacos à engenharia genética) e reservas minerais que incluem Ferro e Cobre até elementos mais nobres como Ouro, Diamante, Nióbio e Tântalo, passando por petróleo e gás natural. Estas características conferem à região uma relevância estratégica inquestionável em nível nacional e até mundial. O aproveitamento dos recursos naturais amazônicos, sob a ótica de responsabilidade ambiental, passa a ser um grande desafio para o país, especialmente considerando-se que na região vivem cerca de 20 milhões de pessoas, incluindo mais de uma centena de povos nativos. Neste sentido, seja qual for o modelo de desenvolvimento adotado para a região, é essencial a atenção especial para a preservação dos recursos hídricos, uma vez que todos dependem da água, e as iniciativas desenvolvimentistas associadas às ações antrópicas normalmente geram produtos ambientalmente nocivos que tendem a chegar e se dispersar em ambientes aquáticos. Diante da preocupação com a poluição devido aos produtos altamente tóxicos causadores de doenças e mortes de pessoas, e com a geração de resíduos em quantidades significativamente prejudicial ao ambiente, foram que vários países deram início ao monitoramento ambiental (Zagatto, 2006).

Ao longo da história, técnicas biológicas de monitoramento da qualidade de água vêm sendo amplamente utilizadas devido à capacidade de fornecer informações sobre mudanças no ambiente e prover mensurações diretas de toxicidade. O biomonitoramento é definido pelo uso de um organismo para obter informação sobre certa característica da biosfera (Markert *et al.*, 1997). O organismo usado é denominado monitor biológico ou biomonitor. Porém, há uma considerável variação no uso dos termos bioindicador e biomonitor. Os bioindicadores referem-se a todos os organismos que fornecem as informações sobre as mudanças na qualidade ambiental (dados não paramétricos) e estas informações podem ser respostas comportamentais ou visuais que indiquem ausência ou presença, diferença ou igualdade na morfologia ou na estrutura de uma população contida em um determinado ambiente, como por exemplo: multiplicação repentina de algas (“boom”). Os biomonitores são organismos que fornecem informações sobre os parâmetros quantitativos (dados paramétricos) da qualidade do ambiente, ou seja, além da informação qualitativa fornece a quantidade e a intensidade tóxica exposta no ambiente por meio de um ser vivo. Estas informações são obtidas de processos bioquímicos ou metabólicos, de estrutura celular e de elementos ou

compostos contidos no indivíduo, como por exemplo: identificar o elemento químico com potencial tóxico presente na casca de uma árvore ou no tecido de algum animal aquático ou terrestre (Markert *et al.*, 2003), no caso dos Gymnotiformes esta informação de alteração no indivíduo pode ser obtida em tempo real.

Com muito esforço, nos últimos treze anos, o Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução – LFCE tem se mantido ativo na linha de pesquisa em biomonitoramento com peixes elétricos neotropicais e com isso tem trabalhado no desenvolvimento de um sistema de monitoramento de qualidade de água que se aproveita do oscilador biológico com o padrão comportamental mais estável que se conhece: a descarga do órgão elétrico (DOE) de alguns peixes elétricos da Amazônia (Alves-Gomes *et al.*, 2004; Schwertner *et al.*, 2005). Foram determinadas três espécies (*Microsternarchus bilineatus*, *Parapteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*) de peixes elétricos adequadas para se trabalhar em função da disponibilidade no campo, da adaptabilidade em cativeiro e do padrão de descarga (Schwertner e Alves-Gomes, 2003; Schwertner, 2005), e determinaram os padrões normais das descargas das espécies escolhidas (Schwertner, 2005; Rossoni, 2005; Ferreira, 2006; Nogueira, 2006; Ferreira, 2009; Ferreira, 2012;). Esta proposta de tese de doutorado foi realizada em conjunto com o projeto do Edital Universal do CNPq/553979/2006-0 que teve como uma de suas metas, determinar o efeito da gasolina e do óleo diesel por meio da utilização da DOE de *Parapteronotus hasemani* da família Apteronotidae, com isso propor esta espécie como biomonitora na detecção destes contaminantes derivados do petróleo e, deste modo, contribuir na construção de um sistema de biomonitoramento para ambientes aquáticos na Amazônia. Esse sistema poderá ser utilizado na avaliação da qualidade da água, identificação, prevenção e mitigação de poluição na água. Consequentemente, contribuindo para a redução dos efeitos adversos à saúde da população e ao meio ambiente. Isto se torna ainda mais relevante quando se considera o ambiente aquático na Amazônia de alta vulnerabilidade e sensibilidade ambiental.

Nesta pesquisa não foi desenvolvido o sistema autônomo de monitoramento, mas esperou-se o conhecimento suficiente para darmos o passo final para a preparação de um protótipo a ser testado em condições realísticas, no campo. Pois temos partes do sistema funcionando em laboratório, e futuramente pretendemos transferir o conhecimento adquirido para novas tecnologias de aplicação prática imediata na área de monitoramento ambiental. A criação do protótipo dará início a uma nova etapa para o desenvolvimento num possível projeto de pós-doutorado.

Ritmo circadiano

Os eventos que se repetem de maneira regular, diariamente em um organismo são definidos como ritmos biológicos. Tornam-se cíclicos e caracterizados por um ambiente do qual o animal pode se adaptar podendo ser influenciado por fatores externos de condições temporais e/ou mudanças ambientais, temperatura, riscos de predação, disponibilidade de alimentos, competição intraespecífica e efeitos da intensidade de luz. O ritmo diário influenciado pelo fotoperíodo induziu ao fenômeno denominado fotoperiodismo. O ciclo diário de luz/escuro é aplicado num período de 24 horas e evidenciou que este ritmo existe em peixes por meio da natureza endógena, resultando em um fator biológico ou relógio fisiológico conhecido como “trigger” que influencia na migração, reprodução e alimentação. Os peixes, quando submetidos ao ciclo diário de luz/escuro demonstram um padrão de atividade locomotora que os podem classificar como diurnos, noturnos e crepusculares. Este ciclo de luz/escuro tem sido considerado um dos mais importantes fatores ambientais sincronizadores do ritmo biológico, sendo o fator chave para sincronização do ritmo de atividade em peixes. O ciclo alimentar também atua como um potente sincronizador sobre o controle da atividade locomotora. Este é demonstrado por meio da atividade alimentar antecipatória como ritmo biológico, isto é, a capacidade em que os peixes conseguem prever com habilidade e antecipar um recorrente evento que é a alimentação (Schwassmann, 1971a e 1971b; Reeb, 2002; Veras *et al.*, 2013). Por outro lado, existem critérios comportamentais atribuídos para várias classes de animais, inclusive para peixes, que definem o período de inatividade do indivíduo, que são: 1) período de estado prolongado da inatividade (quando permanece maior parte do tempo imóvel); 2) típica postura de descanso, geralmente em abrigo; 3) diminuição da sensibilidade de distúrbio ou perturbação. Entretanto, este padrão diário de comportamento do indivíduo influenciado pelo ritmo biológico é chamado de ritmo circadiano (Reeb 2002; 2008-2014).

Na medida em que se propõe o uso de peixes elétricos como modelo para biomonitor da qualidade ambiental (Thomas, 2000; Rossoni, 2005; Schwertner, 2005; Ferreira, 2006; Ferreira e Alves-Gomes, 2006a e 2006b; Ferreira, 2009; Ferreira, 2012; Ferreira *et al.*, 2015) é fundamental que se caracterize a descarga padrão do órgão elétrico de *Parapteronotus hasemani* num período de 24 horas.

Gasolina e Óleo diesel

O petróleo é constituído, essencialmente, por uma mistura de milhares de compostos orgânicos do grupo dos hidrocarbonetos, isto é, de compostos formados exclusivamente pelos elementos carbono e hidrogênio, combinados quimicamente nas mais variadas percentagens (Perrone, 1965). Os produtos e derivados do petróleo incluem compostos de alto potencial tóxico pela presença de substâncias como benzeno e seus derivados, além de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. De modo geral, os hidrocarbonetos são divididos em duas famílias: alifáticos e aromáticos e a proporção de cada categoria de hidrocarboneto depende do tipo de derivado de petróleo considerado (Watts *et al.*, 2000).

Os hidrocarbonetos aromáticos se diferenciam dos alifáticos por apresentarem um ou mais anéis benzênicos como componentes estruturais, sendo classificados como monoaromáticos, diaromáticos e policíclicos aromáticos (PCAs ou PAHs, do inglês Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) (Poter e Simmons, 1998). Representando os compostos monoaromáticos citam-se o benzeno e seus derivados simples, nos quais um ou mais átomos de hidrogênio são substituídos por grupos metila ou etila. Como exemplos têm-se o tolueno (com um grupo metila) e os xilenos (com três isômeros: para-xileno, orto-xileno e meta-xileno, contendo dois grupos metila e com uma pequena quantidade de etilbenzeno). Em conjunto, os compostos da gasolina benzeno + tolueno + xileno, além do etil-benzeno são chamados de BTEX (Watts *et al.*, 2000; Portal-BR, 2006-2008), que são considerados carcinogênicos quando inalado e/ou em contato com seres humanos (CONCAWE, 1996; Costa, 2005).

Quanto às suas propriedades físico-químicas, os compostos aromáticos possuem maior mobilidade em água, em função da sua solubilidade em meio aquoso ser da ordem de três a cinco vezes maiores que os alifáticos. A mobilidade em sistemas água-solo também é maior, o que implica em uma lenta absorção no solo e, conseqüentemente, um transporte preferencial via água (CONCAWE, 1993; Watts *et al.*, 2000; Chiaranda, 2006). Em termos práticos, em caso de derrame de combustível, a fração aromática tem grandes chances de alcançar o lençol freático favorecendo a solubilização e migração de BTEX dada sua maior miscibilidade em água com a presença do álcool (Tiburtius *et al.*, 2004).

Os combustíveis automotivos derivados do petróleo utilizados foram: **(1)** a gasolina comum “tipo C” + álcool etílico anidro combustível (AEAC) e **(2)** o óleo diesel comum. O percentual de álcool na gasolina variou entre 20 e 25%, conforme o Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (ANP, 2006; MAPA nº 37, de 27 de junho de 2007), mas a Resolução vigente permitiu a adição de 27% de álcool anidro à gasolina em 2015, conforme a Portaria Nº 75, de 5 de março de 2015 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que contou a partir do dia 16 de março de 2015 (DOU, 2015).

Para a obtenção desses derivados do petróleo, ocorre um processo de refinamento que consiste numa série de tratamentos físicos e químicos que visam à separação do petróleo bruto submetido à destilação fracionada. Esta técnica, de forma sumária, consiste em aquecer o petróleo bruto e conduzi-lo à parte inferior de uma torre, denominada torre de fracionamento ou coluna de destilação (Neiva, 1993).

Gasolina: é um dos mais importantes derivados do petróleo, sendo o segundo combustível mais consumido no Brasil, perdendo somente para o óleo diesel. É, dentre os combustíveis automotivos de composição complexa, constituído por mais de 300 compostos, aquele que oferece maior risco de incêndio e explosão, uma vez que possui em sua composição alta concentração de **hidrocarbonetos aromáticos** líquidos leves e voláteis como BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno); **olefínicos:** pentanos, hexanos, pequenas quantidades de heptanos, octanos e nonanos; **alifáticos leves:** butano, pentano, metil-pentano, possuindo de 4 a 12 átomos de carbono na molécula, e também uma pequena parcela de oxigenados, compostos metálicos, de enxofre e de nitrogênio. As gasolinas automotivas possuem ponto de ebulição entre 30° a 220°C (CONCAWE, 1997; Souza, 2005; Portal-BR, 2006-2008; ANP, 2006).

Souza (2005) determinou o perfil físico-químico e cromatográfico de gasolinas automotivas comum do “tipo C” comercializadas em oito diferentes bandeiras de distribuição na cidade de Manaus. Os resultados mostram a presença de compostos leves, denominados de PIANO (Parafinas, Iso-parafinas, Aromáticos, Naftenos e Olefinas). Além destes compostos leves, a autora encontrou valores baixos no teor de oleofinas (hidrocarbonetos de dupla ligação) e de hidrocarbonetos aromáticos (BTX) na gasolina de Manaus (valores médios para benzeno: 0,50% (v/v); tolueno: 2,14% (v/v) e xileno: 3,45% (v/v)) quando comparados aos valores máximos especificados pela Agência Nacional do Petróleo (ANP), Portaria Nº 309 de dezembro de 2001 (benzeno: 1,0% (v/v); aromáticos: 45% (v/v)). Este perfil composicional revela uma forte tendência da predominância destes compostos, isto faz com que a gasolina de Manaus seja diferente das demais do Brasil devido possuir característica singular no petróleo proveniente da Bacia do Rio Urucu-AM.

Óleo Diesel: é o derivado mais consumido no Brasil, constituído basicamente por hidrocarbonetos, com baixas concentrações de compostos que contém enxofre, nitrogênio e oxigênio. É um produto inflamável, medianamente tóxico, volátil, límpido, isento de impurezas e com odor forte e característico. O óleo diesel é, na verdade, uma mistura, de várias etapas do fracionamento do petróleo, obtida nas unidades de destilação. Podem fazer parte do óleo diesel as seguintes frações: querosene, diesel leve, diesel pesado, gasóleo leve de vácuo, óleo leve de reciclo e nafta pesada. É utilizado em motores de combustão interna e ignição por compressão (motores do ciclo diesel) empregados nas mais diversas aplicações, tais como: automóveis, pequenas embarcações marítimas, navios e geradores elétricos. Sua destilação está compreendida em 245 a 310°C (Garcia, 2002).

No Brasil, os padrões de qualidade de água doce, após tratamento simplificado, destinado ao abastecimento para consumo humano, à proteção das comunidades aquáticas e à recreação de contato primário, ou seja, onde há possibilidade do banhista ingerir água é elevada (natação, esqui aquático e mergulho) apresentam os seguintes valores máximos permitidos para benzeno: 0,005mg/L; etilbenzeno: 90,0µg/L; tuoleno: 2µg/L e xileno: 300µg/L conforme a Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005.

Efeito da gasolina e do óleo diesel em organismos aquáticos

Os derivados do petróleo quando derramados comportam-se de forma muito diferenciada em função das características da área atingida. O impacto na água doce pode ser mais severo quando comparado com os ambientes de água salgada devido a pouca movimentação hidrológica nesses ambientes. Em rios e riachos de pequena vazão estes compostos tendem a permanecer no ambiente por um longo período, interagindo com gramíneas das margens ou sedimento de fundo dos rios afetando as relações tróficas dos organismos que interagem com estes microambientes (USEPA, 1999). Diante desta preocupação ambiental e poucos trabalhos realizados em ambientes de água doce foi que iniciaram pesquisas experimentais sobre impactos causados por hidrocarbonetos derivados do petróleo utilizando peixes de ecossistemas de água doce, mostrando que um derramamento de óleo diesel ou gasolina na natureza pode acarretar a curto e médio prazo, problemas ambientais.

Quando hidrocarbonetos aromáticos são incorporados pela flora e fauna, ligam-se às moléculas proteicas e ao tecido gorduroso, sendo transferidos através da cadeia alimentar sem

alterações da estrutura. Muitos seres expõem-se à contaminação por hidrocarbonetos derivados do petróleo por ingestão de cadáveres, ou de outros animais ou plantas que tenham acumulado hidrocarbonetos no seu organismo, em quantidades insuficientes para causar lesão. Além disso, causar depressão no sistema nervoso central (SNC) dos indivíduos. Isto traz sérias implicações para a pesca e a saúde pública (CONAWE, 1986; Tiburtius *et al.*, 2004).

Como a maioria das pesquisas são de ambientes marinhos, Paixão *et al.* (2007) acrescentaram que, apesar da contaminação petroquímica aguda frequentemente ser decorrente de derramamentos de óleo, a toxicidade crônica petroquímica em organismos aquáticos que habitam ecossistemas da costa marinha está associada à drenagem urbana destes contaminantes, na qual as frações solúveis de gasolina desempenham um papel importante. A microalga marinha *Tetraselmis chuii* Butcher, 1959 (Chlorophyta, Prasinophyceae) e os embriões de ostra-do-mangue *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828 (Ostroida, Ostreidae) foram expostos a diferentes formulações de frações solúveis de gasolina por 96 e 24 horas, respectivamente, a fim de verificar a toxicidade da gasolina e o potencial tóxico que causou inibição do crescimento das culturas de microalgas e anormalidades nos embriões em 50% para ambos os testes. Os resultados mostraram que a toxicidade da gasolina formulada foi menos prejudicial quando comparados com o potencial tóxico que foi mais prejudicial. Os componentes do potencial tóxico foram identificados seguidos no seguinte grau de efeito: mistura de hidrocarbonetos com 9 átomos de carbono; mistura de hidrocarbonetos com 9, 10 e 11 átomos de carbono; e nafta pesada. Além disso, conduziu para uma possibilidade de desenvolver uma gasolina reciclada ecoeficiente a fim de reduzir o perigo do descarte de combustíveis ao meio ambiente.

Pacheco e Santos (2001) ao realizarem testes toxicológicos com frações aquosas de gasolina e óleo diesel, para a enguia europeia *Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758 (Anguilliformes, Anguillidae), mostraram que nestes compostos contêm elementos genotóxicos indutores da atividade enzimática no fígado; o óleo diesel danifica o epitélio respiratório, produz alterações no hematócrito, aumenta o consumo de oxigênio e reduz as taxas de crescimento, sobrevivência e reprodução destes indivíduos.

Barbieri (2004) avaliou a toxicidade aguda da água de produção de petróleo no Estado de Sergipe no peixe *Poecilia vivipara* Bloch e Schneider, 1801 (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). As CL₅₀ foram 32,11%, após exposição de 24 horas, 24,57% em 48 horas, 22,77% em 72 horas e 19,98% em 96 horas.

Vanzella (2006) mostrou resultados da avaliação da mutagenicidade e genotoxicidade da fração solúvel do óleo diesel comercial em peixes dulciaquícolas da espécie *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 (Characiformes, Prochilodontidae), vulgarmente conhecidos como curimbas. Foi detectado dano celular, lesão no material genético e aumento de micronúcleos nos eritrócitos de peixes expostos, levando a concluir que os danos oxidativos foram causados por compostos eletrofílicos decorrentes da metabolização dos hidrocarbonetos do óleo diesel.

Sinomato (2006), Sinomato *et al.* (2006 e 2008) encontraram mudanças bioquímicas, fisiológicas e histopatológicas no peixe neotropical *Prochilodus lineatus* quando expostos ao óleo diesel em tempos mais prolongados após 15 dias de exposição utilizando 40% da fração solúvel deste contaminante. Principalmente, lesões nas brânquias e o aumento significativo na atividade de enzimas hepáticas (GST - glutathione-S-transferase) responsáveis pela excreção de compostos tóxicos, indicando a ativação das reações de biotransformação associadas ao metabolismo dos compostos presentes na fração solúvel do óleo diesel, onde a principal fonte foi o fígado.

Sinomato (2010), Sinomato *et al.* (2011 e 2013) utilizaram a espécie neotropical *Prochilodus lineatus* como biomarcadora bioquímica à exposição da fração solúvel da gasolina que causou aumento das células cloreto nas lamelas branquiais que pode ter interferido nas trocas gasosas prejudicando a respiração, aumento na concentração de Na^+ , após 24h, e na atividade enzimática da $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ (NKA) e osmolaridade, após 24h e 96h, ainda causou lesões no fígado devido a ativação de enzimas biotransformadoras de xenobióticos.

Martins (2007) em sua pesquisa utilizou efluentes coletados de postos revendedores de combustíveis automotivos, verificou a citotoxicidade ao investigar os índices de anormalidades nucleares em eritrócitos de sangue periférico de tilápia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 (Perciformes, Cichlidae) e a genotoxicidade pela indução de aberrações cromossômicas em micronúcleos de eritrócitos de sangue periférico nessa espécie foi de baixo risco. No caso dos lubrificantes, o efeito citotóxico, provavelmente, está associado à presença de hidrocarbonetos aromáticos, cuja proporção aumenta com o uso do óleo no motor.

Espécie de Estudo

Parapteronotus hasemani (Ellis 1913) (**Figura 2**) é pertencente à família Aptereronotidae e como os outros peixes deste grupo, ocorrem em abundância - números de espécies e indivíduos - nas áreas de várzea e igapó da bacia Amazônica, no canal principal dos grandes rios em profundidades chegando a mais de 40 metros, terra firme, lagos e igarapés de água branca ou preta (Crampton, 1996; Alves-Gomes, 1997; Albert e Campos-da-Paz, 1998; Cox Fernandes e Podos, 2004; Crampton, 2011) ocorrem desde o rio la Plata da Argentina (35° S) até o rio Tuira no Panamá (8° N) (Albert, 2000 e 2003; Triques, 2005), frequentemente capturados nas macrófitas aquáticas localizadas nas margens do rio principal (Crampton 1996; Petry *et al.*, 2003). Alimentam-se de larvas de insetos e pequenos peixes (Marrero e Taphorn, 1991; de Santana, 2002). Sendo pertencente à família mais especiosa, os apteronotídeos estão compreendidos em 92 espécies nominais pertencentes a 15 gêneros (Mago-Leccia, 1994; Reis *et al.*, 2003; de Santana, 2003; de Santana *et al.*, 2004; de Santana e Crampton, 2006; Maldonado-Ocampo 2011).

Na Família Aptereronotidae o componente muscular do órgão elétrico foi perdido durante a evolução, e atualmente o órgão elétrico destes peixes é composto somente pelos neurônios que inicialmente inervavam o órgão elétrico de origem muscular (Waxman *et al.*, 1972; Kirschbaum, 1989 *apud* Alves-Gomes, 1997). Na **Figura 3** mostra a anatomia e descarga do órgão elétrico de *Sternarchus* (=Apteronotus). O órgão elétrico dos apteronotídeos é composto de axônios modificados do neurônio da medula espinhal, os elétrocitos medulares descem pelo órgão elétrico aonde vão em direção anterior por vários segmentos, curvam em direção posterior até aproximadamente o nível onde entra o órgão, com aparente forma de “J” (**Figura 3 B**) (Waxman *et al.*, 1972; Stoddard, 2002). Por ter um órgão elétrico funcionando à base de sinapses elétricas e axônio mielínico, que além das bainhas de mielina servirem de isolante térmico e proteção para o axônio, ainda aumentam a velocidade de condução do estímulo elétrico que passa dentro dos neurônios. Entre as bainhas de mielina possuem interrupções denominadas nódulos de Ranvier, que promovem pulsos saltatórios, aumentando ainda mais a velocidade de condução do estímulo elétrico no axônio. Por este fato que, a taxa de repetição das descargas dos apteronotídeos é consideravelmente maior, mais constante e estável do que em outras espécies do tipo pulso, que possuem órgão elétrico miogênico, esta pode variar entre 600 e mais de 1.800 Hz por segundo (Bullock *et al.*, 1979; Alves-Gomes, 1997) e coeficiente de variação (CV= 1×10^{-4} seg. e 2×10^{-4} seg.) (Moortgat *et al.*, 2000).

Todos apresentam descarga do tipo onda quando adultos (Kirschbaum, 1983) e no período de reprodução os machos maduros (superior a 250 mm de comprimento total) apresentam como dimorfismo sexual, focinho alongado e inclinado para cima, desde então se tornou próxima, paralela ao gênero *Apteronotus* recebendo o prefixo “*Para*” originado do grego (Albert, 2000). Também são os únicos entre os Gymnotiformes que apresentam nadadeira caudal, muito reduzida (Alves-Gomes, 1997) e um filamento dorsal que se encaixa numa ranhura mediana-dorsal do corpo, especializado para eletrorrecepção, modificado da nadadeira adiposa encontrada em peixes do grupo dos Siluriformes e Caraciformes. Possui cor uniforme marrom composta de manchas densas de cromatóforos escuros, apresenta um escurecimento muito suave, principalmente na região posterior da nadadeira anal (Triques, 2005; Franchina e Hopkins, 1996).



Figura 2: *Parapteronotus hasemani*. Comprimento total: 210 mm.

Foto: Arquivo pessoal, 2014.

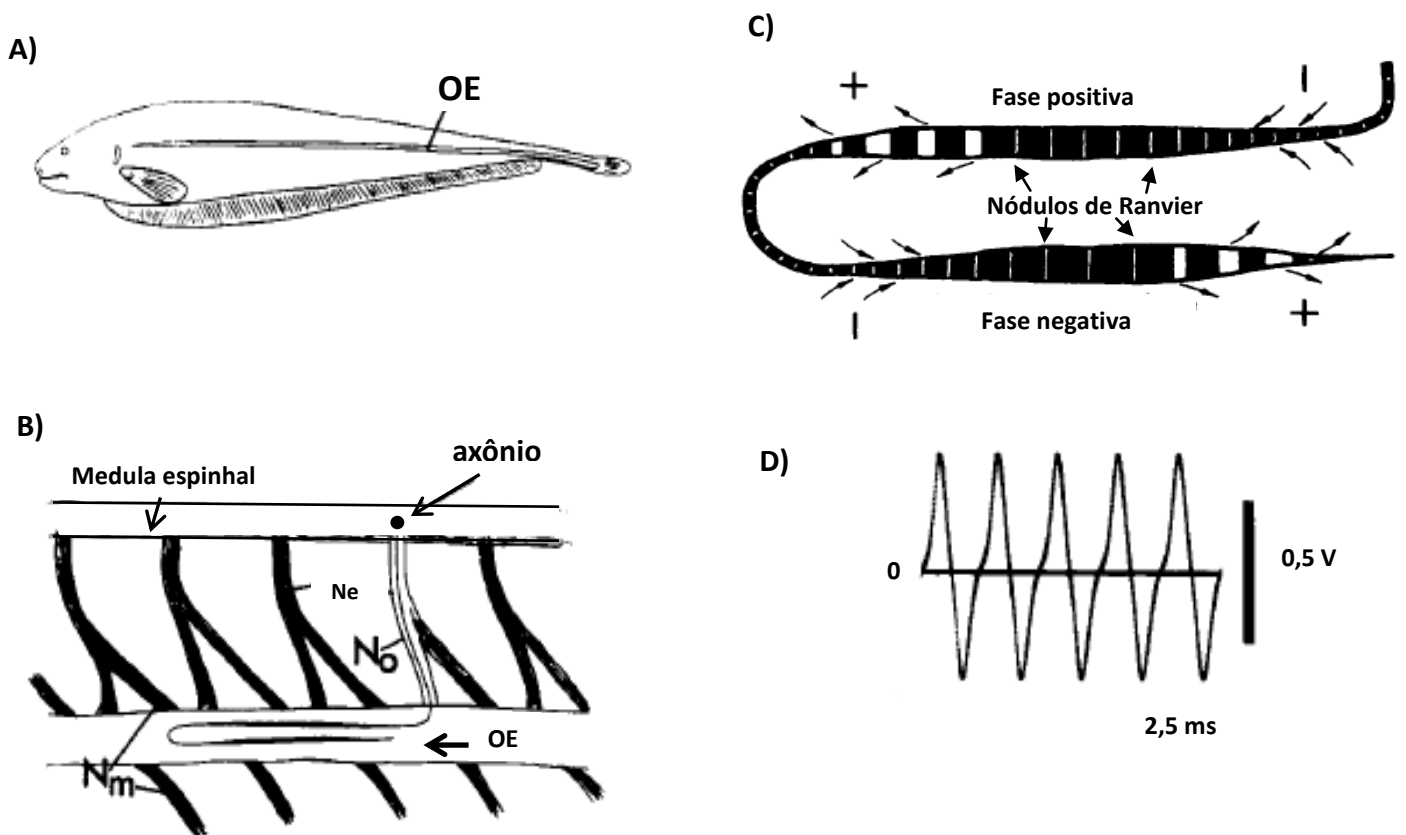


Figura 3: Anatomia e descarga do órgão elétrico de *Sternarchus* (= *Apteronotus*, Apteronotidae). A) Posição do órgão elétrico (OE). B) Diagrama da medula espinhal. A ramificação ventral mostra o segmento do nervo espinhal (Ne), dentro deste passa o nervo do órgão (No) e entra no nervo motor (Nm). Na figura mostra um único eletrócito na medula espinhal e o axônio do órgão elétrico. C) Eletócito e Nódulos de Ranvier. D) Forma spectral da descarga do órgão elétrico, bifásica e do tipo onda, sem intervalo de silêncio entre uma descarga e outra. Adaptado de Waxman *et al.*, 1972.

OBJETIVOS

Geral

- Avaliar o efeito da gasolina e do óleo diesel sobre as descargas dos órgãos elétricos (DOEs) de *Parapteronotus hasemani*.

Específicos

- Determinar o ritmo circadiano sobre os parâmetros (taxa de repetição, coeficiente de variação, relação pico a pico dos sinais, cada área e da relação entre as áreas do sinal) das DOEs no período de 24 horas de *Parapteronotus hasemani*;
- Identificar variações significativas sobre os parâmetros das DOEs (taxa de repetição, coeficiente de variação, relação pico a pico dos sinais, cada área e da relação entre as áreas do sinal) de *Parapteronotus hasemani* quando expostas aos contaminantes testados, gasolina e óleo diesel nas concentrações 110, 220 e 440 µl/5L;
- Estabelecer a concentração mínima detectável em três horas no tempo de quatro horas de exposição aos contaminantes testados.

HIPÓTESES

Ritmo circadiano

H_0 = Não existe diferença no padrão das descargas entre o período noturno e o período diurno;

H_1 = Existe diferença no padrão das descargas entre o período noturno e o período diurno.

Gasolina e óleo diesel 110, 220 e 440 µl/5L

H_0 = As concentrações dos contaminantes não alteraram o padrão das descargas dos indivíduos em exposição máxima de quatro horas;

H_1 = As concentrações dos contaminantes alteraram o padrão das descargas dos indivíduos em exposição máxima de quatro horas.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da área de estudo

Os espécimes de *Parapteronotus hasemani* (Ellis, 1913) utilizados no experimento do **ritmo circadiano** foram coletados na costa do lago do Catalão (3°10'19,40"S e 59°54'5,40"O; 3°11'33,60"S e 59°54'28,30"O; 3°12'13,70"S e 59°55'13,60"O; 3°12'23,00"S e 59°55'28,80"O) e ilha Marchantaria (3°13'53,10"S e 59°53'55,40"O; 3°12'50,60"S e 59°53'41,20"O) no dia 24/01/2013, e na costa do Curari no dia 18/04/2013 (3°15'51,90"S e 59°53'58,90"O; 3°15'24,20"S e 59°53'50,30"O; 3°14'29,10"S e 59°53'36,80"O). Nos experimentos com a **gasolina 110** µl/5L os espécimes foram coletados na ilha Marchantaria nos dias 24 e 26/09/2013 (3°15'44,40"S e 59°57'10,80"O; 3°12'44,00"S e 59°53'40,20"O); **gasolina 220** µl/5L foram nos dias 24 e 26/09/2013 (3°12'41,70"S e 59°53'51,30"O; 3°16'48,30"S e 59°55'27,80"O) e dia 02/04/2014 (3°15'51,44"S e 59°54'52,74"O) na ilha Marchantaria. Na costa do lago do Catalão nos dias 25/09/2013 (3°8'31,40"S e 59°54'15,00"O) e 02/04/2014 (3°14'11,11"S e 59°54'12,60"O; 3°14'41,53"S e 59°54'46,51"O); **gasolina 440** µl/5L nos dias 08/06/2011 (3°10'51,20"S e 59°54'19,80"O), 08/09/2011 (3°10'50,90"S e 59°54'14,50"O) e 25/09/2013 (3°8'31,40"S e 59°54'15,00"O) na costa do lago do Catalão, e dia 24/09/2013 (3°13'59,80"S e 59°54'0,10"O; 3°14'9,10"S e 59°54'8,90"O) na ilha Marchantaria. Nos experimentos com o **óleo diesel 110** µl/5L os espécimes foram coletados no lago do Catalão nos dias 27/02/2015 (3°10'42,30"S e 59°55'53,00"O; 3°10'54,30"S e 59°56'1,30"O; 3°10'57,50"S e 59°56'0,70"O) e 27/03/2015 (3°9'7,50"S e 59°55'8,80"O); **óleo diesel 220** µl/5L foram nos dias 21/10/2014 (3°12'21,70"S e 59°55'36,20"O) e 18/11/2014 (3°9'50,00"S e 59°55'1,30"O; 3°9'45,40"S e 59°55'2,00"O) no lago do Catalão; **óleo diesel 440** µl/5L nos dias 26/08/2014 (3°11'23,64"S e 59°54'22,46"O; 3°12'18,72"S e 59°55'28,24"O; 3°13'31,69"S e 59°58'38,60"O) e 21/10/2014 (3°12'21,70"S e 59°55'36,20"O) na costa do lago do Catalão, próximos à cidade de Manaus (3°5'42,70"S e 59°57'31,70"O) (**Figura 4**).



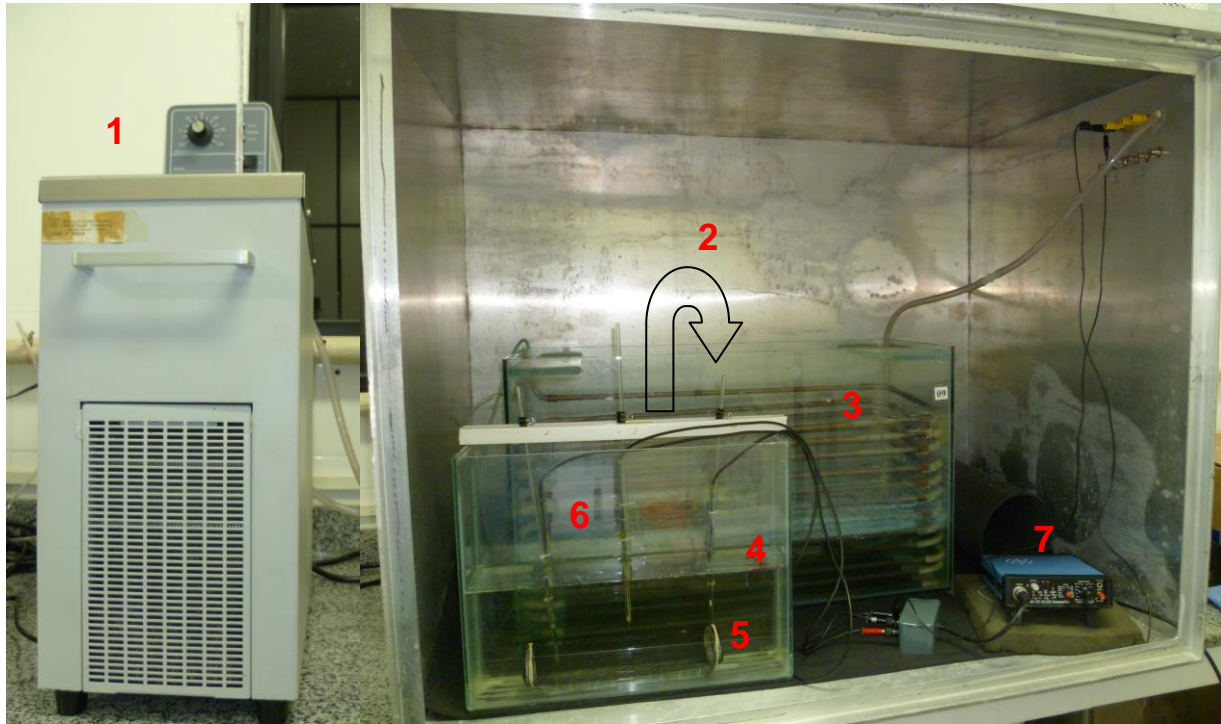
Figura 4: Principais pontos de coleta dos espécimes de *Parapteronotus hasemani*: lago do Catalão, costa do lago do Catalão (ex.: n^{os} 4, 5, 6, 25 e 26), ilha Marchantaria (n^o 16), costa da Comunidade do Curari (n^o 11), tendo como referência a cidade de Manaus no topo da figura. Fonte: Imagem do Google Earth, 2016.

Coleta de dados

Para a localização dos espécimes no campo foi utilizado um “detector de peixe elétrico” que consiste em eletrodos metálicos que são inseridos na água conectados a um amplificador. Desta forma a DOE é convertida em som, sendo possível identificar a localização precisa dos peixes e as diferentes espécies. Foram capturados com rede de cerco (0,5 mm entre nós) em habitats marginais de água branca nas macrófitas aquáticas. Foram utilizadas espécimes de focinho curto, porque representam indivíduos sexualmente imaturos (Cox Fernandes *et al.*, 2002; Hilton e Cox Fernandes, 2006) e de tamanhos dentre 170 a 220 mm de comprimento total.

Após a captura, os espécimes foram acondicionados em sacos plásticos com água dos locais de coleta e transportados para o Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução – LFCE no INPA, onde foram aclimatados e mantidos individualmente em aquários de 40 litros com filtro biológico e com água do local de coleta para manter os valores da condutividade elétrica e do pH próximos ao da água em que foram coletados. A reposição da água para manutenção dos aquários foi captada do poço artesiano do INPA e mantida em tanques de 2.000 litros com aeração constante e um filtro biológico ativo. Nestes tanques os parâmetros físico-químicos da água se mantiveram estabilizados por pelo menos uma semana, antes desta água ser utilizada na manutenção dos aquários onde os peixes foram mantidos para posterior gravação das descargas. Os indivíduos foram diariamente alimentados com larva de mosquito e ou artêmia salina adulta.

Dentro de um aquário experimental com capacidade de 5 litros, os peixes foram confinados em abrigos vazados de tamanho apropriado ao tamanho do corpo do espécime para minimizar movimentos. As DOEs foram captadas por meio de três eletrodos de ouro colocados no aquário experimental, sendo que o eletrodo positivo foi colocado próximo à cabeça, o negativo próximo à cauda e o neutro na posição mediana. O eletrodo neutro serviu como um referencial; o ruído é eliminado pela diferença da tensão de entrada + e -. O aquário experimental foi colocado dentro de outro aquário maior, que serviu de banho-maria, conectado a um termocirculador para manter a temperatura da água constante durante todo o experimento, estes estavam dentro de uma caixa de Faraday de alumínio, que teve a função de minimizar a influência de ruídos eletromagnéticos externos (**Figuras 5 e 6**). A temperatura foi mantida constante, para que não tivesse influenciado na variação das DOEs dos espécimes (Pimentel-Souza *et al.*, 1976; Enger e Szabo, 1968; Pimentel-Souza e Fernandes-Souza, 1985; Thomas *et al.*, 1998; Dunlap *et al.*, 2000; Ardanaz *et al.*, 2001; Ferreira, 2006; Ferreira e Alves-Gomes, 2006a e 2006b).



Figuras 5 e 6: (1) Termocirculador; (2) caixa de Faraday aberta; (3) aquário banho-maria; (4) aquário experimental com 5L de água, que será colocado dentro do aquário banho-maria; (5) abrigo vazado; (6) três eletrodos de ouro; (7) bioamplificador diferencial AC/DC[®]; (8) caixa de Faraday fechada durante os experimentos para as gravações das DOEs.

Gravação das DOEs

O sinal bioelétrico captado por meio dos eletrodos foi amplificado usando-se um bioamplificador diferencial AC/DC (BMA-200[®], CWE Inc., Ardmore PA, USA) com capacidade de ganho variável de 12 níveis de 10x até 150.000x, monitorado e visualizado por meio de um osciloscópio digital em tempo-real (Tektronix TDS 2024[®], Tektronix Inc., Beaverton, USA). A taxa de repetição foi calculada como o inverso do período (1/T, onde T é o tempo entre dois picos consecutivos) e, este mesmo sinal foi digitalizado com auxílio de um módulo multifuncional USB, para aquisição de dados, o conversor analógico/digital (Data Translation 9804[®], Data Translation Inc., Marlboro, USA) com capacidade para 16 bits e de taxa de amostragem de 100 kHz, o que equivale a 100.000 pontos por segundo, gravado e registrado com o software MATLAB 7.6[®] (**Figuras 5 e 6**), a cada dois minutos de amostras de 15 em 15 minutos, durante 24h para os experimentos com o ritmo circadiano e durante nove horas para os experimentos com a gasolina e o óleo diesel.

No final de cada experimento os peixes foram e preservados álcool 70% para deposição de testemunho na Coleção de Peixes do INPA. Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (CEUA) do INPA, protocolo n. 003/2012.

Parâmetros físico-químicos da água, biometria dos espécimes e protocolo de gravação das DOEs do ritmo circadiano

Nos experimentos foram utilizados 10 espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 17,30 cm \pm 4,32 e peso total de 11,25 g \pm 14,00. As gravações das descargas do ciclo circadiano foram realizadas por 12h com luz e 12 horas em escuridão. O período da noite foi determinado com o início da 1^a hora às 19 h até 12^a às 6 h da manhã e o período do dia a partir da 13^a h às 7 h da manhã até a 24^a h às 18 h da tarde. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25 °C \pm 0,0471; 25,25 °C \pm 0,424, condutividade elétrica (109,5 μ S/cm \pm 69,46; 114,5 μ S/cm \pm 69,33), total de sólidos dissolvidos (0,041 g/L \pm 0,017; 0,044 g/L \pm 0,020), oxigênio dissolvido (7,74 mg/L \pm 0,53; 8,69 mg/L \pm 0,87), oxigênio dissolvido (98,62% \pm 9,11; 104,76% \pm 10,14) e pH (6,07 \pm 0,72; 6,77 \pm 0,15). As descargas

foram gravadas individualmente em aquários experimentais contendo 05 litros de água durante 24 horas.

Parâmetros físico-químicos da água e biometria dos espécimes nas gravações das DOEs com gasolina e óleo diesel

Para os experimentos com a gasolina **110** µl/5L foram utilizados oito (n= 8) espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 16,46 cm \pm 1,00 e peso total de 9,88 g \pm 2,06. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25 °C \pm 0,00; 25 °C \pm 0,00, condutividade elétrica (405,12 µS/cm \pm 58,24; 408,75 µS/cm \pm 56,95), total de sólidos dissolvidos (0,255 g/L \pm 0,036; 0,263g/L \pm 0,036), oxigênio dissolvido (8,38 mg/L \pm 0,30; 8,55 mg/L \pm 0,39), oxigênio dissolvido (104,71% \pm 3,62; 104,25% \pm 4,79) e pH (7,19 \pm 0,24; 7,57 \pm 0,32). Para a gasolina **220** µl/5L foram utilizados nove (n= 9) espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 17,92 cm \pm 1,62 e peso total de 17,89 g \pm 5,96. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25 °C \pm 0,00; 25 °C \pm 0,00, condutividade elétrica (942,33 µS/cm \pm 36,36; 911,66 µS/cm \pm 35,35), total de sólidos dissolvidos (0,581 g/L \pm 0,225; 0,583 g/L \pm 0,227), oxigênio dissolvido (8,53 mg/L \pm 0,60; 7,87 mg/L \pm 0,53), oxigênio dissolvido (108,27% \pm 7,82; 96,36% \pm 6,37) e pH (6,87 \pm 0,20; 7,10 \pm 0,32). Para a gasolina **440** µl/5L foram utilizados dez (n= 10) espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 17,45 cm \pm 1,91 e peso total de 18,69 g \pm 6,96. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25,1 °C \pm 0,31; 25,1 °C \pm 0,31, condutividade elétrica (917,61 µS/cm \pm 88,19; 885,40 µS/cm \pm 84,84), total de sólidos dissolvidos (0,565 g/L \pm 0,543; 0,569 g/L \pm 0,546), oxigênio dissolvido (7,26 mg/L \pm 1,06; 7,43 mg/L \pm 1,52), oxigênio dissolvido (92,69% \pm 14,13; 91,48% \pm 18,41) e pH (6,57 \pm 0,51; 6,71 \pm 0,65).

Para os experimentos com o óleo diesel **110** µl/5L foram utilizados cinco (n= 5) espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 20,60 cm \pm 12,28 e peso total de 23,79 g \pm 5,87. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25,1 °C \pm 0,22; 25 °C \pm 0,00, condutividade elétrica (113,20 µS/cm \pm 47,66; 128,40 µS/cm \pm 44,04), total de sólidos dissolvidos (0,072 g/L \pm 0,030; 0,083g/L \pm 0,029), oxigênio dissolvido (7,47 mg/L \pm 0,25; 7,54 mg/L \pm 0,52), oxigênio dissolvido (91,32% \pm 2,86; 90,98% \pm 6,20) e pH (7,48 \pm 0,28; 7,44 \pm 0,26). Para o óleo diesel **220** µl/5L foram utilizados nove (n= 9) espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 17,82 cm \pm 2,82 e peso total de 17,74 g \pm 8,75. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25 °C \pm 0,00; 25 °C \pm 0,00, condutividade elétrica (183,00 µS/cm \pm 12,61; 189,33 µS/cm \pm 7,56), total de sólidos dissolvidos (0,117 g/L \pm 0,0085; 0,122 g/L \pm 0,0052), oxigênio dissolvido (8,26 mg/L \pm 0,25; 8,09 mg/L \pm 0,43), oxigênio dissolvido (101,20% \pm 3,23; 98,11% \pm 4,88) e pH (6,99 \pm 0,10; 6,99 \pm 0,11). Para o óleo diesel **440** µl/5L foram utilizados oito (n= 8) espécimes de *Parapteronotus hasemani*, medindo em comprimento padrão o valor médio \pm desvio padrão de 17,31 cm \pm 12,17 e peso total de 19,31 g \pm 7,28. Os parâmetros físico-químicos da água obtidos no início e no final dos experimentos apresentaram os seguintes valores médios \pm desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), respectivamente: temperatura (25,25 °C \pm 0,70; 25,56 °C \pm 0,72, condutividade elétrica (136,50 µS/cm \pm 24,70; 146,37 µS/cm \pm 23,17), total de sólidos dissolvidos (0,086 g/L \pm 0,016; 0,092 g/L \pm 0,015), oxigênio dissolvido (7,90 mg/L \pm 0,49; 8,03 mg/L \pm 0,44), oxigênio dissolvido (98,70% \pm 6,96; 99,72% \pm 5,61) e pH (7,09 \pm 0,24; 7,06 \pm 0,16).

Protocolo de gravação das DOEs com gasolina e óleo diesel

Os experimentos tiveram três fases: a 1ª fase os peixes foram aclimatados por duas horas (H₀_07h, H₁_08h e H₂_09h), sendo a partir de H₁_08h e H₂_09h iniciaram as gravações das DOEs, a 2ª fase sem contaminante, chamada de pré-contaminação teve duração de uma hora (Pré_10h e Pré_11h) e a 3ª fase, pós-contaminação, ocorreu a adição do contaminante na primeira hora do tratamento no T1_12h e esta fase teve duração de quatro horas, finalizando no T5_16h. Todas as gravações foram de dois minutos a cada 15 minutos, totalizando 36 gravações a contar do N₁ ao N₉ (**Quadro 1**).

Os combustíveis foram adquiridos do posto de gasolina, localizado próximo ao Complexo Viário Gilberto Mestrinho e do INPA na Bola do Coroadó, Manaus, Amazonas. A concentração tolerante de gasolina para peixes é de 90 ppm, ou seja, 90 ml/L em águas continentais (www.cetesb.sp.gov.br). A concentração de óleo diesel foi colocada à mesma quantidade utilizada para a gasolina. Testou-se o efeito das concentrações correspondentes a 100, 50 e 25% destes valores. Para os aquários de 5 litros, as quantidades de poluentes (gasolina e óleo diesel) usadas foram de $0,25 \times 90 \times 5L = 112,5$; $0,50 \times 90 \times 5L = 225$ e $1,0 \times 90 \times 5L = 450$. Foram utilizados 110, 220 e 440 µl/5L. Os testes iniciaram com 100% da quantidade tolerante (2 x 220 µl) e caso os indivíduos detectassem estas concentrações em menos de 2 horas, um novo experimento foi feito em 50% e com a quantidade menor de 25% dessa concentração, até que fosse detectada a concentração mínima do contaminante em três horas dentro do tempo máximo de quatro horas de exposição. As três concentrações utilizadas 110, 220 e 440 µl/5L de gasolina e óleo diesel foram pipetadas diretamente na água do aquário experimental contendo 5 litros de água, onde os indivíduos foram acondicionados individualmente para cada teste da concentração do contaminante com a temperatura mantida constante em 25 °C durante todo o experimento. Foi utilizado o mesmo delineamento experimental de Ferreira (2009 e 2012).

Quadro 1: Protocolo experimental mostra as fases do experimento, os horários e o número total de gravações. As DOEs foram gravadas durante 2 minutos no software MATLAB 7.6[®]. **H₀** = período de aclimação sem gravação das descargas (N=0); **H₁** e **H₂**= período de aclimação com gravação das descargas (N₁ e N₂); **N₃** e **N₄**= número de gravações na pré-contaminação e **N₅** ao **N₉**= número de gravações na pós-contaminação.

Fases experimentais	Tempo de exposição dos indivíduos	Início e Intervalo entre gravações das DOEs	Número de gravações das DOEs
1ª fase: Aclimação	H ₀ _07h	07h00	N = 0
	H ₁ _08h	08h00 08h15 08h30 08h45	N ₁ = 4
	H ₂ _09h	09h00 09h15 09h30 09h45	N ₂ = 4
2ª fase: Pré-contaminação (sem contaminante)	Pré_10h	10h00 10h15 10h30 10h45	N ₃ = 4
	Pré_11h	11h00 11h15 11h30 11h45	N ₄ = 4
3ª fase: Adição do contaminante	T1_12h	12h00 12h15 12h30 12h45	N ₅ = 4
3ª fase: Pós-contaminação (Monitoramento do efeito dos contaminantes nas DOEs)	T2_13h	13h00 13h15 13h30 13h45	N ₆ = 4
	T3_14h	14h00 14h15 14h30 14h45	N ₇ = 4
	T4_15h	15h00 15h15 15h30 15h45	N ₈ = 4
	T5_16h	16h00 16h15 16h30 16h45	N ₉ = 4
Total de gravações			36

Análise dos dados

Tanto para o ciclo circadiano, quanto para as exposições aos contaminantes gasolina e óleo diesel foram utilizados os seguintes parâmetros para análises das descargas elétricas do órgão elétrico: (1) as taxas de repetição (Hz), conhecidas como frequências instantâneas, e seus respectivos coeficientes de variação (CV) (2); (3) a relação entre o pico negativo e o pico positivo do sinal elétrico (PPrel), com finalidade de detectar diferenças na amplitude do sinal, (4) as quatro áreas individualmente (A1, A2, A3 e A4%) e (5) a relação entre a área 1 com a área 3 (A1/A3), a área 2 com a área 4 (A2/A4), a área 2 com a área 1 (A2/A1) e a área 3 com a área 4 (A3/A4), a fim de verificar se houve distorção das áreas e nas relações entre as áreas do sinal elétrico, que para esta espécie foram determinadas quatro áreas da DOE (**Figura 8**). O software utilizado foi o STATISTICA 7.0 da StatSoft® e o grau de significância atribuído foi de 5% ($p \leq 0,05$) de probabilidade (Zar, 1999). Cada indivíduo representou a unidade experimental, sendo este à sua própria réplica.

Os valores absolutos das médias \pm desvio padrão (DP) dos parâmetros da DOE (Hz, CV, PPrel, A1, A2, A3, A4, A1/A3, A2/A4, A2/A1 e A3/A4) do controle, gasolina e óleo diesel 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ de cada fase experimental: aclimatação, pré e pós-contaminação estão descritos nas **Tabelas 67 e 68** no ANEXO. Na **Figura 7** mostra um exemplo da representação gráfica da origem dos cálculos da taxa de repetição (Hz) e da relação do pico positivo com o pico negativo do sinal elétrico (amplitude= $\text{mV}/\text{mV} = 1$) e na **Figura 8** mostra a representação gráfica das quatro áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4).

Nas análises do ritmo circadiano, para cada grupo de quatro gravações realizadas a cada 15 minutos dentro de cada hora, foram obtidos as médias absolutas e os desvios padrões ($\bar{X} \pm \text{DP}$) durante o período de 24 horas e posteriormente normalizados. Foi criado um índice de normalização (IN), onde a variável de cada hora foi subtraída pela média total de 24 horas de cada indivíduo e dividido pela mesma média total de 24 horas de cada indivíduo, representado na seguinte fórmula:

$$\text{IN} = \frac{\text{Variável de cada hora} - \text{Média total de 24 horas}}{\text{Média total de 24 horas}}$$

A análise estatística foi realizada por meio do teste t-Student (pareados) para verificar as diferenças entre os dois grupos dependentes, o período do dia e da noite. Posteriormente, foram analisados os desvios padrões (DP), a fim de ter verificado se houve diferenças nas

variações entre o período noturno e diurno. O período que tivesse apresentado maior variação que o outro seria denominado de padrão irregular noturno ou diurno e, desta maneira concluir qual período que o parâmetro foi mais regular ou estável.

Para determinação do grupo controle utilizado na comparação com as concentrações 110, 220 e 440 µl/5L foi retirada a “janela” das 10 às 16 horas do ritmo circadiano de cada parâmetro analisado, representando os mesmos horários das gravações com os contaminantes. Nas análises do grupo controle e das exposições aos contaminantes gasolina e óleo diesel, para cada grupo de quatro gravações realizadas a cada 15 minutos dentro de cada hora, foram obtidos as médias absolutas e os desvios padrões ($\bar{X} \pm DP$), durante o período de 6 horas (das 10 às 16h) e posteriormente padronizados. Foi criado um índice de padronização (IP), onde a variável de cada hora foi subtraída pela média da pré-contaminação de cada indivíduo, determinada pelo tempo das horas dos Pré_10 e Pré_11h e dividido pela mesma média do tempo das horas da pré-contaminação (10 e 11h) para cada indivíduo, representado na seguinte fórmula:

$$IP = \frac{\text{Variável de cada hora} - \text{Média do Pré}_{10h} \text{ e Pré}_{11h}}{\text{Média do Pré}_{10h} \text{ e Pré}_{11h}}$$

Ressaltando que, para as análises da relação das áreas (A1/A3, A2/A4, A2/A1 e A3/A4) não foi realizada normalização e padronização, apenas foram divididos os valores absolutos um pelo outro, tornando-se pelo menos uma das áreas o denominador da fração. Antes das análises estatísticas foi realizado o teste de homogeneidade por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e para avaliar estatisticamente o efeito das concentrações dos contaminantes sobre os parâmetros da DOE, foi realizada a análise de variância de medidas repetidas no tempo (ANOVA MR), a fim de comparar diferenças entre os quatro grupos pareados (controle, 110, 220 e 440 µl/5L) em função do tempo. Para os resultados significativos da ANOVA MR ($p \leq 0,05$) foi realizado o pós-teste de Bonferroni de comparações entre os grupos, e pelo fato deste teste ser muito conservador, caso não ocorresse resultados significativos, foi realizado o pós-teste da mínima diferença significativa de Fisher, conhecido como Fisher's Least Significant Difference (LSD) para comparar as diferenças intergrupos ao longo do tempo (Tempo*Grupo). O teste LSD calcula o desvio padrão combinado de todos os grupos, aumentando assim o seu poder (Zar, 1999).

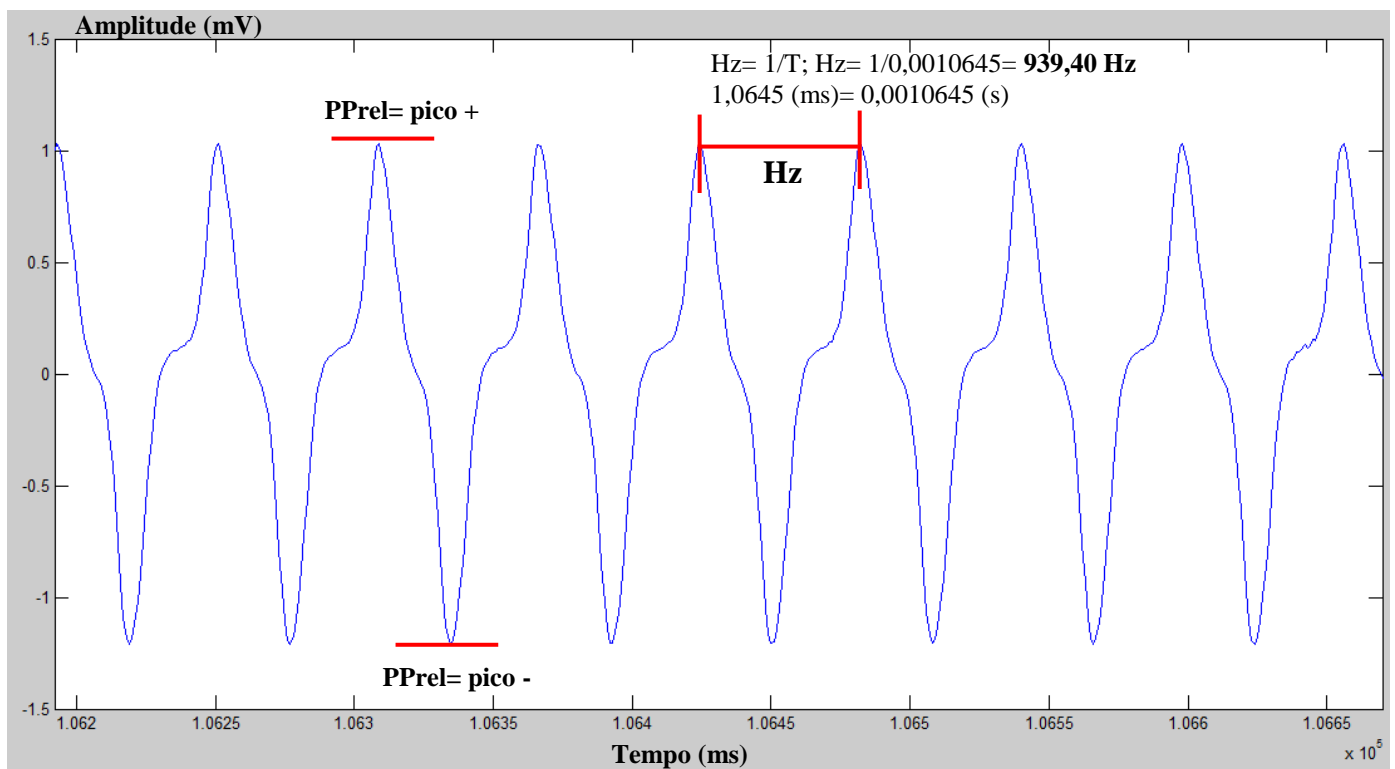


Figura 7: Representação gráfica da origem dos cálculos da taxa de repetição (Hz) e da relação do pico positivo com o pico negativo do sinal elétrico (amplitude= mV/mV= 1) de *Parapteronotus hasemani*. A figura mostra um exemplo de como é feito o cálculo da Hz. $Hz = 1/T$, onde T= período (tempo).

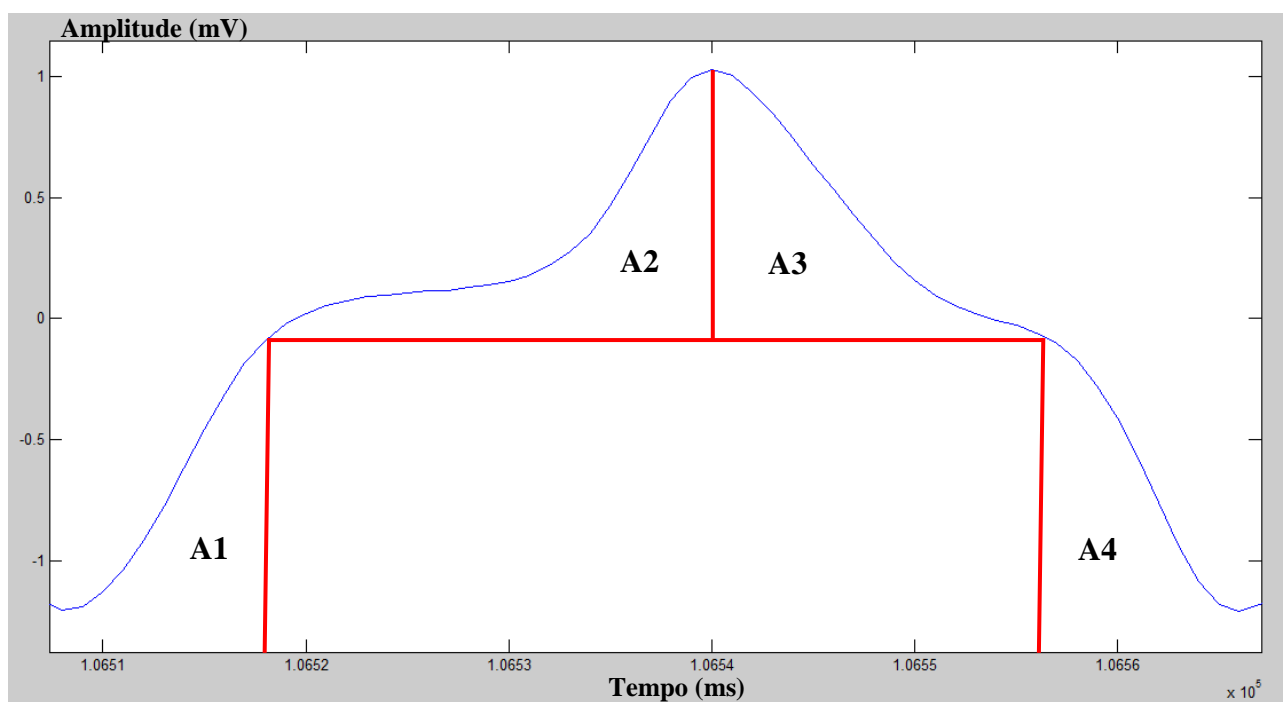


Figura 8: Representação gráfica das áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) de *Parapteronotus hasemani*. A área vazia no centro do retângulo do sinal elétrico não entrou nos cálculos.

RESULTADOS

Ritmo circadiano de *Parapteronotus hasemani*

Taxa de Repetição (Hz) da DOE

De acordo com as análises do teste t-Student, para grupos pareados, a análise de variância foi heterogênea ($p= 0,014487$ e $F= 1,570018$) e houve diferenças significativas entre as taxas de repetição (Hz) quando comparadas com o período da noite (12h) e período do dia (12h), conforme o resultado na **Tabela 1**, onde: a média normalizada \pm desvio padrão do grupo da noite= $0,014572 \pm 0,017772$, média normalizada \pm desvio padrão do grupo do dia= $0,014572 \pm 0,022269$, valor de $t= 11,20569$, grau de liberdade= 238 e $p= 0,00000$. Observou-se que os menores valores das taxas de repetição (Hz) foram no período do dia, porém irregulares e os maiores valores foram no período da noite, porém constantes. Isto se deve ao fato de que o desvio padrão (DP) foi maior durante o dia quando comparado com o período noturno e com isso, foi determinado padrão irregular diurno para este parâmetro. As taxas de repetição das descargas variaram de $794,08 \text{ Hz} \pm 55,64$ a $771,57 \text{ Hz} \pm 59,72$ (média absoluta \pm desvio padrão) no período de 12h para a noite e 12h para o dia, respectivamente e, para 24 horas a média global absoluta \pm desvio padrão= $782,83 \text{ Hz} \pm 58,70$ (**Tabela 2**).

Durante o período de 24 horas *Parapteronotus hasemani* variou a sua taxa de repetição (**Figura 9**). O intervalo da 1^a à 12^a hora refere-se das 19 às 6 horas para o período da noite e a partir da 13^a às 24^a hora das 7 às 18 horas referem-se ao período do dia. Notou-se que as maiores taxas de repetição das descargas ocorreram durante a noite e as menores taxas no período do dia. Esta aceleração das taxas de repetição das descargas ocorreu pelo fato do aumento do metabolismo dos indivíduos possuírem atividade noturna, principalmente à procura de alimento. A partir das 21h (3^a hora) até 5h da madrugada (11^a hora) houve uma estabilidade das taxas em valor absoluto médio \pm desvio padrão ($794,85 \text{ Hz} \pm 58,08$), seguindo uma diminuição a partir da 12^a hora às 6h ($791,43 \text{ Hz} \pm 60,29$). As menores taxas foram das 10 às 18 horas entre a 16^a até 24^a hora ($766,53 \text{ Hz} \pm 61,98$).

Tabela 1: Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a taxa de repetição (Hz) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes.

Taxa de repetição	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t- Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Hz	0,014572 \pm 0,017772	-0,014572 \pm 0,022269	11,20569	238	0,00000*

Tabela 2: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais da taxa de repetição (Hz) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos.

N	Circadiano (24h) Média \pm DP	Noite (19 às 6h) Média \pm DP	Dia (7 às 18h) Média \pm DP
1	783,60 \pm 08,41	787,63 \pm 06,49	779,58 \pm 08,40
2	804,19 \pm 29,63	830,09 \pm 17,08	778,28 \pm 08,96
3	741,81 \pm 06,78	743,81 \pm 09,27	739,81 \pm 01,28
4	794,66 \pm 17,60	802,85 \pm 19,29	786,47 \pm 11,38
5	927,34 \pm 10,29	930,92 \pm 11,71	923,77 \pm 07,50
6	740,69 \pm 11,79	748,43 \pm 04,99	732,96 \pm 11,65
7	745,53 \pm 24,96	768,10 \pm 04,29	722,97 \pm 13,18
8	770,81 \pm 15,71	781,41 \pm 06,42	760,21 \pm 15,15
9	798,96 \pm 30,93	812,08 \pm 19,97	785,83 \pm 35,00
10	720,63 \pm 22,26	735,49 \pm 08,85	705,77 \pm 21,83
Média \pm DP Global (Hz)	782,83 \pm 58,70	794,08 \pm 55,64	771,57 \pm 59,72

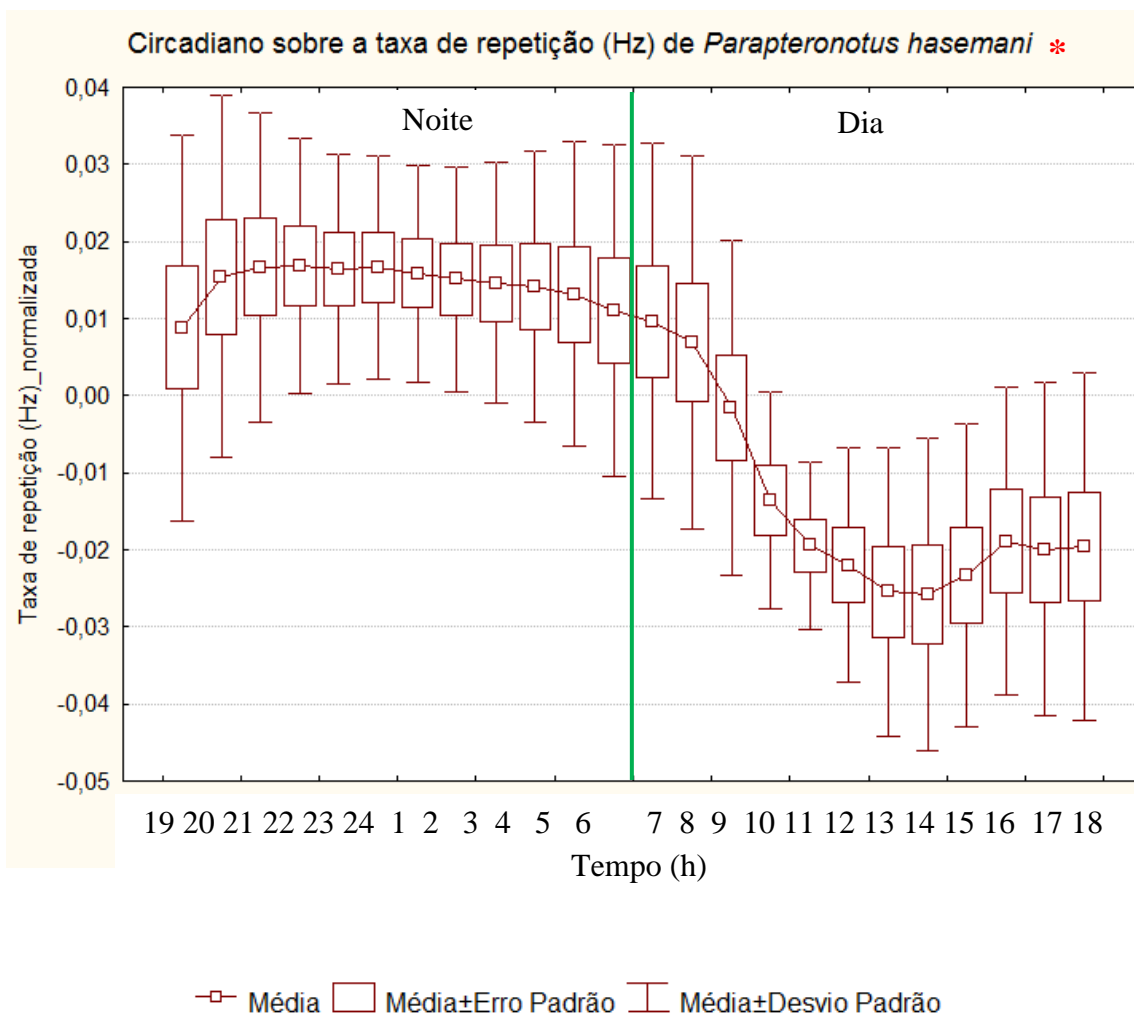


Figura 9: Variação do ritmo circadiano (24h) das taxas de repetição (Hz) normalizadas de *Parapteronotus hasemani*, representando maiores taxas de descargas no período de 12h durante a noite. A 1ª hora representa às 19h até a 24ª hora que representa às 18h. Padrão de variação irregular diurno. (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes entre o período noite e dia.

Coeficiente de Variação (CV) da DOE

A análise de variância foi heterogênea ($p= 0,001023$ e $F= 1,836655$), e não houve diferenças significativas sobre o coeficiente de variação (CV) das taxas de repetição (Hz) quando comparadas entre o período da noite e do dia, conforme o resultado do teste t-Student pareado demonstrado na **Tabela 3**, onde: a média normalizada \pm desvio padrão do grupo da noite= $-0,020780 \pm 0,202218$, média normalizada \pm desvio padrão do grupo do dia= $0,020780 \pm 0,149213$, valor de $t= -1,81156$, grau de liberdade= 238 e $p= 0,071314$.

Observou-se que em valores absolutos o desvio padrão (DP) do grupo da noite foi maior quando comparado com o período do dia (**Tabela 4.**), corroborando para o fato de que o coeficiente de variação foi mais variável durante a noite, principalmente com a ocorrência da atividade noturna da espécie. Diminuições no valor normalizado médio \pm desvio padrão nos seguintes horários às 21h ($-0,10816 \pm 0,186491$), 22h ($-0,10532 \pm 0,21878$) e 23h ($-0,10447 \pm 0,186642$), podem ter contribuído para esta variação, determinando como padrão irregular noturno (**Figura 10**).

Tabela 3: Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre o coeficiente de variação (CV) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média normalizada \pm DP (desvio padrão).

Coeficiente de variação	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t-Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
CV	$-0,020780 \pm 0,202218$	$0,020780 \pm 0,149213$	-1,81156	238	0,071314

Tabela 4: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais do coeficiente de variação (CV) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos.

N	Circadiano (24 h)	Noite (19 às 6 h)	Dia (7 às 18 h)
	Média \pm DP	Média \pm DP	Média \pm DP
1	0,006307 \pm 0,001247	0,006024 \pm 0,001361	0,006590 \pm 0,001107
2	0,006299 \pm 0,001445	0,006114 \pm 0,001904	0,006483 \pm 0,000816
3	0,006452 \pm 0,000925	0,005829 \pm 0,000933	0,007076 \pm 0,000263
4	0,006481 \pm 0,000901	0,006369 \pm 0,000910	0,006593 \pm 0,000917
5	0,007858 \pm 0,001109	0,007654 \pm 0,001176	0,008063 \pm 0,001048
6	0,006393 \pm 0,001125	0,006452 \pm 0,001307	0,006333 \pm 0,000965
7	0,005521 \pm 0,001198	0,005437 \pm 0,001306	0,005605 \pm 0,001131
8	0,006550 \pm 0,00139	0,006801 \pm 0,001381	0,006299 \pm 0,001263
9	0,006588 \pm 0,001002	0,006521 \pm 0,001183	0,006655 \pm 0,000830
10	0,005904 \pm 0,001149	0,005809 \pm 0,001380	0,005998 \pm 0,000915
Média \pm DP Global (CV)	0,006436 \pm 0,001266	0,006302 \pm 0,001393	0,006570 \pm 0,001115

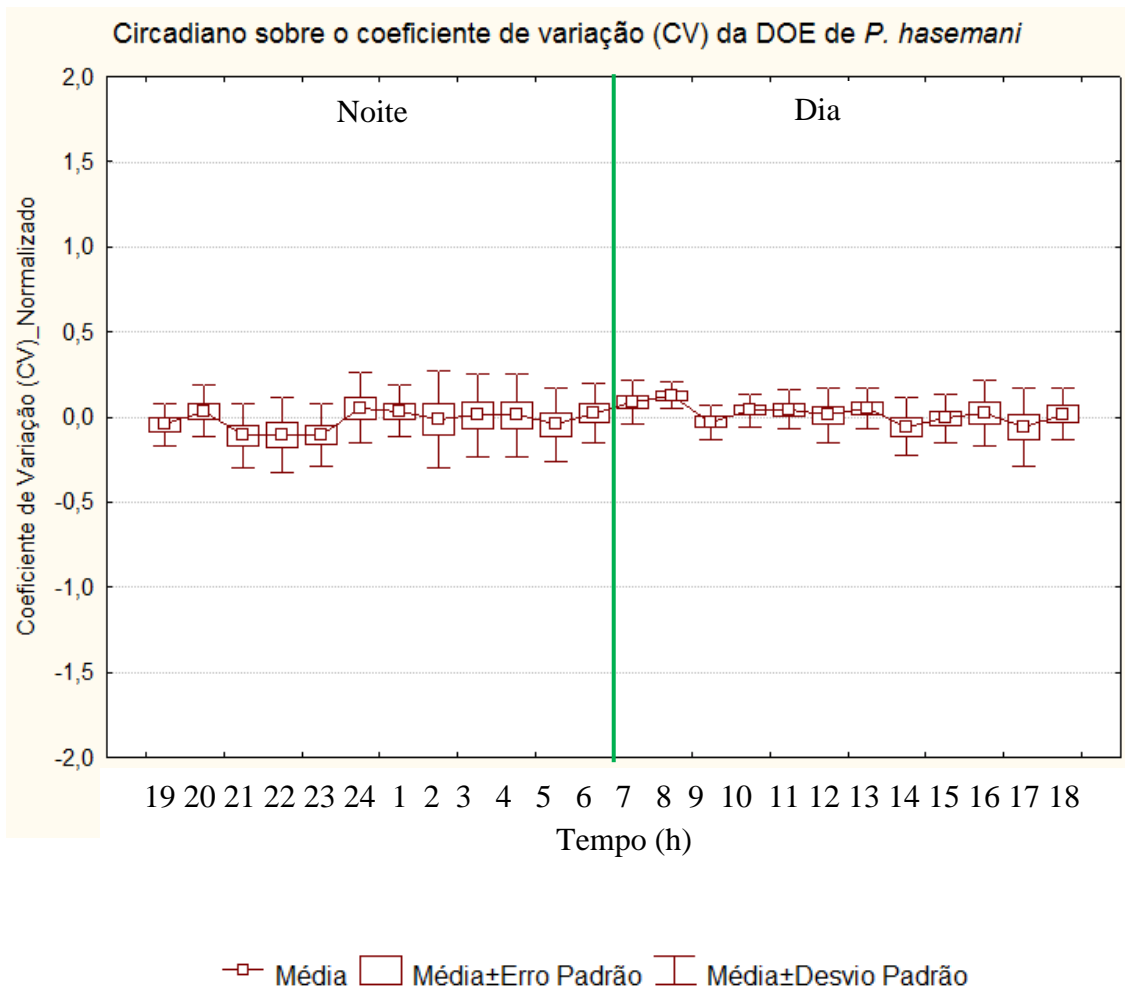


Figura 10: Variação do ritmo circadiano de 24h sobre o coeficiente de variação (CV) normalizado de *Parapteronotus hasemani*. A 1ª hora representa às 19 h até a 24ª hora que representa às 18h. Diferença não significativa e padrão de variação irregular noturno.

Relação Pico a Pico (PPrel) da DOE

Os grupos da noite e do dia analisados pelo teste t-Student pareado apresentaram-se heterogêneos na análise de variância ($p= 0,0000$ e $F= 7,359031$), porém não houve diferença significativa quando comparada entre o período da noite com o período do dia, conforme demonstrado na **Tabela 5**, onde: a média normalizada \pm desvio padrão do grupo da noite= $0,000194 \pm 0,002009$, média normalizada \pm desvio padrão do grupo do dia= $-0,000194 \pm 0,005449$, valor de $t= 0,732336$, grau de liberdade= 238 e $p= 0,464684$.

A relação pico a pico do sinal elétrico apresentou maior valor de desvio padrão durante o dia quando comparado com o da noite, assumindo como padrão irregular diurno, apesar de terem sido variações em pequena escala (**Figura 11**). A **Tabela 6** mostra os valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) de cada indivíduo e das médias globais absolutas \pm desvio padrão (DP) da relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h), notou-se que o desvio padrão no período do dia permaneceu maior.

Tabela 5: Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média normalizada \pm DP (desvio padrão).

Relação pico a pico	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t-Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
PPrel	$0,000194 \pm 0,002009$	$-0,000194 \pm 0,005449$	0,732336	238	0,464684

Tabela 6: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais da relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h), 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos.

N	Circadiano (24h) Média \pm DP	Noite (19 às 6h) Média \pm DP	Dia (7 às 18h) Média \pm DP
1	1,003376 \pm 0,002191	1,002579 \pm 0,002349	1,004173 \pm 0,001771
2	1,003658 \pm 0,001566	1,003342 \pm 0,001573	1,003975 \pm 0,001560
3	1,000306 \pm 0,001112	1,000018 \pm 0,001009	1,000594 \pm 0,001179
4	1,000824 \pm 0,001639	1,001156 \pm 0,001809	1,000491 \pm 0,001451
5	1,003692 \pm 0,002120	1,004291 \pm 0,002317	1,003094 \pm 0,001803
6	0,999909 \pm 0,001696	1,000166 \pm 0,001698	0,999653 \pm 0,001729
7	0,999502 \pm 0,001366	0,999389 \pm 0,001722	0,999614 \pm 0,000954
8	1,003141 \pm 0,002087	1,002339 \pm 0,002051	1,003942 \pm 0,001873
9	0,998997 \pm 0,012132	1,002113 \pm 0,001533	0,995880 \pm 0,016858
10	1,003023 \pm 0,001664	1,002969 \pm 0,001156	1,003078 \pm 0,002109
Média \pm DP Global (PPrel)	1,001643 \pm 0,004481	1,001836 \pm 0,002285	1,001449 \pm 0,005918

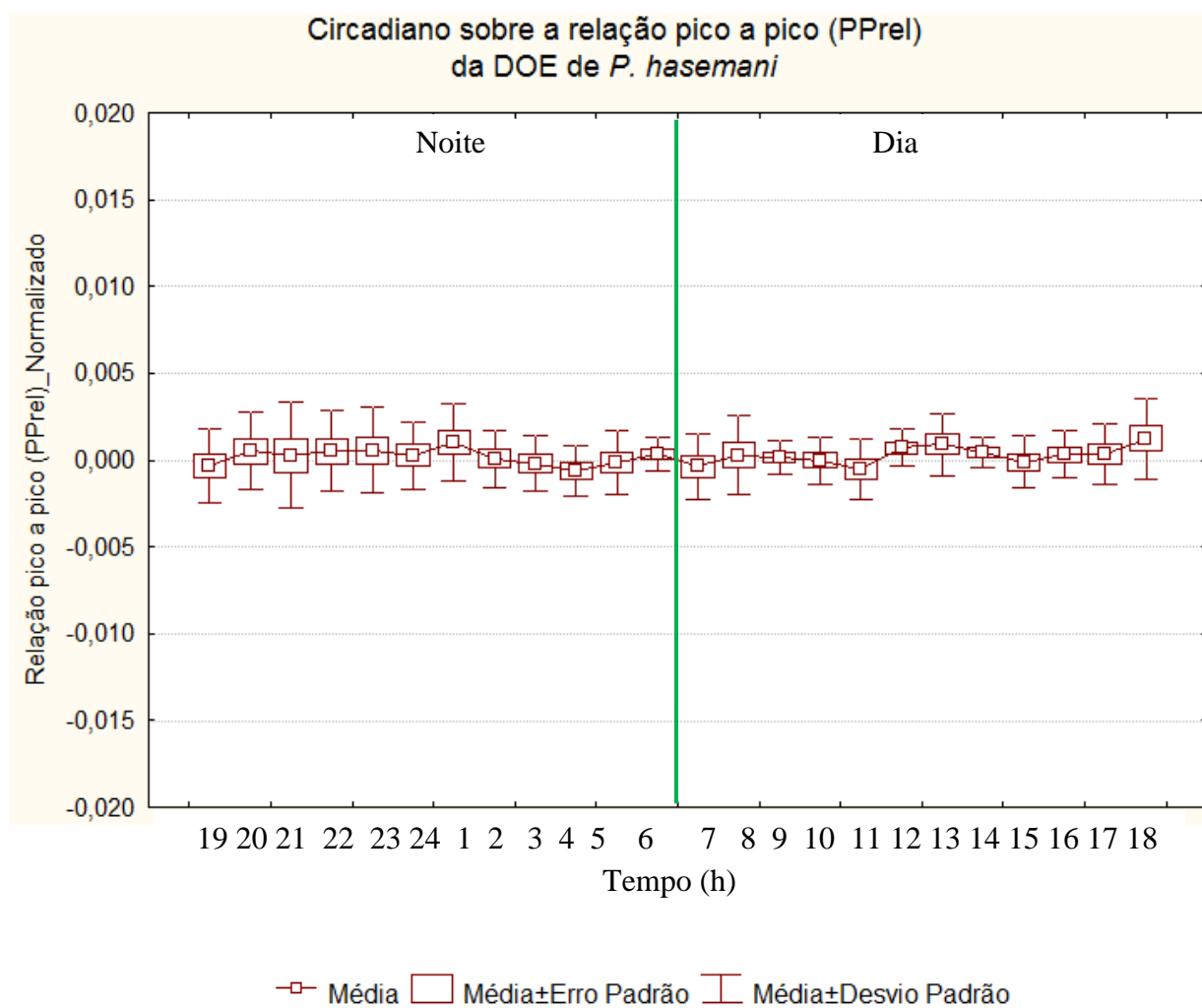


Figura 11: Variação do ritmo circadiano (24h) da amplitude calculados sobre a relação pico a pico (PPrel) do sinal elétrico de *Parapteronotus hasemani*. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno.

Áreas 1 (A1) , 2 (A2), 3 (A3) e 4 (A4) da DOE

A análise de variância foi homogênea para todas as áreas, sendo A1 (p= 0,067428 e F= 1,400441), A2 (p= 0,510133 e F= 1,188675), A3 (p= 0,655983 e F= 1,085298) e A4 (p= 0,943336 e F= 1,013144). As análises individuais das áreas do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) mostraram significativamente diferentes somente para as áreas A1 e A3, quando comparadas entre os períodos noturno e diurno. O resultado do teste t-Student pareado foi descrito na **Tabela 7**, onde: A1 apresentou média normalizada \pm desvio padrão do grupo da noite= $-0,004306 \pm 0,025355$, média normalizada \pm desvio padrão do grupo do dia= $0,004306 \pm 0,030005$, valor de t= $-2,40142$, grau de liberdade= 238 e p= 0,017100, e A3 apresentou média normalizada \pm desvio padrão do grupo da noite= $0,013323 \pm 0,033383$, média normalizada \pm desvio padrão do grupo do dia= $-0,013323 \pm 0,032045$, valor de t= $6,307942$, grau de liberdade= 238 e p= 0,0000. Na **Tabela 8** mostra os valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais das áreas: A1, A2, A3 e A4 (%), de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h) e na **Tabela 9** mostra os valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais das áreas: A1, A2, A3 e A4 (%), de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h).

Tabela 7: Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre as áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes.

Áreas	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t- Student	Grau de liberdade	Valor de p (p \leq 0,05)
A1	$-0,004306 \pm$ $0,025355$	$0,004306 \pm$ $0,030005$	$-2,40142$	238	$0,017100^*$
A2	$0,001786 \pm$ $0,043811$	$-0,001786 \pm$ $0,046545$	$0,612255$	238	$0,540954$
A3	$0,013323 \pm$ $0,033383$	$-0,013323 \pm$ $0,032045$	$6,307942$	238	$0,000000^*$
A4	$-0,004692 \pm$ $0,058300$	$0,004692 \pm$ $0,058682$	$-1,24259$	238	$0,215242$

Tabela 8: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais das áreas: A1, A2, A3 e A4 (%), de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.

Circadiano (24 horas)				
N	(A1%) Média \pm DP	(A2%) Média \pm DP	(A3%) Média \pm DP	(A4%) Média \pm DP
1	18,09 \pm 0,40	45,24 \pm 1,70	25,74 \pm 1,37	10,91 \pm 0,74
2	29,45 \pm 2,24	23,70 \pm 2,80	26,67 \pm 1,53	20,16 \pm 1,79
3	20,06 \pm 0,42	38,04 \pm 0,74	29,33 \pm 0,58	12,55 \pm 0,73
4	22,35 \pm 0,38	32,63 \pm 0,85	30,30 \pm 0,85	14,71 \pm 0,57
5	24,55 \pm 0,34	29,12 \pm 0,94	29,98 \pm 0,97	16,33 \pm 0,78
6	24,46 \pm 0,24	34,53 \pm 0,87	27,47 \pm 0,68	13,53 \pm 0,78
7	21,50 \pm 0,22	37,02 \pm 0,67	26,94 \pm 0,74	14,53 \pm 0,48
8	20,03 \pm 0,17	41,12 \pm 1,38	26,34 \pm 0,91	12,48 \pm 0,98
9	17,40 \pm 0,35	45,34 \pm 1,11	25,85 \pm 0,90	11,40 \pm 0,64
10	22,82 \pm 0,33	35,66 \pm 1,05	25,97 \pm 0,68	15,53 \pm 0,65
Média \pm DP Global (%)	22,07 \pm 3,45	36,24 \pm 6,60	27,46 \pm 1,92	14,21 \pm 2,73

Tabela 9: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais das áreas: A1, A2, A3 e A4 (%), de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 12 horas noite (19 às 6h) e 12 horas dia (7 às 18h). N= número de indivíduos.

N	(A1%)		(A2%)		(A3%)		(A4%)	
	Noite Média \pm DP	Dia Média \pm DP	Noite Média \pm DP	Dia Média \pm DP	Noite Média \pm DP	Dia Média \pm DP	Noite Média \pm DP	Dia Média \pm DP
1	18,31 \pm 0,36	17,87 \pm 0,32	44,11 \pm 1,71	46,37 \pm 0,62	26,65 \pm 1,20	24,82 \pm 0,84	10,90 \pm 0,82	10,91 \pm 0,70
2	27,55 \pm 0,50	31,35 \pm 1,54	25,96 \pm 1,09	21,43 \pm 2,02	27,70 \pm 0,95	25,64 \pm 1,3	18,77 \pm 0,69	21,56 \pm 1,42
3	20,02 \pm 0,45	20,11 \pm 0,41	37,81 \pm 0,89	38,26 \pm 0,50	29,76 \pm 0,53	28,90 \pm 0,19	12,39 \pm 0,58	12,71 \pm 0,85
4	22,45 \pm 0,29	22,25 \pm 0,45	32,28 \pm 0,93	32,97 \pm 0,64	30,47 \pm 0,99	30,12 \pm 0,68	14,79 \pm 0,61	14,64 \pm 0,55
5	24,52 \pm 0,41	24,58 \pm 0,26	29,18 \pm 1,00	29,05 \pm 0,92	29,86 \pm 1,17	30,10 \pm 0,75	16,41 \pm 0,82	16,24 \pm 0,76
6	24,50 \pm 0,28	24,43 \pm 0,19	34,53 \pm 1,10	34,52 \pm 0,61	27,47 \pm 0,70	27,47 \pm 0,69	13,49 \pm 0,85	13,56 \pm 0,74
7	21,63 \pm 0,17	21,37 \pm 0,18	36,56 \pm 0,46	37,50 \pm 0,50	27,31 \pm 0,58	26,56 \pm 0,72	14,48 \pm 0,55	14,57 \pm 0,41
8	19,99 \pm 0,17	20,06 \pm 0,18	40,64 \pm 1,14	41,61 \pm 1,48	26,70 \pm 0,70	25,99 \pm 0,98	12,65 \pm 1,03	12,32 \pm 0,94
9	17,48 \pm 0,17	17,32 \pm 0,47	44,84 \pm 1,12	45,84 \pm 0,89	26,02 \pm 1,01	25,67 \pm 0,78	11,64 \pm 0,58	11,16 \pm 0,63
10	22,78 \pm 0,38	22,86 \pm 0,29	35,54 \pm 1,02	35,78 \pm 1,10	26,20 \pm 0,50	25,75 \pm 0,78	15,47 \pm 0,77	15,59 \pm 0,54
Média \pm DP	21,92 \pm	22,22 \pm	36,15 \pm	36,33 \pm	27,81 \pm	27,10 \pm	14,10 \pm	14,33 \pm
Global (%)	2,96	3,89	5,88	7,27	1,76	2,01	2,38	3,05

A **Figura 12** mostra o ciclo circadiano das quatro áreas analisadas das descargas elétricas (A1, A2, A3 e A4). Observou-se que no gráfico A, representado pela área 1 (A1), os valores médios normalizados se mantiveram próximos de zero e constantes ao longo de todo o período da noite (12h) e parte do dia (12h), porém houve um aumento destes valores médios normalizados e dos desvios padrões a partir das 15 até às 18h (veja o círculo no gráfico A). Este aumento contribuiu para padrão irregular no final do dia, período que antecede a atividade de procura por alimento, resultando em diferenças significativas entre os períodos noite e dia (**Tabela 7**). O gráfico B, representado pela área 2 (A2), apresentou maior variação do desvio padrão no período do dia, o que determinou padrão irregular diurno, ao contrário do período da noite que apresentou desvio padrão menor (**Tabela 7**), porém houve um aumento destes valores médios normalizados e desvios padrões a partir das 17 até às 18h (veja o círculo no gráfico B). O gráfico C mostra o ciclo circadiano da área 3 (A3), e a comparação entre o período do dia e da noite foi significativa (**Tabela 7**). A variação do desvio padrão foi maior no período noturno, conforme o resultado do teste t - Student, porém, em valores médios absolutos apresentou maior desvio padrão para o período diurno (**Tabela 9**), sendo assim, apresentou variações para ambos os períodos, determinando padrão irregular diurno e noturno. Observou-se variação noturna no horário das 19 à 1h da madrugada, seguindo de variação diurna no horário das 14 às 18h (veja os círculos no gráfico C). O gráfico D representado pela área 4 (A4) mostra padrão irregular diurno, devido o desvio padrão ter sido maior (**Tabela 7**). Além disso, observou-se diminuição marcante do valor médio normalizado no horário das 16 às 18h (veja o círculo no gráfico D).

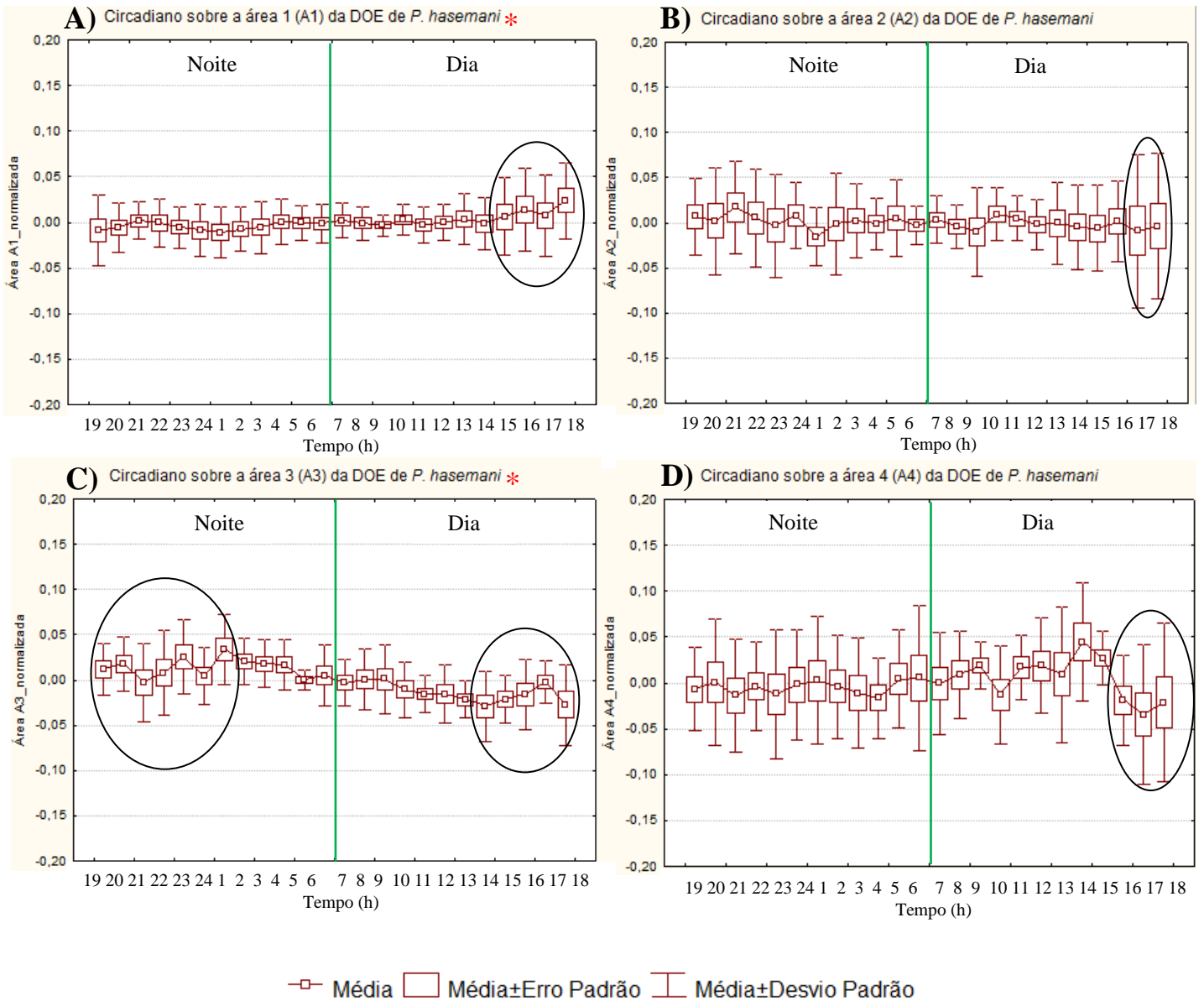


Figura 12: Ritmo circadiano entre os períodos dia e noite sobre as áreas individuais do sinal elétrico (A1, A2, A3 e A4) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. O círculo em preto representa variações marcantes dos desvios padrões. Padrão irregular diurno (A1, A2 e A4) e padrão irregular noturno e diurno (A3). (*)= valores médios normalizados \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes entre o período noite e dia para A1 e A3.

Relação entre área 1 e área 3 (A1/A3) da DOE

O teste t-Student pareado apresentou na análise de variância dados heterogêneos ($p=0,000011$ e $F=2,271288$) e diferença significativa na relação entre a área 1 com a área 3 (A1/A3) do sinal elétrico, quando comparada entre o período noturno e diurno. O resultado do teste foi descrito na **Tabela 10**, onde: a média \pm desvio padrão do grupo da noite = $0,789223 \pm 0,104650$, média \pm desvio padrão do grupo do dia = $0,823131 \pm 0,157715$, valor de $t = -1,96242$, grau de liberdade = 238 e $p = 0,050878$. Porém, foi observado maior valor de desvio padrão durante o dia, a partir do horário das 14 às 18 h, demonstrando distorção na relação das áreas neste período que antecede a atividade alimentar, determinando padrão irregular diurno (**Figura 13**). A **Tabela 11** mostra os valores médios absolutos \pm desvio padrão (DP) de cada indivíduo e os valores médios globais absolutos \pm desvio padrão (DP) na relação entre as áreas A1/A3 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h).

Tabela 10: Análise do teste t-Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 1 com a área 3 do sinal elétrico (A1/A3) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).

Relação das áreas	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t-Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
A1/A3	$0,789223 \pm 0,104650$	$0,823131 \pm 0,157715$	-1,96242	238	0,050878*

Tabela 11: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A1/A3 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.

N	(A1/A3)		
	Noite (12h) Média \pm DP	Dia (12h) Média \pm DP	Circadiano (24 horas) Média \pm DP
1	0,68 \pm 0,021	0,72 \pm 0,021	0,70 \pm 0,026
2	0,99 \pm 0,046	1,22 \pm 0,112	1,11 \pm 0,145
3	0,67 \pm 0,022	0,69 \pm 0,012	0,68 \pm 0,021
4	0,73 \pm 0,021	0,73 \pm 0,019	0,73 \pm 0,020
5	0,82 \pm 0,024	0,81 \pm 0,021	0,81 \pm 0,022
6	0,89 \pm 0,027	0,88 \pm 0,019	0,89 \pm 0,023
7	0,79 \pm 0,014	0,80 \pm 0,017	0,79 \pm 0,017
8	0,74 \pm 0,019	0,77 \pm 0,031	0,76 \pm 0,028
9	0,67 \pm 0,022	0,67 \pm 0,026	0,67 \pm 0,023
10	0,87 \pm 0,023	0,88 \pm 0,028	0,87 \pm 0,027
Média \pm DP Global (%)	0,78 \pm 0,104	0,82 \pm 0,157	0,80 \pm 0,134

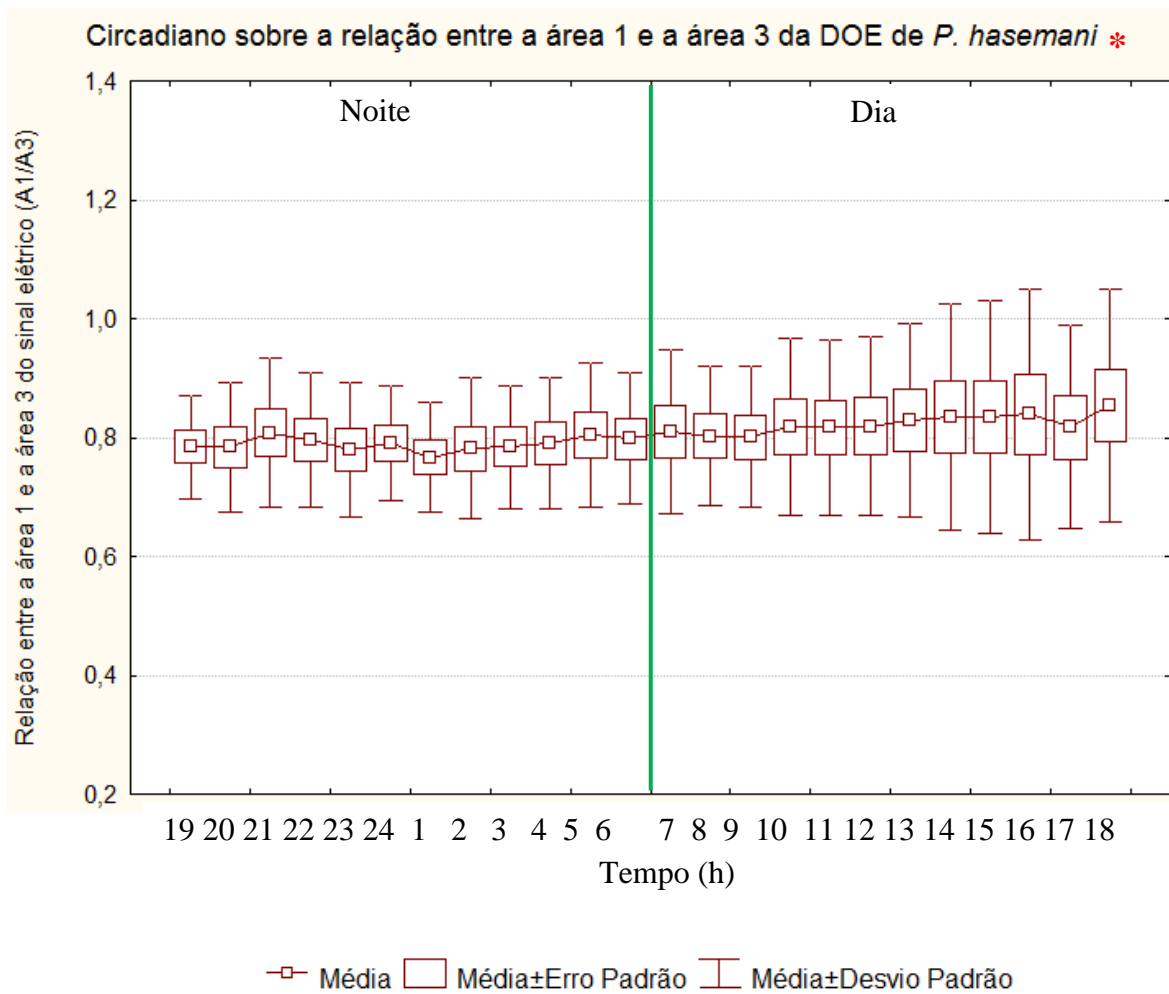


Figura 13: Ritmo circadiano (24h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 1 com a área 3 do sinal elétrico. (*)= valores médios \pm DP (desvio padrão) significativamente diferentes entre o período noite e dia. Padrão de variação irregular diurno.

Relação entre área 2 e área 4 (A2/A4) da DOE

O teste t-Student apresentou na análise de variância dados homogêneos ($p= 0,114948$ e $F= 1,336586$) e não apresentou diferença significativa na relação entre a área 2 com a área 4 do sinal elétrico (A2/A4), quando comparada entre o período da noite com o período do dia. O resultado do teste foi descrito na **Tabela 12**, onde: a média \pm desvio padrão do grupo da noite= $2,698742 \pm 0,849621$ média \pm desvio padrão do grupo do dia= $2,72897 \pm 0,982254$, valor de $t= -0,254957$, grau de liberdade= 238 e $p= 0,798976$. Houve maior variação do desvio padrão durante todo período do dia, apresentando padrão irregular diurno (**Figura 14**). A **Tabela 13** mostra os valores médios absolutos \pm desvio padrão (DP) de cada indivíduo e os valores médios globais absolutos \pm desvio padrão (DP) na relação entre as áreas A2/A4 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h).

Tabela 12: Análise do teste t- Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 2 com a área 4 do sinal elétrico (A2/A4) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).

Relação das áreas	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t-Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
A2/A4	$2,698742 \pm 0,849621$	$2,72897 \pm 0,982254$	-0,254957	238	0,798976

Tabela 13: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A2/A4 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.

N	(A2/A4)		
	Noite (12 h) Média \pm DP	Dia (12 h) Média \pm DP	Circadiano (24 horas) Média \pm DP
1	4,07 \pm 0,42	4,26 \pm 0,280	4,16 \pm 0,363
2	1,38 \pm 0,098	1,00 \pm 0,154	1,19 \pm 0,233
3	3,05 \pm 0,211	3,02 \pm 0,255	3,04 \pm 0,229
4	2,18 \pm 0,107	2,25 \pm 0,090	2,22 \pm 0,102
5	1,78 \pm 0,090	1,79 \pm 0,120	1,78 \pm 0,104
6	2,57 \pm 0,228	2,55 \pm 0,156	2,56 \pm 0,192
7	2,52 \pm 0,103	2,57 \pm 0,053	2,55 \pm 0,083
8	3,23 \pm 0,347	3,40 \pm 0,369	3,31 \pm 0,360
9	3,85 \pm 0,226	4,12 \pm 0,275	3,99 \pm 0,280
10	2,30 \pm 0,171	2,29 \pm 0,136	2,30 \pm 0,151
Média \pm DP Global (%)	2,69 \pm 0,849	2,72 \pm 0,982	2,71 \pm 0,916

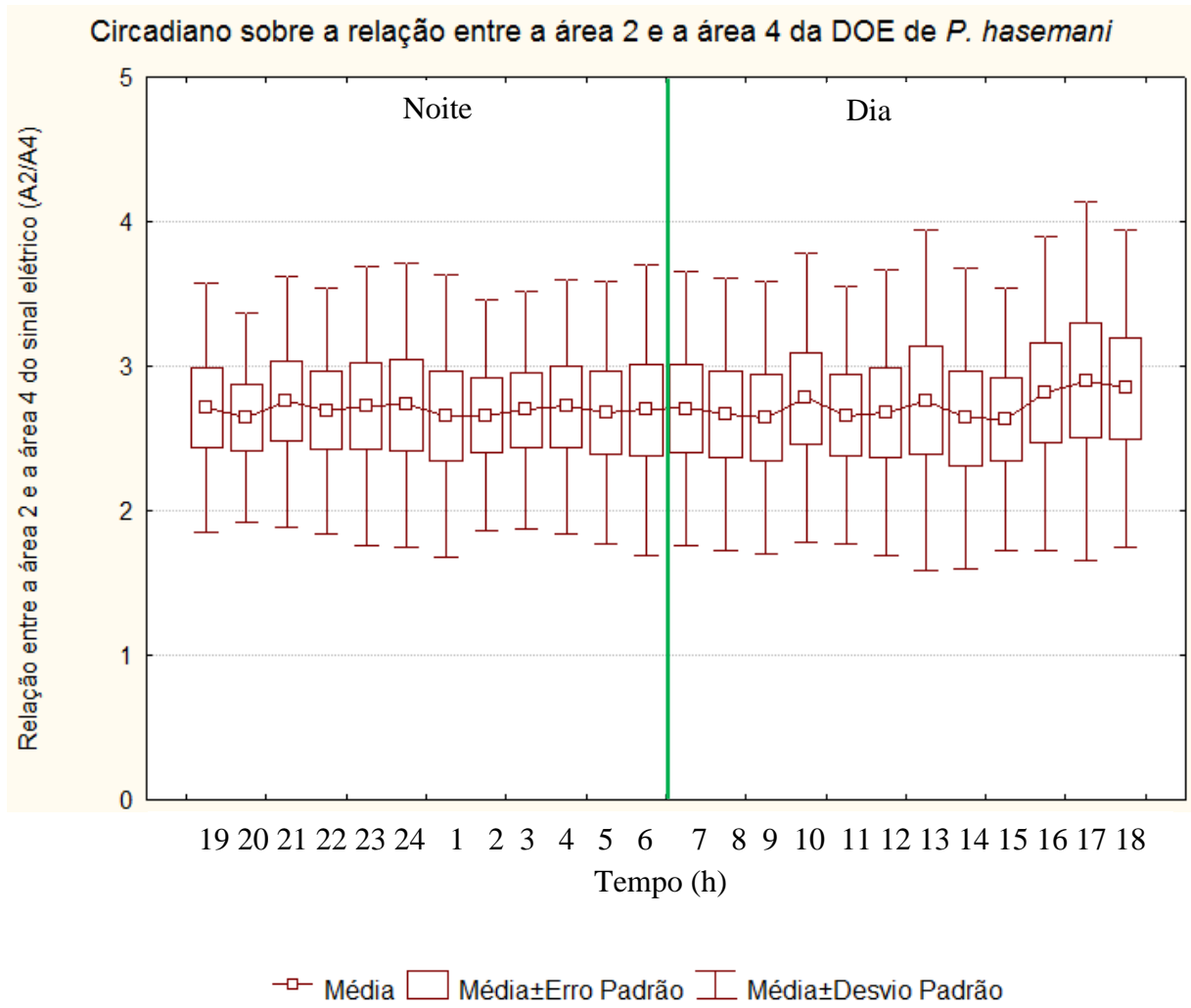


Figura 14: Ritmo circadiano (24h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 2 com a área 4 do sinal elétrico. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno.

Relação entre área 2 e área 1 (A2/A1) da DOE

O teste t-Student apresentou na análise de variância dados homogêneos ($p= 0,086676$ e $F= 1,370816$), porém não apresentou diferença significativa na relação entre a área 2 com a área 1 do sinal elétrico (A2/A1), quando comparada entre o período noturno e diurno. O resultado do teste pode ser observado na **Tabela 14**, onde: a média \pm desvio padrão do grupo da noite= $1,713190 \pm 0,496867$, média \pm desvio padrão do grupo do dia= $1,730596 \pm 0,581742$, valor de $t= -0,249220$, grau de liberdade= 238 e $p= 0,803405$. O desvio padrão no período do dia foi sutilmente maior quando comparado com o da noite, notou-se um aumento às 17 h, o que pode ter contribuído para determinar como padrão irregular diurno (**Figura 15**). A **Tabela 15** mostra os valores médios absolutos \pm desvio padrão (DP) de cada indivíduo e os valores médios globais absolutos \pm desvio padrão (DP) na relação entre as áreas A2/A1 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h).

Tabela 14: Análise do teste t-Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 2 com a área 1 do sinal elétrico (A2/A1) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).

Relação das áreas	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t-Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
A2/A1	$1,713190 \pm 0,496867$	$1,730596 \pm 0,581742$	-0,249220	238	0,803405

Tabela 15: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A2/A1 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.

N	(A2/A1)		
	Noite (12 h) Média \pm DP	Dia (12 h) Média \pm DP	Circadiano (24 h) Média \pm DP
1	2,41 \pm 0,136	2,59 \pm 0,064	2,50 \pm 0,140
2	0,94 \pm 0,043	0,68 \pm 0,093	0,81 \pm 0,148
3	1,89 \pm 0,074	1,90 \pm 0,041	1,89 \pm 0,059
4	1,43 \pm 0,052	1,48 \pm 0,049	1,46 \pm 0,054
5	1,19 \pm 0,056	1,18 \pm 0,037	1,18 \pm 0,047
6	1,40 \pm 0,036	1,41 \pm 0,027	1,41 \pm 0,031
7	1,68 \pm 0,026	1,75 \pm 0,036	1,72 \pm 0,045
8	2,03 \pm 0,054	2,07 \pm 0,063	2,05 \pm 0,061
9	2,56 \pm 0,086	2,64 \pm 0,118	2,60 \pm 0,109
10	1,56 \pm 0,057	1,56 \pm 0,053	1,56 \pm 0,054
Média \pm DP Global (%)	1,71 \pm 0,496	1,73 \pm 0,581	1,72 \pm 0,539

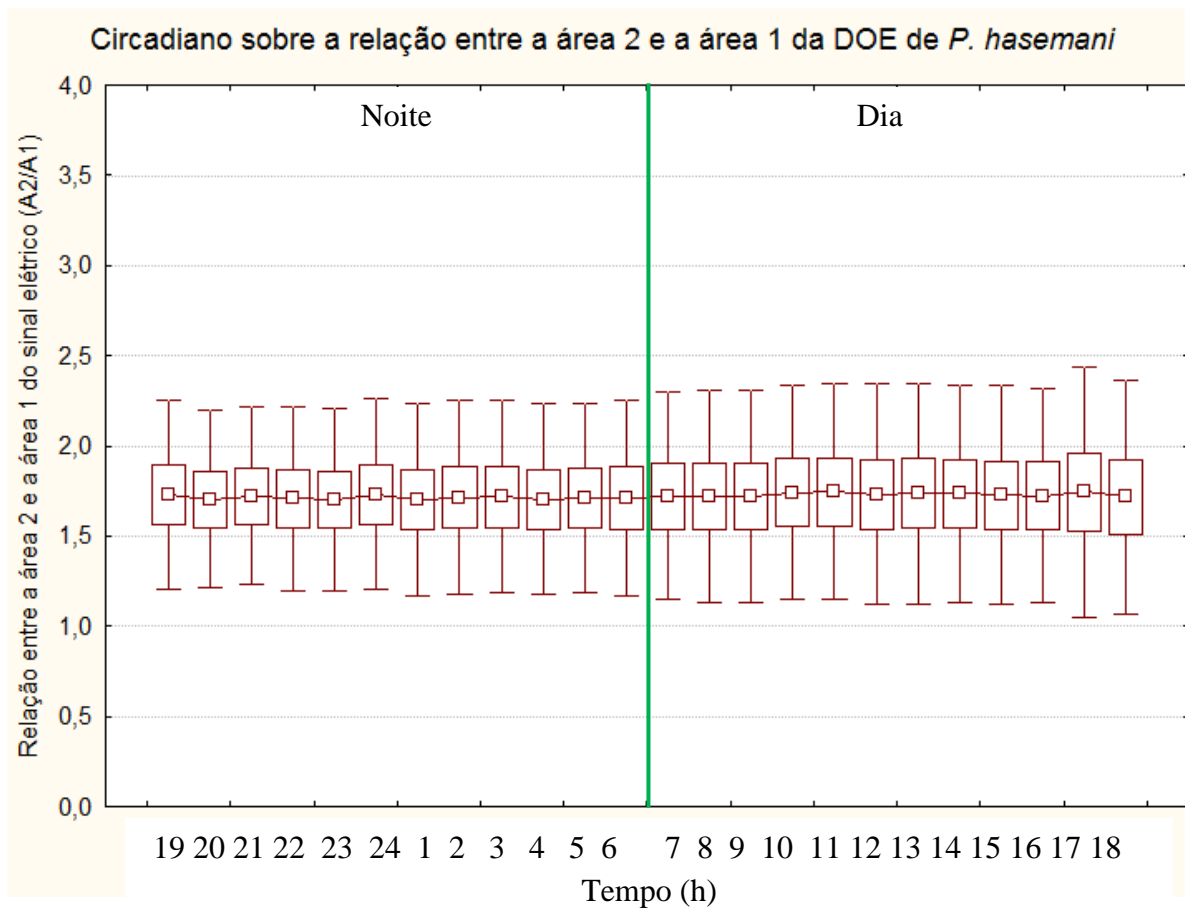


Figura 15: Ritmo circadiano (24h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 2 com a área 1 do sinal elétrico. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno.

Relação entre área 3 e área 4 (A3/A4) da DOE

O teste t-Student apresentou na análise de variância dados homogêneos ($p= 0,301637$ e $F= 1,209149$), porém não apresentou diferença significativa na relação entre a área 3 com a área 4 do sinal elétrico (A3/A4), quando comparada entre o período noturno e diurno. O resultado do teste foi descrito na **Tabela 16**, onde: a média \pm desvio padrão do grupo da noite= $2,022578 \pm 0,325678$, média \pm desvio padrão do grupo do dia= $1,962422 \pm 0,358120$, valor de $t= 1,361335$, grau de liberdade= 238 e $p= 0,174695$. Houve maior variação do desvio padrão durante o período do dia, apresentando padrão irregular diurno (**Figura 16**). A **Tabela 17** mostra os valores médios absolutos \pm desvio padrão (DP) de cada indivíduo e os valores médios globais absolutos \pm desvio padrão (DP) na relação entre as áreas A3/A4 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h).

Tabela 16: Análise do teste t-Student pareado entre os períodos dia e noite sobre a relação entre a área 3 com a área 4 do sinal elétrico (A3/A4) de *Parapteronotus hasemani* durante o período de 24 horas. Média não normalizada \pm DP (desvio padrão).

Relação das áreas	Média \pm DP Noite	Média \pm DP Dia	Valor de t-Student	Grau de liberdade	Valor de p ($p \leq 0,05$)
A3/A4	$2,022578 \pm 0,325678$	$1,962422 \pm 0,358120$	1,361335	238	0,174695

Tabela 17: Valores das médias absolutas \pm desvio padrão (DP) individuais e globais na relação entre as áreas A3/A4 de *Parapteronotus hasemani* durante o período das 12 horas noite (19 às 6h), 12 horas dia (7 às 18h) e 24 horas (19 às 18h). N= número de indivíduos.

N	(A3/A4)		
	Noite (12 h) Média \pm DP	Dia (12 h) Média \pm DP	Circadiano (24 h) Média \pm DP
1	2,45 \pm 0,228	2,28 \pm 0,214	2,37 \pm 0,234
2	1,47 \pm 0,075	1,19 \pm 0,121	1,33 \pm 0,174
3	2,40 \pm 0,128	2,28 \pm 0,180	2,34 \pm 0,165
4	2,06 \pm 0,134	2,06 \pm 0,109	2,06 \pm 0,119
5	1,82 \pm 0,152	1,85 \pm 0,101	1,84 \pm 0,127
6	2,04 \pm 0,115	2,03 \pm 0,146	2,03 \pm 0,129
7	1,88 \pm 0,104	1,82 \pm 0,101	1,85 \pm 0,105
8	2,12 \pm 0,198	2,11 \pm 0,149	2,12 \pm 0,172
9	2,24 \pm 0,162	2,30 \pm 0,183	2,27 \pm 0,173
10	1,69 \pm 0,083	1,65 \pm 0,059	1,67 \pm 0,074
Média \pm DP Global (%)	2,02 \pm 0,325	1,96 \pm 0,358	1,99 \pm 0,342

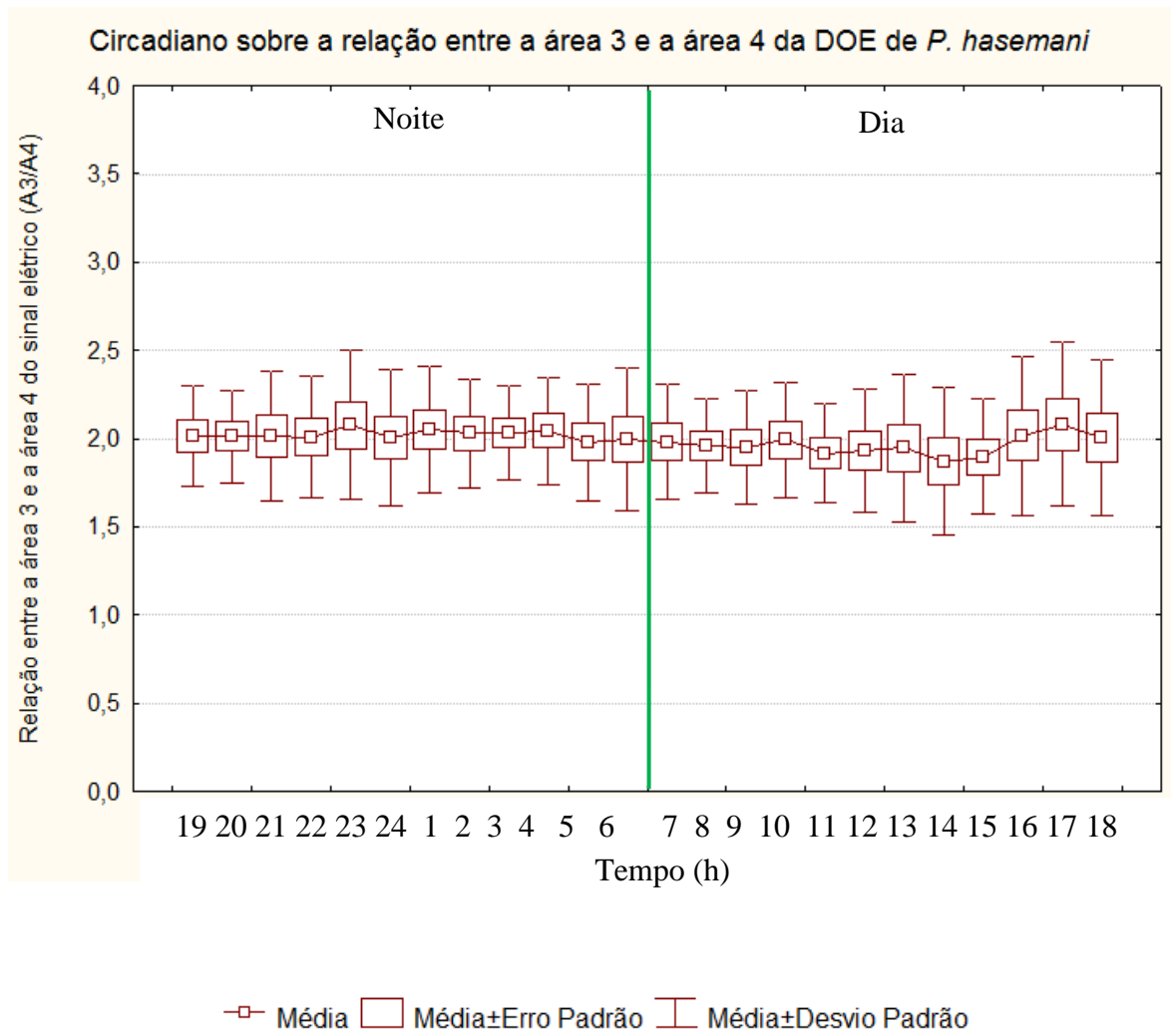


Figura 16: Ritmo circadiano (24 h) de *Parapteronotus hasemani* sobre a relação entre a área 3 com a área 4 do sinal elétrico. Diferença não significativa e padrão de variação irregular diurno.

Efeito da gasolina 110, 220 e 440 µl/5L sobre a DOE de *Parapteronotus hasemani*

Taxa de Repetição (Hz) da DOE

A **Tabela 18** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para todos os grupos testados foram significativamente heterogêneos, exceto para o grupo T5_16h. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 19**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 µl/5L poderiam ter aumentado ou diminuído as taxas de repetição (Hz) quando comparadas com os valores de Pré_10h, Pré_11h e dentro dos grupos da pós-contaminação. Em comparação ao controle (vermelho) no T2_13h e T3_14h, a concentração 220 µl (azul) teria ocorrido aumento no T3_13h e se mantido constante até T5_16h. Para 440 µl (preta) teria diminuído no T1_12h, aumentado sutilmente no T3_14h e se mantido constante até o final no T5_16h, quando comparada com ela mesma e com o controle (vermelho) na pré-contaminação, enquanto que a concentração 110 µl (verde) e o grupo controle (vermelho) teriam se mantido com valores próximos na pós-contaminação e sem variações até o final do experimento (**Figura 17**).

Tabela 18: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a taxa de repetição (Hz) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	12,70483	0,595804	11,92546	0,007643*
Pré_11h	3	12,70483	0,595804	11,92546	0,007643*
T1_12h	3	7,23662	0,681568	12,74797	0,005215*
T2_13h	3	6,61443	0,636318	10,56802	0,014306*
T3_14h	3	11,04084	0,565346	10,46001	0,015035*
T4_15h	3	9,71547	0,485095	8,79271	0,032178*
T5_16h	3	7,79397	0,449236	7,21277	0,065417

Tabela 19: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a taxa de repetição (Hz) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,000897	0,000050	0,821505	0,673671

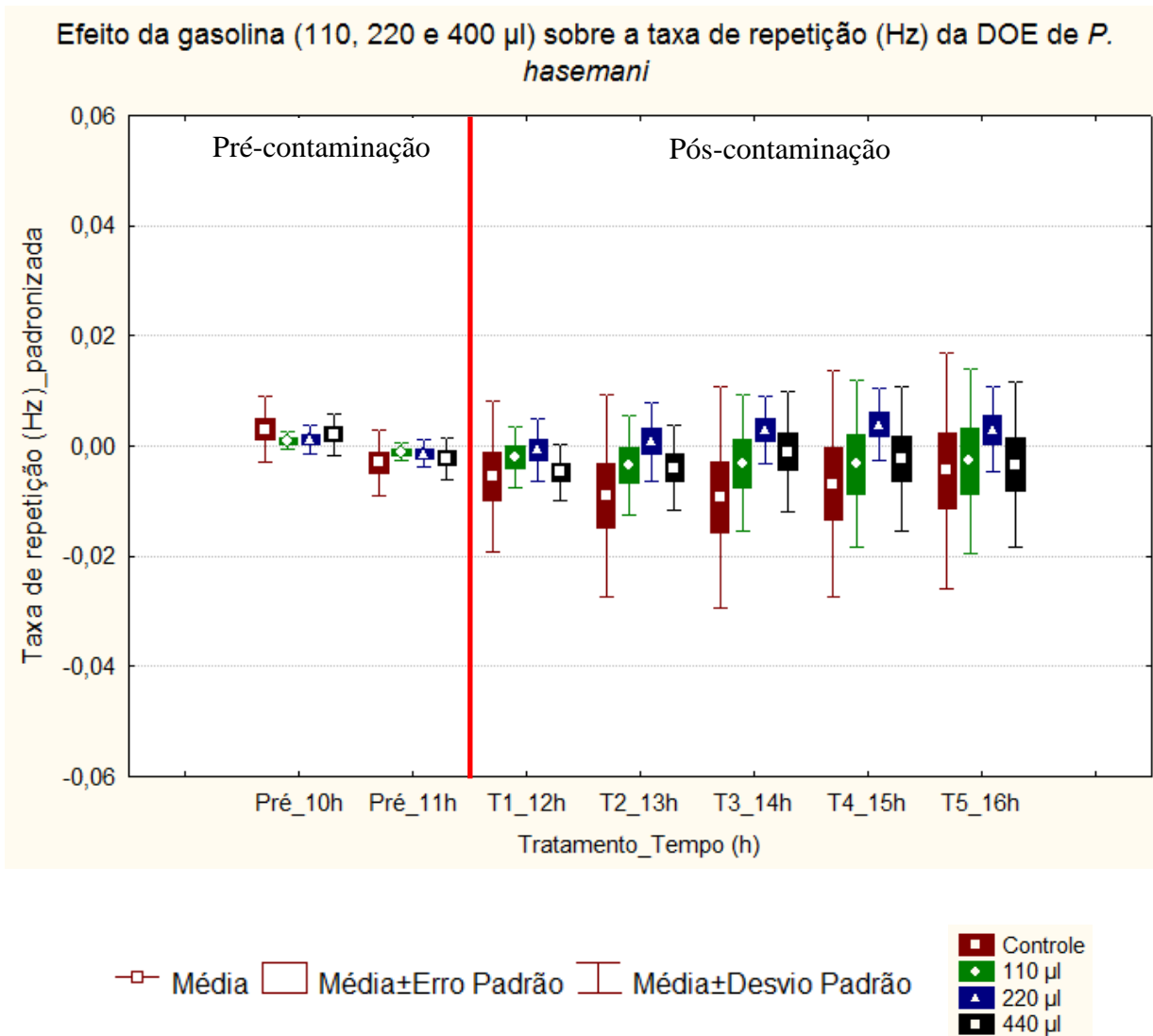


Figura 17: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre os valores médios padronizados da taxa de repetição (Hz) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Coefficiente de Variação (CV) da DOE

A **Tabela 20** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para o grupo pré-contaminação (Pré_10h e Pré_11h) foi significativamente heterogêneo e para o grupo pós-contaminação foi homogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 21**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição do coeficiente de variação (CV), quando comparado com os valores de Pré_10h, Pré_11h e dentro dos grupos da pós-contaminação. Para a concentração 110 μl (verde) teria aumentado no T1_12h, quando comparada com o grupo da pré-contaminação e com o controle no T1_12h e diminuído no T2_13h, quando comparada com a pré-contaminação e com o controle no T2_13h. A concentração 220 μl (azul) teria diminuído no T3_14h em relação à pré-contaminação, se mantido com valores próximos do grupo controle (vermelho) na pós-contaminação e sem variações até o final do experimento. A concentração 440 μl (preta) teria aumentado no T1_12h e se mantido com valores maiores até T5_16h, quando comparada com a pré-contaminação e com o grupo controle da pós-contaminação (**Figura 18**).

Tabela 20: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre o coeficiente de variação (CV) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	6,399139	0,473183	10,16770	0,017193*
Pré_11h	3	6,399139	0,473183	10,16770	0,017193*
T1_12h	3	2,281378	0,379529	1,62623	0,653458
T2_13h	3	2,312825	0,335449	1,42801	0,698983
T3_14h	3	2,278749	0,407826	1,66799	0,644074
T4_15h	3	3,480389	0,477342	3,98193	0,263423
T5_16h	3	1,295247	0,286816	0,21044	0,975887

Tabela 21: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre o coeficiente de variação (CV) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7)*Grupo (4)	18	0,296512	0,016473	0,801474	0,697310

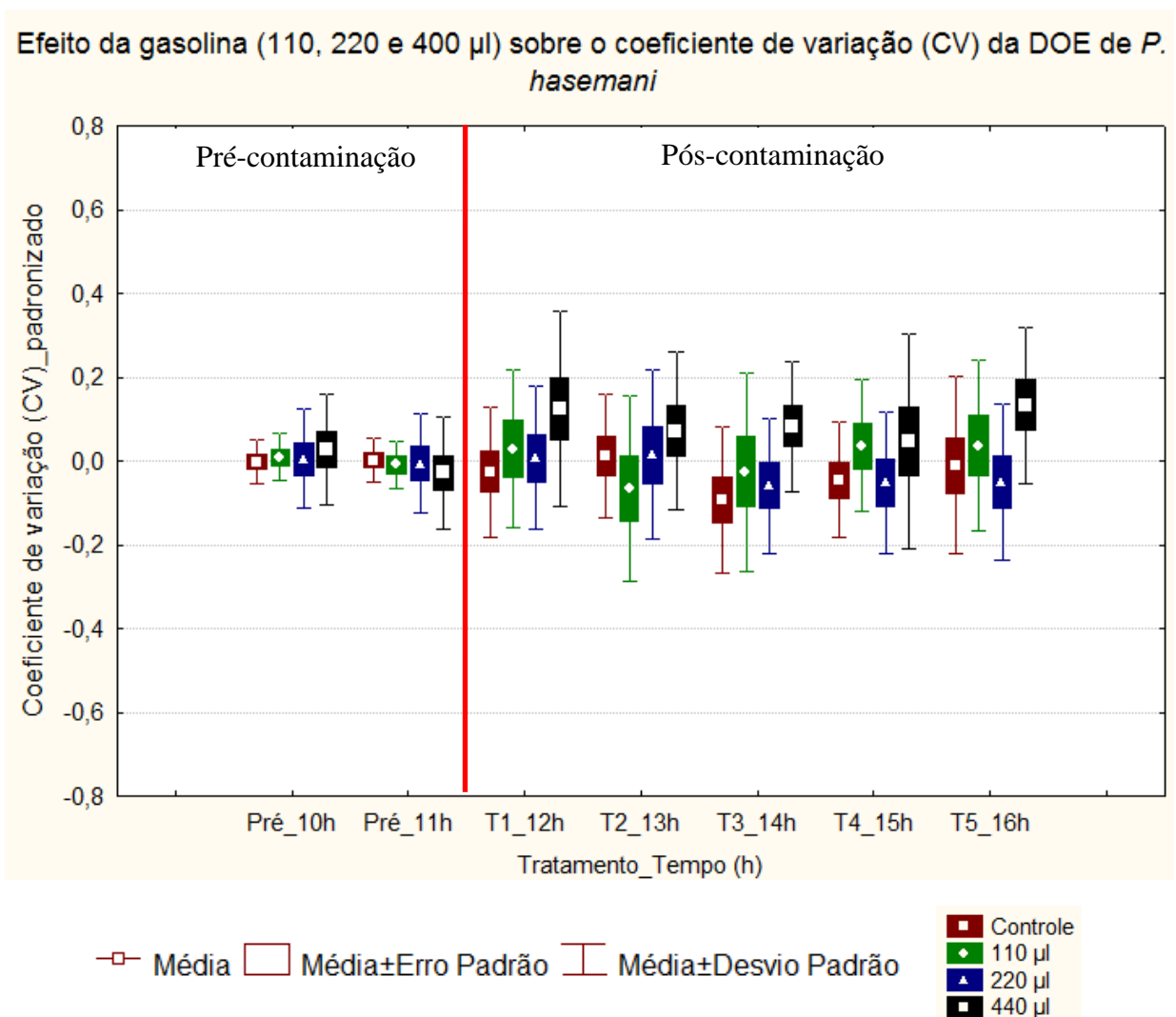


Figura 18: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios padronizados do coeficiente de variação (CV) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Relação Pico a Pico (PPrel) da DOE

A **Tabela 22** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para todos os grupos testados foram homogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 23**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição na relação pico a pico do sinal elétrico, quando comparada com os valores de Pré_10h e Pré_11h e dentro dos grupos da pós-contaminação. Em comparação com a pré-contaminação, a concentração 110 μl (verde) teria tido aumento no T2_13h e diminuição em T3_14h e T4_15h, sendo esta última mais marcante, e em comparação com o grupo controle (vermelho) da pós- contaminação teria diminuído no T1_12h, T3_14h e T4_15h. Para a concentração 220 μl (azul) teria se mantido sem variação ao longo do tempo em relação à pré-contaminação, mas quando comparada ao controle (vermelho) da pós-contaminação teria diminuído no T2_13h e T3_14h. Para 440 μl (preta) teria diminuído no T1_12h e T2_13h e aumentado no T4_15h, quando comparada com os grupos da pré e o grupo controle da pós-contaminação. O grupo controle (vermelho) se manteve constante do início ao fim do experimento (**Figura 19**).

Tabela 22: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	3,391090	0,443815	4,196416	0,241021
Pré_11h	3	3,391090	0,443815	4,196416	0,241021
T1_12h	3	3,953169	0,373034	3,921757	0,270038
T2_13h	3	2,348119	0,344691	1,870904	0,599628
T3_14h	3	2,341276	0,396321	1,680056	0,641377
T4_15h	3	5,875064	0,388323	6,433664	0,092316
T5_16h	3	5,653772	0,407329	5,903070	0,116423

Tabela 23: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,000081	0,000004	1,466083	0,105483

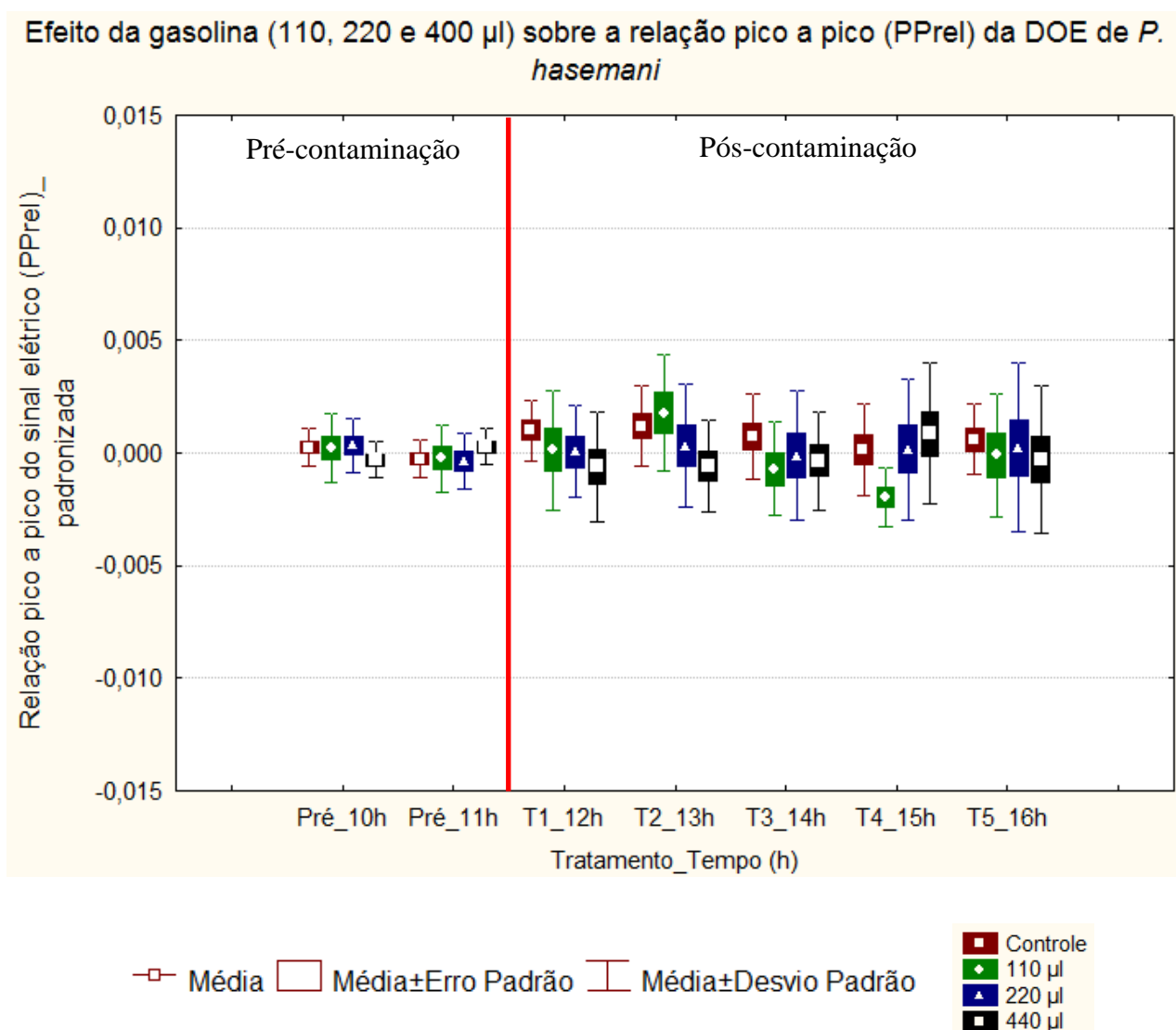


Figura 19: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios padronizados na relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Área 1 (A1) da DOE

A **Tabela 24** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para o grupo pré-contaminação (Pré_10h e Pré_11h) foi significativamente heterogêneo e para o grupo pós-contaminação foi homogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 25**), porém o pós-teste de Bonferroni (**Tabela 26**) negou esta diferença dentro dos grupos em função do tempo. Notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido sete (07), possíveis interações significativas, e em resumo dessas combinações a concentração 440 μl (preta) teria apresentado aumento no T3_14h quando comparada com as concentrações 110 μl (verde) e 440 μl no Pré_10h, e dentro dos grupos da pós-contaminação com a concentração 110 μl no T4_15h e T5_16h, e com o controle (vermelho) no T2_13h; e aumento da concentração 440 μl (preta) no T5_16h, quando comparada com a concentração 110 μl no T4_15h e 440 μl no Pré_10h. Além disso, observou-se que a concentração 110 μl (verde) teria possível diminuição no T4_15h e T5_16h, quando comparada com os grupos da pré-contaminação e o controle (vermelho) da pós-contaminação nos T4_15h e T5_16h, e aumento da concentração 110 μl no T1_12h, quando comparada com o controle da pós-contaminação no T1_12h. A concentração 220 μl (azul) teria aumento no T1_12h até o T5_16h, quando comparada com os grupos da pré e pós-contaminação. A concentração 440 μl (preta) teria aumento ao longo do tempo e em comparação com o controle (vermelho) da pós-contaminação no T1_12h, T3_14h e T4_15h (**Figura 20**).

Tabela 24: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	11,35848	0,565638	12,01827	0,007321*
Pré_11h	3	11,35848	0,565638	12,01827	0,007321*
T1_12h	3	3,06931	0,337451	2,23203	0,525667
T2_13h	3	6,12604	0,511988	7,07761	0,069465
T3_14h	3	4,62313	0,375887	4,95344	0,175238
T4_15h	3	5,56119	0,567048	7,41285	0,059841
T5_16h	3	5,39574	0,493598	6,46725	0,090963

Tabela 25: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,005184	0,000288	1,845038	0,022491*

Tabela 26: Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ de óleo diesel em função do tempo sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani* realizado com o pós-teste de Bonferroni. Não houve diferença significativa.

Interação Tempo*Grupo	Valor de p ($p \leq 0,05$)
440 T3_14h * Controle T2_13h	0,886493
440 T3_14h *110 Pré_10h	0,788541
440 T3_14h *110 T4_15h	0,468775
440 T3_14h *110 T5_16h	0,274736
440 T3_14h *440 Pré_10h	0,271174
440 T5_16h*110 T4_15h	0,860563
440 T5_16h*440 Pré_10h	0,596725

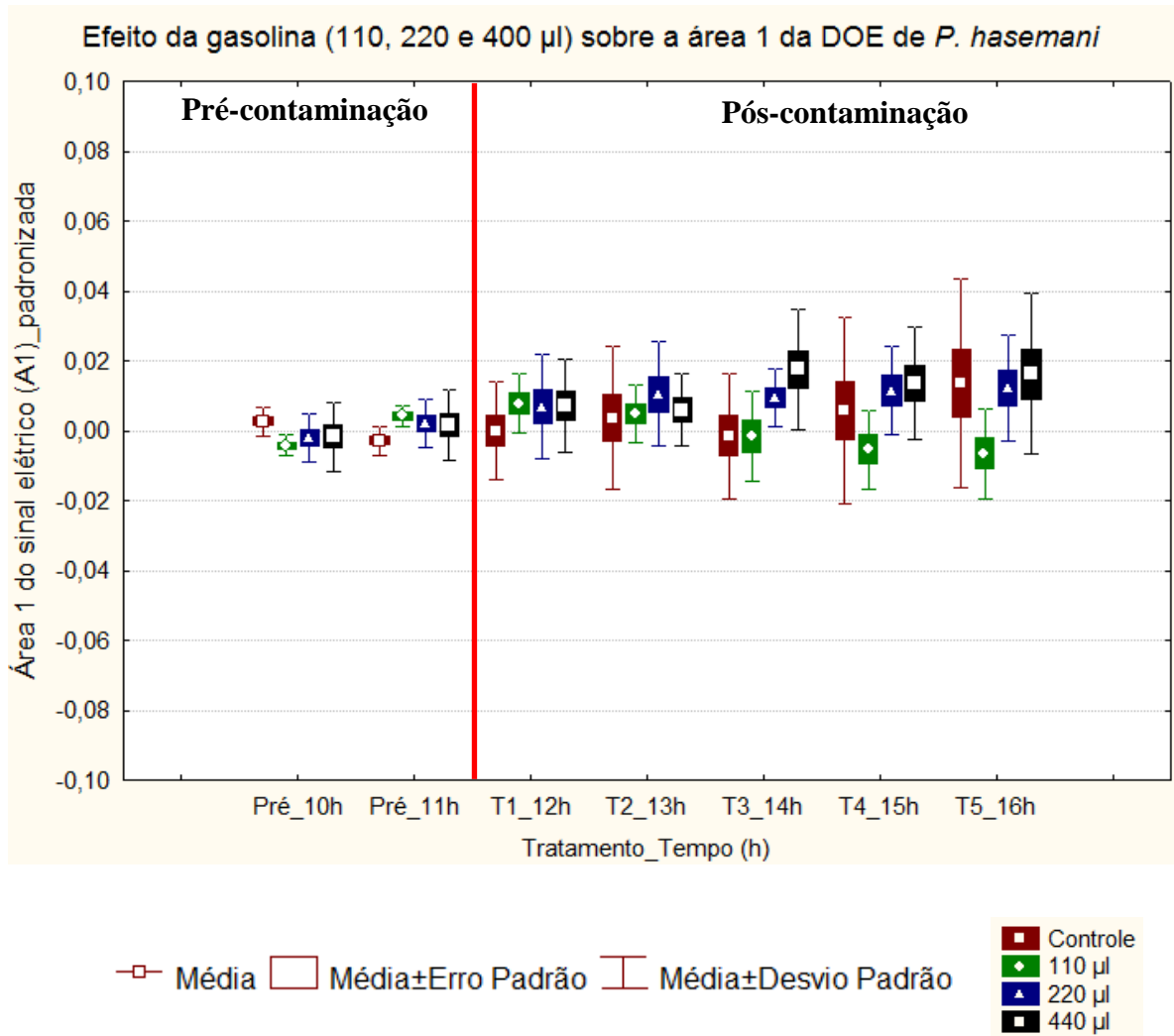


Figura 20: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios padronizados da área 1 (A1) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa para o pós-teste de Bonferroni.

Área 2 (A2) da DOE

A **Tabela 27** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para os grupos pré-contaminação (Pré_10h e Pré_11h) e pós-contaminação (T2_13h e T3_14h) foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 28**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição da área 2 (A2) quando comparadas com os valores de Pré_10h, Pré_11h e dentro dos grupos da pós-contaminação. Em comparação com o grupo da pré-contaminação, a concentração 110 μl (verde) teria aumentado no T3_14h e T4_15h, e se mantido até T5_16h, e quando comparada com o controle (vermelho) da pós-contaminação, a concentração 110 μl teria tido aumento no T2_13, T3_14h e T4_15h; em 220 μl (azul) teria diminuído no T1_12h e se mantido constante, próximo do controle até T5_16h, e em 440 μl (preta) mantido os valores médios constantes até T3_14h ao longo do tempo e aumentado os desvios padrões em T4_15h e T5_16h, enquanto que o grupo controle (vermelho) teria se mantido constante até o final do experimento (**Figura 21**).

Tabela 27: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	7,80922	0,551490	7,96723	0,046694*
Pré_11h	3	7,80922	0,551490	7,96723	0,046694*
T1_12h	3	4,69452	0,456372	7,32413	0,062254
T2_13h	3	11,02156	0,491711	10,51558	0,014656*
T3_14h	3	22,37042	0,627906	15,96845	0,001151*
T4_15h	3	5,56437	0,541418	6,17620	0,103345
T5_16h	3	2,65429	0,358304	1,86432	0,601039

Tabela 28: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,008570	0,000476	0,396678	0,987396

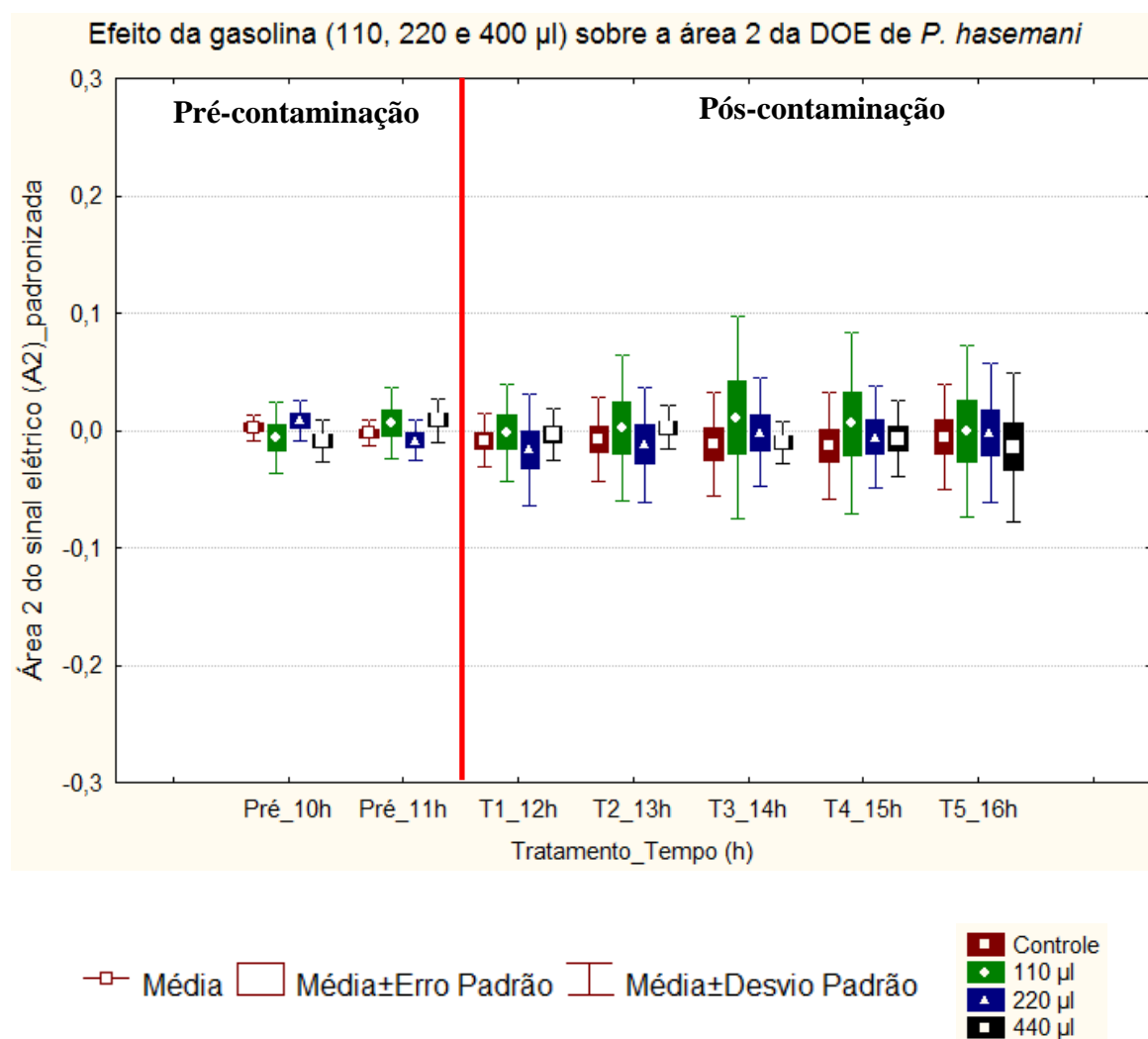


Figura 21: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios padronizados da área 2 (A2) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Área 3 (A3) da DOE

A **Tabela 29** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente o grupo T3_14h foi significativamente heterogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 30**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição da área 3 (A3) quando comparadas com os valores de Pré_10h, Pré_11h e dentro dos grupos da pós-contaminação. Em comparação à pré-contaminação, a concentração 110 μl (verde) teria diminuído em T3_14h até T5_16h, e teria aumento em T1_12h, quando comparada ao controle (vermelho); em 220 μl (azul) teria aumento em T1_12h e se mantido constante até T5_16h, quando comparada com a pós-contaminação do controle (vermelho); e em 440 μl (preta) teria aumento em T1_12h, T3_14h e T5_16h, e diminuído em T2_13h e T4_15h, enquanto que o grupo controle (vermelho) teria ocorrido sutis variações desde T1_12h até o final do experimento. No T3_14h observou-se um possível comportamento crescente da concentração menor (110 μl) para a maior (440 μl) em comparação do controle com as três concentrações testadas, corroborando o fato de ter sido significativamente heterogêneo nesse tempo (**Figura 22**).

Tabela 29: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferente (heterogêneo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	6,258572	0,474015	6,066139	0,108436
Pré_11h	3	6,258572	0,474015	6,066139	0,108436
T1_12h	3	3,188366	0,427506	2,970098	0,396259
T2_13h	3	5,928502	0,448965	7,252331	0,064276
T3_14h	3	8,481228	0,468966	7,870795	0,048759*
T4_15h	3	2,786367	0,364778	2,395928	0,494393
T5_16h	3	1,322939	0,279061	0,198247	0,977872

Tabela 30: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,010884	0,000605	0,604275	0,893883

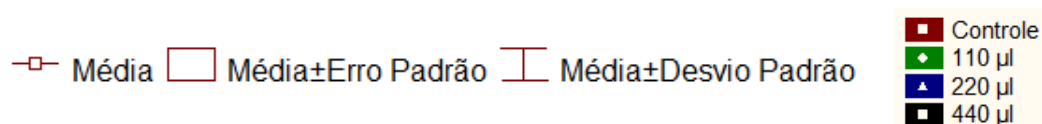
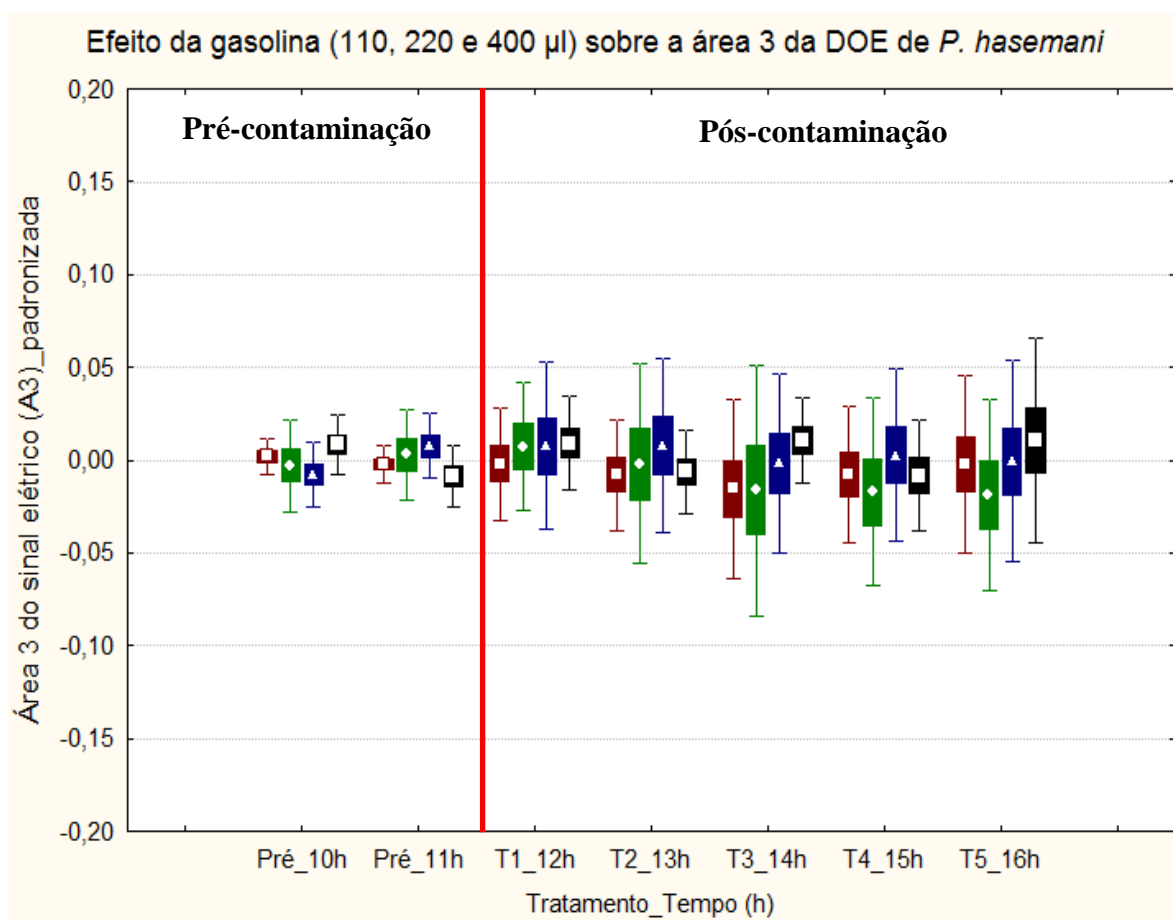


Figura 22: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios padronizados da área 3 (A3) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Área 4 (A4) da DOE

A **Tabela 31** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente o grupo T3_14h foi significativamente heterogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 32**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição da área 4 (A4) quando comparadas com os valores de Pré_10h, Pré_11h e dentro dos grupos da pós-contaminação. Para 110 μl (verde) teria diminuído em T1_12h e aumentado em T3_13h e se mantido até T5_16h; em 220 μl (azul) teria diminuição no T2_13h até T5_16h; e em 440 μl (preta) teria diminuído em T1_12h e T3_14h, neste último tempo teria ocorrido diminuição marcante, e aumento no T4_15h, seguindo da diminuição no T5_16h com desvios padrões maiores, enquanto que o grupo controle (vermelho) teria possíveis variações ao longo do tempo. No T3_14h observou-se que as concentrações teriam se comportado de forma decrescente da menor (110 μl) para a maior (440 μl) concentração em comparação com o controle, corroborando com o fato de ter sido significativamente heterogêneo nesse tempo (**Figura 23**).

Tabela 31: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferente (heterogêneo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	4,619611	0,383342	4,088582	0,252056
Pré_11h	3	4,619611	0,383342	4,088582	0,252056
T1_12h	3	2,713300	0,343360	1,743885	0,627222
T2_13h	3	5,251516	0,520226	5,930607	0,115036
T3_14h	3	7,519880	0,609693	9,954732	0,018955*
T4_15h	3	3,687875	0,427064	4,582091	0,205084
T5_16h	3	2,406254	0,400482	1,977980	0,576990

Tabela 32: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,054083	0,003005	1,548164	0,077032

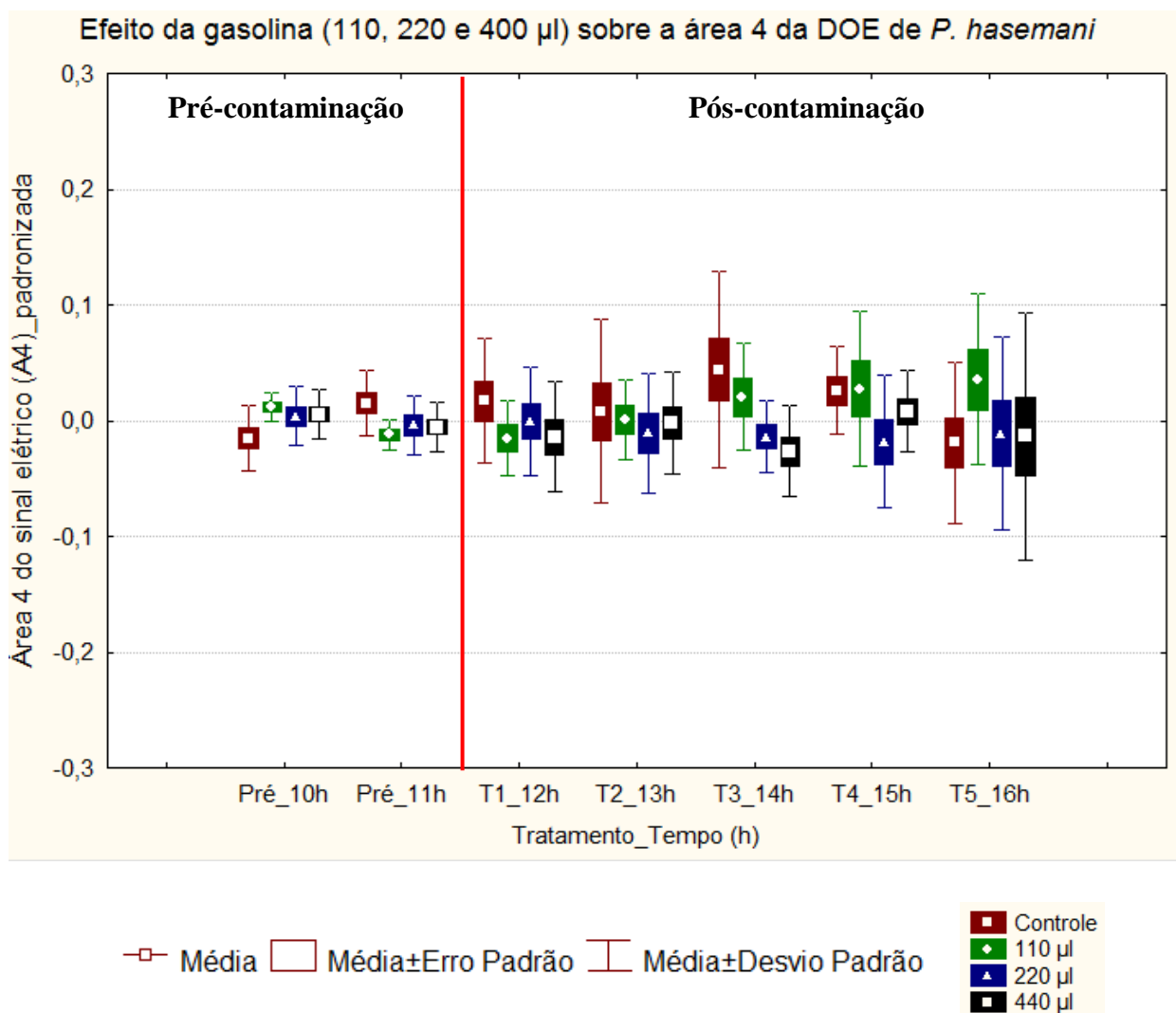


Figura 23: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios padronizados da área 4 (A4) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Relação entre área 1 e área 3 (A1/A3) da DOE

A **Tabela 33** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para todos os grupos testados foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na relação tempo e grupo, pelo fato da relação entre as áreas terem sido constantes ao longo do tempo (**Tabela 34**), porém notou-se que as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ e o grupo controle pertencem ao conjunto de amostras distintas, porém a possível diferença poderia ter sido significativa somente entre os grupos. Nas observações entre os grupos, o grupo controle (vermelho) teria apresentado menores valores médios, seguindo de aumento da concentração 220 μl (azul) e 110 μl (verde) que apresentou maiores valores e variação em relação às demais, enquanto que a concentração 440 μl (preta) ficou mais próxima do controle com desvios padrões menor, possível possibilidade de ter causado um efeito de pouca movimentação do indivíduo (**Figura 24**).

Tabela 33: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	20,79067	0,622410	16,34934	0,000961*
Pré_11h	3	31,67876	0,716110	22,01450	0,000065*
T1_12h	3	40,75961	0,715845	25,20691	0,000014*
T2_13h	3	59,18091	0,723727	28,71816	0,000003*
T3_14h	3	47,14889	0,692626	27,27923	0,000005*
T4_15h	3	42,07488	0,665463	27,84521	0,000004*
T5_16h	3	25,31689	0,653749	23,33817	0,000034*

Tabela 34: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 1 (A1) e a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,0055	0,0003	0,279	0,998606

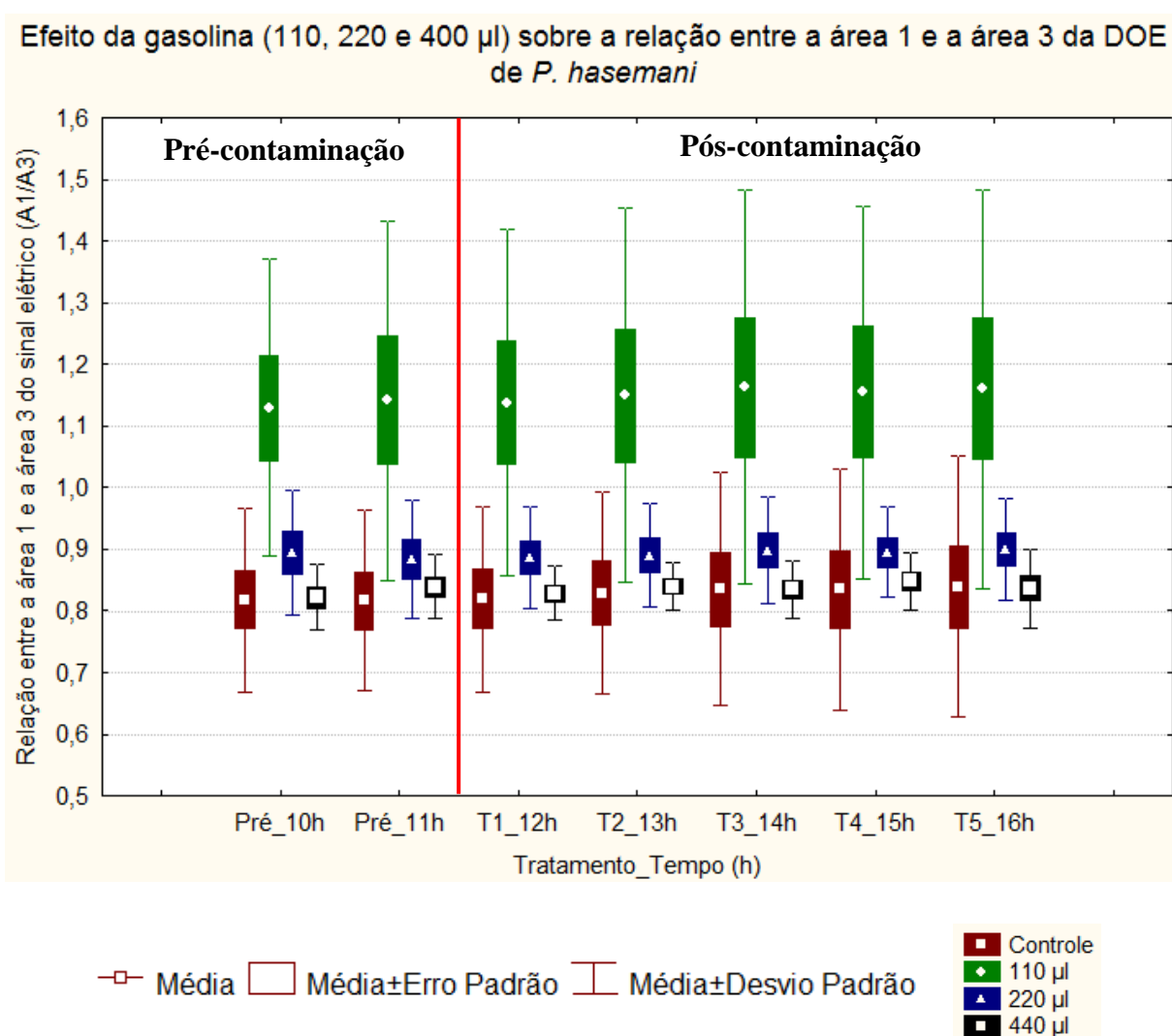


Figura 24: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Relação entre área 2 e área 4 (A2/A4) da DOE

A **Tabela 35** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para os grupos T1_12h, T2_13h, T3_14h e T5_16h foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na relação tempo e grupo, pelo fato da relação entre as áreas terem sido constantes ao longo do tempo (**Tabela 36**), porém notou-se que as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ e o grupo controle pertencem ao conjunto de amostras distintas, porém a possível diferença poderia ter sido significativa somente entre os grupos. Nas observações entre os grupos, o grupo controle (vermelho) teria apresentado maiores valores, seguindo de diminuição para 440 μl (preta), 220 μl (azul) e 110 μl (verde) que teria apresentado menores valores em relação às demais (**Figura 25**).

Tabela 35: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	6,05120	0,559678	7,34368	0,061714
Pré_11h	3	5,83217	0,491101	6,14335	0,104841
T1_12h	3	6,38462	0,554723	8,51256	0,036525*
T2_13h	3	10,04557	0,615513	11,33010	0,010068*
T3_14h	3	8,20785	0,537602	8,22506	0,041582*
T4_15h	3	5,28993	0,456246	5,28603	0,152011
T5_16h	3	7,83114	0,590760	8,86131	0,031193*

Tabela 36: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) e a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,3512	0,0195	0,9278	0,545793

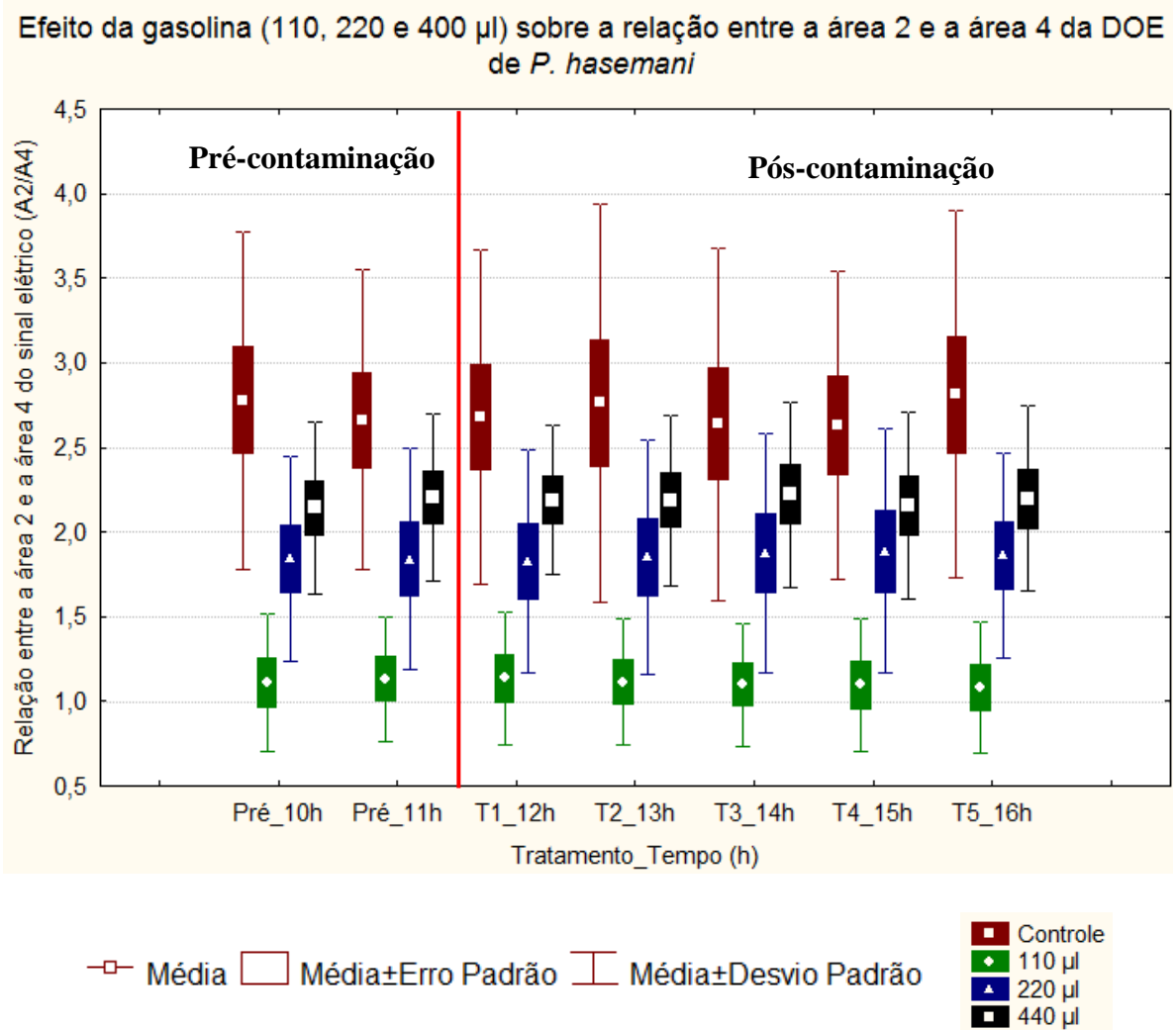


Figura 25: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Relação entre área 2 e área 1 (A2/A1) da DOE

A **Tabela 37** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para todos os grupos testados foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na relação tempo e grupo, pelo fato da relação entre as áreas terem sido constantes ao longo do tempo (**Tabela 38**), porém notou-se que as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ e o grupo controle pertencem ao conjunto de amostras distintas, porém a possível diferença poderia ter sido significativa somente entre os grupos. Nas observações entre os grupos, o grupo controle (vermelho) teria apresentado maiores valores, seguindo de diminuição para 440 μl (preta), 220 μl (azul) e 110 μl (verde) (**Figura 26**).

Tabela 37: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	11,98075	0,611057	12,73471	0,005247*
Pré_11h	3	10,15290	0,625396	12,70683	0,005315*
T1_12h	3	12,74534	0,598623	13,82351	0,003156*
T2_13h	3	10,64926	0,594422	12,70764	0,005313*
T3_14h	3	8,96071	0,588874	11,78386	0,008161*
T4_15h	3	11,39690	0,595830	13,32158	0,003990*
T5_16h	3	8,02774	0,605124	11,28326	0,010289*

Tabela 38: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) e a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,0174	0,0010	0,4646	0,969895

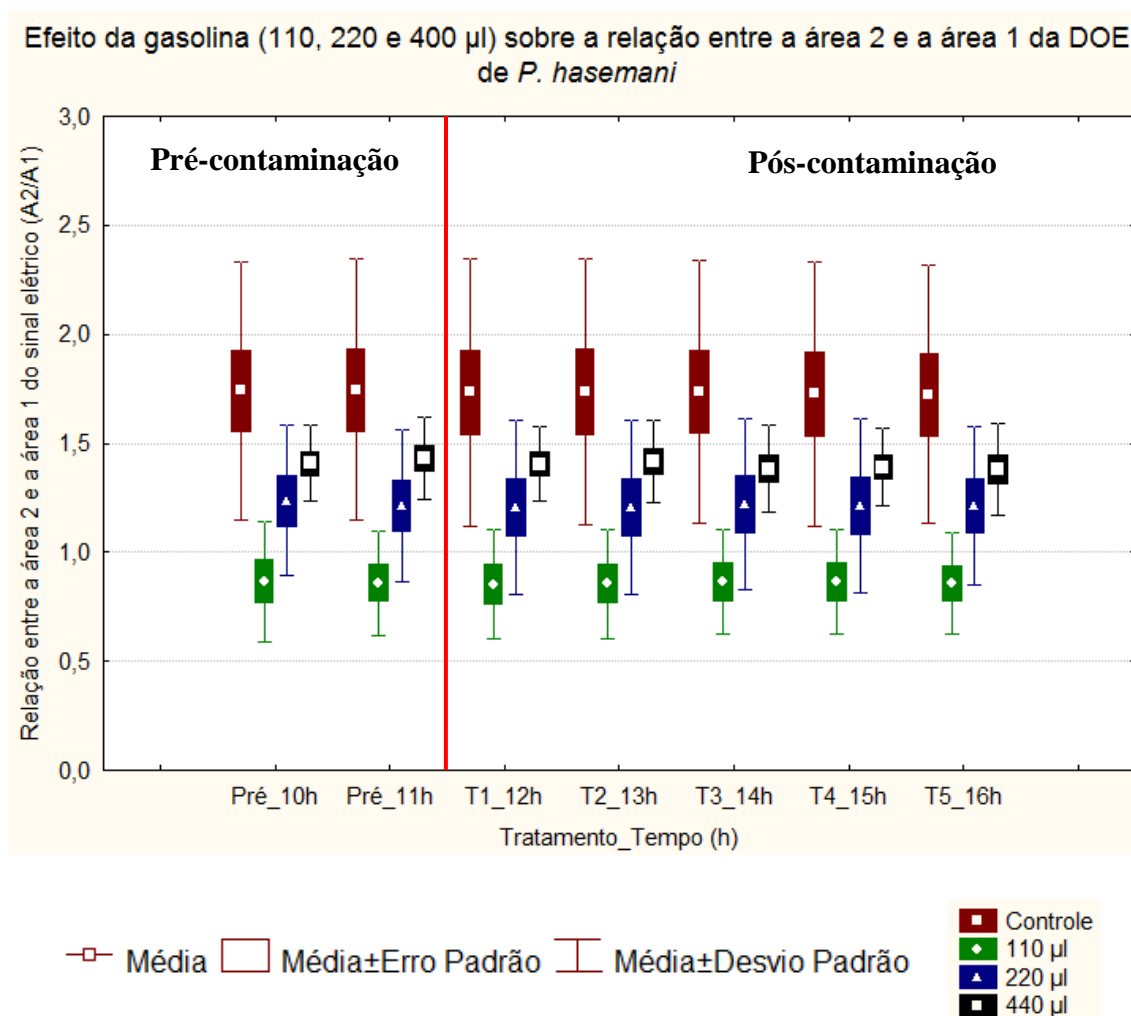


Figura 26: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Relação entre área 3 e área 4 (A3/A4) da DOE

A **Tabela 39** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para todos os grupos testados foram significativamente homogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na relação tempo e grupo, pelo fato da relação entre as áreas terem sido constantes ao longo do tempo (**Tabela 40**), porém notou-se que as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ e o grupo controle pertencem ao conjunto de amostras distintas, porém a possível diferença poderia ter sido significativa somente entre os grupos. Nas observações entre os grupos, o grupo controle (vermelho) apresentou maiores valores, seguindo de diminuição para 440 μl (preta), 220 μl (azul) e 110 μl (verde) (**Figura 27**).

Tabela 39: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações da gasolina (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	1,769350	0,328153	0,687919	0,876042
Pré_11h	3	1,279172	0,265979	0,171145	0,982107
T1_12h	3	3,003378	0,390224	2,892734	0,408461
T2_13h	3	3,531688	0,441122	3,309815	0,346279
T3_14h	3	3,649131	0,427723	3,371058	0,337874
T4_15h	3	2,018566	0,297950	1,133867	0,768905
T5_16h	3	3,410683	0,413044	2,931012	0,402385

Tabela 40: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com a gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 3 (A3) e a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,2485	0,0138	1,203	0,261264

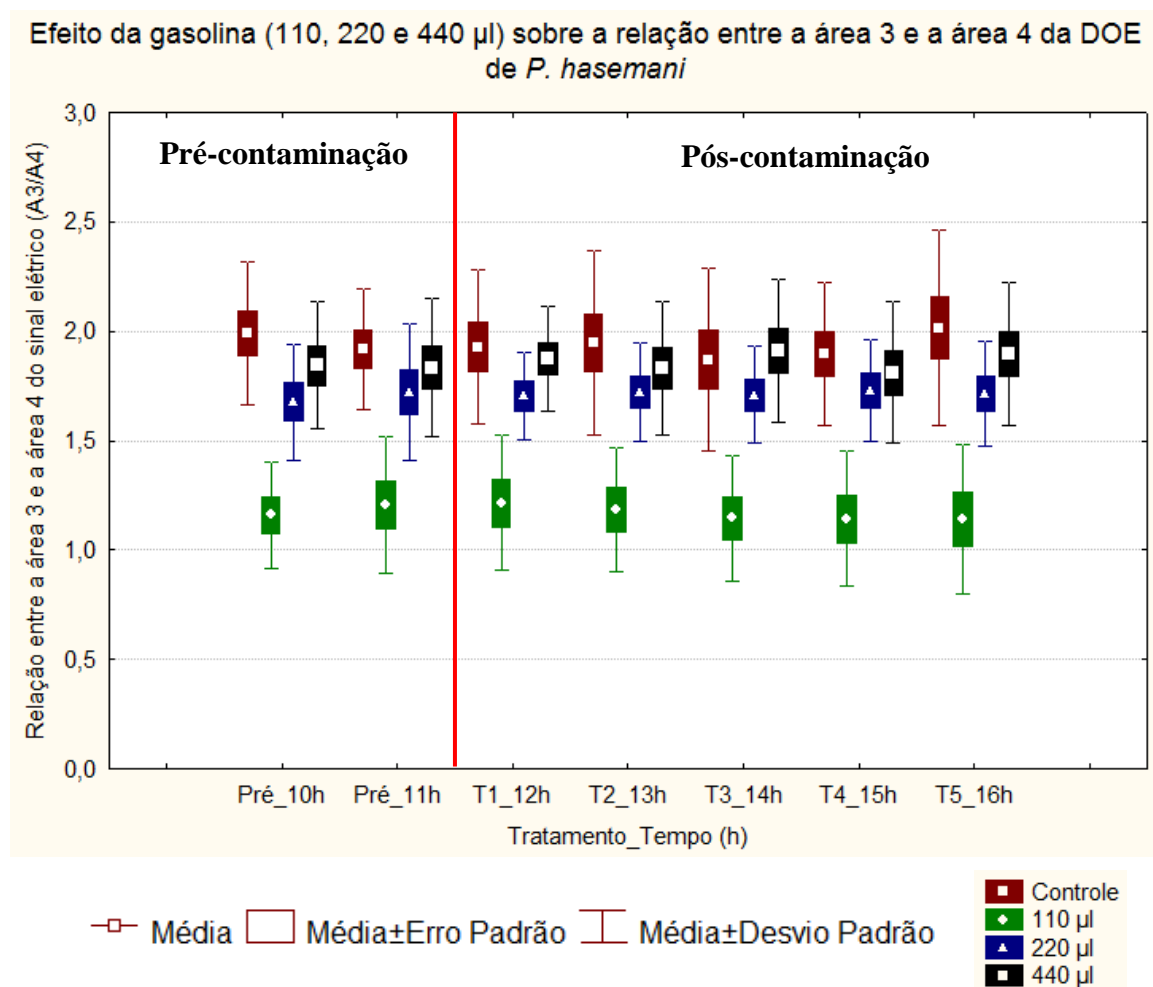


Figura 27: Efeito da gasolina (110, 220 e 440 µl/5L) sobre os valores médios da relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *P. hasemani*. Não houve diferença significativa.

Efeito do óleo diesel 110, 220 e 440 µl/5L sobre a DOE de *Parapteronotus hasemani*

Taxa de Repetição (Hz) da DOE

A **Tabela 41** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para os grupos pré-contaminação (Pré_10h e Pré_11h) e pós-contaminação (T1_12h, T2_13h, T3_14h) foram significativamente heterogêneos e, somente para o grupo T4_15h e T5_16h foi homogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 42**) e o pós-teste de Bonferroni (**Tabela 43**) detectou sete (07) combinações das interações significativas dentro dos grupos e em função do tempo para as concentrações 110 µl (verde) e 440 µl (preta). A concentração 110 µl (verde) diminuiu no T3_14h, T4_15h e T5_16h quando comparadas com o Pré_10h no início do experimento e a concentração 440 µl (preta) foi maior em T4_15h e T5_16h quando comparada com a concentração 110 µl. A concentração 440 µl (preta) no T4_15h foi maior do que o T3_14h e T5_16h da concentração 110 µl e no T5_16h foi maior do que o T3_14h e T4_15h da concentração 110 µl. O controle (vermelho) se manteve constante durante todo o experimento próximo da linha de base em zero e a concentração intermediária 220 µl (azul) não variou durante o experimento, porém pode ter causado um efeito de calmante nos indivíduos diminuindo o metabolismo, uma vez que retorna à linha de base no final do experimento no T5_16h, enquanto que as concentrações 110 e 440 µl se afastaram em sentidos opostos dos valores médios do controle em pós-contaminação. A concentração 110 µl causou diminuição da taxa de repetição no tempo mínimo de duas horas de exposição no T3_14h e a 440 µl (preta) causou aumento da taxa de repetição no tempo mínimo de três horas de exposição no T4_15h, com tendência ao reestabelecimento da DOE no final do experimento no tempo máximo de quatro horas de exposição, portanto, foram definidas como as concentrações mínimas detectáveis pela espécie *Parapteronotus hasemani* (**Figura 28**).

Tabela 41: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado X^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	8,88827	0,662656	10,51243	0,014677*
Pré_11h	3	8,88827	0,662656	10,51243	0,014677*
T1_12h	3	18,40235	0,746911	17,34893	0,000599*
T2_13h	3	37,81032	0,642692	19,04474	0,000268*
T3_14h	3	23,27550	0,444089	14,50015	0,002298*
T4_15h	3	6,24763	0,392398	6,68478	0,082653
T5_16h	3	4,70032	0,423072	5,97764	0,112703

Tabela 42: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,003513	0,000195	2,632204	0,000644*

Tabela 43: Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ de óleo diesel em função do tempo sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani* realizado com o pós-teste de Bonferroni. (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Interação Tempo*Grupo	Valor de p ($p \leq 0,05$)
110 Pré_10h*110 T3_14h	0,019361*
110 Pré_10h*110 T4_15h	0,009055*
110 Pré_10h*110 T5_16h	0,045299*
440 T4_15h*110 T3_14h	0,026730*
440 T4_15h*110 T5_16h	0,048115*
440 T5_16h*110 T3_14h	0,034517*
440 T5_16h*110 T4_15h	0,020674*

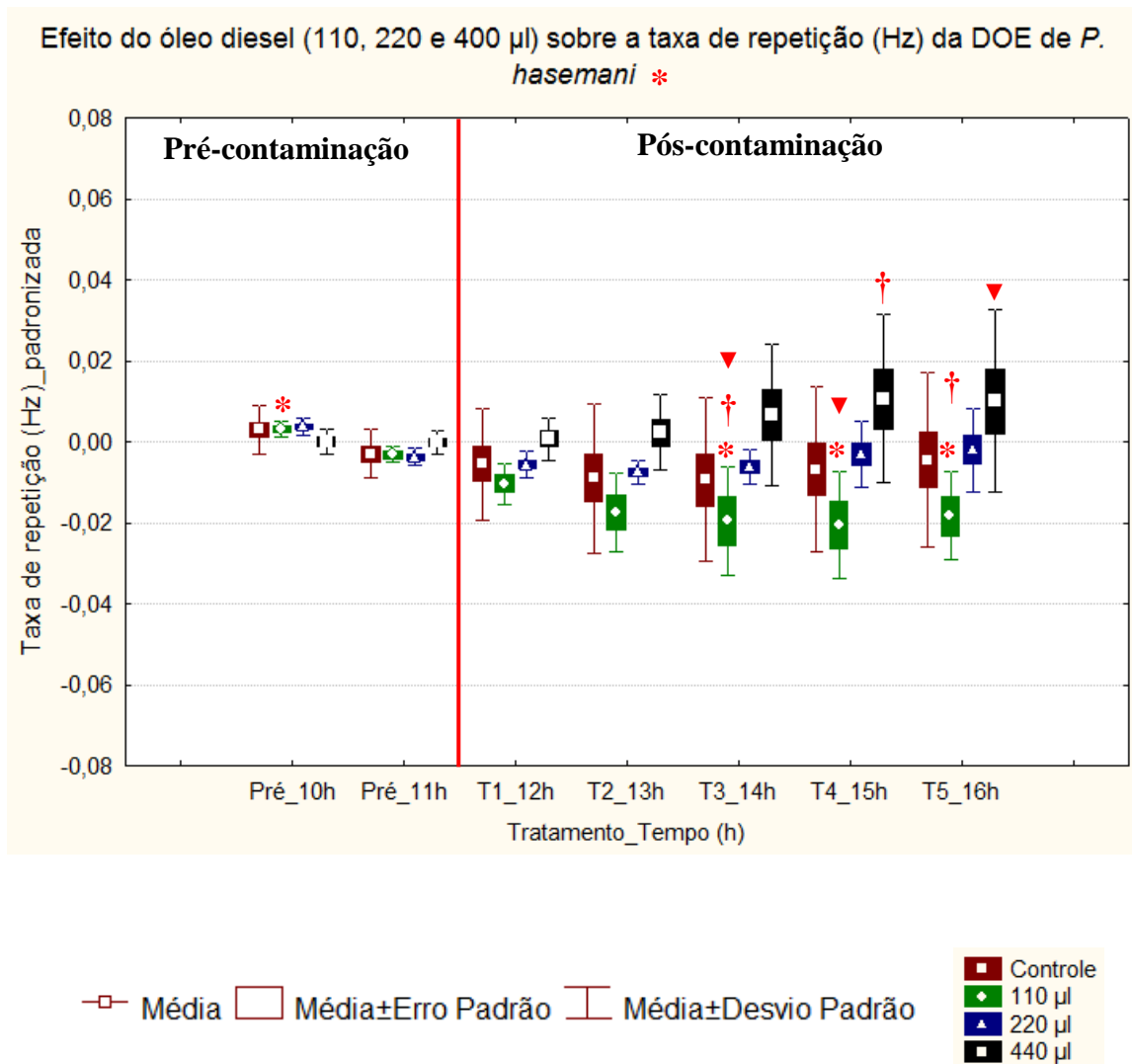


Figura 28: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Variação significativa para 110 e 440 μ l em direções opostas. A concentração 110 μ l foi detectada na 2^a hora de exposição no T3_14h e a 440 μ l (preta) foi detectada na 3^a hora de exposição no T4_15h. (*)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes na análise horizontal (tempo) e († ▼)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes na análise vertical (entre os grupos).

Coefficiente de Variação (CV) da DOE

A **Tabela 44** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para todos os grupos testados foram homogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação do tempo e grupo (**Tabela 45**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativa sobre o coeficiente de variação (CV), quando comparadas com Pré_10h e Pré_11h e dentro dos grupos de pós-contaminação. Nas observações dentro dos grupos de pré e pós-contaminação, o controle (vermelho) apresentou-se mais próximo da linha de base zero, ou seja, permaneceu constante, porém, as demais concentrações poderiam ter sido diferentes, devido à diminuição em relação ao controle pré e pós-contaminação. Para 110 μl (verde) teria ocorrido diminuição em T1_12h e T2_13h, permanecido constante em T3_14h e T4_15h e diminuído em T5_16h. Para 220 μl (azul) teria ocorrido diminuição em T2_13h, permanecido constante até T4_15h e diminuído novamente em T5_16h e para 440 μl (preta) teria ocorrido diminuição em todos os tempos quando comparados ao controle (vermelho) e permanecido constante quando comparado com Pré_11h. (**Figura 29**).

Tabela 44: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre o coeficiente de variação (CV) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	6,374812	0,534772	6,839156	0,077205
Pré_11h	3	6,374812	0,534772	6,839156	0,077205
T1_12h	3	2,360169	0,393955	1,470699	0,689049
T2_13h	3	4,037730	0,448391	2,692378	0,441524
T3_14h	3	2,618720	0,422768	2,402665	0,493139
T4_15h	3	2,562504	0,349746	1,765988	0,622364
T5_16h	3	1,408786	0,287083	0,141678	0,986405

Tabela 45: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre o coeficiente de variação (CV) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,414358	0,023020	1,00094	0,461255

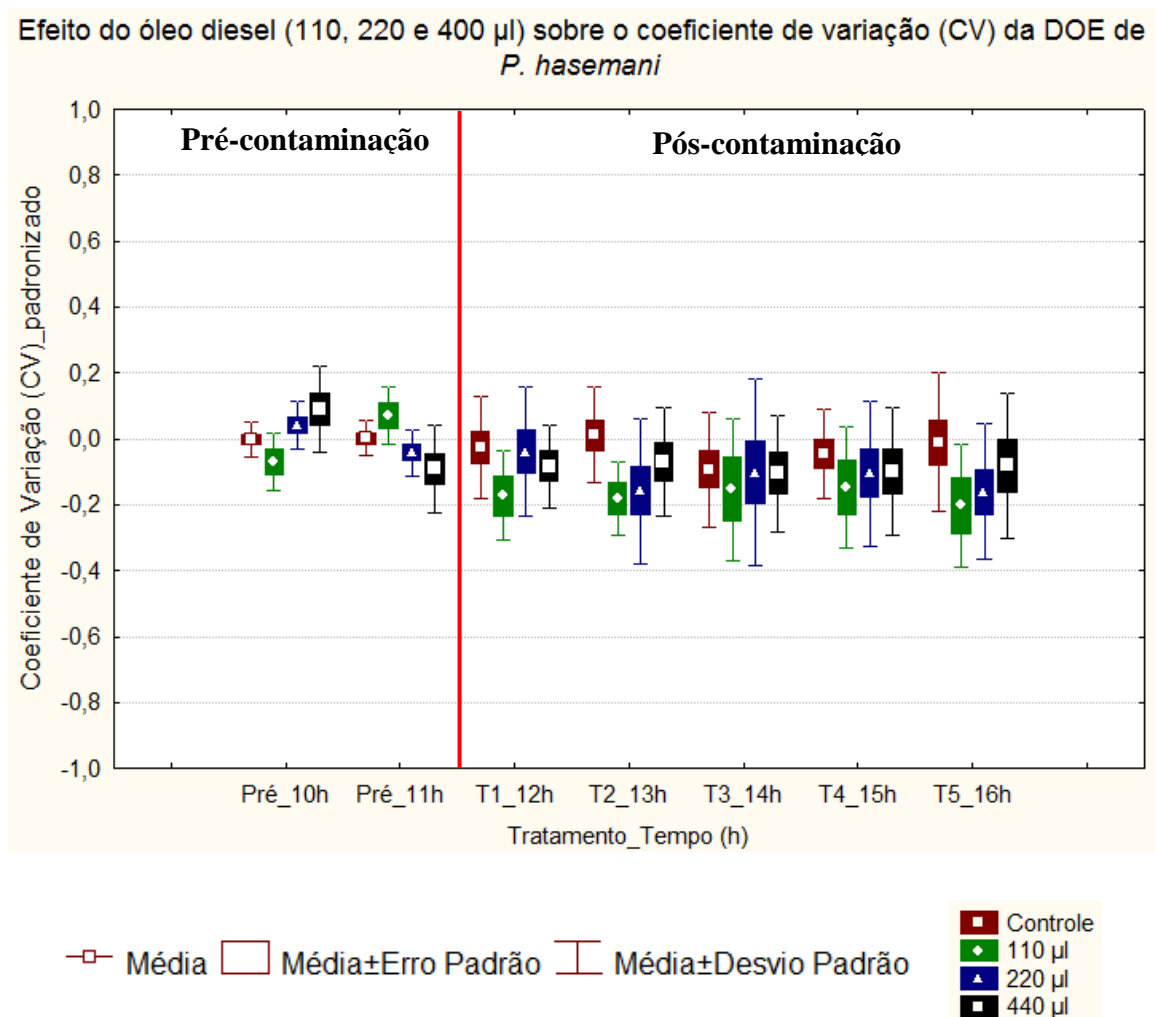


Figura 29: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre o coeficiente de variação (CV) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Relação Pico a Pico (PPrel) da DOE

A **Tabela 46** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para os grupos Pré_10h, Pré_11h e T5_16h foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 47**), porém notou-se que para a concentração 110 μl poderiam ter ocorrido diferença significativa na relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel), quando comparadas com Pré_10h, Pré_11h e dentro dos grupos de pós-contaminação. A concentração 110 μl (verde) poderia ter sido significativa devido à diminuição marcante no T1_12h, quando comparada com o Pré_10h, Pré_11h, com as concentrações e o grupo controle (vermelho), depois com o aumento no T2_13h até que atingiu o normal no T5_16h. Para 220 μl (azul) e 440 μl (preta), apesar de terem apresentado o padrão de variação semelhante, poderiam ter sido significativas com o aumento no T1_12h e T2_13h, quando comparada com Pré_10h e Pré_11h, com a diminuição em T3_14h e teriam se mantido constante até T5_16h. Na pós-contaminação todas as concentrações teriam se mantido abaixo do controle (vermelho) desde T1_12h até T4_15h, e estabilidade em T5_16h, pelo fato de terem apresentado valores próximos dentro do grupo (**Figura 30**).

Tabela 46: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	9,232757	0,510373	8,94797	0,029991*
Pré_11h	3	9,232757	0,510373	8,94797	0,029991*
T1_12h	3	7,443956	0,652395	7,53065	0,056776
T2_13h	3	7,739896	0,442191	6,87870	0,075866
T3_14h	3	2,704267	0,381340	2,93351	0,401991
T4_15h	3	3,272008	0,489026	3,47991	0,323378
T5_16h	3	9,709801	0,581133	10,86807	0,012461*

Tabela 47: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,000069	0,000004	1,107110	0,349276

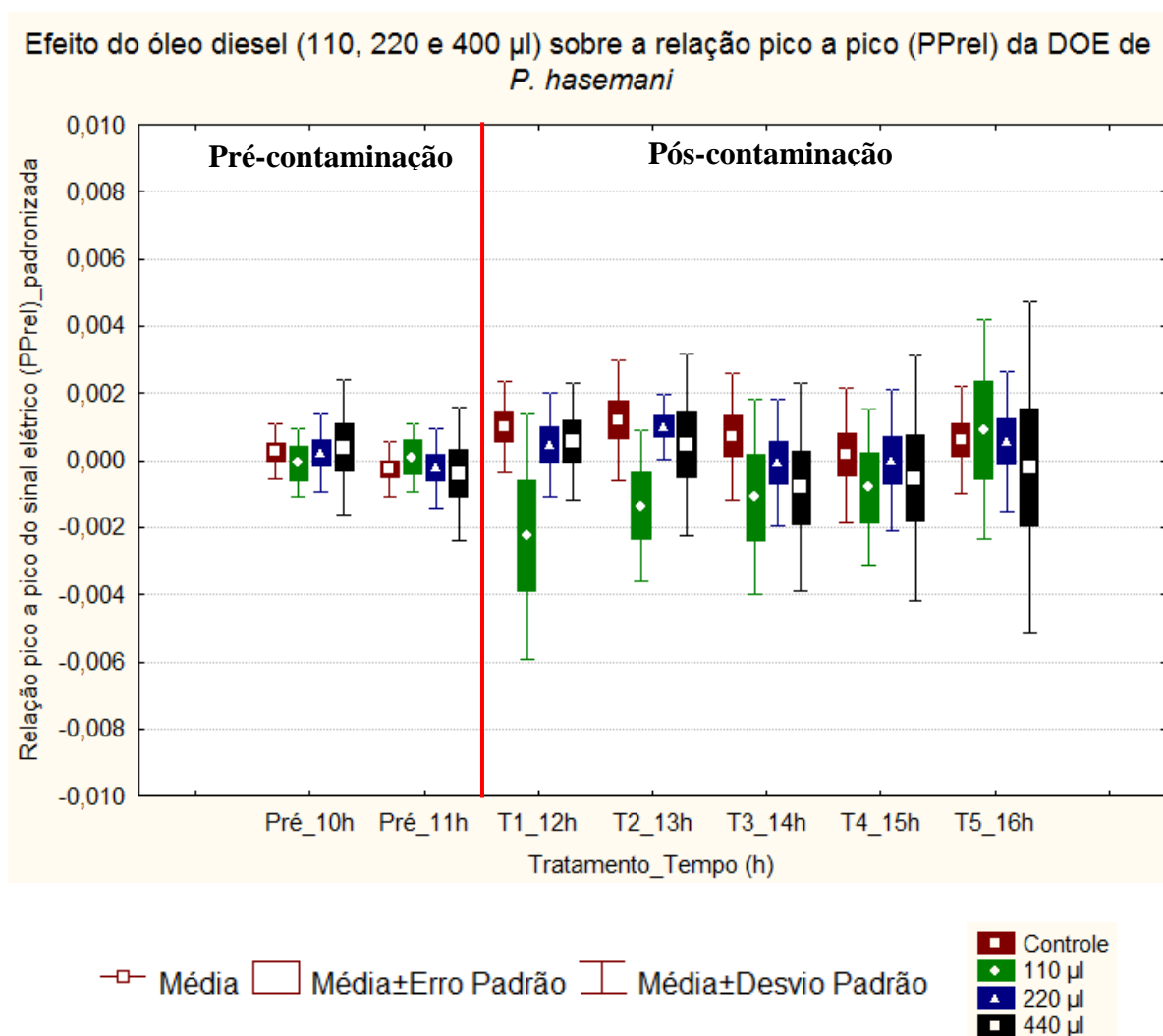


Figura 30: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre o a relação pico a pico do sinal elétrico (PPrel) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Área 1 (A1) da DOE

A **Tabela 48** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para os grupos T1_12h, T2_13h e T3_14h foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 49**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativa na área 1 (A1), quando comparadas com a pré-contaminação e dentro dos grupos de pós-contaminação. A concentração 220 μl (azul) foi a que teve maior possibilidade de ter sido significativa, devido ter apresentado mudança mais marcante durante o experimento. Observou-se que as concentrações 220 (azul) e 440 μl (preta) aumentaram no T4_15h e o controle (vermelho) no T5_16h, isso teria se tornando diferente da concentração 220 (azul) que foi menor em T1_12h. Além disso, o aumento da concentração 220 μl em T4_15h poderia ter sido diferente quando comparada com o Pré_11h (**Figura 31**).

Tabela 48: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	1,87517	0,331022	0,67761	0,878457
Pré_11h	3	1,87517	0,331022	0,67761	0,878457
T1_12h	3	7,66445	0,685637	10,71509	0,013371*
T2_13h	3	18,57868	0,727636	16,51890	0,000887*
T3_14h	3	28,01796	0,707694	14,97319	0,001840*
T4_15h	3	6,05985	0,383053	3,60052	0,307957
T5_16h	3	5,91489	0,420586	6,99020	0,072211

Tabela 49: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,002388	0,000133	0,580312	0,910195

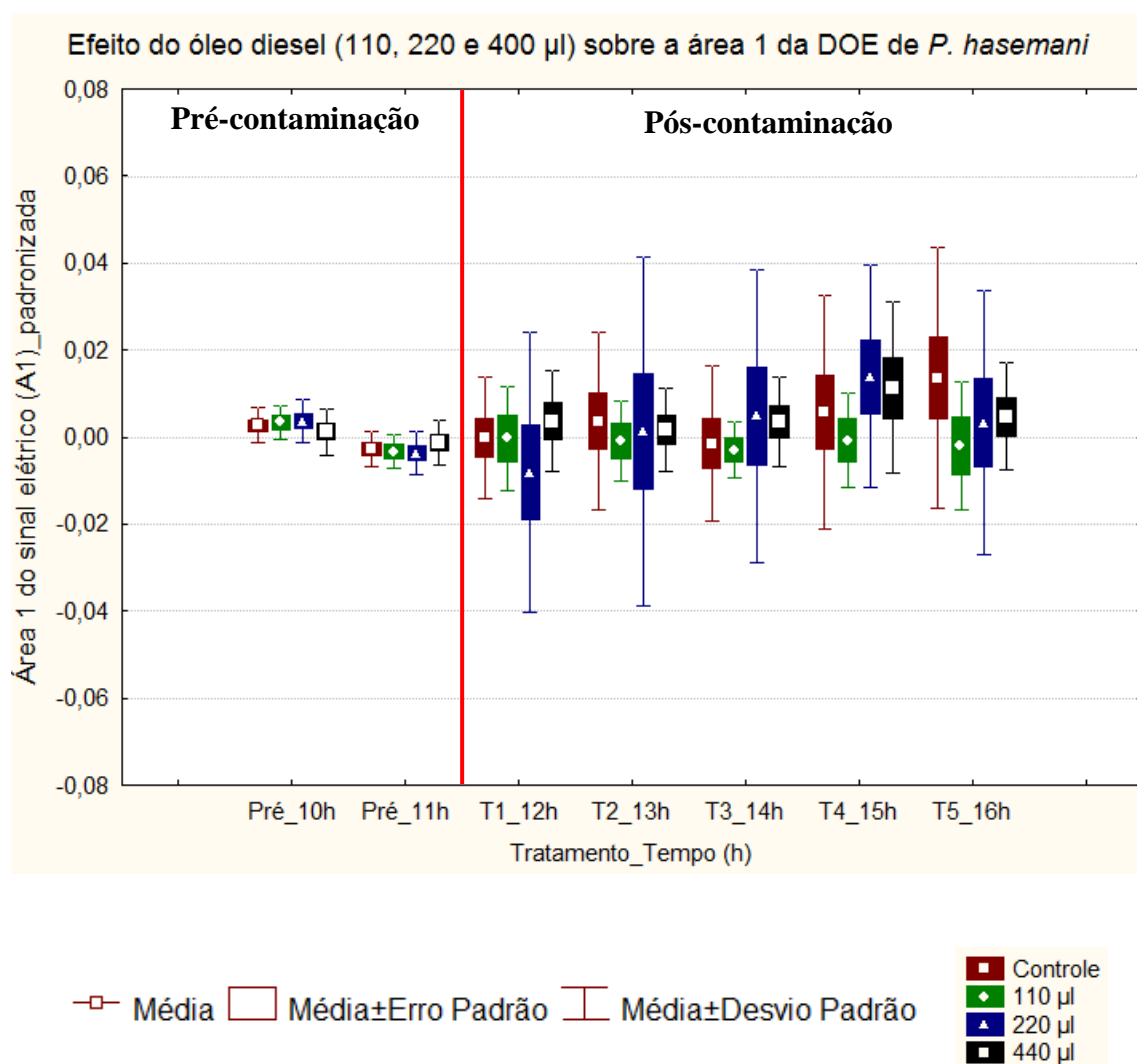


Figura 31: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Área 2 (A2) da DOE

A **Tabela 50** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para o grupo T2_13h foi significativamente heterogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 51**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativa na área 2 (A2) quando comparadas com os grupos da pré-contaminação e dentro dos grupos da pós-contaminação. As concentrações 110, 220 e 440 μl tiveram a possibilidade de aumento dentro dos grupos do T1_12h e T2_13h quando comparados com os grupos da pré-contaminação e com o controle (vermelho) da pós-contaminação. A concentração 110 μl (verde) teria apresentado aumento gradual ao longo do tempo e maior aumento com destaque no final do experimento. A concentração 220 μl (azul) teria se mantido constante na linha de base em zero ao longo do tempo, mas variou bastante nos desvios padrões quando comparados com os desvios padrões das outras concentrações. A concentração 440 μl (preta) teria aumento em T1_12h e T2_13h e controle (vermelho) teria se mantido constante em função do tempo (**Figura 32**).

Tabela 50: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferente (heterogêneo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	7,18558	0,494735	7,23479	0,064779
Pré_11h	3	7,18558	0,494735	7,23479	0,064779
T1_12h	3	9,06602	0,529838	7,18777	0,066148
T2_13h	3	17,66449	0,686275	11,48284	0,009382*
T3_14h	3	5,61885	0,566261	5,51024	0,138028
T4_15h	3	4,96745	0,431363	2,99086	0,393037
T5_16h	3	5,39736	0,467243	4,36180	0,224953

Tabela 51: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,028538	0,001585	1,276469	0,208887

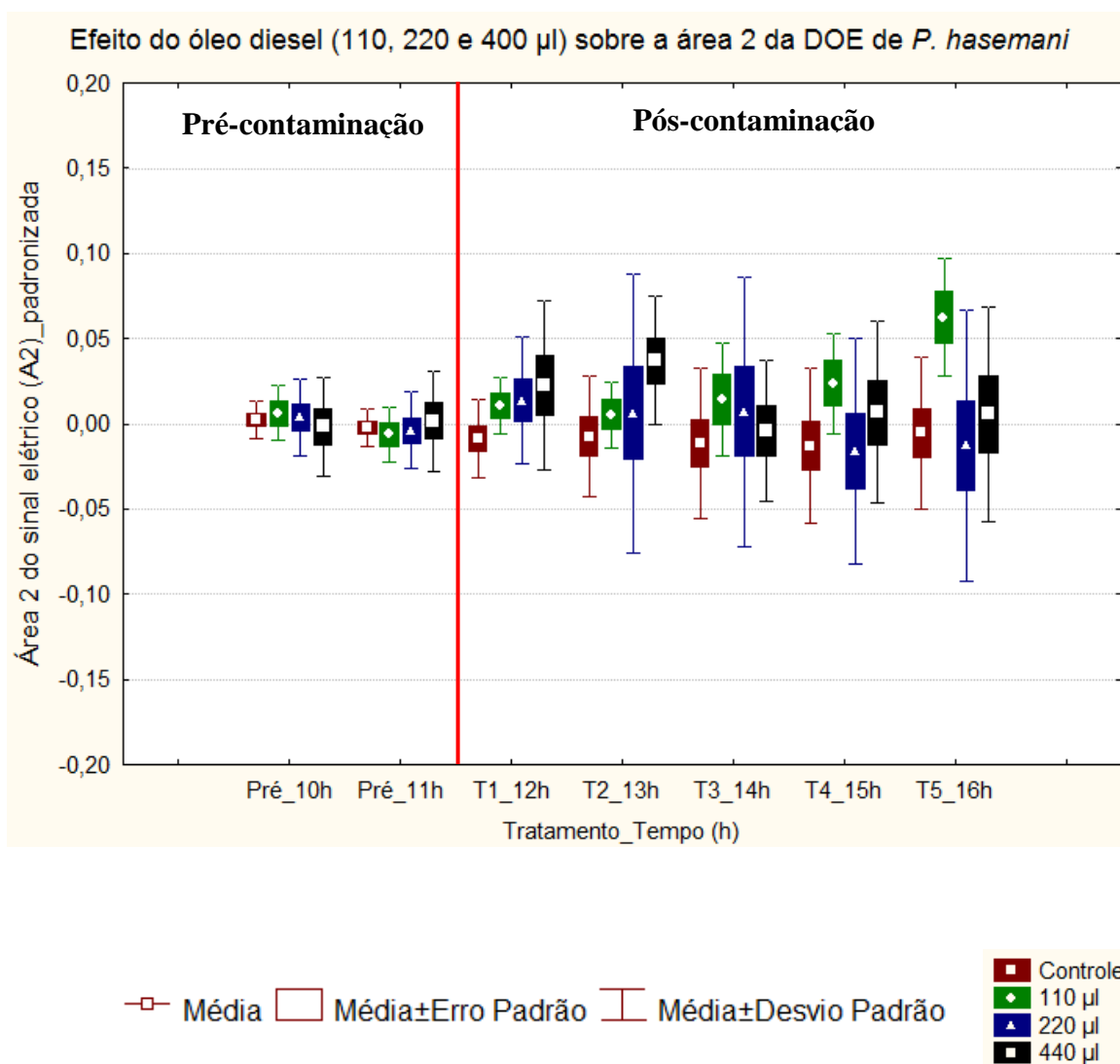


Figura 32: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a área 2 (A2) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Área 3 (A3) da DOE

A **Tabela 52** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para os grupos Pré_10h, Pré_11h e T2_13h foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo mostrou diferenças significativas para a variável analisada (**Tabela 53**) e o pós-teste LSD de Fisher detectou a mínima diferença significativa dentro dos grupos e em função do tempo para as concentrações 110 μl (verde), 220 μl (azul) e 440 μl (preta). A **Tabela 54** mostra as 24 interações possíveis e em resumo dessas combinações observou-se que a concentração 110 μl teve diminuição marcante no T5_16h e 440 μl no T2_13h e a concentração 220 μl aumentou no T5_16h. A concentração 440 μl (preta) no T2_13h foi considerada de maior interesse significativo, pelo fato de ter ocorrido diminuição significativa dentro das três horas do tempo mínimo para detecção do contaminante, apresentou diferenças ao longo do tempo no Pré_10h, T3_14h, T4_15h e T5_16h quando comparada com ela mesma e com 220 μl no T4_15h e T5_16h. A diminuição da concentração 110 μl no T5_16h foi significativa ao longo do tempo na horizontal com ela mesma e com o controle (vermelho) no Pré_10h e na vertical entre os grupos com a 220 μl no Pré_10h, T2_13h e T4_15h e com a 440 μl no Pré_10h, T3_14h e T4_15h. O aumento no T5_16h da concentração 220 μl foi significativo com ela mesma ao longo do tempo no Pré_11h, T1_12h e T3_14h, com o controle (vermelho) no T3_14h e entre os grupos com a concentração 440 μl (preta) no T1_12h, T2_13h e T3_14h. Portanto, a concentração 440 μl (preta) causou distorção com diminuição da área 3 no tempo mínimo detectável de uma hora de exposição no T2_13h pela espécie *Parapteronotus hasemani* (**Figura 33**).

Tabela 52: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley (F _{máx})	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado X ²)	Valor de p (p≤0,05)
Pré_10h	3	14,33592	0,627826	9,344588	0,025043*
Pré_11h	3	14,33592	0,627826	9,344588	0,025043*
T1_12h	3	5,29091	0,399776	3,543443	0,315171
T2_13h	3	8,04587	0,639844	9,846452	0,019917*
T3_14h	3	3,86085	0,473680	2,990935	0,393025
T4_15h	3	7,07203	0,515959	5,539333	0,136305
T5_16h	3	9,44907	0,534607	5,652302	0,129808

Tabela 53: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,036163	0,002009	1,666293	0,049854*

Tabela 54: Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 µl/5L de óleo diesel em função do tempo sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani* realizado com o pós-teste da mínima diferença significativa de Fisher (LSD, “Least Significant Difference”). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Interação Tempo*Grupo	Valor de p ($p \leq 0,05$)	Interação Tempo*Grupo	Valor de p ($p \leq 0,05$)
110 T5_16h*Controle Pré_10h	0,036786*	220 T5_16h*220 T1_12h	0,018203*
110 T5_16h*110 Pré_10h	0,025049*	220 T5_16h*220 T3_14h	0,012221*
110 T5_16h*110 Pré_11h	0,030319*	440 Pré_10h*110 T5_16h	0,047750*
110 T5_16h*110 T1_12h	0,019917*	440 T1_12h*220 T5_16h	0,041415*
110 T5_16h*110 T2_13h	0,004784*	440 T2_13h*220 T4_15h	0,009996*
110 T5_16h*110 T3_14h	0,018085*	440 T2_13h*220 T5_16h	0,002864*
110 T5_16h*110 T4_15h	0,029083*	440 T2_13h*440 Pré_10h	0,043949*
220 Pré_10h*110 T5_16h	0,045640*	440 T3_14h*110 T5_16h	0,012904*
220 T2_13h*110 T5_16h	0,041801*	440 T3_14h*440 T2_13h	0,005864*
220 T4_15h*110 T5_16h	0,004575*	440 T4_15h*110 T5_16h	0,013075*
220 T5_16h*Controle T3_14h	0,022007*	440 T4_15h**440 T2_13h	0,005987*
220 T5_16h*220 Pré_11h	0,049424*	440 T5_16h*440 T2_13h	0,021863*

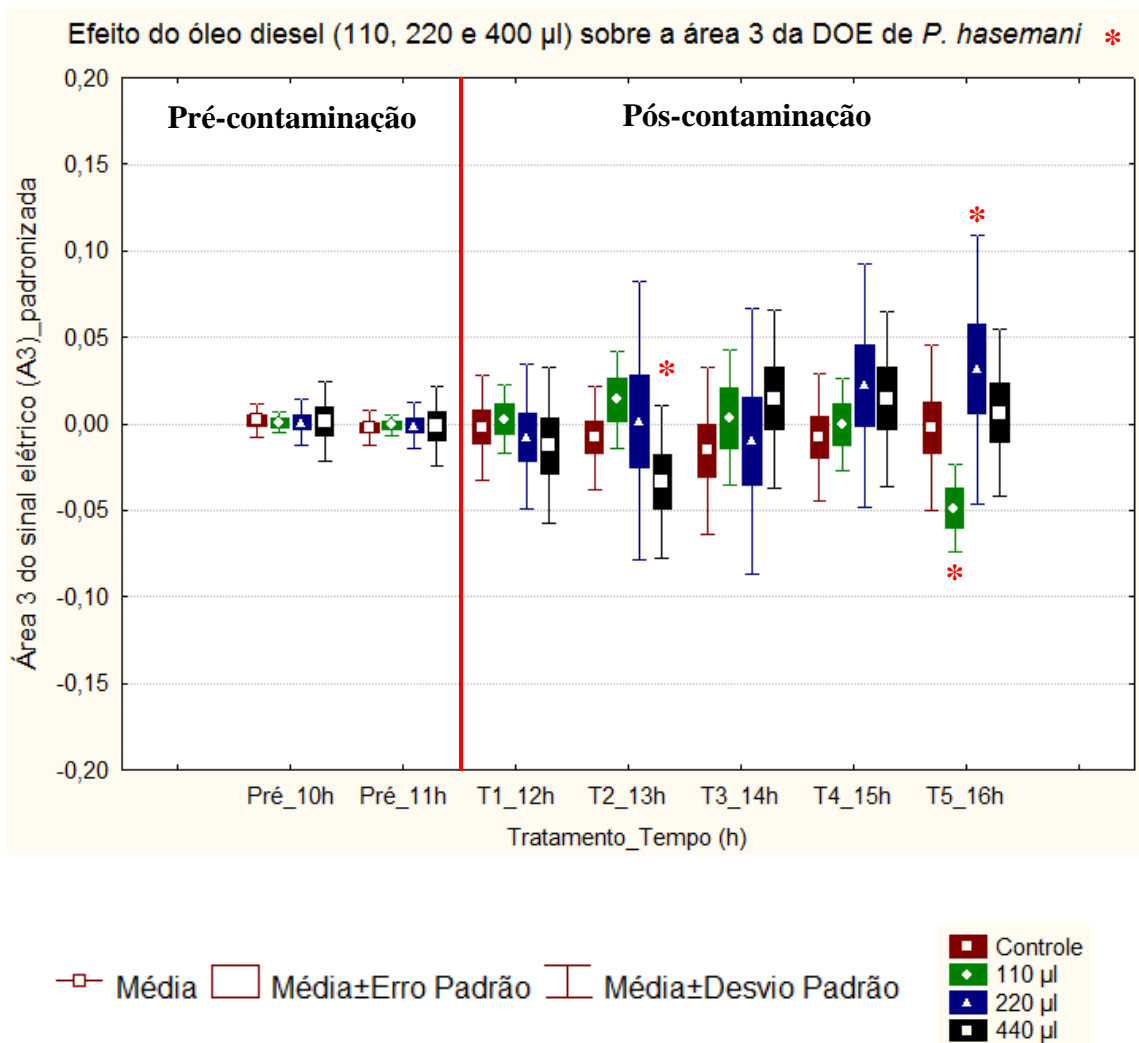


Figura 33: Efeito do óleo diesel sobre a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Variação significativa para 110, 220 e 440 µl/5L. A concentração 440 µl (preta) foi detectada na 1ª hora de exposição no T2_13h. (*)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Área 4 (A4) da DOE

A **Tabela 55** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para o grupo T4_15h foi significativamente heterogêneo. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 56**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativos na área 4 (A4) quando comparadas com os grupos da pré-contaminação e dentro dos grupos da pós-contaminação. As três concentrações testadas tiveram a possibilidade de diminuição quando comparadas com o controle (vermelho) da Pré_11h e da pós-contaminação. A concentração 110 μl (verde) teria apresentado diminuição ao longo do tempo com menor variação dos desvios padrões no T3_14h, a concentração 220 μl (azul) teria se mantido constante ao longo do tempo e diminuído em relação ao controle (vermelho) com menor variação dos desvios padrões no T4_15h, e a concentração 440 μl (preta) teria diminuído no T1_12h e T4_15h quando comparadas com o controle (vermelho) (**Figura 34**).

Tabela 55: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	1,312875	0,281068	0,187510	0,979580
Pré_11h	3	1,312875	0,281068	0,187510	0,979580
T1_12h	3	2,219285	0,403165	1,447414	0,694459
T2_13h	3	2,568359	0,397627	1,915695	0,590088
T3_14h	3	6,733824	0,466640	4,133048	0,247451
T4_15h	3	7,471024	0,530807	8,287030	0,040438*
T5_16h	3	3,146512	0,383693	2,467076	0,481271

Tabela 56: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= $n-1$ (tempo) * $n-1$ (grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,040509	0,002251	1,068098	0,388519

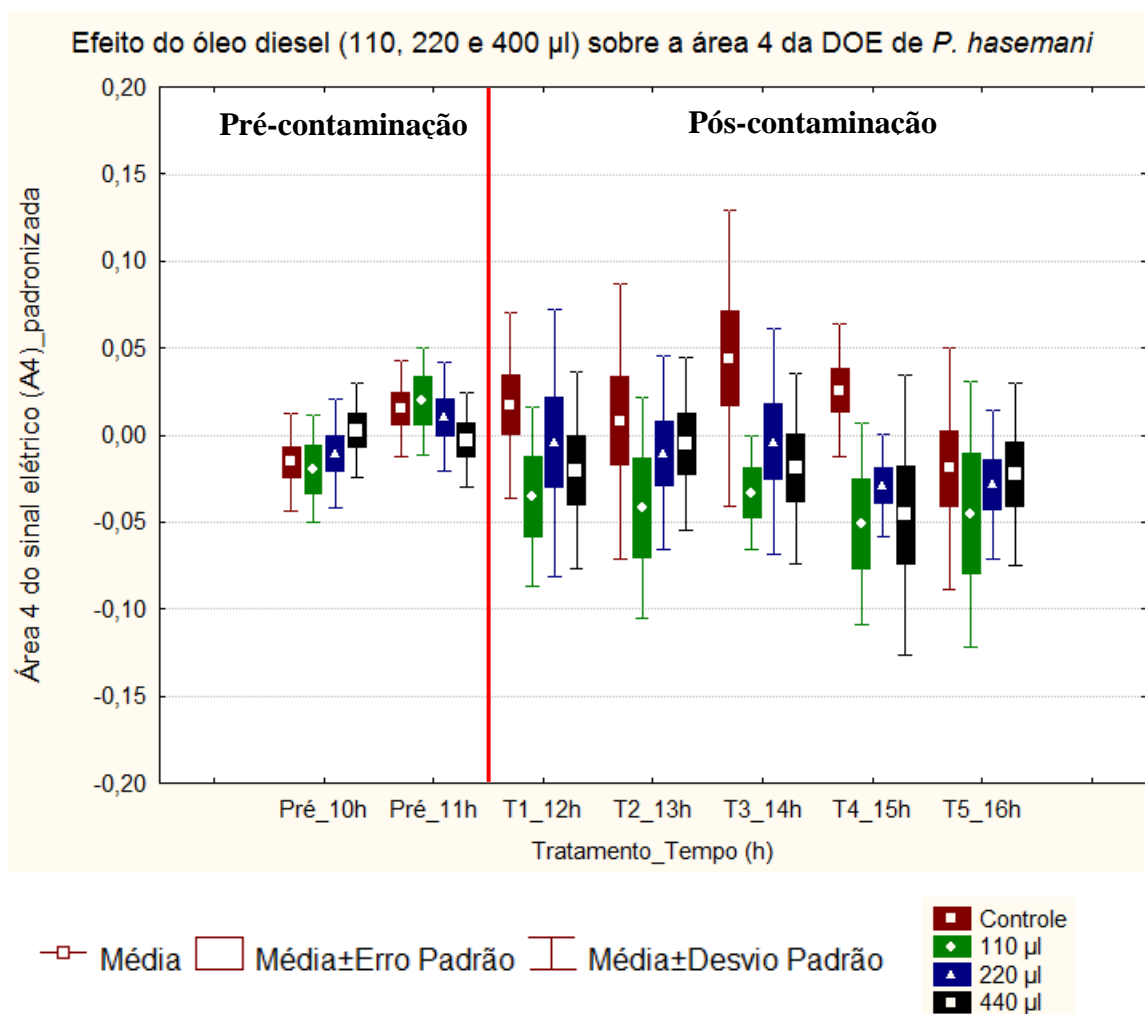


Figura 34: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) sobre a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Relação entre área 1 e área 3 (A1/A3) da DOE

A **Tabela 57** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que para os grupos T2_13h, T3_14h, T4_15h e T5_16h foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo mostrou diferenças significativas para a relação das áreas analisadas (**Tabela 58**) e o pós-teste LSD de Fisher detectou a mínima diferença significativa dentro dos grupos e em função do tempo para as concentrações 110 μl (verde), 220 μl (azul) e 440 μl (preta). A **Tabela 59** mostra as 12 interações possíveis e em resumo dessas combinações observou-se que a concentração 110 μl aumentou no T5_16h e 440 μl no T2_13h, e a concentração 220 μl diminuiu no T5_16h. A concentração 440 μl (preta) no T2_13h foi considerada de maior importância, pelo fato de ter ocorrido aumento significativo dentro das três horas do tempo mínimo para detecção do contaminante e apresentou diferença ao longo do tempo no Pré_10h, Pré_11, T3_14h, T4_15h e T5_16h quando comparada com ela mesma. A diminuição no T5_16h da concentração 220 μl (azul) foi significativa com ela mesma no T3_14h e, o aumento da concentração 110 μl (verde) no T5_16h foi significativa ao longo do tempo na horizontal com ela mesma desde Pré_10h até o T4_15h e, o controle (vermelho) se manteve constante em todo o experimento. Portanto, a concentração 440 μl (preta) causou distorção com aumento na relação da área 1 com a área 3 no tempo mínimo detectável de uma hora de exposição no T2_13 pela espécie *Parapteronotus hasemani* (**Figura 35**).

Tabela 57: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado X^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	5,23169	0,490844	5,00936	0,171113
Pré_11h	3	5,46997	0,527025	5,70250	0,127016
T1_12h	3	5,42762	0,484065	4,99151	0,172420
T2_13h	3	7,91091	0,564173	7,56785	0,055840*
T3_14h	3	9,57699	0,572480	8,67814	0,033891*
T4_15h	3	8,85792	0,590066	8,56429	0,035682*
T5_16h	3	13,81734	0,618023	11,17190	0,010832*

Tabela 58: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,0269	0,0015	1,690	0,045229*

Tabela 59: Interação dos grupos pré e pós-contaminação das concentrações 110, 220 e 440 µl/5L de óleo diesel em função do tempo sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani* realizado com o pós-teste da mínima diferença significativa de Fisher (LSD, “Least Significant Difference”). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Interação Tempo*Grupo	Valor de p ($p \leq 0,05$)
110 T5_16h*110 Pré_10h	0,034499*
110 T5_16h*110 Pré_11h	0,018032*
110 T5_16h*110 T1_12h	0,018032*
110 T5_16h*110 T2_13h	0,004868*
110 T5_16h*110 T3_14h	0,018055*
110 T5_16h*110 T4_15h	0,031867*
220 T5_16h*220 T3_14h	0,014997*
440 T2_13h*440 Pré_10h	0,027631*
440 T2_13h*440 Pré_11h	0,029618*
440 T3_14h*440 T2_13h	0,005278*
440 T4_15h*440 T2_13h	0,019917*
440 T5_16h*440 T2_13h	0,023381*

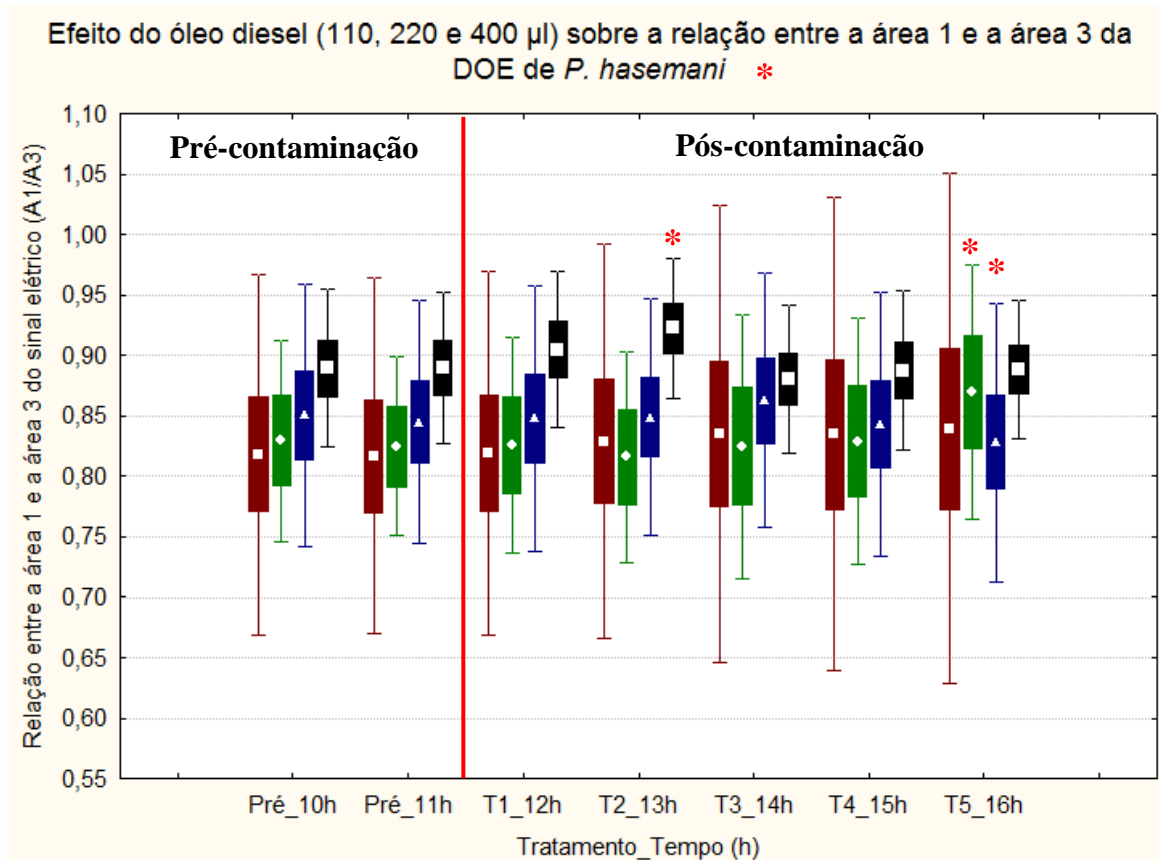


Figura 35: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre a relação da área 1 (A1) com a área 3 (A3) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Variação significativa para 110, 220 e 440 μ l. A concentração 440 μ l (preta) foi detectada na 1ª hora de exposição no T2_13h. (*)= valores de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes.

Relação entre área 2 e área 4 (A2/A4) da DOE

A **Tabela 60** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que somente para os grupos Pré_10h, T2_13h, T3_14h e T5_16h foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 61**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativos na relação da área 2 com a área 4 (A4) quando comparadas com os grupos da pré-contaminação e dentro dos grupos da pós-contaminação. As três concentrações testadas tiveram a possibilidade de diminuição quando comparadas com o controle (vermelho) da Pré_11h e da pós-contaminação. A concentração 110 μl (verde) teria apresentado aumento no T5_16h quando comparada com ela mesma no Pré_10h e Pré_11h e se mantido constante ao longo do tempo em relação ao controle (vermelho), a concentração 220 μl (azul) teria se mantido constante ao longo do tempo quando comparada com ela mesma e a concentração 440 μl (preta) teria diminuído no T5_16h quando comparadas com ela mesma no Pré_10h. As concentrações 220 μl (azul) e 440 μl (preta) teriam se mantido afastadas do controle (vermelho), na sequência que a 440 μl (preta) teria diminuído mais do que a 220 μl (azul) (**Figura 36**).

Tabela 60: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado X^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	8,04197	0,714835	12,53053	0,005770*
Pré_11h	3	3,90832	0,527402	4,87888	0,180884
T1_12h	3	6,16715	0,535220	6,30598	0,097637
T2_13h	3	7,75309	0,637513	9,89090	0,019517*
T3_14h	3	7,95554	0,650500	9,87863	0,019627*
T4_15h	3	6,30203	0,560053	6,84882	0,076876
T5_16h	3	13,68696	0,608646	12,57566	0,005650*

Tabela 61: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,527	0,029	1,3524	0,161890

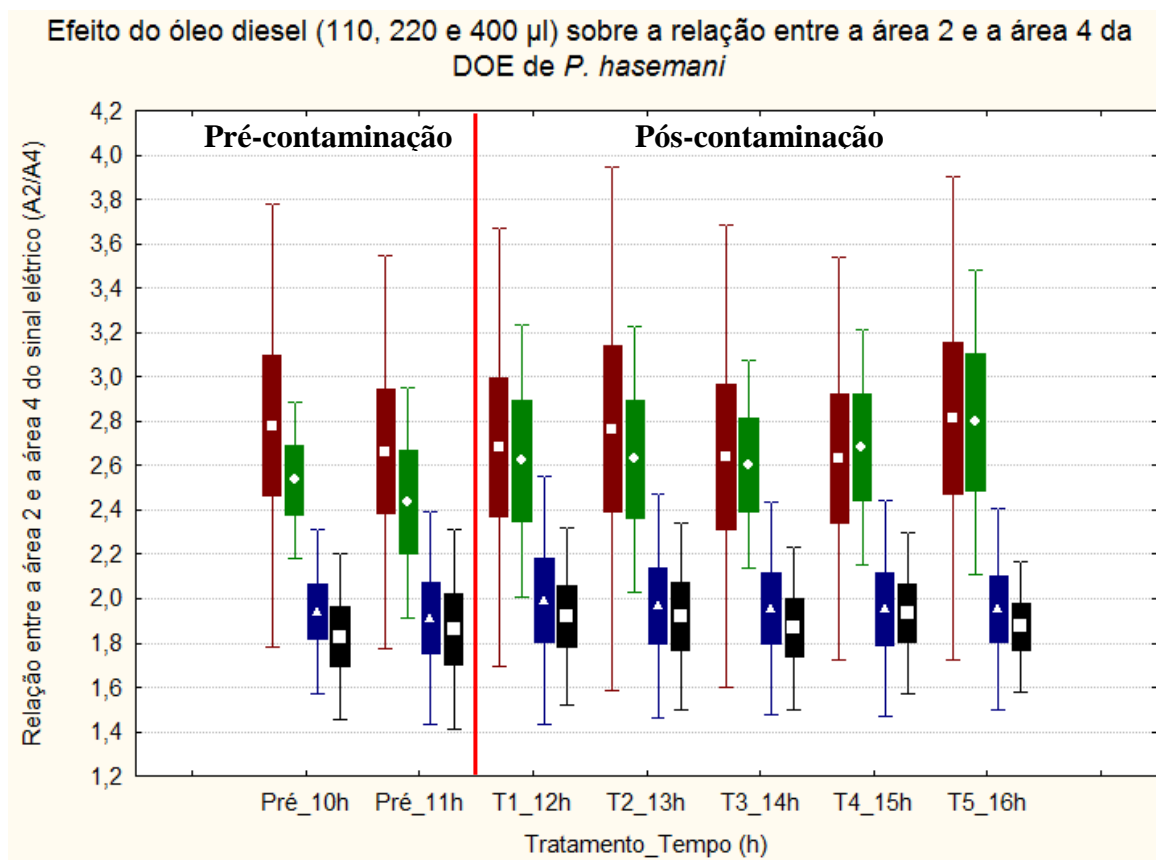


Figura 36: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 μ l/5L) sobre a relação da área 2 (A2) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Relação entre área 2 e área 1 (A2/A1) da DOE

A **Tabela 62** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que todos os grupos foram significativamente heterogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 63**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativos na relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) quando comparadas dentro dos grupos da pré e pós-contaminação. As três concentrações testadas tiveram a possibilidade de diminuição quando comparadas com o controle (vermelho) desde o início do experimento no Pré_10h até o final no T5_16h, a possível diferença teria sido a diminuição gradual da menor para a maior concentração, ou seja, na sequência de diminuição da concentração 110, 220 até 440 μl , porém na análise horizontal em função do tempo teriam sido mantidas constantes quando comparadas com elas mesmas (**Figura 37**).

Tabela 62: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo). (*)= valor de $p \leq 0,05$ significativamente diferentes (heterogêneos).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	9,202877	0,676081	11,14171	0,010984*
Pré_11h	3	7,899895	0,644183	9,59312	0,022361*
T1_12h	3	8,250953	0,678506	11,07814	0,011311*
T2_13h	3	7,127469	0,680473	10,74360	0,013196*
T3_14h	3	8,115125	0,674674	10,66794	0,013664*
T4_15h	3	8,730464	0,686773	11,31868	0,010122*
T5_16h	3	7,382517	0,674716	11,03394	0,011544*

Tabela 63: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,0611	0,0034	1,1008	0,355413

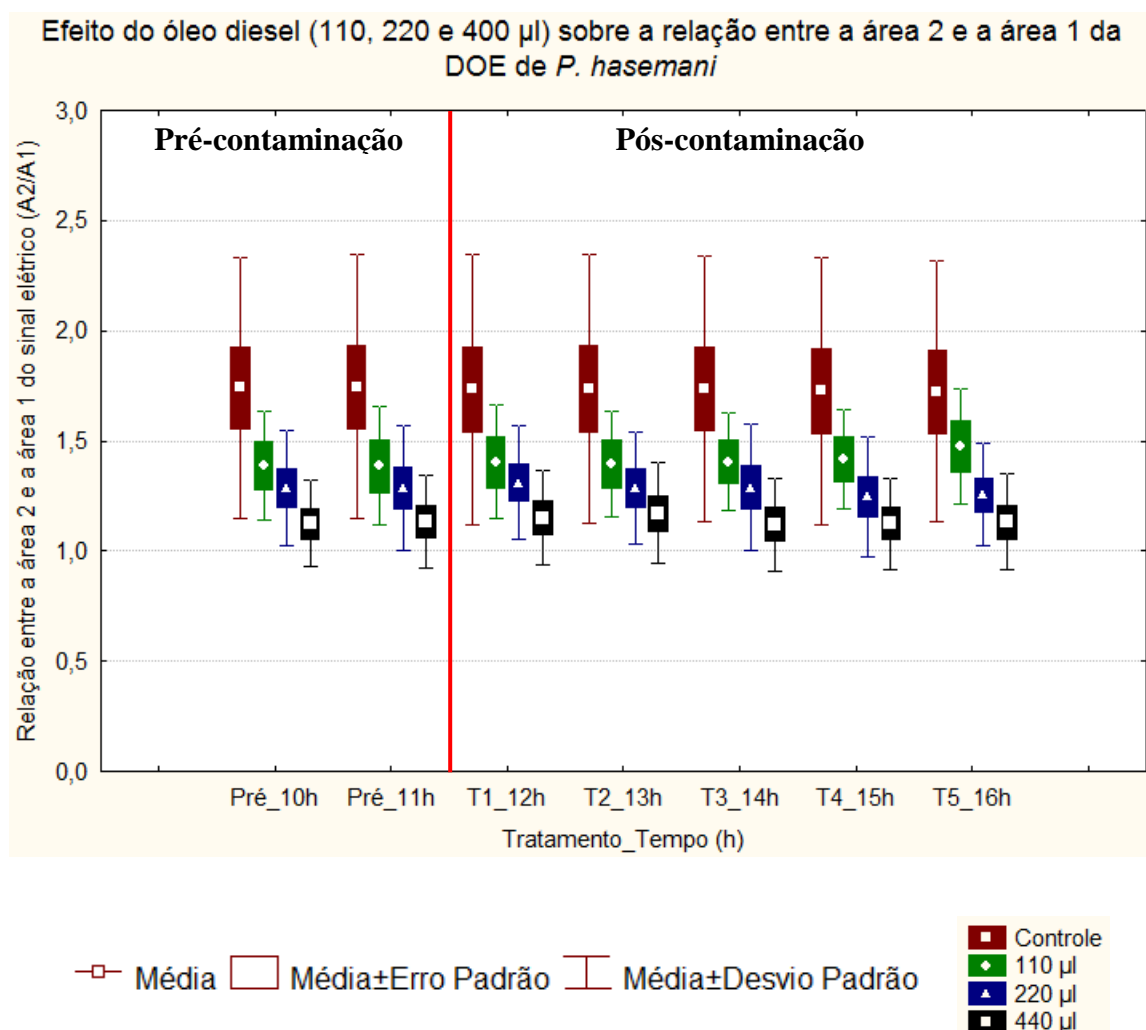


Figura 37: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a relação da área 2 (A2) com a área 1 (A1) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

Relação entre área 3 e área 4 (A3/A4) da DOE

A **Tabela 64** mostra os resultados do teste de homogeneidade realizado por meio de Hartley ($F_{\text{máx}}$), Cochran (C) e Bartlett (Qui-quadrado χ^2) e, observou-se que todos os grupos foram significativamente homogêneos. A análise de variância de medidas repetidas no tempo não mostrou diferenças significativas na interação tempo e grupo (**Tabela 65**), porém notou-se que para as concentrações 110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$ poderiam ter ocorrido aumento ou diminuição significativos na relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) quando comparadas dentro dos grupos da pré e pós-contaminação. As concentrações 220 e 440 μl tiveram a possibilidade de diminuição quando comparadas com o controle (vermelho) desde o início do experimento no Pré_10h até o final no T5_16h, e a 110 μl (verde) teria aumentado em relação ao controle (vermelho). Na análise horizontal em função do tempo, a concentração 110 μl (verde) teria tido possível diferença no T1_12h, T2_13h, T3_14h e T4_15h quando comparada com a pré-contaminação dela mesma, o controle (vermelho) e 220 μl (azul) teriam permanecido constantes ao longo do tempo, e a concentração 440 μl teria diminuído e reduzido os desvios padrões no T2_13h, que causaria um possível efeito da falta de movimento do animal (**Figura 38**).

Tabela 64: Teste de homogeneidade em função do tempo (h) para três grupos de concentrações de óleo diesel (110, 220 e 440 $\mu\text{l}/5\text{L}$) e grupo controle sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (grupo).

Tempo (h)	Grau de liberdade	Hartley ($F_{\text{máx}}$)	Cochran (C)	Bartlett (Qui-quadrado χ^2)	Valor de p ($p \leq 0,05$)
Pré_10h	3	4,306765	0,444092	2,797107	0,423976
Pré_11h	3	1,646377	0,318475	0,436660	0,932569
T1_12h	3	1,650200	0,330324	0,508113	0,917105
T2_13h	3	8,489691	0,405890	6,767047	0,079705
T3_14h	3	3,756930	0,397584	2,902766	0,406861
T4_15h	3	2,521458	0,337099	1,600229	0,659338
T5_16h	3	3,931029	0,406252	3,169465	0,366228

Tabela 65: Análise de variância de medidas repetidas no tempo para três grupos de concentrações com óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) e grupo controle no tempo de sete horas sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Grau de liberdade= n-1 (tempo) * n-1(grupo).

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	Valor de p (p≤0,05)
Tempo (7) *Grupo (4)	18	0,4001	0,0222	1,308	0,187955

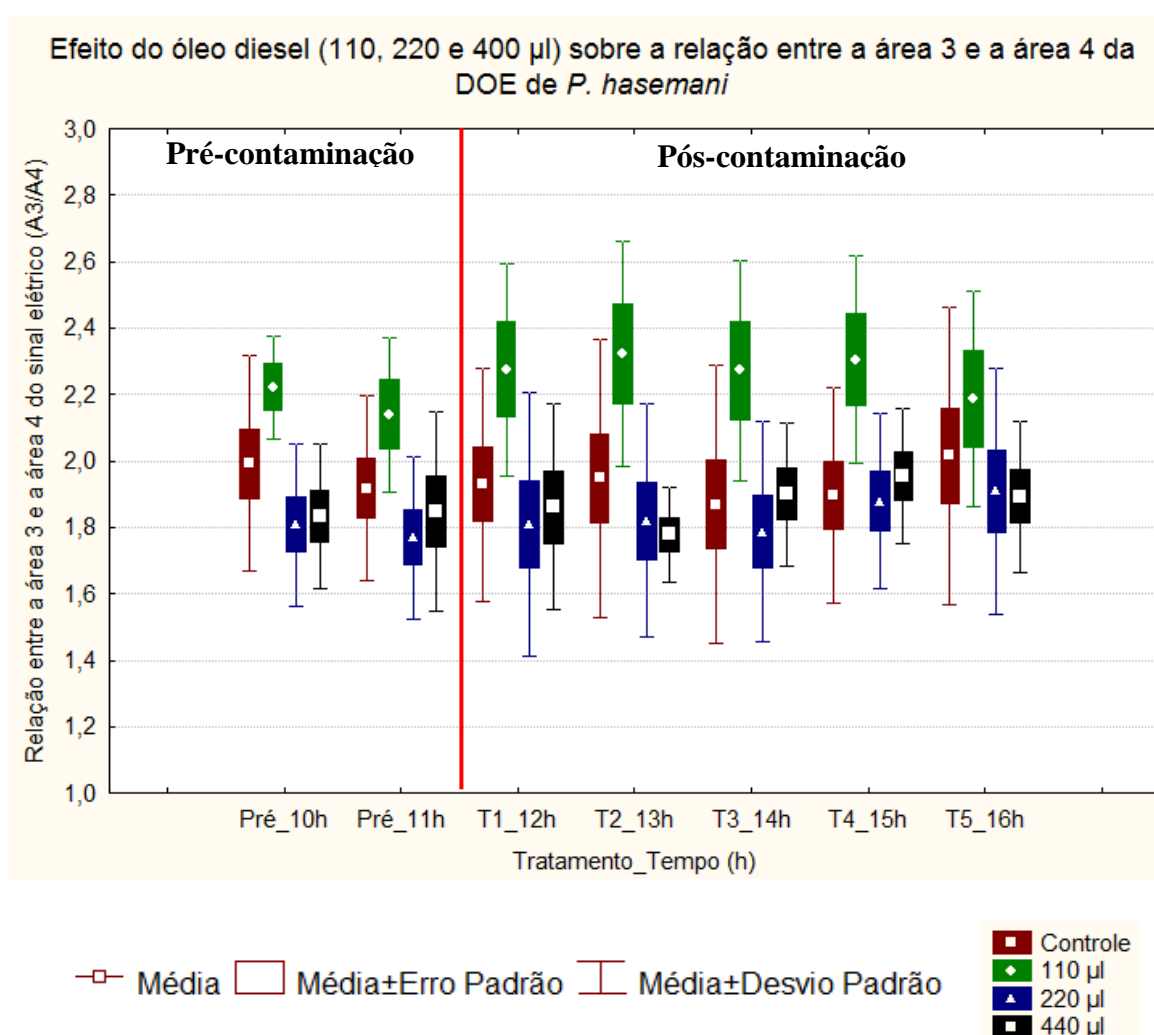


Figura 38: Efeito do óleo diesel (110, 220 e 440 µl/5L) sobre a relação da área 3 (A3) com a área 4 (A4) da DOE de *Parapteronotus hasemani*. Não houve diferenças significativas.

DISCUSSÃO

Ritmo circadiano de *Parapteronotus hasemani*

Um estudo clássico realizado por Lissmann e Schwassmann 1965, sobre atividade rítmica ou ritmo biológico do peixe elétrico pulsador (sarapó) da Ordem Gymnotiformes, o *Gymnorhamphichthys hypostomus* exposto em 100% luz e escuro, 50% luz e escuro por mais de 24 h, estes autores observaram que durante o dia o peixe ficava enterrado na areia e a frequência instantânea da descarga do órgão elétrico permanecia baixa (10-15 Hz); logo depois do pôr do sol e durante toda a noite o peixe nadava livremente, e a frequência aumentava (65-100 Hz) até diminuir sua atividade antes do amanhecer. Assim como todo gimnotídeo, esta espécie apresenta hábito noturno e isto mostrou diferentes características comportamentais entre as fases de atividade e descanso, correlacionando estas duas atividades, a diferença da frequência instantânea da descarga do órgão elétrico foi marcante. O elevado aumento da frequência da descarga, que ocorreu quando o peixe emergiu da areia, forneceu um ponto de referência útil para determinar a fase do ritmo. A frequência instantânea da descarga não foi alterada e pareceu ser determinada pelo ritmo endógeno, mas sabe-se que em qualquer momento pode ser afetada por estímulos externos. O ritmo endógeno anulou os efeitos inibidores indiretos de um estímulo luminoso, pelo fato da luz ter tido pouca ou nenhuma influência direta sobre frequência instantânea da descarga, ou seja, o peixe continuou ativo e descarregou em alta frequência para períodos prolongados na presença de luz, mesmo que a areia não estivesse disponível. Estas observações foram realizadas a fim de examinar em que medida estas variações das frequências instantâneas em *Gymnorhamphichthys hipostomus* poderiam ter sido consideradas como a consequência imediata de condições de estímulo do fotoperíodo, e até que ponto elas poderiam ser consideradas como a expressão de fenômenos cíclicos de natureza endógena. Stoddard *et al.* (2007) observaram que em períodos de 100% de luz, o *Brachyhypopomus pinnicaudatus* (Gymnotiformes) teve comportamento de atividade, natação livre durante a noite e inatividade durante o dia, ou seja, não afetou o hábito noturno da espécie.

Schwertner (2005) encontrou para *A. hasemani* (n=12) o padrão normal de 24 horas 100% luz valores médios Hz \pm desvio padrão de $764,06 \pm 51,20$, a menor foi $662,56 \text{ Hz} \pm 13,30$ e a maior foi $848,22 \pm 5,76$. A espécie *P. hasemani* apresentou o ritmo circadiano para 12 horas luz e 12 horas escuro valores médios absolutos globais Hz \pm desvio padrão

semelhantes, $782,83 \text{ Hz} \pm 58,70$, a menor foi $720,63 \text{ Hz} \pm 22,26$ e a maior foi $927,34 \text{ Hz} \pm 10,29$ (**Tabela 2**). É provável que, o ciclo luz/escuro não tenha afetado a atividade endógena para as espécies.

Nogueira (2006) caracterizou a DOE da espécie *Microsternarchus cf. bilineatus* durante o ciclo circadiano. Em valores absolutos, dentro do período de 24 horas as taxas de repetição das descargas variaram entre 33,7 a 146,3 Hz. As gravações foram determinadas em 12 h diurnas (6h30 às 18h15), neste período do dia a taxa de repetição da DOE foi de 35,4 a 122,5 Hz e em 12 h noturnas (18h30 às 6h15) foi de 33,7 a 146,3 Hz. Em valores médios $\text{Hz} \pm$ desvios padrões, dentro do período de 24 horas, a taxa de repetição foi de $96,1 \text{ Hz} \pm 10,1$ em 12 horas diurnas foi $84,3 \text{ Hz} \pm 12,8$ e em 12 horas noturnas foi $107,9 \text{ Hz} \pm 10,9$. Verificou-se que a média das taxas de repetição das descargas foi maior durante a noite ($p \leq 0,001$) e a média dos desvios padrões foi mais elevada durante o dia, demonstrando a irregularidade da descarga. Isto indicou que nos períodos de inatividade (período diurno), o órgão elétrico produz descargas em intervalos de tempo maiores, quando comparados com o período noturno em que as descargas foram mais elevadas e mais constantes. Segundo Bullock *et al.*, 1979, quando estes peixes estão ativos, alimentando-se, perturbados, ou de outro modo excitados, eles aumentam a taxa da descarga e está associado ao estímulo que o peixe interroga seu ambiente com maior frequência para detectar objetos e, desta forma obter a informação necessária à sobrevivência. O mesmo perfil do ciclo circadiano caracterizado para *Microsternarchus cf. bilineatus* foi observado nesta pesquisa para a espécie utilizada neste estudo, *Parapteronotus hasemani*, apesar de não ter sido exposta em 100% luz e escuro, foi exposta em 12 horas luz (07 às 18 h) e 12 horas escuro (19 às 06 h), porém apresentou respostas significativas com maiores taxas de repetição (média global absoluta $\text{Hz} \pm$ desvio padrão) durante a noite a ($794,08 \text{ Hz} \pm 55,64$) e menores taxas de repetição durante o dia ($771,57 \text{ Hz} \pm 59,72$). Isto demonstrou que os peixes de ambas as espécies aceleraram as taxas de repetição durante a noite, quando estavam ativos forrageando durante a alimentação. Este comportamento caracterizou que as espécies possuem hábito noturno corroborando com o que foi descrito por Lissmann e Schwassmann 1965; (Schwassmann, 1971a e 1971b; Reeb, 2002; 2008-2014 e Veras *et al.*, 2013. Nesta pesquisa com *P. hasemani*, observou-se que na 24ª hora às 18 h e na 1ª hora às 19 h houve o início do aumento da taxa de repetição precedendo a estabilidade da descarga a partir da 2ª hora às 20 h até antes do amanhecer por volta das 4 e 5 h (**Figura 9**). O aumento da taxa de repetição da descarga no final do dia demonstrou que ocorreu a atividade alimentar antecipatória por meio do ritmo biológico endógeno, isto é, a

capacidade que os peixes conseguiram prever com habilidade e anteciparam um recorrente evento que foi a alimentação (Schwassmann, 1971a e 1971b; Reeb, 2002; Veras *et al.*, 2013).

Ainda neste trabalho, a espécie *Parapteronotus hasemani*, entre o período 12 horas de escuro e o período 12 horas de luz, apresentou padrões de respostas dos parâmetros analisados, que não obtiveram respostas dos testes significativamente diferentes nos valores médios, mas estavam relacionados aos desvios padrões altos ou baixos. Padrão irregular ou mais variável foi observado na relação pico a pico (PPrel) do sinal elétrico, na área 2 (A2), na área 4 (A4), na relação da área 2 com a área 4 (A2/A4), na relação da área 2 com a área 1 (A2/A1), na relação da área 3 com a área 4 (A3/A4) não apresentaram valores significativamente diferentes, porém apresentaram variações nos desvios padrões que ocorreram principalmente no período diurno. Apenas coeficiente de variação (CV) apresentou desvio padrão irregular à noite. Parâmetros das descargas que apresentaram diferenças significativas entre o período da noite e dia, mas os desvios padrões permaneceram irregulares no período do dia foram: a taxa de repetição (Hz), área 1 (A1) e a relação da área 1 com a área 3 (A1/A3). Apenas a área 3 (A3) apresentou padrão irregular com variações durante o período noturno e diurno. Nogueira (2006), ao analisar os parâmetros dos sinais para a espécie pulsadora *Microsternarchus cf. bilineatus*, não encontrou diferenças significativas nas amplitudes relativas de cada área e para a duração relativa total do pulso em função do tempo. Isto se deve ao fato, porque a espécie de descarga tipo onda *Parapteronotus hasemani*, possui ter um órgão elétrico funcionando à base de sinapses elétricas e axônio mielínico, que além das bainhas de mielina servirem de isolante térmico e proteção para o axônio, ainda aumentam a velocidade de condução do estímulo elétrico que passa dentro dos neurônios. Isto permite regularidade nas descargas elétricas e é suficientemente estável para ser indicada como relógios biológicos (Waxman *et al.*, 1972; Bullock *et al.*, 1979).

Efeito da gasolina e do óleo diesel sobre a DOE de *Parapteronotus hasemani*

Os peixes elétricos são sensíveis às variações dos parâmetros físico-químicos da água, aos efeitos de contaminantes, causando aumento ou diminuição da taxa de repetição (Hz) que é um parâmetro fisiológico comportamental resultado da geração da descarga do órgão elétrico destes peixes, além disso, outros parâmetros podem ser afetados, como a forma da onda da DOE, quando explorada detalhadamente, sendo estes mensuráveis em tempo real e podem ser analisados por meio de métodos estatísticos, garantindo a confiabilidade dos

efeitos significativos, e sensíveis a drogas ou medicamentos (pentobarbital de sódio e diazepam) causando redução dos batimentos operculares, das nadadeiras e interrupções da DOE (Thomas *et al.*, 1996a e 1996b; Thomas *et al.*, 1997; Thomas *et al.*, 1998; Corrêa e Hoffmann, 1999; Thomas, 2000; Rossoni, 2005; Schwertner, 2005; Ferreira, 2006; Ferreira e Alves-Gomes, 2006a e 2006b; Ferreira, 2009; Ferreira, 2012; Ferreira *et al.*, 2015).

Nas pesquisas sobre os efeitos de contaminantes com peixes elétricos neotropicals, Rossoni (2005) testou para a espécie onduladora *Parapteronotus hasemani* em água de formação, um produto secundário da exploração do petróleo, nas seguintes concentrações: 1:10000 (1ml:10L), 2:10000 (2ml:10L) e 4:10000 (4ml:10L), o experimento teve duração total de três horas e o tempo de exposição ao contaminante foi de duas horas. Foi observada uma resposta imediata, associada à diminuição na frequência instantânea a partir do tempo inicial de exposição para as três concentrações. Ao analisar a variação do percentual das frequências instantâneas (%Hz) foi possível verificar que, com o aumento da concentração ocorreu diminuição de 99 a 94% da Hz e, a espécie foi mais sensível às menores concentrações de 1ml (98 a 94%Hz) e 2ml (98 a 95%Hz) e menos sensível à maior concentração de 4ml (99 a 97%Hz) mostrando valores próximos ao percentual das frequências das descargas padrão. Nesta pesquisa para a espécie *Parapteronotus hasemani* foi encontrado para óleo diesel em 440 µl:5L (0,44ml:5000ml), que é equivalente a 0,50ml:5000ml da primeira concentração 1:10000 (1ml:10L) utilizada por Rossoni (2005), que aproximadamente 50% de 1ml causou efeito no aumento da frequência instantânea ou taxa de repetição (Hz) na 3ª hora de exposição, distorção com diminuição da área 3 (A3) na 1ª hora de exposição e aumento da relação da área 1 com a área 3 (A1/A3) na 1ª hora de exposição. Ainda foi detectado efeito com a menor concentração de 110 µl/5L utilizada para óleo diesel que é equivalente a 0,11ml:5000ml, aproximadamente 10% de 1ml, que causou diminuição da frequência instantânea ou taxa de repetição (Hz) na 2ª hora de exposição (**Figura 28**).

A concentração intermediária 220 µl/L do óleo diesel poderia ter causado um efeito de parada ou diminuição do metabolismo dos indivíduos até a 2ª hora de exposição, pelo fato dos desvios padrões terem sido menores quando comparados aos do controle, isso poderia ter possibilitado a redução dos movimentos dos peixes quando foram captados pelos eletrodos inseridos na água para a gravação das DOEs. Corrêa e Hoffmann (1999) encontraram esse efeito de redução dos movimentos no peixe elétrico *Gymnotus carapo* quando submetido a drogas. Portanto, neste estudo foram definidas as concentrações 110 e 440 µl/5L, como as mínimas detectáveis pela espécie *Parapteronotus hasemani* dentro do tempo máximo de três

horas de exposição. Thomas *et al.*(1996a e 1996b) utilizaram o tempo máximo de 2 horas como o tempo limite para detecção em tempo real de cianeto de potássio (KCN) na DOE de *Apteronotus albifrons*, inferindo como tempo máximo de alerta para sistemas de biomonitoramento.

A diminuição da taxa de repetição foi observada por Schwertner (2005) quando expôs a espécie *Apteronotus hasemani* em diferentes concentrações de benzeno, tuoleno e xileno (BTX): 2 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, 100 mg/L e 100 mg/L + etanol (30%). Seus resultados evidenciaram uma diminuição para a maioria dos valores das frequências fundamentais dos peixes submetidos ao contaminante, nas concentrações 10 mg/L , 100 mg/L e 100 mg/L + etanol. Foi possível inferir com segurança que a espécie detectou BTX em concentrações a partir de 100 mg/L, devido à variação das frequências fundamentais nos primeiros 15 minutos de exposição e esta diminuição foi notoriamente marcante quando comparadas ao padrão normal. Os valores (média \pm desvio padrão) da Hz obtidos no início_(i) e final_(f) dos experimentos mostraram que a partir de 10mg/L a diminuição das frequências (757,98 \pm 55,31_(i); 748,60 \pm 57,65_(f)) foi sutil observada aos 90 a 120 minutos, em 100mg/L a frequência (840,10 \pm 74,06_(i); 823,55 \pm 69,60_(f) Hz) diminuiu aos 15 minutos e em 100mg/L + etanol a frequência (790,97 \pm 88,92_(i); 781,05 \pm 91,49_(f)) diminuiu aos 36 minutos de exposição. O aumento da concentração do contaminante diminuiu os valores das frequências instantâneas seguidas de reestabelecimento no final do experimento no tempo máximo de três horas. Uma vez que, o tempo médio de 5 horas é suficiente para volatilização dos compostos BTX, que estão presentes na gasolina e no óleo diesel (CONCAWE, 1988). No presente estudo a espécie *Parapteronotus hasemani* foi capaz de detectar a menor concentração de 110 μ l/5L de óleo diesel com a diminuição da taxa de repetição (Hz) na 2ª hora de exposição e para a maior concentração de 440 μ l/5L com aumento da taxa de repetição (Hz) na 3ª hora de exposição, com tendência de reestabelecimento da DOE no final do experimento no tempo máximo de quatro horas de exposição.

Nesta pesquisa, as mesmas concentrações de 110, 220 e 440 μ l/5L utilizadas para óleo diesel não causaram diferenças significativas para os parâmetros testados à exposição com a gasolina. Na análise da área 1 (A1) houve diferença significativa na interação dos grupos em função do tempo quando foi utilizada a ANOVA MR, porém foi refutada pelo pós-teste de Bonferroni. Por isso, recomenda-se aumentar a concentração da gasolina para o dobro da maior concentração utilizada 440 μ l/5L (2 x 0,44ml= 0,88ml) que é aproximadamente a 1ml/5L, seguindo de testes com 1,5 a 2ml para possível detecção significativa ao efeito

rejeitado na área 1 (A1) e para os outros parâmetros da DOE. Rossoni (2005) utilizou 1ml:10000ml ou 1ml:10L como a menor concentração de água de formação para *Parapteronotus hasemani* e detectou variações na taxa de repetição e forma da onda.

Outro fato interessante observado, para que as concentrações não tivessem sido significativas, foi à possibilidade de volatilização dos compostos hidrofóbicos, os hidrocarbonetos monoaromáticos do grupo BETX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros: orto, para e meta xilenos) presentes na gasolina. Devido à elevada solubilidade em água e toxicidade crônica (CONAWE, 1993; Corseuil e Alvarez, 1996; Chiaranda, 2006), as moléculas constituintes nesses compostos interagem rapidamente com a água quando comparados com as propriedades físico-químicas dos hidrocarbonetos policíclicos que possuem baixa mobilidade no meio ambiente (ATSDR, 2005). A volatilização dos hidrocarbonetos é o primeiro mecanismo de partição dos contaminantes, e pelo fato da gasolina brasileira possuir etanol anidro em sua constituição, favorece a volatilização dos principais hidrocarbonetos monoaromáticos voláteis deste produto (Pumphrey *et al.*, 2000; Cruz *et al.*, 2003) e ainda, a presença do álcool favorece o aumento da solubilidade dos hidrocarbonetos na água devido ao seu efeito cossolvente (diluyente) dos monoaromáticos e dos policíclicos aromáticos (HPAs) (Kaipper, 2003; Corseuil *et al.*, 2004; Tiburtius *et al.*, 2004). Observou-se que a adição do álcool etílico anidro combustível (AEAC) na gasolina comum tipo C comercialmente disponível nos postos de abastecimento do Brasil teve aumento de 25% em 2007 para 27% em 2015 (ANP, 2006; DOU, 2015), favorecendo ainda mais o aumento da facilidade de volatilização. Por isso, a gasolina deveria ter sido testada com maiores concentrações das utilizadas neste experimento, a fim de uma possível sensibilidade da espécie ao teor de BTEX e HPAs causando efeitos proporcionais nos parâmetros da DOE, mas para detectar a concentração mínima foi necessária a precaução para iniciar os experimentos com menores concentrações. Exposições mais elevadas e prolongadas poderiam causar desajustes fisiológicos para manter o equilíbrio osmótico dos indivíduos. Sinomato (2010), Sinomato, *et al.* (2011 e 2013) utilizaram a espécie neotropical *Prochilodus lineatus* como biomarcadora bioquímica à exposição da fração solúvel da gasolina que causou aumento das células cloreto nas lamelas branquiais que pode ter interferido nas trocas gasosas prejudicando a respiração e aumento na concentração de Na^+ após 24h na atividade enzimática da $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ (NKA) e osmolaridade, após 24 e 96h, e ainda causou lesões no fígado devido a ativação de enzimas biotransformadoras de xenobióticos.

O óleo diesel apresenta baixa volatilidade na água por não apresentar etanol em sua composição (Kaipper, 2003; Portal-BR, 2016), subentende-se que os compostos BTEX e HPAs permaneceriam por mais tempo interagindo com a água, ou seja, a solubilidade aconteceria lentamente, porque o óleo diesel apresenta maior quantidade de aromáticos totais e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (~24,8%) altamente tóxicos, se comparados à gasolina automotiva (~16,5%) (Kaipper, 2003). Neste estudo, o óleo diesel afetou a taxa de repetição (Hz), a área 1 (A1) e a relação da área 1 com a área 3 (A1/A3) nos experimentos quando utilizados com a maior concentração (440 µl/5L) e com a menor concentração (110 µl/5L) afetou com a diminuição da taxa de repetição (Hz). Não se sabe até que ponto, mas seria muito provável que em exposições prolongadas ou mais elevadas poderiam causar lesões nas brânquias e fígado dos espécimes. Sinomato (2006), Sinomato, *et al.* (2006 e 2008) encontraram mudanças bioquímicas, fisiológicas e histopatológicas no peixe neotropical *Prochilodus lineatus* quando expostos ao óleo diesel após 15 dias de exposição utilizando 40% da fração solúvel deste contaminante. Principalmente, lesões nas brânquias e o aumento significativo na atividade de enzimas hepáticas responsáveis pela excreção de compostos tóxicos, indicando a ativação das reações de biotransformação associadas ao metabolismo dos compostos presentes na fração solúvel do óleo diesel.

Ferreira (2009) estudou o efeito da gasolina comum e do óleo diesel sobre a taxa de repetição (Hz) da DOE do peixe elétrico neotropical *Microsternarchus bilineatus* e constatou variações significativas na taxa de repetição em 80% dos indivíduos testados desta espécie quando expostos aos contaminantes em concentrações de 110 e 220 µl/5L, sendo que, em 85,30% dos casos, as mudanças ocorreram na primeira hora de exposição. Ferreira (2012) utilizou a mesma metodologia do experimento da Ferreira (2009), porém realizou com a concentração de 440 µl/5L da gasolina comum e do óleo diesel sobre a taxa de repetição (Hz) de *Microsternarchus bilineatus* e resultou que 100% dos peixes testados diminuíram a taxa de repetição. Apesar das baixas concentrações testadas e variações individuais, *Microsternarchus* mostrou ter um ótimo potencial para ser utilizado como organismo biomonitor em ambientes controlados quando se utiliza como variável resposta à taxa de repetição ou frequência instantânea (Hz) desta espécie, uma vez que, esta variação foi comportamental resultando em aumento e diminuição da Hz. Principalmente, porque não foi possível afirmar se as concentrações utilizadas causaram efeito severo no metabolismo ou nas propriedades biofísicas (circuitos bioquímicos), uma vez que os peixes não foram a óbito e o objetivo era estabelecer a detecção do contaminante dentro do tempo máximo de três horas.

Como extensão da pesquisa de Ferreira (2009) e Ferreira (2012) com a espécie de peixe elétrico pulsadora *Microsternarchus bilineatus*, foi utilizada nesta pesquisa o mesmo delineamento experimental para a espécie *Parapteronotus hasemani* que possui a DOE do tipo onda. Os parâmetros da taxa de descarga do sinal (Hz) são definidos no núcleo marcapasso da medula, que por sua vez são regulados por meio de sinapses químicas em que os neurotransmissores excitatórios e inibitórios (GABA= ácido gama-aminobutírico, glutamato, acetilcolina, dentre outros) são responsáveis pela redução da velocidade de disparo, e sob a ação de drogas podem agir nos receptores de GABA facilitando a ação inibitória deste, causando distúrbios e agindo como depressor da atividade de geração das descargas elétricas (Corrêa e Hoffmann, 1999; Stoddard *et al.*, 2007), ou ainda, podem atuar gerando um excesso de acetilcolina na junção neuromuscular, impedindo a capacidade da célula despolarizar, provocando paralisia muscular, principalmente nos órgãos elétricos miogênicos. Muito provável, que tanto para *Microsternarchus bilineatus* em Ferreira (2009) e Ferreira (2012), e nesta pesquisa para *Parapteronotus hasemani* o efeito sob os contaminantes, gasolina e óleo diesel, possam ter causado inibição ou aumento das atividades das descargas do órgão elétrico agindo nos transmissores inibitórios ou excitatórios no sistema nervoso central (SNC) no núcleo marcapasso (NM).

Parâmetros da forma de onda, em contraste com os parâmetros da taxa de repetição (Hz) parecem ser regulados pela serotonina agindo nos receptores 5HT1A e 5HT2A (Stoddard *et al.*, 2007). A serotonina (5-HT) é uma monoamina envolvida na comunicação entre neurônios. Esta comunicação é fundamental para a percepção e avaliação do meio e para a capacidade de resposta aos estímulos ambientais. É um neurotransmissor que têm funções diversas, como o controle da liberação de alguns hormônios, na regulação do ritmo circadiano, do sono e do apetite. Em peixes elétricos, a serotonina atua como neurotransmissor fazendo contato com os neurônios dentro do lóbulo eletrosensório da linha lateral com as células eletroreceptoras espalhadas na superfície da pele do corpo desses peixes, permitindo sentir as modulações da forma da onda do sinal elétrico, que são geradas ao redor do corpo do peixe formando um campo elétrico (**Figura 1**). Influências sobre as respostas comportamentais, níveis elevados de 5-HT têm sido associados com diminuição da agressão e dominância social entre as espécies e aumento da percepção de estímulos associados a indivíduos agressivos (Deemyad *et al.*, 2013; Larson *et al.*, 2014). O aumento inibe os canais de potássio do 5-HT pelo antagonista 5HT2A reduzindo o número de “chirps” por unidade de tempo, uma vez que estes “chirps” (variações abruptas das despolarizações das

descargas) estão associados em comportamentos agonísticos e cortejo, enquanto que o 5HT1A não bloqueou os canais de sódio e potássio do 5-HT injetados no lóbulo da linha lateral de *Aptereronotus leptorhynchus* (Larson *et al.*, 2014). Muito embora não se soubesse até que ponto afirmar o efeito fisiológico do óleo diesel na distorção da área 3 (A3) e na relação da área 1 com a área 3 (A1/A3), mas provavelmente o distúrbio de aumento e diminuição nessas áreas poderiam ter causado inibição dos canais de potássio dos neurotransmissores da serotonina que se conectam ao lóbulo eletrosensório da linha lateral, afetando assim com aumento ou diminuição da área da forma da onda em *Parapteronotus hasemani*.

CONCLUSÕES

Ritmo circadiano de *Parapteronotus hasemani*

- ✓ Desvios padrões com valores mais altos indicaram irregularidades para a maioria dos parâmetros analisados no período diurno, ao contrário que, desvios padrões com valores mais baixos indicaram estabilidade ou regularidade dos parâmetros no período noturno;
- ✓ Os desvios padrões dos parâmetros analisados permitiram definir três tipos de padrões de circadianos: padrão irregular diurno, irregular noturno e padrão irregular noturno e diurno;
- ✓ Padrão irregular diurno: Hz, A1 e A1/A3 (significativos), PPre1, A2, A4, A2/A4, A2/A1 e A3/A4 (não significativos);
- ✓ Padrão irregular noturno: CV (não significativo);
- ✓ Padrão irregular noturno e diurno: A3 (significativo);
- ✓ Hz, A1 e A1/A3 (significativos), PPre1, A2, A4, A2/A4, A2/A1 e A3/A4 (não significativos) foram regulares e estáveis no período noturno;
- ✓ Hz foi estável, regular e constante no período noturno, apesar de ter apresentado valores mais altos nas taxas e a espécie estar em atividade à procura de alimento, o que não indicou irregularidade nesse parâmetro;
- ✓ CV foi instável ou irregular no período noturno, pelo fato de estar relacionado com as altas taxas de repetição (Hz) que ocorreram à noite;

- ✓ A3 foi instável ou irregular nos dois períodos noturno e diurno, a distorção dessa área ocorreu no final do dia até o início da madrugada, período que caracteriza a atividade noturna da espécie;
- ✓ A1 e A1/A3 foram regulares no período noturno, pelo fato de estarem associadas com a estabilidade das taxas de repetição (Hz);
- ✓ A espécie *Parapteronotus hasemani* possui hábito noturno, descarga elétrica estável e regular para a maioria dos parâmetros analisados no período noturno. Considerando a atenção para a análise dos seguintes parâmetros: Hz e a distorção das áreas A1, A3 e da relação das áreas A1/A3.

Efeito da gasolina e do óleo diesel sobre a DOE de *Parapteronotus hasemani*

- ✓ Os resultados obtidos até o momento mostraram *Parapteronotus hasemani*, mesmo para concentrações de óleo diesel abaixo do permitido, pode ter um ótimo potencial para ser utilizado como organismo biomonitor em ambientes controlados, montados em estações de monitoramento e, possivelmente desenvolver um Gymnotox na Amazônia para o período diurno. É cedo afirmar que *Parapteronotus hasemani* deve ser aplicado para condições ambientais naturais (*in situ*), para isso sugerem-se novos experimentos com a gasolina iniciando com o dobro da maior concentração utilizada 440 µl/5L (2 x 0,44ml= 0,88ml), seguindo de 1,5 a 2,0 ml, a fim de que o efeito significativo ocorra na maioria dos parâmetros testados;
- ✓ As concentrações 110 e 440 µl/5L do contaminante óleo diesel foram determinadas as mínimas detectáveis pela espécie *P. hasemani*, nos parâmetros taxa de repetição (Hz), distorção da área 3 (A3) e na relação de da área 1 com a área 3 (A1/A3), os mesmos parâmetros que foram significativos no ciclo circadiano.
- ✓ As taxas de repetições (Hz) do ritmo circadiano foram menores durante o dia, portanto, esperava-se que o padrão diurno fosse mais regular, pelo fato da diminuição do metabolismo do indivíduo. Porém, apresentou-se irregular, ao contrário do padrão estável no período noturno. Isso contribuiu para que a maioria dos valores do controle utilizado no mesmo horário do ritmo circadiano apresentassem maiores desvios padrões, quando comparados com as concentrações de gasolina e óleo diesel.

PERSPECTIVAS

O presente estudo apresentou novas possibilidades para estudos futuros, onde possa aprofundar as investigações iniciadas:

- ✓ Realizar experimentos dentro do período diurno de 12h com concentrações iniciando com o dobro da maior concentração utilizada 440 µl/5L nesta pesquisa, a fim de detectar diferenças significativas na maioria dos parâmetros da DOE;
- ✓ Realizar exposições com as mesmas concentrações utilizadas neste estudo 110, 220 e 440 µl/5L dentro do período noturno de 12h, onde as taxas de repetição das descargas são altas, estáveis e regulares para verificar se existem diferenças com o período do dia e desta maneira, contribuir para um sistema de biomonitoramento por 24 horas;
- ✓ Utilizar a água do mesmo local de coleta dos indivíduos ou ainda, no futuro obter equipamentos portáteis que permitem realizar gravações das descargas com a mesma precisão e qualidade realizada no laboratório e próximo ao local de coleta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albert, J. S. e Campos-da-Paz, R. 1998. Phylogenetic systematics of Gymnotiformes with diagnoses of 58 clades: a review of available data. *In*: Malabarba, L. R.; Reis, R. E.; Vari, R. P.; Lucena, Z. M. S.; Lucena, C. A. S. (Eds.). *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil. p. 419-446.

Albert, J. S. 2000. Species diversity and Phylogenetic systematics of American knifefishes (Gymnotiformes, Teleostei). *Miscellaneous Publications*, Museum of Zoology, University of Michigan, 190: 1-127.

Albert, J. S. 2003. Family Apterontoidae. *In*: Reis, R. E., Kullander, S. O. e Ferraris, Jr., C. J. (Eds.). *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil. p. 503-508.

Albert, J. S.; Reis, R. E. 2011. Introduction to Neotropical Freshwaters. *In*: Albert, J. S.; Reis, R. E. (Eds.). *Historical biogeography of neotropical freshwater fishes*. University of California Press, Los Angeles & London. p. 388.

Alves-Gomes, J. A.; Ortí, G.; Haygood, M.; Heiligenberg, W.; Meyer, A. 1995. Phylogenetic analysis of the South American electric fishes (order Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: a synthesis based on morphology, electrophysiology, and mitochondrial sequence data. *Molecular Biology and Evolution*, 12(2): 298–318.

Alves-Gomes, J. A. 1997. Informações preliminares sobre a bio-ecologia de peixes elétricos (Ordem Gymnotiformes) em Roraima. *In*: Barbosa, R. I.; Ferreira, E. J. G. & Castellón, E. G. (Eds.). *Homem, ambiente e ecologia no Estado de Roraima*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. p. 509–555.

Alves-Gomes, J. A. 1999. Systematic biology of Gymnotiform and Mormyriiform electric fishes: Phylogenetic relationships, molecular clocks and rates of evolution in the mitochondrial rRNA genes. *The Journal of Experimental Biology*, 202: 1167-1183.

Alves-Gomes, J. A. 2001. The evolution of electroreception and bioelectrogenesis in teleost fish: a phylogenetic perspective. *Journal of Fish Biology*, 58: 1489-1511.

Alves-Gomes, J. A.; Rossoni, D. M.; Schwertner, G. 2004. Notas sobre a potencial utilização de peixes elétricos como bioindicadores de qualidade de água. *In: Workshop - Bioindicadores de qualidade de água*. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP.

Alves-Gomes, J. A. 2014. Evolução e Fisiologia de Eletroreceptores e Órgãos Elétricos em Peixes Neotropicais. *In: Baldisserotto, B.; Cyrino, J. E. P.; Urbinati, E. C. (Eds.). Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. UNESP, FUNEP, Jaboticabal, São Paulo. p. 107-139.

ANP – Agência Nacional do Petróleo. 2006. Estabelece as especificações para a comercialização de gasolinas automotivas em todo território nacional e define obrigações dos agentes econômicos sobre o controle de qualidade do produto. Portaria ANP N° 309, de 27 de dezembro de 2001. (<http://www.anp.gov.br>). Acesso em 23/01/2006.

Ardanaz, J. L.; Silva, A.; Macadar, O. 2001. Temperature sensitivity of the electric organ discharge waveform in *Gymnotus carapo*. *Journal of Comparative Physiology*, 187 (11): 853-864.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2006. Toxicological profiles. (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>). Acesso em 30/10/2005.

Barbieri, E. 2004. Emprego de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes) e *Artemia salina* (crustacea) para determinar a toxicidade aguda da água de produção de petróleo em Sergipe, Brasil. *Biologia Geral e Experimental*, 5 (1): 26-29.

Barletta, M. 1995. *Estudo da comunidade de peixes bentônicos em três áreas do canal principal, próximas a confluência dos rios Negro e rio Solimões-Amazonas (Amazônia Central – Brasil)*. Dissertação (Mestrado), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 115 pp.

Barthem, R. e Goulding, M. 1997. *Os bagres balizadores: ecologia, migração e conservação de peixes amazônicos*. Sociedade Civil Mamirauá, Tefé, Manaus, Amazonas. 130pp.

Bastian, J. 1994. Electrosensory organisms. *Physics Today*, 30-37.

Bullock, T. H.; Fernandes-Souza, N.; Graf, W.; Helligenberg, W; Langner, G.; Meyer, D. L.; Pimentel-Souza, F.; Scheich, H.; Viancour, T. A. 1979. Aspectos do uso da descarga do órgão elétrico e eletrorrecepção nos Gymnotoidei e outros peixes amazônicos. *Acta Amazonica*, 9(3): 549-572.

CETESB. 2006. *Relatório de emergências químicas atendidas pela Cetesb em 2005*. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental-CETESB, São Paulo. 54 pp. (<http://www.cetesb.sp.gov.br>). Acesso em 31/01/2007.

Chao, N. L. 2001. *Conservation and management of ornamental fish resources of the rio Negro basin, Amazonia, Brasil*. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 310pp.

Chiaranda, H. S. 2006. *Volatilização dos compostos BTEX em ambientes subsuperficiais contaminados com gasolina e etanol: comparação entre concentrações medidas e simuladas*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina. 95pp.

Clarke, R. e King, J. 2005. *O Atlas da Água*. Publifolha, São Paulo. 128pp.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente – 2005. Resolução nº 357, 17 de março de 2005.

CONCAWE – Conservation of Clean Air and Water in Europe. 1986. Effects of petroleum hydrocarbons on the nervous system. *Report*, n. 86/51. (<https://www.concawe.eu/publications/concawe-reports>). Acesso em 17/02/2016.

CONCAWE – Conservation of Clean Air and Water in Europe. 1988. Ecotoxicology of Petroleum Products. *Report*, n. 88/60. (<https://www.concawe.eu/publications/concawe-reports>). Acesso em 30/08/2005.

CONCAWE – Conservation of Clean Air and Water in Europe. 1993. Ecotoxicology testing of petroleum products: test methodology, *Report*, n. 92/56. (<https://www.concawe.eu/publications/concawe-reports>). Acesso em 17/02/2016.

CONCAWE – Conservation of Clean Air and Water in Europe. 1996. Environmental risk assessment of petroleum substances: the hydrocarbon block method, *Report*, n. 96/52. (<https://www.concawe.eu/publications/concawe-reports>). Acesso em 17/02/2016.

CONCAWE – Conservation of Clean Air and Water in Europe. 1997. Exposure profile: gasoline, *Report*, n. 97/52. (<https://www.concawe.eu/publications/concawe-reports>). Acesso em 17/02/2016.

Corrêa, S. A. L.; Hoffmann, A. 1999. Effect of drugs that alter alertness and emotionality on the novelty response of a weak electric fish, *Gymnotus carapo*. *Physiology & Behavior*, 65 (4-5): 863-69.

Corseuil, H. X. e Alvarez, P. J. J. 1996. Natural bioremediation perspective for BTX-contaminated groundwater in Brazil: effect of ethanol. *Water Science and Technology*, 34(7-8): 311-318.

Corseuil, H. X.; Kaipper, B. I.; Fernandes, M. 2004. Cosolvency effect in subsurface systems contaminated with petroleum hydrocarbons and ethanol. *Water Research*, 38(6): 1449-56.

Costa, D. 2005. A luta contra a intoxicação pelo benzeno no Brasil. (www.inca.gov.br). Acesso em 30/07/2008.

Cox Fernandes, C. 1995. *Diversity, distribution and community structure of electric fishes (Gymnotiformes) in channels of the Amazon rivers system, Brazil*. Tese de Ph.D., Duke University, Durham. 393pp.

Cox Fernandes, C; Lundberg, J. G.; Riginos, C. 2002. Largest of all electric-fish snouts: Hypermorphic facial growth in male *Parapteronotus hasemani* and the identity of *Apteronotus anas* (Gymnotiformes: Apteronotidae). *Copeia*, 1: 52–61.

Cox Fernandes, C. e Podos, J. 2004. Sobre a Descarga do Órgão Elétrico do sarapó *Parapteronotus hasemani* (Gymnotiformes: Apteronotidae). In: Cintra, R. (Coord.). *História Natural, Ecologia e Conservação de Algumas Espécies de Plantas e Animais da Amazônia*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas, Manaus, Amazonas. p.147-155.

Cox Fernandes, C.; Podos, J.; Lundberg, J. G. 2004. Amazonian ecology: tributaries enhance the diversity of electric fishes. *Science*, 305: 1960–1962.

Crampton, W. G. R. 1996. Gymnotiform fish: an important of Amazonian floodplain fish communities. *Journal of Fish Biology*, 48: 298-301.

Crampton, W. G. R. e Albert, J. S. 2005. Evolution of electric signal diversity in Gymnotiform fishes. In: Ladich, F.; Collin, S. P.; Moller, P.; Kapoor, B. G. (Eds.). *Communication in Fishes*. Science Publishers Incorporation, New York, U.S.A. p. 641–725.

Crampton, W. G. R.; Davis, J. K.; Lovejoy, N. R.; Pensky, M. 2008. Multivariate classification of animal communication signals: A simulation-based comparison of alternative signal processing procedures using electric fishes. *Journal of Physiology*, 102: 304–321.

Crampton, W. G. R. 2011. An Ecological Perspective on Diversity and Distributions. In: Albert, J. S.; Reis, R. E. (Eds.). *Historical biogeography of neotropical freshwater fishes*. University of California Press, Los Angeles & London. p. 388.

Cruz, M. J. F.; Carvalho, F. R. de; Stragevitch, L. 2003. Efeito de aditivos oxigenados na pressão de vapor de gasolina. In: Anais de 2º Congresso Brasileiro de P&B em Petróleo & Gás, 2, Instituto Brasileiro do Petróleo, IBP, Rio de Janeiro.

Deemyad, T.; Metzen, M. G.; Pan, Y.; Chacron, M. J. 2013. Serotonin selectively enhances perception and sensory neural responses to stimuli generated by same-sex conspecifics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (48): 19609-19614.

de Santana, C. D. 2002. “*Apteronotus*” *sensu stricto* (Gymnotiformes: Apteronotidae): monofiletismo, sistemática, e diversidade subestimada em peixes elétricos Neotropicais. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Biologia Animal, Pernambuco, Brasil. 394pp.

de Santana, C. D. 2003. *Apteronotus caudimaculosus* n. sp. (Gymnotiformes: Apteronotidae), a sexually dimorphic black ghost knifefish from the Pantanal, western Brazil, with a note on the monophyly of the *A. albifrons* species complex. *Zootaxa*, 252:1-11.

de Santana, C. D.; Maldonado-Ocampo, J. A.; Severi, W.; Mendes, G. N. 2004. *Apteronotus eschemeyeri*, a new species of ghost knifefish from Magdalena Basin, Colombia (Gymnotiformes: Apteronotidae). *Zootaxa*, 410: 1-11.

de Santana, C. D.; Crampton, W. G. R. 2006. *Sternarchorhynchus curumim* (Gymnotiformes: Apteronotidae), a new species of tube-snouted ghost electric knifefish from the lowland Amazon basin, Brazil. *Zootaxa* 1166: 57-68.

Dye, J. C.; Meyer, J. H. 1986. Central control of the electric organ discharge in weakly electric fish. In: Bullock, T. H. e Heiligenberg, W. (Eds.). *Electroreception*. Wiley-Interscience, New York, USA. p. 71-102.

DOU, 2015. Diário Oficial da União, seção 1, nº 44, 6 de março de 2015. (<http://www.anp.gov.br/?dw=74502>). Acesso: 11/02/2016.

Dunlap, K. D.; Smith, G. T.; Yekta, A. 2000. Temperature dependence of electrocommunication signals and their underlying neural rhythms in the weakly electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Brain, Behavior and Evolution*, 55: 152-162.

Duque, A. B. e Winemiller, K. O. 2003. Dietary segregation among large catfishes of the Apure and Arauca rivers, Venezuela. *Journal of Fish Biology*, 63: 410–427.

Ellis, M. M. 1913. *The gymnotid eels of tropical america*. Memoirs of the Carnegie Museum, 6 (3). 215pp.

Enger, P. S. e Szabo, T. 1968. Effect of temperature on discharge rates of the electric organ of some gymnotoids. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 27: 625- 627.

Ferreira, D. J. S. 2006. *Efeito da temperatura sobre as Descargas dos Órgãos Elétricos de Parapteronotus hasemani e Microsternarchus bilineatus (Pisces: Gymnotiformes)*. Monografia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 46pp.

Ferreira, D. J. S. e Alves-Gomes, J. A. 2006a. Mudanças na descarga elétrica de *Microsternarchus bilineatus* expostos à variação da temperatura. *Resumos: VII Congresso Internacional sobre Manejo de Fauna Silvestre na Amazônia e América Latina*. Ilhéus, Bahia.

Ferreira, D. J. S. e Alves-Gomes, J. A. 2006b. Efeito da temperatura sobre a descarga do órgão elétrico de *Parapteronotus hasemani*. *Resumos: VII Congresso Internacional sobre Manejo de Fauna Silvestre na Amazônia e América Latina*. Ilhéus, Bahia.

Ferreira, D. J. S. 2009. *Utilização de Microsternarchus bilineatus (Ostariophysi, Gymnotiformes, Hypopomidae) como biomonitor: o efeito de combustíveis automotivos derivados do petróleo na Descarga do Órgão Elétrico*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 67pp.

Ferreira, D. J. S. 2012. Efeito da gasolina e do óleo diesel sobre a descarga do órgão elétrico de *Microsternarchus bilineatus* (Pisces: Gymnotiformes). Relatório Final. Programa de Capacitação Institucional - PCI/MCT/INPA. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 44pp.

Ferreira, M.; Jesus, I. S; Feldberg, E.; Alves-Gomes, J. A. 2015. Neotropical electric fishes (Gymnotiformes) as model organisms for bioassays. *Journal of Coastal Life Medicine*. 3(4): 253-258.

- Franchina, C. R. e Hopkins, C. D. 1996. The dorsal filament of the weakly electric Apterontidae (Gymnotiformes; Teleostei) is specialized for electroreception. *Brain, Behavior and Evolution*, 47: 165-178.
- Garcia, R. 2002. *Combustíveis e Combustão Industrial*. Interciência, Rio de Janeiro. 1 ed. 202pp.
- Geller, W. 1984. A toxicity warning monitor using the weakly electric fish *Gnathonemos petersii*. *Water Resources*, 18 (10): 1285 – 1290.
- Grove, P. e Moller, P. 1979. Electric fishes as a tool for water quality assessment. *Transactions of the American Fisheries Society*, 108: 420-421.
- Hagedorn, M. & Carr, C. 1985. Single electrocytes produce a sexually dimorphic signal in South American electric fish, *Hypopomus occidentalis* (Gymnotiformes, Hypopomidae). *Journal of Comparative Physiology A*, 33: 254-265.
- Hagedorn, M. e Zelick, R. 1989. Relative dominance among males is expressed in the electric organ discharge characteristics of a weakly electric fish. *Animal Behavior*, 38: 520-525.
- Heiligenberg, W. 1993. Electrosensation. In: Evans, D. H. (Ed.). *The Physiology of fish*. CRC Press. Inc., Florida. p. 137-159.
- Holmstedt, B., Kryvoy, W.; Kroeger, D. 1964. Electric fish (*Gymnotus carapo*) as tool for bioassay of methylphenidate and chlorpromazine. *Acta Physiologica Scandinavica*, 61: 177-181.
- Hopkins, C. D. 1972. Sex differences in electric signaling in an electric fish. *Science*, 176: 1035-1037.
- Hopkins, C. D. 1974. Electric communication in fish. *American Scientist*, 62: 426-437.
- Hopkins, C. D. 1988. Neuroethology of electric communication. *Annual Review of Neuroscience*. 11: 497-535.

- Hopkins, C. D. 1995. Convergent designs for electrogenesis and electroreception. *Current Opinion in Neurobiology*, 5: 769-777.
- Kaipper, B. I. A. 2003. *Influência do etanol na solubilidade de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados por óleo diesel*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina. 179pp.
- Kawasaki, M. e Heiligenberg, W. 1988. Individual prepacemaker neurons can modulate the pacemaker cycle of the gymnotiform electric fish, *Eigenmannia*. *Journal Comparative Physiology A*, 162:13-21.
- Kawasaki, M. e Heiligenberg, W. 1989. Distinct mechanisms of modulation in a neuronal oscillator generate different social signals in the electric fish *Hypopomus*. *Journal Comparative Physiology A*, 165: 731-741.
- Kay, A. N. e Lewis, J. W. 1993. Fish monitors and the role of electric fish as potential indicators of water quality. *Journal of Applied Ichthyology*, 9:110-114.
- Keynes, R. D. 1957. Electric Organs. In: Brown, M. E. (Ed.). *The physiology of fishes*. v. 2, cap. 5, Academic Press, New York, USA. p. 323-343.
- Kirschbaum, F. 1977. Electric-Organ ontogeny: Distinct Larval organ precedes the Adult organ in weakly electric fish. *The Science of Nature*, 64(7): 387-388.
- Kirschbaum, F. 1983. Myogenic electric organ precedes the neurogenic organ in Apterontid fish. *The Science of Nature*, 70(4): 205-207.
- Kirschbaum, F. 1995. Taxonomy, zoogeography and general ecology of South American knifefishers (Gymnotiformes). In: Moller, P. (Ed.). *Electric fishes: history and behavior*. Chapman and Hall, London, p. 446-454.
- Krivoy, W., Lane, M., Childers, E.; Guillemin, R. 1962. On the action of B-MSH on the spontaneous electric discharge of the transparent knifefish *Eigenmannia*. *Experientia*, 18: 521-522.

Krivoy, W., Lane, M.; Kroeger, D. 1963. The effects of drugs on the electric knifefish. *Proc. Soc. Exp. Biol.* New York, U.S.A. 114: 640-644.

Larson, E. A.; Metzen, M. G.; Chacron, M. J. 2014. Serotonin modulates electrosensory processing and behavior via 5-HT₂-like receptors. *Neuroscience*, 271: 108–118.

Lewis, J. W.; Kay, A. N.; Hanna, N. S. 1993. Responses of electric fish (Family Mormyridae) to chemical-changes in water quality. II. Pesticides. *Environmental Technology*, 14 (12): 1171 – 1178.

Lissmann, H. W.; Schwassmann, H. O. 1965. Activity rhythm of an electric fish, *Gymnorhamphichthys hypostomus*, Ellis. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*. 51(3): 153-171.

Mago-Leccia, F. 1994. *Electric fishes of continental waters of America*. Vol. 29. Fundacion de la Academia de Ciencias Fisicas, Matematicas y Naturales, Caracas, Venezuela. 225pp.

Maldonado-Ocampo, J. A. 2011. *Filogenia molecular da família Sternopygidae (Gymnotiformes: Sternopygoidei)*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro/Museu Nacional. Rio de Janeiro. 112 pp.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2007. Resolução nº 37, de 27 de Junho de 2007. (www.anp.gov.br). Acesso em 31/07/2008.

Markert, B.; Oehlmann, J.; Roth, M. 1997. General aspects of heavy metal monitoring by plants and animals. *In*: Subramanian, K.S. e Iyengar, G.V. (Eds). *Environmental Biomonitoring*. ACS Symposium Series, v. 654, American Chemical Society, Washington, DC. p. 19-29.

Markert, B. A., Breure, A. M., and Zechmeister, H. G., 2003: Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. *In*: Markert, B. A.; Breure, A. M.; Zechmeister, H.G. (Eds.). *Bioindicators & Biomonitoring: Principles, Concepts and Applications*, Elsevier Science, Amsterdam. p. 3–39.

Marrero, C. e Taphorn, D. 1991. Notas sobre la historia natural y la distribucion de los peces Gymnotiformes en la cuenca del rio Apure y otros rios de la Orinoquia. *Biollania*, 8: 123-142.

Martins, C. R. de O. 2007. *Avaliação da estrutura dos postos de revenda de combustíveis do Distrito Federal quanto à geração de resíduos aliada a análise de sua citotoxicidade e genotoxicidade*. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasília. 109 pp.

Moortgat, K. T.; Bullock, T. H.; Sejnowski, T. J. 2000. Precision of the pacemaker nucleus in a weakly electric fish: Network versus cellular influences. *The American Physiological Society*, 971-983.

Neiva, J. 1993. *Conheça o Petróleo*. Expressão e Cultura, Rio de Janeiro. 6 ed. 187pp.

Nogueira, A. P. R. 2006. *Diversidade do repertório eletrocomunicativo de *Microsternarchus cf. bilineatus* Fernández – Yépez, 1968 (Pisces: Gymnotiformes) durante a maturação sexual em cativeiro*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 79pp.

Pacheco, M. e Santos, A. M. 2001. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 64– 75.

Paixão, J. F.; Nascimento, I. A.; Pereira, S. A.; Leite, M. B. L.; Carvalho, G. C.; Silveira Jr., J. S. C.; Rebouças, M.; Matias, G. R. A.; Rodrigues, I. L. P. 2007. Estimating the gasoline components and formulations toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk. *Environmental Research*, 103:365-374.

Perrone, R. C. 1965. *Introdução à refinação de petróleo*. Centro de aperfeiçoamento e Pesquisas de Petróleo (CENAP) – PETROBRAS, Rio de Janeiro.

Peters, R. C.; Loos, W. J. G.; Bretschneider, F.; Neumam, I. S. A. 1993. Eletro-reception and aquatic biomonitoring. In: Jeffrey, D. W. e Madden, B. (Eds.). *Bioindicators and Enviromental Mangement*, Academic Press, Londres. p. 427-435.

Petry, P.; Bayley, P. B.; Markle, D. F. 2003. Relationships between fish assemblages, macrophytes and environmental gradients in the Amazon river floodplain. *Journal of Fish Biology*, 63 (3): 547-579.

Pimentel-Souza, F.; Pereira, J. B.; Alvarenga, N. P. 1976. Comportamento, termorregulação e aclimatação em temperaturas elevadas do peixe elétrico *Gymnotus*. *Ciência e Cultura*, 28 (8): 940-944.

Pimentel-Souza, F. e Fernandes-Souza, N. 1985. Temperature influence and social interaction on the frequency of electric organ charges in *Rhamphichthys rostratus*. *Acta Amazonica*, 15 (1-2): 35-46,

Pimentel-Souza, F. 1988. Electric organ discharge frequencies from two weakly electric Gymnotiform fish exposed to carbon dioxide, conductivity and pH changes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 21: 119-12.

Portal-BR. 2006-2008. Álcool e Gasolina. (www.br.com.br). Acesso em 19/07/2006 e 30/07/2008.

Portal – BR. 2016. Óleo diesel comum. (www.br.com.br). Acesso em 26/01/2016.

Potter, T. L. e Simmons, K. E. 1998. Compositions of Petroleum Mixture. *Amhersts Scientific Publishers*, Massachusetts, 2: 1-8.

Pumphrey, J. A.; Brand, J. I.; Scheller, W. A. 2000. Vapor pressure measurements and predictions for alcohol-gasoline blends. *Fuel*, 79: 1405-1411.

Reebs, S. G. 2002. Plasticity of diel and circadian activity rhythms in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 12: 349–371.

Reebs, S. G. 2008-2014. Sleep in fishes. Disponível em: < <http://www.howfishbehave.ca/> >
Acesso: 02 set. 2015. 19h30. Université de Moncton, Canada.

Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, C. J. Jr. 2003. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. EDIPUCRS, Porto Alegre. 742 pp.

Rossoni, D. M. 2005. *A utilização das descargas dos órgãos elétricos de Parapteronotus hasemani e Apteronotus bonapartii (Apteronotidae-Gymnotiformes) como bioindicadores em ambientes aquáticos*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 86 pp.

Schwassman, H.O. 1971a. Circadian activity patterns in gymnotoid electric fish. In: Menaker, M. (ed.), *Biochronometry*, National Academy of Sciences, Washington, D.C., p. 186-199.

Schwassmann, H. O. 1971b. Biological rhythms. In: Hoar, W. S. e Randall, D. J. (Eds). *Fish Physiology: Environmental Relations and Behavior*, Academic Press, New York e London. 6: 371-428.

Schwertner, G. e Alves-Gomes, J. A. 2003. Peixes elétricos da Amazônia (Gymnotiformes: Apteronotidae) como potencial bioindicadores de qualidade de água. In: *II Simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental*. Itajaí, Santa Catarina. 1: 262.

Schwertner, G. 2005. *Apteronotidae (Pisces: Gymnotiformes) como biomonitores para compostos BTX*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 118 pp.

Schwertner, G.; Brito, E.; Pavani, A.; Tavares, R. 2005. Desenvolvimento de sistemas bioinspirados nas descargas dos órgãos elétricos (DOEs) de peixes elétricos da Amazônia (Gymnotiformes). In: *IV simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental*.

Simonato, J. D. 2006. *Biomarcadores funcionais e histopatológicos associados à exposição do peixe Prochilodus lineatus ao óleo diesel*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Londrina, Londrina, Paraná. 68pp.

- Simonato, J. D.; Albinati, A. C.; Martinez, C. B. R. 2006. Effects of the water fraction of diesel fuel oil on some functional parameters of the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus* Valenciennes. *Bull. Environmental Contamination and Toxicology*, 76: 505-511.
- Simonato, J. D.; Guedes, C. L. B.; Martinez, C. B. R. 2008. Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69 (1): 110-120.
- Simonato, J. D. 2010. *Efeitos da exposição à fração solúvel da gasolina em parâmetros bioquímicos e fisiológicos de Prochilodus lineatus*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo. 71pp.
- Simonato, J.D.; Fernandes, M. N.; Martinez, C. B. R. 2011. Gasoline effects on biotransformation and antioxidant defenses of the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicology*, 20: 1400-1410.
- Simonato, J. D.; Fernandes, M. N.; Martinez, C. B. R. 2013. Physiological effects of gasoline on the freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). *Neotropical Ichthyology*, 11(3): 683-691.
- Stoddard, P. K. 1999. Predation enhances complexity in the evolution of electric fish signals. *Nature*. 400: 254-256.
- Stoddard, P. K. 2002. The evolutionary origins of electric signal complexity. *Journal of Physiology*, 96: 485-491.
- Stoddard, P. K.; Zakon, H. H.; Markham, M. R.; McAnelly, L. 2006. Regulation and modulation of electric waveforms in gymnotiform electric fish. *Journal of Comparative Physiology A Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 192(6): 613-624.
- Stoddard, P. K.; Markham, M. R.; Salazar, V. L.; Allee, S. 2007 Circadian rhythms in electric waveform structure and rate in the electric fish *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Physiology & Behavior*, 90: 11-20.

Souza, K. S. 2005. Propriedades físico-químicas e composição de gasolinas da região de Manaus-AM. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Amazonas/Instituto de Ciências Exatas, Manaus, Amazonas. 146pp.

Sullivan, J. P. 1997. A phylogenetic study of the neotropical hypopomid electric fishes (Gymnotiformes: Rhamphichthyoidea). Tese de Ph.D.. Duke University, USA. 335pp.

Thomas, M., Florion, A.; Chrétien, D.; Terver, D. 1996a. Real-time biomonitoring of water contamination by cyanide based on analyses of the continuous electrical signal emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Water Research*, 30: 3083-3091.

Thomas, M., Chrétien, D., Florion, A.; Terver, D. 1996b. Real-time detection of potassium cyanide pollution in surface waters using electric organ discharges wave emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Environmental Technology*, 17: 561-574.

Thomas, M., Florion, A.; Chrétien, D. 1997. The effect of pH and conductivity on the electric behaviour of *Apteronotus albifrons* (Family Apteronotidae) in a pollution monitoring system. *Environmental Technology*, 18: 1069-1083.

Thomas, M., Florion, A.; Chrétien, D. 1998. A new warning biomonitor using a weakly electric fish *Apteronotus albifrons* (Gymnotiformes), and the effect of temperature on the bioelectric responses. *Environmental Monitoring and Assessment*, 51: 605-620.

Thomas, M. 2000. Integrating Physical, Chemical and Biological Monitoring. *Security of Public Water Supplies*, 107–114.

Tiburtius, E. R. L.; Peralta-Zamora, P.; Leal, E. S. 2004. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. *Química Nova*, 27(3): 441-446.

Triques, M. L. 2005. Análise cladística dos caracteres de anatomia externa e esquelética de Apteronotidae (Teleostei: Gymnotiformes). *Lundiana*, 6(2): 121-149.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. 1999. Environmental Protection and Remedial. Oil Program Center. *Understanding oil spills and oil spill response in freshwater environments*, Washington.

Veras, G.C.; Murgas, L.D.S.; Zangeronimo, M.G.; Oliveira, M.M.; Rosa, P.V.; Felizardo, V.O. 2013 *Archivos de Zootecnia*, 62 (R): 25-43.

Waxman, S. G.; Pappas, G. D.; Bennett, M. V. L. 1972. Morphological correlates of functional differentiation of nodes of Ranvier along single fibers in the neurogenic electric organ of the knife fish *Sternarchus*. *The Journal of Cell Biology*, 53(1): 210-224.

Vanzella, T. P. 2006. Efeitos genotóxicos e mutagênicos da fração solúvel do óleo diesel em uma espécie de peixe neotropical. Master's Thesis, Universidade Estadual de Londrina, Paraná. 90pp.

Watts, R. J.; Haller, D. R.; Jones, A. P.; Teel, A. L. 2000. A foundation for the risk-based treatment of gasoline-contaminated soils using modified Fenton's reactions. *Journal of Hazardous Materials*, 76(1): 73-89.

Zagatto, P. A. 2006. Ecotoxicologia. In: Zagatto, P. A. & Bertoletti, E. (Eds.). *Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações*. Rima, São Carlos. 478pp.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4. ed., New Jersey, Prentice Hall. 663pp.

ANEXO

Tabela 66: Censo atualizado das 216 espécies, 34 gêneros e 7 famílias (Alves-Gomes *et al.*, 1995) de Gymnotiformes a partir de Cramptom e Albert (2005): 134 espécies, Crampton (2011): 179 espécies e censo realizado por Maldonado-Ocampo (2011): 184 espécies.

Nº	Família	Gênero	Espécie	Nº de espécies		
1	Apterontidae	<i>Adontosternarchus</i>	<i>Adontosternarchus balaenops</i> (Cope, 1878)	06		
			<i>Adontosternarchus clarkae</i> Mago-Leccia, Lundberg & Baskin, 1985			
			<i>Adontosternarchus devenanzii</i> Mago-Leccia, Lundberg & Baskin, 1985			
			<i>Adontosternarchus duartei</i> de Santana & Vari 2012			
			<i>Adontosternarchus nebulosus</i> Lundberg & Cox Fernandes, 2007			
			<i>Adontosternarchus sachsi</i> (Peters, 1877).....			
			<i>Apteronotus</i>		<i>Apteronotus acidops</i> Triques 2011	
					<i>Apteronotus albifrons</i> (Linnaeus, 1766)	
					<i>Apteronotus anu</i> de Santana & Vari 2013	
					<i>Apteronotus apurensis</i> Fernández-Yépez, 1968	
					<i>Apteronotus baniwa</i> de Santana & Vari 2013	
					<i>Apteronotus bonapartii</i> (Castelnau, 1855)	
		<i>Apteronotus brasiliensis</i> (Reinhardt, 1852)				
		<i>Apteronotus camposdapazi</i> de Santana & Lehmann A., 2006				
		<i>Apteronotus caudimaculosus</i> de Santana 2003				
		<i>Apteronotus cuchillejo</i> (Schultz, 1949)				
		<i>Apteronotus cuchillo</i> Schultz, 1949				
		<i>Apteronotus ellisi</i> (Arámburu, 1957)				
		<i>Apteronotus eschmeyerii</i> de Santana, Maldonado-Ocampo, Severi & Mendes, 2004				
		<i>Apteronotus ferrarisi</i> de Santana & Vari 2013				
		<i>Apteronotus galvisi</i> de Santana, Maldonado-Ocampo & Crampton, 2007				
		<i>Apteronotus jurubidae</i> (Fowler, 1944)				
		<i>Apteronotus leptorhynchus</i> (Ellis, 1912)				
		<i>Apteronotus lindalvae</i> de Santana & Cox Fernandes 2012				
		<i>Apteronotus macrolepis</i> (Steindachner, 1881)				
		<i>Apteronotus macrostomus</i> (Fowler, 1943)				
		<i>Apteronotus magdalenensis</i> (Miles, 1945)				
		<i>Apteronotus magoi</i> de Santana, Castillo & Taphorn, 2006				
		<i>Apteronotus mariae</i> (Eigenmann & Fisher, 1914)				
		<i>Apteronotus milesi</i> de Santana & Maldonado-Ocampo, 2005				
		<i>Apteronotus pemon</i> de Santana & Vari 2013				
		<i>Apteronotus rostratus</i> (Meek & Hildebrand, 1913)				
		<i>Apteronotus spurrellii</i> (Regan, 1914).....			27	
		<i>Compsaraia</i>			<i>Compsaraia compsus</i> (Mago-Leccia, 1994)	02
					<i>Compsaraia samueli</i> Albert & Crampton, 2009.....	
		<i>Magosternarchus</i>			<i>Magosternarchus duccis</i> Lundberg, Cox Fernandes & Albert, 1996	02
			<i>Magosternarchus raptor</i> Lundberg, Cox Fernandes & Albert, 1996.....			
		<i>Megadontognathus</i>	<i>Megadontognathus cuyuniense</i> Mago-Leccia, 1994		02	
			<i>Megadontognathus kaitukaensis</i> Campos-da-Paz, 1999.....			
		<i>Orthosternarchus</i>	<i>Orthosternarchus tamandua</i> (Boulenger, 1898).....		01	
		<i>Parapteronotus</i>	<i>Parapteronotus hasemani</i> (Ellis, 1913).....		01	

<i>Pariosternarchus</i>	<i>Pariosternarchus amazonensis</i> Albert & Crampton, 2006.....	01
<i>Platyurosternarchus</i>	<i>Platyurosternarchus crypticus</i> de Santana & Vari, 2009	
	<i>Platyurosternarchus macrostomus</i> (Günther, 1870).....	02
<i>Porotergus</i>	<i>Porotergus duende</i> de Santana & Crampton, 2010	
	<i>Porotergus gimbeli</i> Ellis, 1912	
	<i>Porotergus gymnotus</i> Ellis, 1912.....	03
<i>Sternarchella</i>	<i>Sternarchella calhamazon</i> Lundberg, Coz Fernandes, Campos da Paz & Sullivan 2013	
	<i>Sternarchella curvioperculata</i> Godoy, 1968	
	<i>Sternarchella orthos</i> Mago-Leccia, 1994	
	<i>Sternarchella schotti</i> (Steindachner, 1868)	
	<i>Sternarchella sima</i> Starks, 1913	
	<i>Sternarchella terminalis</i> (Eigenmann & Allen, 1942).....	06
<i>Sternarchogiton</i>	<i>Sternarchogiton labiatus</i> de Santana & Crampton, 2007	
	<i>Sternarchogiton nattereri</i> (Steindachner, 1868)	
	<i>Sternarchogiton porcinum</i> Eigenmann & Allen, 1942	
	<i>Sternarchogiton preto</i> de Santana & Crampton, 2007	
	<i>Sternarchogiton zuanoni</i> de Santana & Vari, 2010.....	05
<i>Sternarchorhamphus</i>	<i>Sternarchorhamphus muelleri</i> (Steindachner, 1881).....	01
<i>Sternarchorhynchus</i>	<i>Sternarchorhynchus axelrodi</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus britskii</i> Campos-da-Paz, 2000	
	<i>Sternarchorhynchus caboclo</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus chaoi</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus cramptoni</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus curumim</i> de Santana & Crampton, 2006	
	<i>Sternarchorhynchus curvirostris</i> (Boulenger, 1887)	
	<i>Sternarchorhynchus freemani</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus galibi</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus gnomus</i> de Santana & Taphorn, 2006	
	<i>Sternarchorhynchus goeldii</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus hagedornae</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus higuchii</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus inpai</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus jaimeii</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus kokraimoro</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus mareikeae</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus marrerai</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus mendesi</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus mesensis</i> Campos-da-Paz, 2000	
	<i>Sternarchorhynchus montanus</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus mormyrus</i> (Steindachner, 1868)	
	<i>Sternarchorhynchus oxyrhynchus</i> (Müller & Troschel, 1849)	
	<i>Sternarchorhynchus retzeri</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus roseni</i> Mago-Leccia, 1994	
	<i>Sternarchorhynchus schwassmanni</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus severii</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus starksi</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus stewarti</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus taphorni</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus yepezi</i> de Santana & Vari, 2010	
	<i>Sternarchorhynchus villasboasi</i> de Santana & Vari, 2010.....	32
<i>Tembeassu</i>	<i>Tembeassu marauna</i> Triques, 1998.....	01

Total	01	15	92
-------	----	----	----

2	Gymnotidae	<i>Gymnotus</i>	<i>Gymnotus anguillaris</i> Hoedeman, 1962 <i>Gymnotus arapaima</i> Albert & Crampton, 2001 <i>Gymnotus ardilai</i> Maldonado-Ocampo & Albert, 2004 <i>Gymnotus bahianus</i> Campos-da-Paz & Costa, 1996 <i>Gymnotus carapo</i> Linnaeus, 1758 <i>Gymnotus capanema</i> Milhomem, Crampton, Pierczeka, Shetka, Silva & Nagamachi 2012 <i>Gymnotus cataniapo</i> Mago-Leccia, 1994 <i>Gymnotus chaviro</i> Maxime & Albert, 2009 <i>Gymnotus chimarrao</i> Cognato, Richer-de-Forges, Albert & Crampton, 2008 <i>Gymnotus choco</i> Albert, Crampton & Maldonado, 2003 <i>Gymnotus coatesi</i> LaMonte, 1935 <i>Gymnotus coropinae</i> Hoedeman, 1962 <i>Gymnotus curupira</i> Crampton, Thorsen & Albert, 2005 <i>Gymnotus cylindricus</i> LaMonte, 1935 <i>Gymnotus diamantinensis</i> Campos da Paz, 2002 <i>Gymnotus esmeraldas</i> Albert & Crampton, 2003 <i>Gymnotus henni</i> Albert, Crampton & Maldonado, 2003 <i>Gymnotus inaequilabiatus</i> (Valenciennes, 1847) <i>Gymnotus interruptus</i> Rangel-Pereira 2012 <i>Gymnotus javari</i> Albert, Crampton & Hagedorn, 2003 <i>Gymnotus jonasi</i> Albert & Crampton, 2001 <i>Gymnotus maculosus</i> Albert & Miller, 1995 <i>Gymnotus mampiraua</i> Albert & Crampton, 2001 <i>Gymnotus melanopleura</i> Albert & Crampton, 2001 <i>Gymnotus obscurus</i> Crampton, Thorsen & Albert, 2005 <i>Gymnotus omarorum</i> Richer-de-Forges, Crampton & Albert, 2009 <i>Gymnotus onca</i> Albert & Crampton, 2001 <i>Gymnotus panamensis</i> Albert & Crampton, 2003 <i>Gymnotus pantanal</i> Fernandes, Albert, Daniel-Silva, Lopes, Crampton & Almeida-Toledo, 2005 <i>Gymnotus pantherinus</i> (Steindachner, 1908) <i>Gymnotus paraguensis</i> Albert & Crampton, 2003 <i>Gymnotus pedanopterus</i> Mago-Leccia, 1994 <i>Gymnotus refugio</i> Giora & Malabarba, 2016 <i>Gymnotus stenoleucus</i> Mago-Leccia, 1994 <i>Gymnotus sylvius</i> Albert & Fernandes-Matioli, 1999 <i>Gymnotus tigre</i> Albert & Crampton, 2003 <i>Gymnotus tiquie</i> Maxime, Lima & Albert, 2011 <i>Gymnotus ucamara</i> Crampton, Lovejoy & Albert, 2003 <i>Gymnotus varzea</i> Crampton, Thorsen & Albert 2005 <i>Gymnotus capitimaculatus</i> Rangel-Pereira 2014	
	Total	01	01	40
3	Hypopomidae	<i>Akawaio</i> <i>Brachyhypopomus</i>	<i>Akawaio penak</i> Maldonado-Ocampo et al. 2013..... <i>Brachyhypopomus beebei</i> (Schultz, 1944)	01

			<i>Brachyhypopomus bennetti</i> Sullivan, Zuanon & Cox Fernandes, 2013	
			<i>Brachyhypopomus bombilla</i> Loureiro & Silva, 2006	
			<i>Brachyhypopomus brevirostris</i> (Steindachner, 1868)	
			<i>Brachyhypopomus bullocki</i> Sullivan & Hopkins, 2009	
			<i>Brachyhypopomus diazi</i> (Fernández-Yépez, 1972)	
			<i>Brachyhypopomus draco</i> Giora, Malabarba & Crampton, 2008	
			<i>Brachyhypopomus gauderio</i> Giora & Malabarba, 2009	
			<i>Brachyhypopomus janeiroensis</i> (Costa & Campos-da-Paz, 1992)	
			<i>Brachyhypopomus jureiae</i> Triques & Khamis, 2003	
			<i>Brachyhypopomus occidentalis</i> (Regan, 1914)	
			<i>Brachyhypopomus pinnicaudatus</i> (Hopkins, 1991)	
			<i>Brachyhypopomus walteri</i> Sullivan, Zuanon & Cox Fernandes, 2013.....	13
	<i>Hypopomus</i>		<i>Hypopomus artedi</i> (Kaup, 1856).....	01
	<i>Hypopygus</i>		<i>Hypopygus benoneae</i> Peixoto, Dutra, de Santana & Wosiacki, 2013	
			<i>Hypopygus cryptogenes</i> Triques, 1997	
			<i>Hypopygus hoedemani</i> de Santana & Crampton, 2011	
			<i>Hypopygus isbruckeri</i> de Santana & Crampton, 2011	
			<i>Hypopygus lepturus</i> Hoedeman, 1962	
			<i>Hypopygus minissimus</i> de Santana & Crampton, 2011	
			<i>Hypopygus neblinae</i> Mago-Leccia, 1994	
			<i>Hypopygus nijsseni</i> de Santana & Crampton 2011	
			<i>Hypopygus ortegai</i> de Santana & Crampton, 2011.....	09
	<i>Microsternarchus</i>		<i>Microsternarchus bilineatus</i> Fernández-Yépez, 1968	
			<i>Microsternarchus brevis</i> Cox Fernandes, Nogueira, Williston & Alves-Gomes, 2015.....	02
	<i>Procerusternarchus</i>		<i>Procerusternarchus pixuna</i> Cox Fernandes, Nogueira & Alves-Gomes, 2014.....	01
	<i>Racenisia</i>		<i>Racenisia fimbriipinna</i> Mago-Leccia, 1994.....	01
	<i>Steatogenys</i>		<i>Steatogenys duidae</i> (La Monte, 1929)	
			<i>Steatogenys elegans</i> (Steindachner, 1880)	
			<i>Steatogenys ocellatus</i> Crampton, Thorsen & Albert, 2004.....	03
	Total	01	08	31
4	Rhamphichthyidae	<i>Gymnorhamphichthys</i>	<i>Gymnorhamphichthys bogardusi</i> Lundberg, 2005	
			<i>Gymnorhamphichthys britskii</i> Carvalho, Ramos & Albert, 2011	
			<i>Gymnorhamphichthys hypostomus</i> Ellis, 1912	
			<i>Gymnorhamphichthys petiti</i> Géry & Vu-Tân-Tuê, 1964	
			<i>Gymnorhamphichthys rondoni</i> (Miranda Ribeiro, 1920)	
			<i>Gymnorhamphichthys rosamariae</i> Schwassmann, 1989.....	06
	<i>Iracema</i>		<i>Iracema caiana</i> Triques, 1996.....	01
	<i>Rhamphichthys</i>		<i>Rhamphichthys apurensis</i> (Fernández-Yépez, 1968)	
			<i>Rhamphichthys atlanticus</i> Triques 1999	
			<i>Rhamphichthys drepanium</i> Triques 1999	
			<i>Rhamphichthys hahni</i> (Meinken, 1937)	
			<i>Rhamphichthys lineatus</i> Castelnau, 1855	
			<i>Rhamphichthys longior</i> Triques, 1999	
			<i>Rhamphichthys marmoratus</i> Castelnau, 1855	
			<i>Rhamphichthys rostratus</i> (Linnaeus, 1766)	
			<i>Rhamphichthys heleios</i> Carvalho & Albert, 2015.....	09
	Total	01	03	16
5	Sternopygidae	<i>Sternopygus</i>	<i>Sternopygus aequilabiatatus</i> (Humboldt, 1805)	
			<i>Sternopygus arenatus</i> (Eydux & Souleyet, 1850)	
			<i>Sternopygus astrabes</i> Mago-Leccia, 1994	
			<i>Sternopygus branco</i> Crampton, Hulen & Albert, 2004	
			<i>Sternopygus dariensis</i> Meek & Hildebrand, 1916	

			<i>Sternopygus macrurus</i> (Bloch & Schneider, 1801)	
			<i>Sternopygus obtusirostris</i> Steindachner, 1881	
			<i>Sternopygus pejerraton</i> Schultz, 1949	
			<i>Sternopygus xingu</i> Albert & Fink, 1996.....	09
	<i>Archolaemus</i>		<i>Archolaemus blax</i> Korringa, 1970	
			<i>Archolaemus ferreirai</i> Vari, de Santana & Wosiacki 2012	
			<i>Archolaemus janeae</i> Vari, de Santana & Wosiacki 2012	
			<i>Archolaemus luciae</i> Vari, de Santana & Wosiacki 2012	
			<i>Archolaemus orientalis</i> Vari, de Santana & Wosiacki 2012	
			<i>Archolaemus santosi</i> Vari, de Santana & Wosiacki 2012.....	06
	<i>Distocyclus</i>		<i>Distocyclus conirostris</i> (Eigenmann & Allen, 1942)	
			<i>Distocyclus goajira</i> (Schultz, 1949)	
			<i>Distocyclus guchereau</i> Francois J. Meunier, Michel Jégu & Philippe Keith 2014.....	03
	<i>Japigny</i>		<i>Japigny kirschbaum</i> Meunier, Jégu & Keith, 2011.....	01
	<i>Rhabdolichops</i>		<i>Rhabdolichops caviceps</i> (Fernández-Yépez, 1968)	
			<i>Rhabdolichops eastwardi</i> Lundberg & Mago-Leccia, 1986	
			<i>Rhabdolichops electrogrammus</i> Lundberg & Mago-Leccia, 1986	
			<i>Rhabdolichops jegui</i> Keith & Meunier, 2000	
			<i>Rhabdolichops lundbergi</i> Correa, Crampton & Albert, 2006	
			<i>Rhabdolichops navalha</i> Correa, Crampton & Albert, 2006	
			<i>Rhabdolichops nigrimans</i> Correa, Crampton & Albert, 2006	
			<i>Rhabdolichops stewarti</i> Lundberg & Mago-Leccia, 1986	
			<i>Rhabdolichops troscheli</i> (Kaup, 1856)	
			<i>Rhabdolichops zareti</i> Lundberg & Mago-Leccia, 1986.....	10
Total	01	05		29
6	Eigenmanniidae	<i>Eigenmannia</i>	<i>Eigenmannia humboldtii</i> (Steindachner, 1878)	
			<i>Eigenmannia limbata</i> (Schreiner & Miranda Ribeiro, 1903)	
			<i>Eigenmannia macrops</i> (Boulenger, 1897)	
			<i>Eigenmannia microstoma</i> (Reinhardt, 1852)	
			<i>Eigenmannia nigra</i> Mago-Leccia, 1994	
			<i>Eigenmannia trilineata</i> López & Castello, 1966	
			<i>Eigenmannia vicentespelaea</i> Triques, 1996	
			<i>Eigenmannia virescens</i> (Valenciennes, 1842)	
Total	01	01		08
7	Electrophoridae	<i>Electrophorus</i>	<i>Electrophorus electricus</i> (Linnaeus, 1766)	
Total	01	01		01
Total geral	07	34		217

Tabela 67: Valores absolutos da aclimatação, pré e pós-contaminação dos parâmetros da DOE de *Parapteronotus hasemani* (taxa de repetição (Hz), coeficiente da variação (CV), relação pico a pico do sinal (PPrel), as quatro áreas (A1, A2, A3 e A4%) e a relação entre as áreas (A1/A3, A2/A4, A2/A1 e A3/A4%) para o controle e a gasolina 110, 220 e 440 µl/5L. Média ± desvio padrão (DP). n= n° de indivíduos.

Aclimatação		Pré-contaminação			Pós-contaminação				
Hz	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	788,15±60,71	781,53±59,65	772,19±58,34	767,71±59,57	765,88±62,34	763,12±61,99	762,84±62,04	764,85±63,11	766,77±64,39
110 (n=8)	903,72±123,55	879,63±111,84	873,97±110,72	872,28±111,42	871,43±111,56	870,33±112,39	870,49±112,56	870,50±114,06	871,09±115,85
220 (n=9)	799,07±43,54	792,10±41,69	789,49±43,50	787,52±45,19	787,95±44,15	789,15±44,50	790,75±44,17	791,55±44,06	790,87±44,87
440 (n=10)	816,87±52,07	806,86± 50,97	796,51± 50,61	793,17± 52,46	791,15± 52,58	791,71± 52,30	794,03± 52,00	792,92± 51,19	792,09± 51,19
CV	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	0,00724± 0,000777 0,00813±	0,00622± 0,000671 0,00807±	0,00669± 0,000920 0,00792±	0,00672± 0,000933 0,00780±	0,00650± 0,00112 0,00802±	0,00676± 0,00113 0,00726±	0,00610± 0,00145 0,00745±	0,00640± 0,00126 0,00798±	0,00656± 0,00121 0,00810±
110 (n=8)	0,00151 0,00723±	0,00107 0,00726±	0,00171 0,00782±	0,00183 0,00751±	0,00191 0,00754±	0,00201 0,00754±	0,00151 0,00707±	0,00129 0,00711±	0,00214 0,00710±
220 (n=9)	0,00100 0,00748±	0,00104 0,00776±	0,00242 0,00706±	0,00109 0,00689±	0,00105 0,00763±	0,000872 0,00731±	0,00114 0,00746±	0,000864 0,00716±	0,000951 0,00772±
440 (n=10)	0,00147 0,00748±	0,00103 0,00776±	0,00116 0,00706±	0,00214 0,00689±	0,00123 0,00763±	0,00106 0,00731±	0,00133 0,00746±	0,00174 0,00716±	0,000979 0,00772±
PPrel	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	1,00191± 0,00298	1,00178± 0,00209	1,00162± 0,00169	1,00109± 0,00125	1,00236± 0,00192	1,00256± 0,00244	1,00208± 0,00209	1,00151± 0,00189	1,00197± 0,00199
110 (n=8)	1,00530± 0,00221	1,00531± 0,00268	1,00528± 0,00419	1,00482± 0,00329	1,00517± 0,00173	1,00683± 0,00304	1,00434± 0,00347	1,00309± 0,00339	1,00495± 0,00432
220 (n=9)	1,00405± 0,00154	1,00433± 0,00241	1,00473± 0,00247	1,00401± 0,00355	1,00442± 0,00263	1,00469± 0,00218	1,00425± 0,00143	1,00454± 0,00237	1,00460± 0,00194
440 (n=10)	1,00411± 0,00338	1,00396± 0,00311	1,00345± 0,00358	1,00403± 0,00446	1,00312± 0,00400	1,00315± 0,00271	1,00338± 0,00389	1,00459± 0,00327	1,00343± 0,00354
A1	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	22,04±3,53	22,01±3,66	22,17±3,87	22,06±3,99	22,10±3,84	22,20±4,03	22,10±4,10	22,31±4,55	22,48±4,55
110 (n=8)	28,21±3,37	28,23±3,33	28,28±3,50	28,53±3,58	28,62±3,54	28,54±3,52	28,35±3,50	28,24±3,43	28,20±3,38
220 (n=9)	24,84±2,59	24,83±2,56	24,96±2,68	25,05±2,54	25,17±2,58	25,27±2,66	25,24±2,64	25,29±2,59	25,30±2,63
440 (n=10)	23,41±1,10	23,38±1,15	23,26±1,14	23,35±1,34	23,47±1,11	23,45±1,21	23,71±1,22	23,62±1,20	23,69±1,34
A2	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	36,15±7,25	36,00±7,41	36,62±7,18	36,46±7,13	36,30±7,50	36,45±7,91	36,26±7,67	36,18±7,51	36,44±7,48
110 (n=8)	23,58±4,79	23,58±4,99	23,75±5,67	23,81±4,62	23,68±4,94	23,70±4,70	23,814±4,44	23,74±4,61	23,56±4,40
220 (n=9)	30,00±4,94	29,69±5,29	30,10±4,74	29,65±5,02	29,52±5,87	29,61±5,73	29,93±5,77	29,84±5,91	29,87±5,37
440 (n=10)	33,65±2,56	32,52±2,67	32,67±2,93	33,24±2,88	32,83±2,71	33,04±2,98	32,65±3,31	32,73±3,02	32,52±3,71
A3	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	27,49±2,23	27,47±1,79	27,16±1,91	27,04±1,89	27,05±2,05	26,88±2,03	26,67±2,14	26,89±2,00	27,03±2,06
110 (n=8)	25,57±2,23	25,69±2,78	25,39±2,06	25,62±3,04	25,71±2,74	25,46±2,81	25,10±2,96	25,08±2,76	25,09±3,28
220 (n=9)	28,08±0,75	28,29±1,20	27,95±0,89	28,39±1,20	28,40±1,72	28,38±1,46	28,12±1,53	28,24±1,44	28,12±1,27
440 (n=10)	27,69±1,29	28,38±1,29	28,36±1,27	27,87±1,08	28,36±0,87	27,93±0,93	28,41±1,33	27,87±0,98	28,40±1,70
A4	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	14,29±2,53	14,50±2,97	14,02±2,78	14,41±2,57	14,53±3,27	14,45±3,50	14,95±3,65	14,60±2,91	14,04±3,30
110 (n=8)	22,62±3,52	22,48±3,70	22,55±3,75	22,02±3,61	21,97±3,83	22,28±3,63	22,72±3,73	22,92±4,11	23,13±4,33
220 (n=9)	17,06±2,61	17,16±2,88	16,98±2,29	16,89±2,59	16,89±2,38	16,72±2,34	16,69±2,35	16,62±2,52	16,68±2,37
440 (n=10)	15,23±1,69	15,70±1,98	15,68±2,21	15,52±2,27	15,32±1,86	15,57±2,32	15,21±2,37	15,76±2,51	15,37±2,69

A1/A3	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	0,802±0,116	0,800±0,118	0,818±0,148	0,816±0,147	0,819±0,150	0,828±0,162	0,835±0,189	0,834±0,195	0,839±0,210
110 (n=8)	1,121±0,242	1,122±0,267	1,129±0,241	1,141±0,291	1,138±0,281	1,149±0,303	1,162±0,319	1,154±0,301	1,159±0,323
220 (n=9) 440	0,885±0,0965	0,878±0,092	0,894±0,102	0,883±0,096	0,886±0,0819	0,890±0,0844	0,898±0,0857	0,894±0,07307	0,899±0,081
(n=10)	0,845±0,0285	0,824±0,0349	0,821±0,0529	0,838±0,0518	0,828±0,0440	0,839±0,0394	0,835±0,0465	0,848±0,0465	0,836±0,0642
A2/A4	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	2,670±0,941	2,647±0,943	2,779±0,999	2,661±0,885	2,682±0,987	2,765±1,178	2,639±1,042	2,631±0,909	2,813±1,086
110 (n=8)	1,091±0,362	1,100±0,370	1,112±0,406	1,133±0,366	1,136±0,390	1,115±0,371	1,099±0,363	1,097±0,395	1,081±0,388
220 (n=9) 440	1,841±0,636	1,824±0,668	1,842±0,603	1,841±0,656	1,825±0,660	1,852±0,689	1,878±0,706	1,88±0,723	1,863±0,604
(n=10)	2,243±0,370	2,114±0,406	2,145±0,506	2,205±0,497	2,189±0,439	2,188±0,504	2,220±0,549	2,153±0,553	2,199±0,549
A2/A1	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	1,721±0,591	1,720±0,589	1,740±0,594	1,745±0,598	1,733±0,612	1,736±0,613	1,735±0,603	1,726±0,606	1,722±0,592
110 (n=8)	0,860±0,246	0,860±0,255	0,867±0,276	0,859±0,239	0,853±0,253	0,856±0,249	0,864±0,239	0,864±0,242	0,858±0,232
220 (n=9) 440	1,239±0,352	1,228±0,360	1,237±0,345	1,214±0,348	1,207±0,397	1,207±0,398	1,221±0,395	1,214±0,397	1,213±0,362
(n=10)	1,443±0,163	1,397±0,174	1,409±0,171	1,431±0,187	1,405±0,171	1,416±0,187	1,384±0,201	1,391±0,179	1,380±0,208
A3/A4	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	1,961±0,268	1,950±0,325	1,991±0,323	1,917±0,277	1,929±0,350	1,947±0,419	1,869±0,418	1,896±0,326	2,015±0,448
110 (n=8)	1,165±0,259	1,181±0,283	1,159±0,243	1,206±0,313	1,215±0,308	1,182±0,284	1,144±0,284	1,142±0,309	1,140±0,344
220 (n=9) 440	1,686±0,299	1,696±0,331	1,676±0,265	1,721±0,311	1,704±0,202	1,723±0,223	1,710±0,219	1,729±0,229	1,714±0,242
(n=10)	1,840±0,253	1,838±0,286	1,843±0,291	1,834±0,312	1,874±0,236	1,832±0,304	1,911±0,324	1,81±0,320	1,89±0,329

Tabela 68: Valores absolutos da aclimação, pré e pós-contaminação dos parâmetros da DOE de *Parapteronotus hasemani* (taxa de repetição (Hz), coeficiente da variação (CV), relação pico a pico do sinal (PPrel), as quatro áreas (A1, A2, A3 e A4%) e a relação entre as áreas (A1/A3, A2/A4, A2/A1 e A3/A4%) para o controle e a óleo diesel 110, 220 e 440 µl/5L. Média ± desvio padrão (DP). n= n° de indivíduos.

Aclimação			Pré-contaminação		Pós-contaminação				
Hz	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	788,15±60,71	781,53±59,65	772,19±58,34	767,71±59,57	765,88±62,34	763,12±61,99	762,84±62,04	764,85±63,11	766,77±64,39
110 (n=5)	801,87±30,0	794,05±30,62	787,51±30,46	782,48±28,49	776,88±28,26	771,27±28,78	769,62±28,13	768,81±27,96	770,58±28,17
220 (n=9)	854,91±58,43	849,11±57,37	843,76±55,67	837,58±56,79	836,05±57,19	834,44±56,12	835,40±54,60	838,08±55,58	838,88±55,11
440 (n=8)	912,37±91,21	905,96± 86,27	904,06±84,565	903,82± 84,42	904,63± 85,69	906,24± 88,20	910,40± 91,88	913,97± 92,13	913,59± 93,24
CV	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	0,00724± 0,000777	0,00622± 0,000671	0,00669± 0,000920	0,00672± 0,000933	0,00650± 0,00112	0,00676± 0,00113	0,00610± 0,00145	0,00640± 0,00126	0,00656± 0,00121
110 (n=5)	0,00811± 0,00295	0,00788± 0,00355	0,00845± 0,00346	0,00958± 0,00318	0,00745± 0,00280	0,00740± 0,00296	0,00758± 0,00323	0,00771± 0,00323	0,00719± 0,00291
220 (n=9)	0,00709± 0,00135	0,00721± 0,00167	0,00795± 0,00124	0,00741± 0,00172	0,00732± 0,00178	0,00642± 0,00194	0,00678± 0,00211	0,00686± 0,00208	0,00644± 0,00205
440 (n=8)	0,00790± 0,00189	0,00795± 0,00175	0,00905± 0,00172	0,00765± 0,00211	0,00763± 0,00175	0,00772± 0,00173	0,00754± 0,00238	0,00755± 0,00234	0,00765± 0,00236
PPrel	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	1,00191± 0,00298	1,00178± 0,00209	1,00162± 0,00169	1,00109± 0,00125	1,00236± 0,00192	1,00256± 0,00244	1,00208± 0,00209	1,00151± 0,00189	1,00197± 0,00199
110 (n=5)	1,00438± 0,00647	1,00387± 0,00685	1,00419± 0,00787	1,00647± 0,00679	1,00304± 0,00427	1,00396± 0,00681	1,00422± 0,00672	1,00452± 0,00725	1,00624± 0,00576
220 (n=9)	1,00312± 0,00233	1,00348± 0,00226	1,00360± 0,00285	1,00315± 0,00385	1,00384± 0,00307	1,00440± 0,00296	1,00331± 0,00215	1,00338± 0,00366	1,00394± 0,00345
440 (n=8)	1,00447± 0,00288	1,00344± 0,00202	1,00419± 0,00408	1,00340± 0,00235	1,00436± 0,00226	1,00425± 0,00274	1,00297± 0,00285	1,00326± 0,00368	1,00358± 0,00430
A1	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	22,04±3,53	22,01±3,66	22,17±3,87	22,06±3,99	22,10±3,84	22,20±4,03	22,10±4,10	22,31±4,55	22,48±4,55
110 (n=5)	24,33±2,21	24,15±2,02	24,25±2,25	24,08±2,11	24,15±2,13	24,13±2,00	24,09±2,10	24,15±2,22	24,10±2,06
220 (n=9)	24,14±1,95	24,20±2,04	24,37±2,57	24,18±2,44	24,02±1,84	24,23±1,72	24,35±2,07	24,58±2,22	24,30±1,94
440 (n=8)	25,87±1,94	25,94±2,09	25,92±1,97	25,85±1,83	25,98±1,85	25,93±1,97	25,98±1,96	26,18±1,99	26,03±2,16
A2	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	36,15±7,25	36,00±7,41	36,62±7,18	36,46±7,13	36,30±7,50	36,45±7,91	36,26±7,67	36,18±7,51	36,44±7,48
110 (n=5)	32,54±3,08	32,87±2,62	33,28±2,98	32,92±3,70	33,47±3,52	33,26±3,23	33,50±2,52	33,822±2,67	35,16±3,58
220 (n=9)	31,16±3,22	31,43±3,62	30,76±3,43	30,62±4,14	31,12±4,01	30,82±4,18	30,93±4,67	30,21±4,38	30,19±3,66
440 (n=8)	29,53±3,27	28,97±3,12	28,84±3,12	29,01±3,74	29,56±3,47	30,02±3,87	28,79±3,45	29,07±3,25	29,05±3,39
A3	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	27,49±2,23	27,47±1,79	27,16±1,91	27,04±1,89	27,05±2,05	26,88±2,03	26,67±2,14	26,89±2,00	27,03±2,06
110 (n=5)	29,92±1,17	29,47±1,88	29,25±0,89	29,20±0,90	29,32±1,31	29,63±0,94	29,33±1,42	29,21±0,98	27,81±1,40
220 (n=9)	28,47±1,91	28,24±2,02	28,76±1,66	28,70±1,46	28,54±2,35	28,78±2,75	28,48±3,03	29,39±2,73	29,65±2,89
440 (n=8)	28,48±0,95	29,18±1,14	29,15±0,65	29,08±1,39	28,75±1,62	28,12±1,15	29,52±1,19	29,52±1,17	29,30±1,60
A4	H _{1_08h}	H _{2_09h}	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	14,29±2,53	14,50±2,97	14,02±2,78	14,41±2,57	14,53±3,27	14,45±3,50	14,95±3,65	14,60±2,91	14,04±3,30
110 (n=5)	13,19±1,23	13,49±1,51	13,20±0,75	13,78±1,51	13,04±1,56	12,96±1,74	13,06±1,42	12,81±1,34	12,91±1,75
220 (n=9)	16,21±2,27	16,12±1,99	16,08±1,61	16,48±2,23	16,29±2,81	16,15±2,32	16,22±2,16	15,80±1,75	15,84±2,03
440 (n=8)	16,11±1,93	15,89±1,70	16,07±1,84	16,03±2,26	15,70±1,90	15,91±1,57	15,69±1,72	15,21±1,28	15,61±1,26

A1/A3	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	0,802±0,116	0,800±0,118	0,818±0,148	0,816±0,147	0,819±0,150	0,828±0,162	0,835±0,189	0,834±0,195	0,839±0,210
110 (n=5)	0,814±0,086	0,824±0,118	0,829±0,083	0,824±0,073	0,825±0,089	0,816±0,087	0,824±0,109	0,829±0,102	0,869±0,104
220 (n=9)	0,853±0,105	0,862±0,105	0,850±0,108	0,845±0,100	0,848±0,109	0,848±0,097	0,862±0,105	0,843±0,108	0,828±0,115
440 (n=8)	0,908±0,068	0,889±0,067	0,889±0,065	0,889±0,062	0,904±0,064	0,922±0,057	0,880±0,061	0,887±0,065	0,888±0,056
A2/A4	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	2,670±0,941	2,647±0,943	2,779±0,999	2,661±0,885	2,682±0,987	2,76±1,178	2,639±1,042	2,631±0,909	2,813±1,086
110 (n=5)	2,495±0,426	2,472±0,426	2,534±0,352	2,433±0,520	2,622±0,613	2,627±0,597	2,602±0,468	2,682±0,529	2,795±0,684
220 (n=9)	1,977±0,457	1,995±0,447	1,941±0,367	1,912±0,480	1,992±0,558	1,967±0,504	1,956±0,477	1,955±0,488	1,953±0,453
440 (n=8)	1,869±0,384	1,852±0,357	1,828±0,372	1,861±0,447	1,920±0,397	1,919±0,423	1,865±0,369	1,935±0,362	1,874±0,293
A2/A1	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	1,721±0,591	1,720±0,589	1,740±0,594	1,745±0,598	1,733±0,612	1,736±0,613	1,735±0,603	1,726±0,606	1,722±0,592
110 (n=5)	1,354±0,244	1,374±0,217	1,390±0,246	1,385±0,268	1,403±0,258	1,394±0,241	1,405±0,219	1,416±0,228	1,475±0,261
220 (n=9)	1,306±0,233	1,316±0,249	1,286±0,264	1,289±0,283	1,311±0,256	1,285±0,255	1,289±0,287	1,247±0,271	1,255±0,230
440 (n=8)	1,154±0,203	1,130±0,204	1,124±0,196	1,134±0,212	1,150±0,213	1,171±0,229	1,121±0,211	1,123±0,205	1,131±0,217
A3/A4	H₁_08h	H₂_09h	Pré_10h	Pré_11h	T1_12h	T2_13h	T3_14h	T4_15h	T5_16h
Controle (n=10)	1,961±0,268	1,950±0,325	1,991±0,323	1,917±0,277	1,929±0,350	1,947±0,419	1,869±0,418	1,896±0,326	2,015±0,448
110 (n=5)	2,287±0,268	2,212±0,327	2,221±0,156	2,139±0,233	2,276±0,319	2,321±0,337	2,273±0,331	2,305±0,310	2,187±0,323
220 (n=9)	1,796±0,343	1,778±0,268	1,808±0,243	1,769±0,245	1,808±0,397	1,820±0,350	1,786±0,330	1,879±0,265	1,909±0,371
440 (n=8)	1,791±0,232	1,858±0,253	1,834±0,217	1,847±0,299	1,861±0,309	1,778±0,144	1,900±0,216	1,954±0,205	1,891±0,226