

# ASSIMETRIA FLUTUANTE EM ORGANISMOS AQUÁTICOS E SUA APLICAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS

Angela M. Sanseverino<sup>1</sup> & Jorge Luiz Nessimian<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Entomologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, UFRJ, C. P. 68044, CEP 21944-970, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

\*E-mails: amsansev@biologia.ufrj.br, nessimia@acd.ufrj.br

## RESUMO

Simetria refere-se ao arranjo regular das estruturas em relação a um eixo do corpo, onde o mesmo poderia ser dividido em duas ou mais partes semelhantes, cada parte sendo a imagem espelhada da outra. A simetria bilateral é a mais observada na natureza, sendo que as partes de um organismo bilatério são orientadas pela interseção ortogonal dos eixos anterior-posterior e dorsal-ventral do corpo. Há tempos que se observa a presença não só de características morfológicas dispostas de forma simétrica nos organismos, mas também a presença de assimetrias em determinados seres vivos, onde uma parte que deveria ser a imagem da outra difere de algum modo. A industrialização e urbanização têm trazido mudanças dramáticas em vários ecossistemas naturais, tendo como consequência mudanças na biologia de organismos e espécies, e na estrutura e dinâmica de populações e comunidades. A avaliação e uma correta interpretação dessas alterações exigem métodos sensíveis para detectar mudanças, seja em nível de organismo, espécie, população ou comunidade. A observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar essas perturbações, sendo que variações e flutuações em características simétricas poderiam ser indicativas de saúde do ambiente. Mudanças na simetria de estruturas, aparecimento de deformidades morfológicas e mal-formações causadas por mudanças ambientais antropogênicas e/ou por contaminantes ambientais são ferramentas utilizadas no monitoramento da qualidade ambiental. O presente estudo tem como objetivo abordar conceitos e questões sobre assimetria flutuante em organismos e seu emprego na avaliação da qualidade ambiental. São abordados conceitos teóricos e aspectos evolutivos sobre assimetria, fazendo uma avaliação sobre o uso da mesma para diagnóstico ambiental e suas implicações.

**Palavras-chave:** assimetria flutuante, biomonitoramento, Bilateria, poluição, qualidade ambiental.

## ABSTRACT

**FLUCTUATING ASYMMETRY IN AQUATIC ORGANISMS AND ITS APPLICATION TO EVALUATION OF ENVIRONMENTAL IMPACTS.** Symmetry refers to the regular arrangement of various body parts, which can form an axis that will divide the organism into two or more opposite sides, each of them being the mirror-image of the other. Bilateral symmetry is the most frequently observed type of symmetry in the nature, and the parts of a bilateral organism are oriented by the orthogonal intersection of the anterior-posterior and the dorsal-ventral body axes. Over time, it was observed in some cases that not only symmetrical morphological characteristics were present, but also asymmetrical traits, where one part that should be symmetrically identical to other presents some differences. Industrialization and urbanization led to dramatic changes to many natural ecosystems, with side-effects on the biology of different species, and on the structure and dynamics of organisms populations and communities. The evaluation and correct interpretation of the alterations caused demand sensitive methods to detect changes at different levels: individuals organisms, species, populations and communities. The observation of changes to the process of development of an individual would be a way of evaluating alterations, variations and fluctuations to symmetrical characteristics, and these might be indicators of environmental health. The appearance of structural asymmetry, morphological deformities and malformations caused by anthropogenic changes to the environment and/or pollutants are used in monitoring environmental quality. The aim of this study was to present and discuss concepts and issues on biological fluctuating asymmetry and their utility as tools for evaluating environmental quality. Some theoretical concepts and evolutive aspects of biological fluctuating asymmetry are included, as well as an overview of their use in environmental diagnosis and further implications.

**Keywords:** fluctuating asymmetry, biomonitoring, Bilateria, pollution, environmental quality.

## INTRODUÇÃO

Simetria é um aspecto básico da forma corporal, que se refere ao arranjo regular das estruturas em relação a um eixo do corpo (Brusca & Brusca 2007). Pela simetria, um corpo poderia ser dividido em duas ou mais partes semelhantes em torno de um eixo, cada parte sendo a imagem espelhada da outra. Três tipos gerais de simetria são observados na natureza: simetria esférica, simetria radial e simetria bilateral. A simetria esférica é rara, encontrada em alguns protistas. A simetria radial perfeita também não é muito comum, sendo observada em esponjas e pólipos de cnidários. Muitos organismos desenvolveram modificações da simetria radial, mostrando uma simetria birradial, como vista em ctenóforos e anêmonas marinhas, simetria quadrradial, no caso das águas-vivas, e pentarradial, observada em equinodermos (Brusca & Brusca 2003). A simetria bilateral é a mais observada na natureza, sendo que as partes de um organismo bilatério são orientadas em um eixo longitudinal que atravessa o corpo da porção anterior à posterior.

Os Bilateria fazem parte de uma linhagem evolutiva com mais de 1,5 milhões de espécies modernas (mais de 99% dos animais modernos); a simetria bilateral é considerada uma ‘inovação-chave’ dos Bilateria, associada a uma transição evolutiva de animais sésseis e animais planctônicos para organismos fossadores, nadadores ativos (Finnerty *et al.* 2004), escaladores, agarradores e reptantes. Haeckel (1904) já mencionava a forma bilateral dos celomados, e chamava a atenção que essa forma é a dominante dos animais, mas que alguns grupos seriam mais ou menos pronunciadamente assimétricos, como moluscos gastrópodes, paguros e outros crustáceos, e peixes pleuronectídeos. A simetria bilateral parece ter evoluído apenas uma vez nos metazoários mais derivados, enquanto que as formas assimétricas evoluíram muitas vezes. Essas origens múltiplas e independentes permitem hipóteses a serem testadas sobre os mecanismos de desenvolvimento ou condições ambientais que promoveriam esta ‘quebra’ filogenética da simetria bilateral (Palmer 1996a).

Há tempos que pesquisadores observam a presença não só de características morfológicas dispostas de forma simétrica nos organismos, mas também a presença de assimetrias em determinados seres vivos, onde uma parte que deveria ser a imagem da outra

difere de algum modo. Darwin (1859) considerava que a maioria dos animais deveria obedecer a uma lei de simetria, porém alguns sairiam deste padrão e seriam assimétricos. Darwin via essas assimetrias como aberrações que seriam ‘dominadas’ pela seleção natural. Em 1864, Müller descreveu um pequeno grupo de Amphipoda, no qual o segundo par de patas teria uma forma ‘normal’ de um lado, mas um ‘fórceps’ enorme do outro (Willmann 2003).

Na verdade, ao se descrever a forma, ou ao contar e medir estruturas morfológicas em um determinado organismo, vão existir assimetrias em algum nível de observação. Nem sempre o número de cerdas na asa esquerda de um inseto será o mesmo da asa direita do mesmo, ou o comprimento de um apêndice esquerdo da genitália de um artrópode será o mesmo do apêndice direito. Ao observarmos o corpo humano, vemos que algumas formas e tamanhos de estruturas morfológicas do lado direito são diferentes das mesmas no lado esquerdo, como no caso das assimetrias observadas no cérebro. Assimetrias morfológicas do cérebro, também chamadas de lateralizações, são diferenças macroscópicas e microscópicas entre os dois hemisférios, relacionadas com assimetrias funcionais como a lateralização da linguagem e uso das mãos (Jäncke & Steinmetz 2003). Ainda, durante o desenvolvimento de um organismo pode haver fases em que uma estrutura simétrica passa a ser assimétrica. Os três estágios larvais das lagostas da espécie *Homarus americanus* H. Milne Edwards possuem um par de quelípodos simétricos em forma e função, sendo que os 4º, 5º e 6º estágios juvenis são simétricos na forma mas vão aos poucos se diferenciando, até que no adulto o par de quelípodos consiste em duas garras morfológicamente distintas, uma com a função de cortar, e a outra de esmagar (Govind 1984).

O crescente aumento da industrialização e urbanização tem trazido mudanças, muitas vezes rápidas, em vários ecossistemas naturais. A fragmentação de paisagens naturais, desaparecimento de florestas, represamento de rios, aumento de gases poluentes, aumento da temperatura, poluição de solos e corpos d’água são algumas das alterações humanas que têm como consequência mudanças na biologia de organismos e espécies, e na estrutura, dinâmica e padrões de populações e comunidades. A avaliação e uma correta interpretação dessas alterações exigem

métodos e medidas que sejam suficientemente sensíveis para detectar qualquer mudança, seja em nível de organismo, espécie, população ou comunidade. No entanto, muitas vezes a análise de um parâmetro não é tão fácil, ou pela variabilidade do mesmo, ou pela dificuldade de interpretá-lo separadamente dos demais parâmetros e atributos. Por exemplo, a densidade populacional, apesar de ser um parâmetro de interesse, é geralmente tão variável espacial e temporalmente que não forneceria uma medida confiável de perturbações ambientais graduais e/ou não-letais (Allan 1982), sem falar no esforço amostral necessário para obter estimativas consistentes de tamanho e padrões populacionais (Hoog *et al.* 2001).

A observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar essas perturbações. Características morfológicas de ambos os lados de um organismo bilateralmente simétrico deveriam se desenvolver de forma idêntica, já que seriam expressões do mesmo genoma (Clarke *et al.* 1986 *apud* Hoog *et al.* 2001), e qualquer desvio da programação genética poderia apontar um estresse durante o desenvolvimento, que poderia estar relacionado com a qualidade ambiental (Leary & Allendorf 1989 *apud* Hoog *et al.* 2001). Variações e flutuações em características simétricas existem naturalmente, em porcentagens que variam de acordo com a população de organismos estudada, mas uma variação além do normal esperado poderia ser um indicativo de saúde do ambiente. Muitos autores tratam essas variações e mudanças na simetria como anormalidades ou deformidades (Warwick 1985, Johnson *et al.* 1993, Servia *et al.* 1998).

Na década de 1960 já era observada a presença de deformidades morfológicas em macroinvertebrados bentônicos (Brinkhurst *et al.* 1968), e desde então vem sendo difundida a idéia de que essas anomalias poderiam ser usadas para monitoramento ambiental (Johnson *et al.* 1993, Palmer 1996b). Mais recentemente, outros grupos de organismos vêm merecendo atenção, por mudanças na simetria de estruturas, aparecimento de deformidades e mal-formações causadas por mudanças ambientais antropogênicas e/ou por contaminantes ambientais, como observado em anfíbios (Blaustein *et al.* 1997, Bishop *et al.* 1999, Vandenlangenberg *et al.* 2003) e peixes (Da Cunha & Antunes 1999, Georgakopoulou *et al.* 2007, Ayed *et al.* 2008).

O presente trabalho tem como objetivo abordar conceitos e questões sobre assimetria flutuante em organismos e seu emprego na avaliação da qualidade ambiental. São abordados conceitos teóricos e aspectos evolutivos sobre assimetria, fazendo uma avaliação sobre o uso da mesma para diagnóstico ambiental e suas implicações. Exemplos de estudos de monitoramento envolvendo assimetrias e deformidades são mostrados e discutidos.

## MUDANÇAS NA SIMETRIA DE ORGANISMOS BILATERAIS: CONCEITOS

A homeostase do desenvolvimento é a habilidade de um organismo em resistir a perturbações ambientais e genéticas durante seu desenvolvimento de forma a produzir um fenótipo geneticamente predeterminado (Waddington 1942, Lerner 1954 *apud* Clarke 1995), sendo que a homeostase apresenta dois componentes principais: canalização e estabilidade do desenvolvimento (Clarke 1995). Ainda segundo Clarke (1995), a canalização atua reduzindo a variação fenotípica associada a uma característica que, por outro lado, poderia resultar de uma variabilidade genética e ambiental, enquanto que a estabilidade do desenvolvimento refere-se a processos que diminuem a variação fenotípica resultante de acidentes do desenvolvimento.

A rigidez ou flexibilidade do desenvolvimento de um organismo é importante na determinação do valor adaptativo do seu genótipo, sendo que a homeostase do desenvolvimento proporcionaria uma proteção contra choques ambientais, ao curso do desenvolvimento (Dobzhansky 1973). Esse desenvolvimento é chamado de canalizado, onde a operação de fatores internos durante o desenvolvimento reduz o efeito de influências perturbadoras, conseqüentemente restringindo a variação do fenótipo em torno de uma ou mais formas (Futuyma 1992). O desenvolvimento canalizado leva a resultados geralmente semelhantes, na maioria ou em todas as condições a que a espécie é exposta em seu hábitat, desde que a maioria de seus genótipos esteja compreendida na norma adaptativa da população da espécie (Dobzhansky 1973). Van Valen (1962) postulava que a canalização do desenvolvimento é o tampão dos amplos esboços do desenvolvimento perante as perturbações ambientais.

A estabilidade do desenvolvimento é uma estimativa indireta da aptidão dos indivíduos em uma

população, sendo que a habilidade da estabilidade do desenvolvimento em prever mudanças na aptidão assume que mudanças nessa estabilidade serão manifestadas no fenótipo antes que qualquer mudança detectável ocorra em componentes diretos da aptidão, como a fecundidade (Clarke 1995). Dentre as várias maneiras de mensurar a estabilidade do desenvolvimento, a assimetria flutuante é uma das mais utilizadas. Como a estabilidade do desenvolvimento atenuaria acidentes durante o desenvolvimento, a assimetria flutuante irá refletir a eficiência dos mecanismos da mesma (Clarke 1995).

Nos Bilatéria, a simetria bilateral é obtida pela interseção ortogonal do eixo anterior-posterior e do eixo dorsal-ventral, sendo que genes são responsáveis pela manutenção de padrões simétricos nas diversas características. Genes *Hox* têm um papel conservador em padronizar o eixo anterior-posterior, enquanto que genes decapentaplégicos possuem um papel conservador na organização do eixo dorsal-ventral (Finnerty *et al.* 2004). Os lados direito e esquerdo começam a ser definidos assim que esses dois eixos de desenvolvimento são estabelecidos. Palmer (1996b) sugere que o terceiro eixo de organização não seria o direito-esquerdo, mas sim um eixo proximal-distal, sendo que as células de um dado lado do corpo 'tomam decisões' de desenvolvimento baseadas nas suas distâncias da linha mediana e das suas posições nos eixos anterior-posterior e dorsal-ventral.

As diferenças observadas em células e tecidos começam no desenvolvimento porque os programas de expressão genética mudam à medida que as células vão se diferenciando. Essa visão de desenvolvimento foi expressa por Waddington (1957 *apud* Slack 2002), que comparou o caminho de uma linhagem celular rumo à diferenciação final com uma bola descendo através de vales sinuosos: uma vez que a bola entra no vale final, não é fácil ela atravessar uma montanha e ir para o vale vizinho (transdiferenciação ou plasticidade, de acordo com Reik & Dean 2001) ou retornar ao começo (clonagem ou totipotência, de acordo com Reik & Dean 2001).

#### ASSIMETRIA DIRECIONAL, ANTISSIMETRIA E ASSIMETRIA FLUTUANTE

Van Valen (1962) agrupou os desvios de uma perfeita simetria de um organismo, ou de parte dele,

em três tipos categorias: assimetria direcional, antissimetria e assimetria flutuante. A assimetria direcional acontece quando há normalmente um maior desenvolvimento de um caráter em um ou mais lados do plano de simetria do que do outro (Van Valen 1962), sendo a maioria dos indivíduos assimétricos na mesma direção (Palmer 2004). O coração dos mamíferos é um exemplo de assimetria direcional. A antissimetria seria uma situação menos comum, onde a assimetria é normalmente presente, mas o lado que teria maior desenvolvimento é variável, como no caso de indivíduos canhotos e destros em uma população. A assimetria flutuante resultaria da inabilidade dos organismos em se desenvolverem em caminhos precisamente determinados, podendo estar relacionada a um estresse genético ou ambiental durante o desenvolvimento do indivíduo (Palmer 1996b, 2004, Bonada *et al.* 2006). Um ou até os três tipos de assimetria podem estar presentes em um mesmo caráter (Van Valen 1962).

Palmer (1996b) ilustrou as distribuições de frequência dos três tipos de assimetria, como ilustradas na Figura 1 do presente trabalho. Cada um dos três tipos é caracterizado por uma combinação diferente de média e variância da distribuição das diferenças entre o lado direito e esquerdo (*Right minus Left*, R-L) (Palmer & Strobeck 1986). A assimetria flutuante descreve um padrão específico de variação bilateral, uma frequência de distribuição das diferenças entre o lado direito e esquerdo cuja média é zero, e cuja distribuição é normal (curva em forma de sino). Na assimetria direcional, o gráfico de distribuição de frequência encontra-se deslocado para o lado esquerdo ou para o direito, dependendo do resultado R-L; por exemplo, quando o lado direito é maior do que o esquerdo, há um deslocamento para a direita do gráfico. Já na antissimetria haveria uma distribuição bimodal, pois um lado é maior do que o outro, porém o lado maior poderia ser ou o esquerdo ou o direito.

As características assimétricas classificadas como assimetria direcional e antissimetria são transmitidas aos descendentes, mas diferem em um aspecto importante. Na assimetria direcional, a direção da assimetria é quase sempre herdada, enquanto que a direção na antissimetria quase nunca é transmitida a descendentes (Palmer 2004). Por exemplo, em mamíferos são vistas várias estruturas assimetricamente direcionadas e herdadas, como o coração, o pulmão (lado direito possui mais lobos do que o esquerdo), fígado (possui

um lobo do lado direito) e várias estruturas do cérebro. Já a característica antissimétrica de um indivíduo ser canhoto ou destro não é herdada, assim como qual das quelas de um crustáceo terá o maior desenvolvimento.

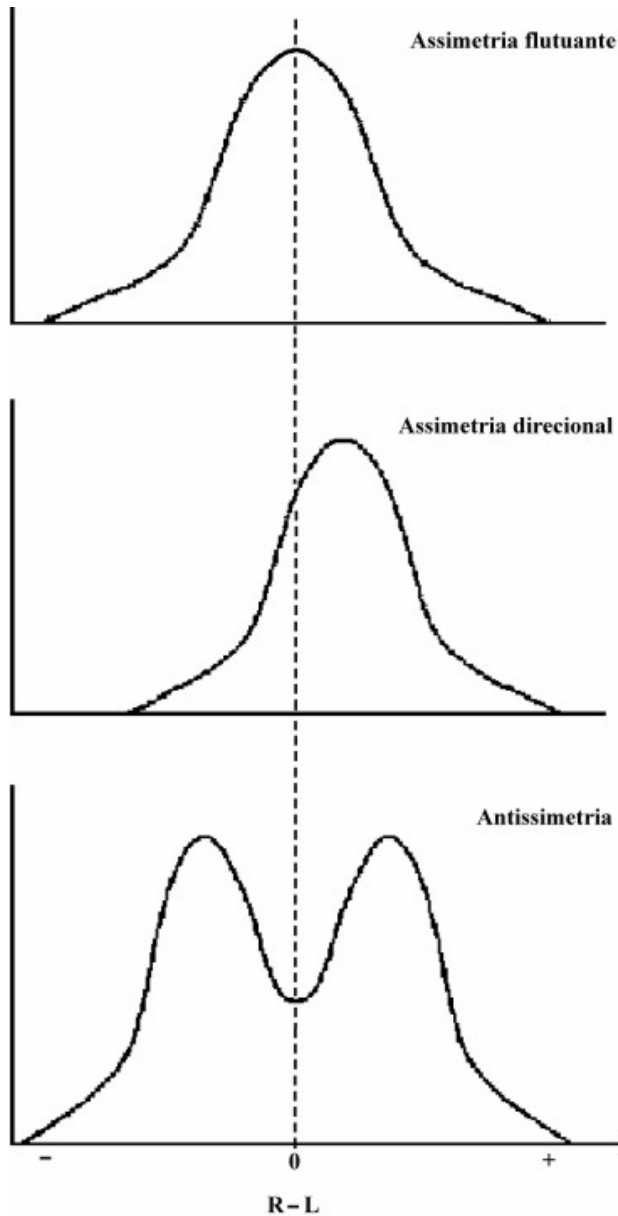


Figura 1. Distribuições de frequência das diferenças entre os lados direito e esquerdo (R-L), ilustrando os três tipos de desvios da simetria bilateral: assimetria flutuante, assimetria direcional e antissimetria. A partir de Palmer (1986).

Figure 1. Frequency distributions of the differences between right and left body sides (R-L) illustrating three types of deviation from bilateral symmetry: fluctuating asymmetry, directional asymmetry, and antisymmetry. After Palmer (1986).

A assimetria direcional e a antissimetria são controladas durante o desenvolvimento, e são, provavelmente, adaptativas como assimetrias, enquanto que a assimetria flutuante seria amortizada pela seleção natural (Van Valen 1962). Van Valen (1962) apon-

tava que a assimetria flutuante seria um resíduo após o organismo em desenvolvimento tentar ser o mais simétrico possível, e considerava que as causas da assimetria flutuante seriam algo análogas ao ‘ruído’ da teoria de informação, sendo um ‘ruído de desenvolvimento’ (termo de Waddington 1957 *apud* Van Valen 1962). De acordo com Van Valen (1962), a resistência ao ruído de desenvolvimento é geralmente relacionada com a canalização do desenvolvimento e a canalização e a resistência ao ruído seriam diferentes níveis do mesmo aspecto envolvendo a adaptação.

#### ÍNDICES DE ASSIMETRIA FLUTUANTE

A investigação de assimetria flutuante envolve a mensuração de uma série de características discretas e/ou contínuas, em ambos os lados dos indivíduos de uma espécie, buscando avaliar se um determinado fator estressante externo afeta o desenvolvimento ontogenético dos mesmos (Silva *et al.* 2007). Palmer & Strobeck (1986) fizeram uma revisão de métodos, análises e conceitos envolvendo assimetria flutuante, abordando questões teóricas e práticas, e incluindo uma revisão dos índices usados para medir a mesma e suas implicações.

Um grande número de índices de assimetria flutuante (FA) tem aparecido na literatura, sendo que Palmer & Strobeck (1986) contaram um total de 22, sendo que esses diferentes índices são, na verdade, amplas variações de nove tipos básicos. De acordo com Palmer & Strobeck (1986), a assimetria de um determinado caráter de um indivíduo  $i$  ( $A_i$ ) pode ser medida tanto como o valor absoluto da diferença entre o lado esquerdo e o lado direito ( $|R_i - L_i|$ ), como a própria diferença ( $R_i - L_i$ ), ou como a proporção de medidas de cada lado de um indivíduo ( $R_i \div L_i$ ). Os autores mencionam que cada uma dessas medidas tem servido de base para um ou mais índices usados para analisar diferenças de assimetria entre amostras; a principal diferença seria se a variação no tamanho do caráter como um todo é tratada, ou se não recebe tratamento e, ainda, como essa variação é analisada. A Tabela I apresenta esses principais índices, sendo adaptada do trabalho de Palmer & Strobeck (1986). Os Índices 1 e 4 são os mais comumente usados. Os Índices 1, 4 e 5 não fazem ajustes para as diferenças no tamanho do caráter. Os índices que ajustam o tamanho, o fazem ou indivíduo por indivíduo (Índices 2, 6, 8 e 9) ou no nível de população (Índices 3 e 7).

Tabela I. Índices de assimetria flutuante (FA) e relações entre os mesmos. Tabela adaptada a partir de Palmer & Strobeck (1986).  $A_i$  – assimetria de um caráter particular de um indivíduo  $i$ ;  $R_i$  – tamanho do lado direito de um indivíduo  $i$ ;  $L_i$  tamanho do lado esquerdo de um indivíduo  $i$ ;  $N$  – número de indivíduos em uma amostra; var- variância.

Table I. Indices of fluctuating asymmetry (FA) and relationships among them. Adapted from Palmer & Strobeck (1986).  $A_i$  – asymmetry of a particular character for a given individual  $i$ ;  $R_i$  – size of the right side of a given individual  $i$ ;  $L_i$  size of the left side of given individual  $i$ ;  $N$  – number of individuals in a sample; var- variance.

Medida de Assimetria em Indivíduo						
	$A_i =  R_i - L_i $		$A_i = (R_i - L_i)$		$A_i = (R_i \div L_i)$	
	Índice	Índice para População	Índice	Índice para População	Índice	Índice para População
Sem escalonamento pelo tamanho do caráter	1	$[\Sigma (A_i)] \div N$	4	var( $A_i$ )	----	----
			5	$[\Sigma (A_i)^2] \div N$		
Tamanho do caráter escalonado por indivíduo	2	$\Sigma \{(A_i) \div [(R_i + L_i) \div 2]\} \div N$	6	var $\{(A_i) \div [(R_i + L_i) \div 2]\}$	8	var[log( $A_i$ )]
Tamanho do caráter escalonado por população	3	$\{[\Sigma (A_i)] \div N\} \div \{[\Sigma (R_i + L_i)] \div 2N\}$	7	$[\text{var}(A_i)] \div \{[\Sigma (R_i + L_i)] \div 2N\}$	----	----

Índice 9 =  $1 - r^2$  (onde  $r$  = correlação entre  $R_i$  e  $L_i$ )

### VARIAÇÕES NA ASSIMETRIA DE ORGANISMOS E SEU USO EM BIOMONITORAMENTO

A degradação de áreas naturais, entrada de substâncias contaminantes, mudanças na paisagem, alterações na ciclagem de nutrientes, cadeia trófica, mudanças de temperatura, regimes de seca e cheia em rios são alguns exemplos de impactos que causam mudanças desde o nível de organismo até o de comunidade e ecossistema. Uma das ferramentas para a avaliação de impactos ambientais, em nível de organismo, é o estudo da assimetria flutuante, envolvendo mudanças na simetria, deformidades e anomalias.

Como visto anteriormente, a assimetria flutuante é uma medida de estabilidade do desenvolvimento, e o estresse durante o desenvolvimento poderia afetar essa estabilidade. Apesar da intensidade do efeito ser variada, a magnitude da assimetria flutuante parece estar relacionada com uma variedade de estresses, que podem ser agrupados em duas categorias (Palmer 1996b): 1) estresses ambientais ou extrínsecos, como extremos de temperatura, escassez de recursos alimentares, poluição, pesticidas, parasitismo e densidade populacional; 2) estresses genéticos ou intrínsecos, como endocruzamento, hibridização, anomalias cromossômicas, genes recessivos deletérios e interrupções do balanço genético.

lias cromossômicas, genes recessivos deletérios e interrupções do balanço genético.

### MACROINVERTEBRADOS

Há quase 50 anos que se observa a presença de deformidades morfológicas em macroinvertebrados bentônicos e, desde então, vários estudos têm abordado a relação dessas deformidades com mudanças ambientais, difundindo a idéia de que essas mudanças na simetria poderiam ser usadas para monitoramento ambiental (Johnson *et al.* 1993, Palmer 1996b).

Os principais grupos de invertebrados usados para estudos de deformidades são os insetos e oligoquetos, sendo que as deformidades mais comumente estudadas estão relacionadas a estruturas da cápsula cefálica de insetos (Johnson *et al.* 1993). Dentre estes, os insetos aquáticos têm merecido maior atenção, pois, além de já serem amplamente utilizados em programas de biomonitoramento, muitos grupos são sensíveis a estresses, exibindo mudanças na simetria de estruturas morfológicas como uma das respostas. Alguns exemplos podem ser vistos na Tabela II.

As larvas aquáticas dos insetos dípteros quironomídeos predominam entre os organismos utilizados em estudos de deformidades morfológicas, por isso escolhemos fazer um apanhado dos trabalhos envolvendo essa família em um tópico separado.

Tabela II. Exemplos de estudos experimentais examinando a relação entre assimetria flutuante (FA) e estresse, incluindo referências bibliográficas. Tabela feita a partir de Hoog *et al.* (2001), com novos dados e referências.

Table II. Some examples of experimental studies examining the relationship between fluctuating asymmetry (FA) and stress. Table after Hoog *et al.* (2001), including new data and references.

Grupo	Tipo de estresse	Associação de assimetria flutuante com estresse		
		Sim	Não	Referências
<b>MAMÍFEROS</b>	Mudança de hábitat	1		Badyaev <i>et al.</i> 2000
	Agentes tóxicos		1	Leamy <i>et al.</i> 1999
	Competição	1		Cadée 2000
<b>AVES</b>	Alimento		1	Hovorka & Robertson 2000
	Fragmentação florestal			Anciães & Marini 2000
	Parasitas/ patógenos	2		Shykoff & Møller 1999 Fair <i>et al.</i> 1999
<b>PEIXES</b>	Competição	1		Campbell 2000
	Temperatura	1		Campbell <i>et al.</i> 1998
	Temperatura	1		Georgakopoulou <i>et al.</i> 2007
	Agentes tóxicos	1	1	Vøllestad <i>et al.</i> 1998 Allenbach <i>et al.</i> 1999
	Agentes tóxicos	?		Ayed <i>et al.</i> 2008
	Parasitas/ patógenos Tremadoda	1		Cunningham <i>et al.</i> 2005
	Poluentes?	1?		Da Cunha & Antunes 1999
	Cádmio	1		Benaduce <i>et al.</i> 2007
	Lixívia	1		Osaki <i>et al.</i> 2006
	Pesticidas	1		Wijeyaratne & Pathiratne 2006
<b>RÉPTEIS</b>	Temperatura	1		Braña & Ji 2000
	Agentes tóxicos		1	Veiga <i>et al.</i> 1997
<b>ANFÍBIOS</b>	Pesticidas	1		Bishop <i>et al.</i> 1999
	Radiação UV-B	1		Blaustein <i>et al.</i> 1997
	Baixos níveis de sódio e potássio	1		Garber <i>et al.</i> 2004
	Cipermetrina (inseticida piretróide)	1		Greulich & Pflugmacher 2004
	Amônia	1		Griffis-Kyle & Ritchie 2007
	Pesticidas	1		Gurushankara <i>et al.</i> 2007
	Agrotóxicos		1	Piha <i>et al.</i> 2006
	Oxamil (pesticida)	1		Cooke 1981

Continuação Tabela II

Grupo	Tipo de estresse	Associação de assimetria flutuante com estresse		
		Sim	Não	Referências
INSETOS	Competição	1	1	Blanckenhorn <i>et al.</i> 1998 Arnqvist & Thornhill 1998 David <i>et al.</i> 1998 Preziosi <i>et al.</i> 1999
	Alimento	2	6	Bjorksten <i>et al.</i> 2000 Woods <i>et al.</i> 1999 Hosken <i>et al.</i> 2000 Imasheva <i>et al.</i> 1999 Hunt & Simmons 1997
	Parasitas/ patógenos	1		Polak 1997 Hosken <i>et al.</i> 2000 Imasheva <i>et al.</i> 1997
	Temperatura	5	1	Hoog <i>et al.</i> 2001 McKenzie 1997 Bubli <i>et al.</i> 2000 Chapman & Goulson 2000
	Agentes tóxicos	1	2	Floate & Fox 2000 Hardersen <i>et al.</i> 1999 Hardersen 2000
CRUSTÁCEOS	Temperatura	1		Savage & Hogarth 1999
	Propiconazol (fungicida)	1		Betancourt-Lozano <i>et al.</i> 2006

#### A FAMÍLIA CHIRONOMIDAE (INSECTA: DIPTERA)

Os Chironomidae são uma família de insetos aquáticos da ordem Diptera, conhecidos pela sua diversidade de espécies e por viverem sob uma ampla variedade de condições ambientais, com espécies tolerando baixas concentrações de oxigênio, extremos de temperatura, pH, salinidade e trofia.

No começo do século XX, o biomonitoramento de águas doces começou a utilizar organismos como indicadores de poluição orgânica em rios (Kolkwitz & Marsson 1909). Posteriormente, Thienemann (1921) iniciou uma discussão sobre a tipologia de lagos baseada na relação entre os organismos aquáticos e condições tróficas de lagos europeus. Os chamados tipos de lagos (*Seetypen*) de Thienemann seriam resultados de uma relação estreita entre as comunidades de organismos habitantes e condições do ambiente, relação essa determinada pelas necessidades alimentares e fisiológicas dos organismos e a ciclagem de

nutrientes do meio aquático. Além de introduzir o conceito de tipologia de lagos, Thienemann (1921) foi o primeiro pesquisador a usar comunidades de quironomídeos como indicadoras do estado trófico de um lago, dando origem aos chamados lagos de *Chironomus* e lagos de *Tanytarsus* (*Chironomus-Seen*, *Tanytarsus-Seen*), generalizações que representaram, respectivamente, lagos eutróficos e lagos oligotróficos. Este foi o começo de estudos envolvendo quironomídeos na avaliação da qualidade ambiental, servindo de base para muitos trabalhos ecológicos e de biomonitoramento, incluindo classificações de ambientes lênticos (Thienemann 1954, Brundin 1956, Sæther 1975, Aagaard 1986, Lindegaard 1992), desenvolvimento de índices, como o índice de qualidade bentônica (BQI) de Wiederholm (1976, 1980) e o *Biological Monitoring Working Party* (BMWP) de Armitage *et al.* (1983), classificação de águas correntes (Thienemann 1954, Illies 1961) e aplicação do conceito de contínuo fluvial (Lindegaard & Brodersen 1995).



Brinkhurst *et al.* (1968) foram os primeiros a relatar deformidades em peças bucais de larvas de quironomídeos habitantes de lagos poluídos com metais pesados e compostos orgânicos tóxicos, indicando que as deformidades seriam uma consequência desse tipo de contaminação. Exemplos de estudos de deformidades em quironomídeos podem ser vistos na Tabela III, incluindo informações sobre tipos de contaminantes e os táxons afetados.

As deformidades em larvas de quironomídeos relatadas por Hamilton & Sæther (1971) foram os primeiros casos descritos e discutidos com mais detalhes para essa família de insetos aquáticos. Hamilton

& Sæther (1971) observaram várias deformidades em larvas de quironomídeos coletadas em lagos canadenses, sendo essas deformidades possivelmente causadas por efluentes industriais contendo poluentes agrícolas (inseticidas e fertilizantes). Um interessante comentário de Hamilton & Sæther (1971) é que as deformidades não foram causadas por esgotos domésticos, já que não foram encontrados números significativos de larvas com deformidades próximas a fontes desse tipo de poluente. Nas áreas mais próximas às entradas de efluentes industriais, os autores não encontraram nenhum espécime vivo de qualquer espécie.

Tabela III. Estudos de deformidades em insetos aquáticos, causadas por agentes externos, incluindo os agentes causadores e referências.  
Table III. Studies of deformities in aquatic insects caused by external agents, including the causing agents and references.

Organismo	Deformidade morfológica	Agente causador	Referências
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus</i> , <i>Procladius</i> , <i>Protanypus</i> , <i>Stictochironomus</i>	Larvas: mento e mandíbula; cápsulas cefálicas muito esclerosadas	Poluentes agrícolas e industriais	Hamilton & Sæther 1971
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus</i> , <i>Procladius</i>	Larvas: mento e lígula	Poluentes agrícolas e/ou industriais	Warwick 1980
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus</i> , <i>Microspectra</i> , <i>Tanytarsus</i>	Larvas: peças bucais, mento, mandíbula, premandíbula	Efluentes industriais, metais pesados (Cádmio, Mercúrio, Zinco)	Wiederholm 1984
Diptera: Chironomidae	Larvas: deformidades nas peças bucais	DDT	Madden <i>et al.</i> 1992
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus</i>	Larvas com deformidades nas peças bucalis	Poluição por metais pesados (Cobre e Zinco)	Janssens de Bisthoven <i>et al.</i> 1998a
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: peças bucais (mento e mandíbula)	Cobre e chumbo	Janssens de Bisthoven <i>et al.</i> 1998b
Diptera: Chironomidae <i>Prodiamesa olivacea</i> e <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: peças bucais e antenas	Sedimentos tóxicos	Servia <i>et al.</i> 1998
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus zealandicus</i>	Larvas: deformidades nas peças bucalis (não conclusivo)	Vários fatores	Jeyasingham & Ling 2000
Diptera: Chironomidae <i>Prodiamesa olivacea</i> e <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: deformidades nas peças bucalis e nas antenas	Sedimentos tóxicos e sazonalidade	Servia <i>et al.</i> 2000
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: deformidades nas peças bucalis	4-n-nonilfenol	Meregalli <i>et al.</i> 2001
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: deformidades nas peças bucalis	Efluentes de esgoto tratado (pesticidas)	Meregalli <i>et al.</i> 2002
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus</i>	Larvas: deformidades nas peças bucalis	Poluição por metais pesados	Ilyashuk <i>et al.</i> 2003
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus tentans</i>	Larvas: deformidades nas peças bucais	Chumbo e Zinco	Martinez <i>et al.</i> 2004

Continuação Tabela III

Organismo	Deformidade morfológica	Agente causador	Referências
Diptera: Chironomidae <i>Polypedilum</i> , <i>Eukiefferiella</i> , <i>Procladius</i> , <i>Psectrotanypus</i>	Larvas com deformidades nas peças bucais	Poluição térmica, metais pesados e poluição orgânica	Janssens de Bisthoven & Gerhardt 2003
Diptera: Chironomidae (vários gêneros)	Larvas: deformidades nas peças bucais	Vários fatores não mensurados (metais pesados, substrato, oxigênio, poluição orgânica)	Nazarova <i>et al.</i> 2004
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: deformidades nas peças bucais e nas antenas	Sedimentos tóxicos e temperatura	Servia <i>et al.</i> 2004a
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus riparius</i>	Larvas: deformidades nas peças bucais e nas antenas	Sedimentos tóxicos, esgoto, cloreto e temperatura	Servia <i>et al.</i> 2004b
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus</i> sp.; <i>Cryptochironomus judicious</i> , <i>Einfeldia</i> sp.; <i>Kiefferulus</i> sp.; <i>Stictochironomus polystictus</i> , <i>Cladotanytarsus gloveri</i> , <i>Procladius noctivagus</i> , <i>Tanytus bilobatus</i>	Larvas: diversas deformidades nas antenas (perda ou adição de segmentos, aparecimento de novas estruturas, deslocamento ou perda do órgão anelar e órgãos de Lauterborn)	Zinco, cobre, mercúrio e cádmio	Bhattacharyay <i>et al.</i> 2005
Diptera: Chironomidae <i>Ablabesmyia monilis</i> , <i>Cryptochironomus</i> sp.; <i>Polypedilum</i> sp.; <i>Procladius</i> sp.	Larvas: mento, mandíbula, premandíbula, pecten, lígula, paralígula	Metais pesados (vários, ex. cádmio, cobre, chumbo, manganês)	Janssens de Bisthoven <i>et al.</i> 2005
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus plumosus</i>	Larvas: deformidades nas peças bucais (mento)	Tebufenozide (inseticida do grupo benzoilidrazina)	Kwak & Lee 2005
Diptera: Chironomidae (vários gêneros)	Larvas: deformidades nas peças bucais	Diversos fatores não mensurados e efluentes de esgoto tratado	MacDonald & Taylor 2006
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus tentans</i>	Larvas: deformidades nas peças bucais	Arsênico	Martinez <i>et al.</i> 2006
Diptera: Chironomidae <i>Chironomus plumosus</i>	Larvas: deformidades nas peças bucais (mento)	Pentaclorofenol	Song 2007
Odonata: Coenagrionidae <i>Xanthocnemis zealandica</i>	Adultos: padrão de venação das asas	Carbaryl	Hardersen & Wratten 1998
Odonata: Coenagrionidae <i>Xanthocnemis zealandica</i>	Adultos: comprimento da asa anterior	Carbaryl	Hardersen 2000
Odonata: Coenagrionidae <i>Ceriagrion</i> sp.	Larvas: modificação no comprimento da protíbia	Inseticida (Monosultap Triazophos E.C.)	Chang <i>et al.</i> 2007
Plecoptera: Perlidae <i>Phasganophora capitata</i>	Ninfas: atrofia das brânquias traqueais	Cloro	Simpson 1980
Plecoptera: Nemouridae <i>Nemoura trispinosa</i>	Ninfas: assimetria nos tarsos (não conclusivo)	Temperatura	Hogg <i>et al.</i> 2001
Trichoptera: Hydropsychidae <i>Hydropsyche morosa</i>	Larvas: comprimento e largura da tíbia, comprimentos do fêmur, mesonoto e garra	Condutividade da água, nitrato, cloreto	Bonada & Williams 2002
Trichoptera: Hydropsychidae <i>Hydropsyche exocellata</i>	Larvas: alterações na largura e comprimento de pernas e mandíbulas	Cloreto, condutividade elétrica, sólidos suspensos, fosfatos	Bonada <i>et al.</i> 2005
Insecta: Diversos grupos de Ephemeroptera, Trichoptera e Plecoptera	Ninfas e larvas: deformidades em brânquias	Mercúrio, metil-mercúrio, oxigênio dissolvido, pH, temperatura, outros contaminantes	Skinner & Bennett 2007

As deformidades em estruturas da cabeça das larvas, especialmente peças bucais e antenas, estão entre as mais estudadas. Mudanças na simetria dos dentes do mento, mandíbulas e premandíbulas incluem a adição, depleção, fusão e fissura de um ou mais dentes. As principais assimetrias observadas no mento originam um dente mediano que pode variar de fracamente a fortemente sulcado, ou esse dente pode estar quebrado ou fusionado com os dentes laterais, ausência de um dente formando um espaço (*Koehn gap*), dente curvado ou torcido, e adição de um ou mais dentes (Dickman & Rygiel 1996, Janssens de Bisthoven *et al.* 1998a, 1998b, 2001). Callisto *et al.* (2000) estudaram deformidades em larvas de *Chironomus* de um rio com entrada de efluentes domésticos e industriais, no sudeste do Brasil. Callisto *et al.* (2000) observaram e descreveram três tipos gerais de assimetria do mento com 15 variações, de uma ausência do dente externo a uma fraca deformidade no meio do mento, até uma combinação de fortes deformidades, que incluíram quebras, ausência de dente (*Koehn gap*) e quebra de parte do próprio mento. Bhattacharyay *et al.* (2005) investigaram um rio na Índia que recebe poluentes industriais e encontraram nos sedimentos aquáticos metais pesados como chumbo, zinco, cobre, mercúrio e cádmio. Bhattacharyay *et al.* (2005) encontraram assimetrias em várias partes da cabeça, principalmente nas antenas e classificaram as deformidades nas antenas nas seguintes categorias: perda de segmentos individuais, surgimento de novas estruturas, adição de segmentos e deslocamento ou perda total do órgão anelar e dos órgãos de Lauterborn.

Apesar de nem sempre serem idênticas nos diferentes indivíduos, Hamilton & Sæther (1971) viram que todas as larvas de quironomídeos com deformidades compartilharam um número de características e, sem exceção, todas apresentaram peças bucais deformadas. Os autores descreveram deformidades no mento e mandíbulas, que variaram desde dentes mais curtos, sulcados e torcidos, dentes de um lado faltando, até um mento ausente ou irreconhecível, observado em uma larva do gênero *Procladius*. Essas características também estiveram associadas a um aumento da esclerosação da cápsula cefálica, resultando em um escurecimento e espessamento da mesma, como visto no gênero *Protanypus*. Hamilton & Sæther (1971) observaram, ainda, que em larvas mais severamente deformadas de *Chironomus* e

*Procladius* havia um espessamento das paredes do tórax e abdômen.

As primeiras especulações sobre quais mecanismos seriam responsáveis pela ocorrência de mudanças profundas na simetria de quironomídeos, relacionadas com fatores ambientais, foram feitas por Hamilton & Sæther (1971). Os autores comentaram que as deformidades observadas nas larvas seriam conseqüências de mudanças fisiológicas profundas, podendo ser um resultado de uma muda incompleta, indicando que algumas substâncias poderiam interferir no balanço dos hormônios de crescimento no organismo. Ainda, o espessamento do exoesqueleto poderia ser uma forma de aumentar a proteção contra substâncias irritantes e tóxicas (Hamilton & Sæther 1971), já que a cutícula dos insetos é uma estrutura complexa secretada pela epiderme, possuindo várias camadas, e que confere proteção e suporte mecânico e estrutural ao corpo do organismo. Mudanças na morfologia externa durante os estágios de desenvolvimento de um inseto são geralmente acompanhados de mudanças nas características físicas e químicas da cutícula.

Além do trabalho de Hamilton & Sæther (1971), trabalhos posteriores mostraram que deformidades em larvas de Chironomidae, especialmente do gênero *Chironomus*, estão muitas vezes relacionadas com a contaminação de sedimentos. Warwick (1985, 1988) mostrou exemplos de um aumento na frequência de deformidades como conseqüência de elevadas concentrações de materiais radioativos, metais pesados, pesticidas e alguns agentes carcinogênicos. Warwick (1990) e Warwick & Tisdale (1988) ilustraram deformidades típicas em peças bucais (mento, mandíbulas, premandíbulas, pente epifaríngeo, lamelas do labro) e antenas.

As deformidades em estruturas da cabeça variam desde uma branda assimetria, como a adição ou o desaparecimento de um único dente do mento, até um espessamento massivo e fusão das peças bucais, e devem ser distinguidas de quebras e abrasões decorrentes da alimentação em substratos duros (Lindegaard 1995). Larvas de quironomídeos raspadoras de epilítion em pedras ou em sedimentos de maior granulometria, ou raspadoras de perifítion em madeiras submersas podem ter um percentual maior de abrasão e quebra de dentes do mento e mandíbulas do que larvas coletoras ou raspadoras de folhas ou outros substratos moles. Dessa forma, ao analisar flutuações na assimetria de estruturas

morfológicas é fundamental que vários aspectos da biologia e ecologia sejam concomitantemente investigados. Deformidades alteram a simetria das peças bucais, enquanto que uma abrasão normal pode ser reconhecida por quebras abruptas, mas a simetria geral da cabeça é mantida (Lindegaard 1995).

Como visto acima, o tipo de substrato e o hábito alimentar podem ter uma influência em quebras e desgastes de peças bucais, porém tais alterações morfológicas estariam dentro de uma frequência considerada normal em larvas habitantes de ambientes naturais. No entanto, em locais sob influência de impactos antrópicos, os próprios hábitos alimentares das larvas podem contribuir para um aumento das deformidades. Williams *et al.* (2001) investigaram deformidades morfológicas em larvas e adultos de quironomídeos em diversos ambientes aquáticos na área de Chernobyl (norte da Ucrânia) após o acidente nuclear de 1986. Considerado o pior acidente nuclear e militar, a explosão do reator lançou cerca de 30 radionucleotídeos, com meia-vida variando de 11 horas (Criptônio-85) até 24.065 anos (Plutônio-239) (Williams *et al.* 2001), produzindo uma nuvem de radioatividade que atingiu a Rússia, Bielorrússia, Ucrânia e Europa, incluindo os países escandinavos e o Reino Unido. Williams *et al.* (2001) observaram deformidades nas cápsulas cefálicas, sendo as maiores incidências vistas nas antenas, mento, mandíbulas, pente epifaríngeo e, em menor escala, nas pré-mandíbulas, lamelas e cerdas do labro. Os autores mencionaram que não é completamente claro por que essas estruturas, relacionadas primariamente com a alimentação, mostraram as maiores frequências de deformidades, já que a sensibilidade à radiação é tipicamente vista em partes do corpo onde as células apresentam uma divisão rápida, como órgãos reprodutivos, epitélio intestinal e epiderme. Esses autores não encontraram deformidades ou assimetrias nessas partes, nem em outras consideradas moles, como os parapódios anteriores e posteriores, túbulos anais e ventrais. Uma explicação possível que os autores mencionaram é que as peças bucais das larvas estão sujeitas a uma maior exposição à radioatividade, através da coleta e mastigação de partículas de alimento contaminadas, expondo toda a área da cabeça a raios-alfa que, uma vez dentro do corpo, depositam toda a sua energia em uma forma concentrada, e a divisão celular ocorreria nessas

partes do corpo antes de cada muda. As deformidades em antenas das larvas e palpos labiais dos adultos podem ser devido à função sensorial inerente dessas estruturas, estando as mesmas em contato mais frequente com o substrato contaminado. Williams *et al.* (2001) viram que a incidência de deformidades em larvas foi maior do que nos adultos, e que seria provavelmente explicada pelo efeito letal da radiação nas larvas, que não chegariam à fase adulta.

### ÍNDICES DE DEFORMIDADE

Além dos índices de assimetria flutuante (ver primeira seção desse trabalho, item 2), a partir de estudos de deformidades em quironomídeos foram desenvolvidos vários índices, com a proposta de calcular não só incidência de deformidades em comunidades, mas de aplicar esses resultados em estudos de biomonitoramento, permitindo inferências e comparações. Os primeiros autores a proporem o uso de índices foram Warwick (1985, 1988, 1990, 1991) e Warwick & Tisdale (1988). Vários outros autores vêm utilizando e adaptando esses índices (Bhattacharyay *et al.* 2005, Clarke *et al.* 1995, Servia *et al.* 2002, 2004b). Alguns dos principais índices utilizados com sucesso em trabalhos são os seguintes:

- I) Assimetria flutuante (FA). É estatisticamente representada por uma distribuição normal em torno de zero das diferenças entre o lado esquerdo e lado direito. Os índices sobre assimetria flutuante em indivíduos foram tratados na primeira seção do presente trabalho e podem ser vistos na Tabela I. Para cada amostra, os valores de assimetria podem ser calculados como a soma das diferenças absolutas entre os lados esquerdo (L) e direito (R) de um indivíduo  $i$ , soma essa dividida pelo tamanho da amostra  $N$ :  $FA = \sum(|L_i - R_i|) \div N$ .
- II) Porcentagem de deformidade (% def.) de uma estrutura particular = (Número de larvas apresentando essa estrutura deformada  $\div$  número total de larvas com deformidades) X 100.
- III)  $\Sigma$ IMR (Índice de resposta morfológica) = Somatório do escore total de valores para a severidade de partes particulares deformadas.
- IV) ISAD<sub>(n)</sub> (Índice de severidade de deformidade) =  $\Sigma$ IMR  $\div n$ , sendo  $n$  o número total de indivíduos da espécie de Chironomidae em questão.

V)  $SISS_{(antena)}$  (Índice de sensibilidade da antena de espécies sensíveis) =  $(1 \div N) \times [\Sigma IMR_{(Chironomus)} + \Sigma IMR_{(Kiefferulus)} + \Sigma IMR_{(Stictochironomus)} + \Sigma IMR_{(Procladius)}]$ , sendo  $N$  o número total de larvas de Chironomidae da espécie sensível. Índice proposto por Bhattacharyay *et al.* (2005).

Os escores dos valores de severidade de deformidade em uma estrutura particular são dados de acordo com a investigação dessas assimetrias em uma determinada população ou comunidade. Por exemplo, Williams *et al.* (2001), investigando deformidades em quironomídeos em áreas contaminadas por radioatividade após o acidente de Chernobyl, determinaram índices de severidade da seguinte forma: simples constrição do segmento final do palpo (índice de valor 1); múltipla constrição do segmento final do palpo (índice de valor 2); vários segmentos do palpo deformados (índice de valor 3).

#### OUTROS MACROINVERTEBRADOS

Além dos Chironomidae, espécies de insetos das ordens Ephemeroptera, Odonata, Plecoptera e Trichoptera também são alvos de estudos sobre a influência de impactos ambientais na presença de assimetrias morfológicas. Hoog *et al.* (2001) examinaram flutuações de assimetria entre indivíduos da espécie *Nemoura trispinosa* Claassen (Plecoptera: Nemouridae), para determinar se os indivíduos expostos a um aumento 2-3,5°C na temperatura da água mostrariam uma maior flutuação na assimetria do que os indivíduos-controle. Os autores não encontraram diferença significativa entre as áreas controle e experimental, sendo que quatro localidades de referência adicionais foram estudadas para estimar a variação natural na flutuação da assimetria e para avaliar relações entre a flutuação na assimetria e a estrutura genética da população. Hoog *et al.* (2001) observaram que a variação na flutuação da assimetria foi maior entre estas localidades do que a flutuação resultante do experimento. Ainda, uma análise de alozima indicou de baixos a moderados níveis de diferenciação genética entre as localidades e houve correlações negativas entre a flutuação na assimetria e heterozigose.

Tricópteros são organismos sensíveis à poluição, sendo a ordem usada em índices biológicos como

EPT e espécies utilizadas como bioindicadoras. *Hydropsyche exocellata* Dufour é uma espécie tolerante à poluição, e Bonada *et al.* (2005) investigaram a relação entre assimetria flutuante em 20 características dessa espécie e a poluição em um rio mediterrâneo no nordeste da Espanha. As características usadas foram comprimento e largura dos fêmures, tíbias e tarsos, comprimento das garras das três pernas e comprimento da mandíbula. Bonada *et al.* (2005) encontraram uma correlação positiva entre assimetria flutuante e cloreto, condutividade elétrica e sólidos suspensos para quase todas as características, e entre assimetria flutuante e P-fosfato apenas para as características da segunda perna. Deformidades morfológicas nas brânquias abdominais, como escurecimento, malformação e/ou redução dos tufos também podem estar relacionadas com compostos químicos poluentes (Vuori & Kukkonen 2002).

Hardersen & Wratten (1998) estudaram a influência da exposição do penúltimo estágio larval de *Xanthocnemis zealandica* (McLachlan) (Insecta: Odonata) à concentração subletal de carbaryl na assimetria flutuante em características dos adultos. Os autores analisaram assimetrias em padrões de células das asas e no comprimento das asas, e observaram um aumento da assimetria flutuante nos padrões das células, enquanto que o comprimento das asas não mostrou diferenças significativas.

#### VERTEBRADOS

Dentre os vertebrados, o grupo dos anfíbios tem chamado uma atenção especial. As populações de anfíbios têm declinado em várias partes do mundo a uma taxa alarmante nas últimas décadas, sendo objeto de estudo de vários trabalhos nas áreas, entre outras, de biomonitoramento e biologia da conservação (Blaustein & Wake 1995, Kiesecker *et al.* 2001, Pounds 2001). Pesquisadores de populações de anfíbios na América Central, América do Norte e Austrália têm atribuído esses declínios à perda de habitats, agentes biológicos, como trematódas e infecções por fungos, e agentes químicos, como pesticidas e fertilizantes (Daszak *et al.* 1999, Ouellet *et al.* 1997, Ouellet 2000, Kiesecker *et al.* 2001, Whitfield *et al.* 2007).

Entre 1995 e 1997, cerca de 62% dos municípios em Minnesota registraram a presença de anfíbios com mal-formações (Rosenberry 2005). Os tipos de

deformidades encontrados foram extensivamente documentados e variavam consideravelmente (Meteyer *et al.* 2000).

A ampla ocorrência de anfíbios com deformidades e a importância da água doce na cadeia alimentar vêm gerando um aumento da preocupação da sociedade com a saúde pública. Várias hipóteses têm sido propostas para explicar essas deformidades, incluindo o aumento da exposição aos raios ultravioletas-B devido à diminuição da camada de ozônio, predação, fragmentação de habitats, escassez de alimento, aumento da exposição a parasitas, poluentes e retinóides (Blaustein *et al.* 1997, Sessions *et al.* 1999, Pounds 2001, Garber *et al.* 2004).

Em peixes, deformidades em estruturas afetam o desenvolvimento dos indivíduos e a reprodução, sendo também um problema econômico em pisciculturas. Mudanças em estruturas do esqueleto e de músculos, incluindo aplasia do *septum transversum* e anomalias no coração e bexiga natatória, estão entre as principais deformidades registradas. Deformidades no esqueleto se desenvolvem durante a ontogenia devido a fatores abióticos desfavoráveis e disponibilidade de recursos alimentares, mas também a fatores genéticos e doenças (Cahu *et al.* 2003, Takle *et al.* 2005). Estudos vêm mostrando que, dentre os fatores abióticos, a temperatura da água é um dos mais importantes (Wang & Tsai 2000, Takle *et al.* 2005), por causa do seu papel fundamental no controle e desenvolvimento do crescimento, afetando principalmente os estágios larvais e juvenis. A exposição a compostos químicos como pesticidas, antibióticos e poluentes industriais também causam deformidades em brânquias, coluna vertebral e nadadeiras (Da Cunha & Antunes 1999, Wijeyaratne & Pathiratne 2006, Benaduce *et al.* 2007), sendo indicativas de distúrbios ambientais, já que essas deformidades são raras em populações naturais em ambientes preservados.

A fragmentação florestal e a perda de habitat podem promover um aumento da assimetria flutuante em populações isoladas, seja por estresse genético ou ambiental (Anciães & Marini 2000). Anciães & Marini (2000) estudaram o efeito da fragmentação florestal em comunidades de passeriformes na Mata Atlântica. Os autores compararam três tipos de análises para as comunidades, onde I) todas as espécies presentes em uma dada área foram consideradas, II) apenas espécies presentes concomitantemente em

áreas-controle e fragmentos foram incluídas, e III) as amostras das espécies de ocorrência concomitante em áreas-controle e fragmentos foram tratadas de forma a evitar o efeito de diferenças na abundância de cada espécie entre os tipos de floresta. Nesse estudo, os passeriformes também foram classificados de acordo com o grau de dependência da floresta para reprodução, forrageamento e dieta alimentar. Os autores encontraram uma maior assimetria flutuante relativa das asas e tarsos dos passeriformes em áreas de fragmentos florestais do que nas áreas-controle, para os três tipos de análises de comunidades, sugerindo que essas comunidades exibem alterações morfológicas, expressadas pela assimetria, devido à fragmentação do habitat.

#### DEFORMIDADES E TOXICOLOGIA

Aproximadamente 63.000 componentes químicos são utilizados pelo homem e lançados na natureza, porém menos de 500 foram testados para avaliar sua toxicidade em organismos aquáticos (Giesy & Hoke 1991 *apud* Lindegaard 1995). Dessa forma, o conhecimento de aspectos da contaminação, proveniente de uma grande gama de compostos químicos interagindo de maneira imprevisível, é ainda fragmentado, apesar dos inúmeros estudos sobre os efeitos tóxicos em ecossistemas e organismos (Lindegaard 1995).

O estudo de assimetrias e deformidades causadas por agentes externos pode auxiliar testes de toxicidade, especialmente os testes crônicos de estudos em longo prazo, que investigam efeitos subletais em organismos. Os dípteros quironomídeos e a ordem Ephemeroptera são os únicos grupos de insetos amplamente usados na área de ecotoxicologia (Soin & Smagghe 2007). Os dípteros quironomídeos vêm sendo o principal grupo utilizado nesses testes, devido à facilidade de manipulação de culturas de larvas em laboratório e à sensibilidade de resposta desses organismos.

Martinez *et al.* (2004) chamaram atenção à necessidade de examinar se as deformidades observadas são mutagênicas ou teratogênicas. Alterações mutagênicas envolvem mutações no DNA de um organismo que serão passadas para a próxima geração, enquanto que as teratogênicas têm um efeito na diferenciação celular ou crescimento, mas não envolvem mutação no DNA, não sendo, dessa forma, herdadas. As alterações teratogênicas podem ser induzidas por poluentes

ambientais, compostos tóxicos, metais pesados, etc., e são essas alterações que fornecem uma resposta apropriada em estudos envolvendo testes crônicos de toxicidade. Para investigar se dado agente estressor tem efeito teratogênico ou mutagênico é necessário que o teste envolva uma cultura de uma dada geração de organismos diretamente exposta ao contaminante, análise das deformidades nessa geração, continuação da criação da mesma cultura sem o agente estressor e análise de deformidades na geração seguinte (livre do contaminante). Existem estudos onde o índice de deformidades em organismos coletados em áreas poluídas (ou criados em laboratório com um agente estressor) era alto na geração exposta ao agente, mas diminuiu significativamente na geração seguinte. Frank & Koehn (1982 *apud* Martinez *et al.* 2004) observaram uma frequência de deformidades de 40,3% em quironomídeos coletados em um canal poluído; a geração seguinte foi criada em laboratório, em sedimentos livres de contaminantes, e a frequência de deformidades declinou para apenas 2%. Martinez *et al.* (2004) realizaram um estudo para determinar se deformidades induzidas por zinco e chumbo em peças bucais de larvas de quironomídeos eram teratogênicas ou mutagênicas. Os resultados obtidos indicaram que o aumento da incidência de deformidades em presença de zinco não foi passada para a geração seguinte, enquanto que as frequências de deformidades em larvas criadas em presença de chumbo não variaram significativamente na geração seguinte. Os autores concluíram que as deformidades causadas por zinco seriam teratogênicas, enquanto que as causadas por chumbo seriam mutagênicas.

Alguns estudos têm demonstrado que uma maior exposição de larvas a contaminantes nem sempre resulta em um maior aumento de deformidades, pois concentrações muito altas de substâncias podem ser letais, ou inibir de tal forma a muda que a larva não completaria seu desenvolvimento. Além disso, um organismo exposto a longo prazo a um agente estressor pode ter suas respostas adaptativas e de proteção suprimidas a ponto dos danos patológicos serem tão extensos que a morte é inevitável (Karouna-Renier & Zehr 2003). Kosalwat & Knight (1987) investigaram efeitos tóxicos de diferentes concentrações de cobre na água na espécie *Chironomus decorus* Johannsen. Os autores viram que o desenvolvimento e eclosão de ovos de *C. decorus* não foram afetados em

concentrações de 0,1 a 5 mg/L de cobre na água e que todas as larvas sobreviveram à duração do teste, com exceção das que estiveram sob concentrações de 5mg/L de cobre na água, morrendo logo após a eclosão. Os autores também adicionaram cobre ao substrato e concentrações de 1,6mg de cobre por quilo de substrato causaram uma redução do crescimento das larvas, além de deformidades no pente epifaríngeo. Em concentrações acima de 1,8mg/Kg, muitas larvas não conseguiram chegar ao quarto instar, sendo a emergência dos adultos retardada.

A fase do ciclo de vida em que um organismo responderá com maior sensibilidade a um agente contaminante/estressor vai depender da natureza e da concentração do mesmo no meio ambiente. Kosalwat & Knight (1987) concluíram que a fase de ovo de *Chironomus decorus* é a menos sensível à contaminação por cobre, devido à proteção que o ovo confere à larva em desenvolvimento, e apontaram o estágio larval como o mais sensível para avaliar a toxicidade desse elemento. Já Taylor *et al.* (1993), ao investigarem os efeitos de concentrações de lindano, um inseticida organoclorado, no ciclo de vida de *Chironomus riparius* Meigen, observaram que a pupação e a emergência dos adultos foram as fases mais sensíveis a esse composto.

## ASSIMETRIA FLUTUANTE E AVALIAÇÃO DA SAÚDE AMBIENTAL: FATOS E QUESTÕES

Analisar e interpretar fatos relacionados com assimetria flutuante nem sempre é fácil, pois, além de ser necessária uma investigação em parâmetros biológicos e ecológicos dos indivíduos e das populações às quais os mesmos pertencem, podem ocorrer problemas, que na maioria das vezes são metodológicos. Por exemplo, muitas vezes é difícil escolher áreas-controle apropriadas, que não sejam afetadas pelo agente estressor estudado e que, mesmo sendo longe da fonte, sejam semelhantes em características ambientais (mesmos tipos de habitats, características físico-químicas comparáveis, etc.).

Rosenberg (1993) questionou a atribuição de deformidades a determinados compostos tóxicos, devido à falta de controles adequados a uma comparação segura. Testes toxicológicos com larvas ou experimentos-controle, realizados em laboratório, muitas vezes podem ter resultados mascarados por algum

fator metodológico ou terem resultados que não necessariamente correspondem à resposta do organismo ao agente estressor no ambiente natural. Ao estudar, em laboratório, o efeito de quatro diferentes tipos de substrato em larvas de *Chironomus tentans* Fabricius, Bird (1997) observou que o desgaste dos dentes do mento foi diferente em cada substrato, sendo maior em substrato mineral (areia fina e silte). Essa diferença de desgaste dos dentes de larvas de *C. tentans* não foi significativa e nem o desgaste foi tão severo a ponto de mascarar deformidades (Bird 1997), como sugerido por Warwick (1988) que o desgaste dos dentes do mento, visto por Hamilton & Sæther (1971), em larvas cultivadas em substrato de areia poderia encobrir deformidades causadas por pesticidas. Além do mais, Bird (1997) observou que a presença de algumas deformidades, especialmente dos dentes do mento (dente mediano fendido, dentes múltiplos) estava relacionada com a idade da cultura de *Chironomus tentans*, devido ao inter cruzamento de indivíduos.

Dentre as causas mais comuns de desvios da variação bilateral de uma verdadeira assimetria flutuante estão os níveis de variação da assimetria direcional, sendo que alguns índices de mensuração são bastante sensíveis, enquanto que outros não (Palmer & Strobeck 1986). Os Índices 4, 6, 7, 8 e 9 da Tabela I não são afetados pela assimetria direcional na ausência de variação de tamanho, os Índices 4, 7, e 9 também não são afetados em uma variação de tamanho relativa à assimetria flutuante, quando a mesma é independente de tamanho de caráter, e o Índice 5 é bem sensível à assimetria direcional para esses parâmetros (Palmer & Strobeck 1986). Entretanto, de acordo com Palmer & Strobeck (1986), essa capacidade discriminatória desse último índice é perdida quando a razão da assimetria direcional em relação à assimetria flutuante excede 0,2 e, dessa forma, uma pequena assimetria direcional pode enfraquecer esse índice, que é um dos melhores para distinguir reais diferenças na assimetria flutuante quando a mesma é independente do tamanho do caráter. Palmer & Strobeck (1986) mencionaram que com a assimetria flutuante proporcional ao tamanho do caráter, a maioria dos índices perde sua força à medida que a assimetria direcional aumenta. Ainda segundo os autores, os índices 6 e 8, os mais efetivos na ausência de assimetria direcional, permanecem não afetados.

Outra questão a se considerar é que comparações da assimetria flutuante entre populações assumem que os indivíduos e populações são geneticamente similares e, desta forma, responderão da mesma maneira ao mesmo estressor, só que esta suposição é raramente testada e evidências sugerem que poderia ser incorreta (Hoog *et al.* 2001). Por exemplo, alguns estudos demonstraram relações positivas entre heterozigose genética e estabilidade do desenvolvimento, de forma que indivíduos homozigóticos exibem uma maior flutuação na assimetria do que heterozigóticos. Assim sendo, a assimetria flutuante, que é considerada uma medida de instabilidade no desenvolvimento, seria negativamente correlacionada com o grau de heterozigose dentro e entre populações (Palmer & Strobeck 1986). Para completar, evidências recentes indicam que invertebrados aquáticos podem consistir de populações genéticas distintas, cada uma adaptada a condições locais (Jackson & Resh 1992, Hogg *et al.* 1998). Hoog *et al.* (2001) mencionaram que uma avaliação de heterozigose junto com diferenciação genética entre as localidades seria importante para qualquer análise de flutuação na assimetria, já que a susceptibilidade a um estresse particular, e a propensão a desviar da simetria, podem diferir entre indivíduos e populações em diferentes localidades. Flutuações nas frequências das deformidades ao longo do tempo devem ser analisadas em um contexto de dinâmica de populações (Janssens de Bisthoven *et al.* 2001).

Uma quantidade de hipóteses tem sido proposta sobre a associação entre estabilidade do desenvolvimento, variabilidade fenotípica, herança e estresse ambiental (Freebairn *et al.* 1996, Palmer & Strobeck 1997, Woods *et al.* 1999, Lomônaco & Germanos 2001, Fuller & Houle 2002, entre outros). Em geral se considera que o estresse poderia aumentar a variabilidade assimétrica e fenotípica das características bilaterais, apesar de que estes podem depender da hereditariedade. Para testar associações reproduzíveis entre essas variáveis, Woods *et al.* (1999) realizaram experimentos replicados multiplamente com *Drosophila melanogaster*, usando uma combinação de estresses nos estágios de ovo, larva e adulto, mudando a qualidade do alimento, aumentando a quantidade de etanol no meio (adultos utilizam 3% de vapor de etanol como recurso, sendo que 12% de etanol torna-se um fator estressante) e através de choque-frio. Nesse estudo, características métricas e merísticas foram



analisadas e níveis de variação da herança de cada característica foram observados ao longo de três gerações. As médias das características foram reduzidas por estresse, enquanto que a variação entre indivíduos aumentou. A assimetria flutuante também aumentou pelo estresse em alguns casos, mas poucas comparações foram significativas. Apenas uma característica, cerdas orbitais, mostrou aumentos significativos na assimetria flutuante e mudanças nas médias das características, variabilidade fenotípica das características e estabilidade do desenvolvimento, como resultado de estresse, não foram correlacionadas. Segundo Woods *et al.* (1999), fenótipos extremos tendem a ter níveis mais altos de assimetria flutuante, mas apenas os resultados para as cerdas orbitais foram significativos, sendo que todas as características tiveram de baixa a intermediária hereditariedade, exceto as cerdas orbitais, que não mostraram variação hereditária. Nesse estudo, apenas características com baixa hereditariedade e altos níveis de variação fenotípica puderam mostrar aumentos consistentes na assimetria flutuante sob estresse; dessa forma, parece ser mais provável que estresses tenderiam a aumentar a assimetria de características com baixas estimativas de hereditariedade.

Características com níveis baixos de variabilidade entre indivíduos irão mostrar aumentos relativamente maiores nos coeficientes de variação sob estresse, e pouca ou nenhuma mudança nos níveis de estabilidade do desenvolvimento. Por outro lado, características com níveis altos de variabilidade entre indivíduos podem mostrar mudanças relativamente menores nos coeficientes de variação, mas mudanças maiores nos níveis de estabilidade do desenvolvimento sob estresse (Woods *et al.* 1999).

O efeito deletério de vários metais pesados e elementos radioativos no genoma de organismos aquáticos é bem conhecido, porém ainda é difícil observar e confirmar a hereditariedade das deformidades. Mesmo assumindo que as deformidades sejam um resultado de danos do DNA em células somáticas ou de desordens bioquímicas, a herança dessas deformidades em quironomídeos ainda não foi provada (Janssens de Bisthoven 1999). No estudo sobre as deformidades em quironomídeos após o acidente nuclear de Chernobyl (mais detalhes na seção anterior), Williams *et al.* (2001) não conseguiram determinar se as deformidades observadas seriam herança

das gerações anteriores ou ocorrências somáticas em cada nova geração, como consequência da radiação que continua a se difundir na região.

A escala de estudo deve ser considerada na análise dos fatores que influenciam a assimetria flutuante. Silva *et al.* (2007) investigaram o efeito da cidade de Manaus (AM, Brasil) em indivíduos de *Erythemis peruviana* (Rambur) (Insecta: Odonata). Nenhuma das análises estatísticas mostrou resultados significativos, e os autores sugeriram que os fatores influenciadores da assimetria flutuante atuariam em escalas espaciais menores do que as analisadas no estudo, e esses fatores locais (como microhabitats) poderiam ser muito mais importantes para a determinação de anomalias no desenvolvimento do que fatores regionais (como a proximidade da cidade de Manaus).

Mais importante do que escolher uma metodologia adequada para a investigação de assimetrias, resultantes de algum estresse ambiental, é selecionar o(s) organismo(s) a ser(em) investigado(s), que preencha(m) os requisitos necessários a um monitoramento ambiental adequado. A partir de análises de artigos científicos, livros e páginas de internet, Resh (2008) comparou diferentes vantagens e desvantagens de usar peixes, macroinvertebrados, algas e zooplâncton em biomonitoramento e, a partir desses dados, classificou 13 categorias de atributos vantajosos e nove categorias de atributos desvantajosos. Por exemplo, os atributos listados como vantagens na maioria das citações para macroinvertebrados bentônicos são sua ampla distribuição, diversidade, limitada mobilidade, longo tempo de geração e facilidade de coleta, enquanto que as desvantagens apontadas na maioria das citações para esse grupo seriam dificuldades na amostragem e identificação. Resh (2008) enfatiza que a escolha de uma assembléia é o primeiro passo no desenvolvimento de um programa de biomonitoramento e que o desenvolvimento de uma lista de atributos fundamentais seria um caminho lógico para que sejam feitas escolhas corretas de quais assembléias seriam mais apropriadas para esse programa.

## REFERÊNCIAS

- AAGAARD, K. 1986. The chironomid fauna of North Norwegian lakes, with a discussion on methods of community classification. *Holarctic Ecology*, 9: 1-12.
- ALLAN, J.D. 1982. Hypothesis testing in ecological studies of

- aquatic insects. Pp. 484-507. In: V. Resh & D. Rosenberg, (eds.), *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger Scientific, Nova York. 625p.
- ALLENBACH, D.M.; SULLIVAN, K.B. & LYDY, M.J. 1999. Higher fluctuating asymmetry as a measure of susceptibility to pesticides in fishes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 899-905.
- ANCIÃES, M. & MARINI, M.A. 2000. The Effects of Fragmentation on Fluctuating Asymmetry in Passerine Birds of Brazilian Tropical Forests. *The Journal of Applied Ecology*, 37(6): 1013-1028.
- ARMITAGE, P.D.; MOSS, D.; WRIGHT, J.F. & FURSE, M.T. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research*, 17: 333-47.
- ARNQVIST, G. & THORNHILL, R. 1998. Evolution of animal genitalia: patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence of genital and non-genital morphology in water strider (Heteroptera: Gerridae: Insecta). *Genetical Research*, 71: 193-212.
- AYED, N.; FAURE, E.; QUIGNARD, J.P.; MAAMOURI, F. & TRABELSI, M. 2008. Incidence of kyphosis deformities in natural population of *Atherina lagunae* (Trabelsi *et al.* 2002) from the Tunis North Lake, Tunisia. *Marine Biology*, 153: 319-325.
- BADYAEV, A.V.; FORESMAN, K.R. & FERNANDES, M.V. 2000. Stress and developmental stability: vegetation removal causes increased fluctuating asymmetry in shrews. *Ecology*, 81: 336-345.
- BENADUCE, A.P.S.; KOCHHANN, D.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. & BALDISSEROTTO, B. 2007. Toxicity of cadmium for silver catfish *Rhamdia quelen* (Heptapteridae) embryos and larvae at different alkalinities. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54: 274-282.
- BETANCOURT-LOZANO, M.; BAIRD, D.J.; SANGHA, R.S. & GONZALEZ-FARIAS, F. 2006. Induction of morphological deformities and moulting alterations in *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles exposed to the triazole-derivative fungicide tilt. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 69-78.
- BHATTACHARYAY, G.; SADHU, A.K., MAZUMDAR, A. & CHAUDHURI, P.K. 2005. Antennal deformities of chironomid larvae and their use in biomonitoring of heavy metal pollutants in the river Damodar of West Bengal, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 108: 67-84.
- BIRD, G.A. 1997. Deformities in cultures *Chironomus tentans* larvae and the influence of substrate on growth, survival and mentum wear. *Environmental Monitoring and Assessment*, 45(3): 273-283.
- BISHOP, C.A.; MAHONY, N.A.; STRUGER, J.; NG, P. & PETTIT, K. 1999. Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activity in the Holland river watershed, Ontario, Canada (1990-1992). *Environmental Monitoring and Assessment*, 57: 21-43.
- BJORKSTEN, T.; DAVID, P.; POMIANKOWSKI, A. & FOWLER, K. 2000. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 89-97.
- BLANCKENHORN, W.U.; REUSCH, T. & MIIHLHAUSER, C. 1998. Fluctuating asymmetry, body size and sexual selection in dung fly *Sepsis cynipsea* - testing the good genes assumptions and predictions. *Journal of Evolutionary Biology*, 11: 735-753.
- BLAUSTEIN, A.R. & WAKE, D.B. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American*, 272(4): 52-57.
- BLAUSTEIN, A.R.; KIESEBECKER, J.M.; CHIVERS, D.P. & ANTHONY, R.G. 1997. Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 94: 13735-13737.
- BONADA, N. & WILLIAMS, D.D. 2002. Exploration of the utility of fluctuating asymmetry as an indicator of river condition using larvae of the caddisfly *Hydropsyche morosa* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Hydrobiologia*, 481: 147-156.
- BONADA, N.; VIVES, S.; RIERADEVALL, M. & PRAT, N. 2005. Relationship between pollution and fluctuating asymmetry in the pollution-tolerant caddisfly *Hydropsyche exocellata* (Trichoptera, Insecta). *Archiv fuer Hydrobiologie*, 162(2): 167-185.
- BONADA, N.; PRAT, N.; RESH, V.H. & STATZNER, B. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology*, 51: 495-523.
- BRAÑA, F. & JI, X. 2000. Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcis muralis*). *Journal of Experimental Zoology*, 286: 422-433.
- BRINKHURST, R.O.; HAMILTON, A.L. & HERRINGTON, H.B. 1968. *Components of the Bottom Fauna of the St. Lawrence Great Lakes*. Great Lakes Institute, Univ. of Toronto, No. PR33. 50p.
- BRUNDIN, L. 1956. Die Bodenfaunistischen Seetypen und ihre Anwendbarkeit auf die Südhalbkugel. Zugleich eine Theorie der produktionsbiologischen Bedeutung der glazialen

- Erosion. *Reports from the Institute of Freshwater Research, Drottningholm*, 37: 186-235.
- BRUSCA, R. & BRUSCA, G. 2003. *Invertebrates*. Sinauer Associates, Sunderland. 936p.
- BRUSCA, R. & BRUSCA, G. 2007. *Invertebrados* (Segunda Edição). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 968p.
- BUBLI, O.A.; LOESCHCKE, V. & IMASHEVA, A.G. 2000. Effect of stressful and nonstressful growth temperatures on variation of sternopleural bristle number in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 54: 1444-1449.
- CADÉE, N. 2000. Genetic and environmental effects on morphology and fluctuating asymmetry in nestling barn swallows. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 359-370.
- CAHU, C.L.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L. & TAKEUCHI, T. 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*, 227: 245-258.
- CALLISTO, M.; MARQUES, M.M. & BARBOSA, F.A.R. 2000. Deformities in larval *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) from the Piracicaba River, southeast Brazil. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*, 27: 2699-2702.
- CAMPBELL, W.B. 2000. Single rays as indicators of fin vestigialization in coho salmon: patterns and perspectives. *Biological Journal of the Linnean Society*, 71: 789-799.
- CAMPBELL, W.B.; EMLEN, J.M. & HERSHBERGER, W.K. 1998. Thermally induced chronic developmental stress in coho salmon: integrating measures of mortality, early growth, and developmental instability. *Oikos*, 81: 398-410.
- CHANG, X.; ZHAI, B.; WANG, M. & WANG, B. 2007. Relationship between exposure to an insecticide and fluctuating asymmetry in a damselfly (Odonata, Coenagruidae). *Hydrobiologia*, 586: 213-220.
- CHAPMAN, J.W. & GOULSON, D. 2000. Environmental versus genetic influences on fluctuating asymmetry in the house fly, *Musca domestica*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 70: 403-413.
- CLARKE, G.M. 1995. Relationships between developmental stability and fitness: application for conservation biology. *Conservation Biology*, 9(1): 18-24.
- CLARKE, G.M.; ARTHINGTON, A.H. & PUSEY, B.J. 1995. Fluctuating asymmetry of chironomid larvae as an indicator of pesticide contamination in freshwater environments. Pp. 101-109. In: P.S. Cranston, (ed.), *Chironomids: from Genes to Ecosystems*. CSIRO Australia, Melbourne. 482p.
- COOKE, A.S. 1981. Tadpoles as indicators of harmful levels of pollution in the field. *Environmental Pollution (Series A)*, 25: 123-134.
- CUNNINGHAM, M.E.; MARKLE, D.F.; WATRALL, V.G.; KENT, M.L. & CURTIS, L.R. 2005. Patterns of fish deformities and their association with trematode cysts in the Willamette River, Oregon. *Environmental Biology of Fishes*, 73: 9-19.
- DA CUNHA, P.L. & ANTUNES, M.M. 1999. Occurrence of vertebral deformities in Gobiidae (Pisces) from the Tagus estuary. *Aquatic Ecology*, 33: 281-285.
- DARWIN, C. 1859. *A Origem das Espécies*. Ediouro, Rio de Janeiro, 517p.
- DASZAK, P.; BERGER, L.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D.; GREEN, D.E. & SPEARE, R. 1999. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging Infectious Diseases*, 5(1): 735-748.
- DAVID, P.; HINGLE, A.; GREIG, D.; RUTHERFORD, A.; POMIANKOWSKI, A. & FOWLER, K. 1998. Male sexual ornament size but not asymmetry reflects condition in stalk-eyed flies. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 265: 2211-2216.
- DICKMAN, M. & RYGIEL, G. 1996. Chironomid larval deformity frequencies, mortality and diversity in heavy-metal contaminated sediment of a Canadian riverine wetland. *Environment International*, 22(6): 693-703.
- DOBZHANSKY, T. 1973. *Genética do Processo Evolutivo*. Edusp, São Paulo. 453p.
- FAIR, J.M.; HANSEN, E.S. & RICKLEFS, R.E. 1999. Growth, developmental stability and immune response in juvenile Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 266: 1735-1742.
- FINNERTY, J.R.; PANG, K.; BURTON, P.; PAULSON, D. & MARTINDALE, M.Q. 2004. Origins of bilateral symmetry: *Hox* and *Dpp* expression in a sea anemone. *Science*, 304: 1335-1337.
- FLOATE, K.D. & FOX, A.S. 2000. Flies under stress: A test of fluctuating asymmetry as a biomonitor of environmental quality. *Ecological Applications*, 10: 1541-1550.
- FREEBAIRN, K.; YEN, J.L. & MCKENZIE, J.A. 1996. Environmental and genetic effects on the asymmetry phenotype: Diazinon resistance in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Genetics*, 144: 229-239.
- FULLER, R.C. & HOULE, D. 2002. Detecting genetic variation in developmental instability by artificial selection on fluctuating asymmetry. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 954-960.
- FUTUYMA, D.J. 1992. *Biologia evolutiva*. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética/ CNPq. 631p.
- GARBER, E.A.E.; ERB, J.L.; MAGNER, J. & LARSEN, G. 2004. Low levels of sodium and potassium in the water from wetlands in Minnesota that contained malformed frogs affect

- the rate of *Xenopus* development. *Environmental Monitoring and Assessment*, 90: 45-64.
- GEORGAKOPOULOU, E.; ANGELOPOULOU, A.; KASPIRIS, P.; DIVANACH, P. & KOUMOUNDOUROS, G. 2007. Temperature effects on cranial deformities in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1): 99-103.
- GOVIND, C.K. 1984. Development of asymmetry in the neuromuscular system of lobster claws. *The Biological Bulletin*, 167: 94-119.
- GREULICH, K. & PFLUGMACHER, S. 2004. Uptake and effects on detoxication enzymes of cypermethrin in embryos and tadpoles of Amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 489-495.
- GRIFFIS-KYLE, K.L. & RITCHIE, M.E. 2007. Amphibian survival, growth and development in response to mineral nitrogen exposure and predator cues in the Weld: An experimental approach. *Oecologia*, 152: 633-642.
- GURUSHANKARA, H.P.; KRISHNAMURTHY, S.V. & VASUDEV, V. 2007. Morphological abnormalities in natural populations of common frogs inhabiting agroecosystems of central Western Ghats. *Applied Herpetology*, 4: 39-45.
- HAECKEL, E.H.P.A. 1904. *Kunstformen der Natur* (Nova edição a partir do original). Marix Verlag 2004, Wiesbaden. 279p.
- HAMILTON, A.L. & SÆTHER, O.A. 1971. The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes. *Canadian Entomologist*, 103: 363-368.
- HARDERSEN, S. 2000. Effects of carbaryl exposure on the last larval instar of *Xanthocnemis zealandica* – fluctuating asymmetry and adult emergence. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96: 221-230.
- HARDERSEN, S. & WRATTEN, S.D. 1998. The effects of carbaryl exposure of the penultimate larval instars of *Xanthocnemis zealandica* on emergence and fluctuating asymmetry. *Ecotoxicology*, 7: 297-304.
- HARDERSEN, S.; WRATTEN, S. & FRAMPTON, C. 1999. Does carbaryl increase fluctuating asymmetry in damselflies under field conditions? A mesocosm experiment with *Xanthocnemis zealandica* (Odonata: Zygoptera). *Journal of Applied Ecology*, 36: 534-543.
- HOGG, I.D.; LAROSE, C.; DE LAFONTAINE, Y. & DOE, K.G. 1998. Genetic evidence for a *Hyalella* species complex within the Great Lakes-St Lawrence River drainage basin: Implications for ecotoxicology and conservation biology. *Canadian Journal of Zoology*, 76: 1134-1140.
- HOGG, I.D.; EADIE, J.M.; WILLIAMS, D.D. & TURNER, D. 2001. Evaluating fluctuating asymmetry in a stream-dwelling insect as an indicator of low-level thermal stress: A large-scale field experiment. *The Journal of Applied Ecology*, 38(6): 1326-1339.
- HOSKEN, D.J.; BLANCKENHORN, W.U. & WARD, P.I. 2000. Developmental stability in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): Fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 919-926.
- HOVORKA, M.D. & ROBERTSON, R.J. 2000. Food stress, nestling growth, and fluctuating asymmetry. *Canadian Journal of Zoology*, 78: 28-35.
- HUNT, J. & SIMMONS, L.W. 1997. Patterns of fluctuating asymmetry in beetle horns: an experimental examination of the honest signalling hypothesis. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 41: 109-114.
- ILLIES, J. 1961. Versuch einer allgemeinen biozonotischen Gliederung der Fliessgewässer. *Internationale Revue Hydrobiologie und Hydrographie*, 46: 205-213.
- ILYASHUK, B.; ILYASHUK, E. & DAUVALTER, V. 2003. Chironomid responses to long-term metal contamination: A paleolimnological study in two bays of Lake Imandra, Kola Peninsula, northern Russia. *Journal of Paleolimnology*, 30: 217-230.
- IMASHEVA, A.G.; LOESCHCKE, Y.; ZHIVOTOVSKY, L.A. & LAZEBNY, O.E. 1997. Effects of extreme temperatures on phenotypic variation and developmental stability in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila buzzatii*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 61: 117-126.
- IMASHEVA, A.G.; BOSENKO, D.V. & BUBLI, O.A. 1999. Variation in morphological traits of *Drosophila melanogaster* (fruit fly) under nutritional stress. *Heredity*, 82: 187-192.
- JACKSON, J.K. & RESH, V.H. 1992. Variation in genetic structure among populations of the caddis fly *Helicopsyche borealis* from three streams in northern California, USA. *Freshwater Biology*, 27: 29-42.
- JÄNCKE, L. & STEINMETZ, H. 2003. Anatomical brain asymmetries and their relevance for functional asymmetries. Pp. 187-229. In: K. Hugdhal & R.J. Davidson, (eds.), *The Asymmetrical Brain*. MIT Press, Cambridge, Massachusetts. 796p.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L. 1999. Biomonitoring with deformities in aquatic organisms. Pp. 65-94. In: A. Gerhardt, (ed.), *Biomonitoring of Polluted Water*. Transtec Publications, Zürich, Vol. 9. 320p.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L.; NUYTS, P.; GODDEERIS, B. & OLLEVIER, F. 1998a. Sublethal parameters in morphologically deformed *Chironomus* larvae: Clues to understanding their bioindicators value. *Freshwater Biology*, 39: 179-191.

- JANSSENS DE BISTHOVEN, L.; VERMEULEN, A. & OLLEVIER, F. 1998b. Experimental induction of morphological deformities in *Chironomus riparius* larvae by chronic exposure to copper and lead. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 35: 249-256.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L.; POSTMA, J.; VERMEULEN, A.; GOEMANS, G. & OLLEVIER, F. 2001. Morphological deformities in *Chironomus riparius* Meigen larvae after exposure to cadmium over several generations. *Water, Air, and Soil Pollution*, 129: 167-179.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L. & GERHARDT, A. 2003. Chironomidae (Diptera, Nematocera) fauna in three small streams of Skania, Sweden. *Environmental Monitoring and Assessment*, 83: 89-102.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L.; GERHARDT, A. & SOARES, A.M.V.M. 2005. Chironomidae larvae as bioindicators of an acid mine drainage in Portugal. *Hydrobiologia*, 532: 181-191.
- JEYASINGHAM, K. & LING, N. 2000. Seasonal influence on head capsule deformities in *Chironomus zealandicus* (Hudson) (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia*, 427: 75-82.
- JOHNSON, R.K.; WIEDERHOLM, T. & ROSENBERG, D.M. 1993. Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates. Pp. 40-105. In: D.M. Rosenberg & V.H. Resh, (eds.), *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman & Hall, New York. 488p.
- KAROUNA-RENIER, N.K. & ZEHR, J.P. 2003. Short-term exposures to chronically toxic copper concentrations induce HSP70 proteins in midge larvae (*Chironomus tentans*). *The Science of the Total Environment*, 312: 267-272.
- KIESECKER, J.M.; BLAUSTEIN, A.R. & BELDEN, L.K. 2001. Complex causes of amphibian population declines. *Nature*, 410: 681-683.
- KWAK, I.-S. & LEE, W. 2005. Mouthpart deformity and developmental retardation exposure of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) to tebufenozide. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75: 859-865.
- KOLKOWITZ, R. & MARSSON, M. 1909. Oekologie der tierischen Saprobien. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 2: 126-152.
- KOSALWAT, P. & KNIGHT, A.W. 1987. Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge, *Chironomus decorus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16(3): 283-290.
- LEAMY, L.J.; DOSTER, M.J. & HUET-HUDSON, Y. 1999. Effects of methoxychlor on directional and fluctuating asymmetry of mandible characters in mice. *Ecotoxicology*, 8: 63-71.
- LINDEGAARD, C. 1992. Zoobenthos ecology of Thingvallavatn: Vertical distribution, abundance, population dynamics and production. *Oikos*, 64: 257-304.
- LINDEGAARD, C. 1995. Classification of water-bodies and pollution. Pp. 385-404. In: P.D. Armitage, P.S. Cranston & L.C.V. Pinder, (eds.), *The Chironomidae. Biology and Ecology of Non-Biting Midges*. Chapman & Hall, Londres. 584p.
- LINDEGAARD, C. & BRODERSEN, K.P. 1995. Distribution of Chironomidae (Diptera) in the river continuum. Pp. 257-271. In: P. Cranston, (ed.), *Chironomids: From Genes to Ecosystems*. CSIRO Publications, Melbourne. 482p.
- LOMÔNACO, C. & GERMANOS, E. 2001. Variações fenotípicas em *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) em resposta à competição larval por alimento. *Neotropical Entomology*, 30(2): 223-231.
- MACDONALD, E.E. & TAYLOR, B.R. 2006. Incidence of mentum deformities in midge larvae (Diptera: Chironomidae) from Northern Nova Scotia, Canada. *Hydrobiologia*, 563: 277-287.
- MCKENZIE, J.A. 1997. Stress and asymmetry during arrested development of the Australian sheep blowfly. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 264: 1749-1756.
- MADDEN, C.P.; SUTER, P.J.; NICHOLSON, B.C. & AUSTIN, A.D. 1992. Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 26: 551-557.
- MARTINEZ, E.A.; MOORE, B.C.; SCHAUMLOFFEL, J. & DASGUPTA, N. 2004. Teratogenic versus mutagenic abnormalities in chironomid larvae exposed to zinc and lead. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 193-198.
- MARTINEZ, E.A.; WOLD, L.; MOORE, B.C.; SCHAUMLOFFEL, J. & DASGUPTA, N. 2006. Morphologic and growth responses in *Chironomus tentans* to arsenic exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 529-536.
- MEREGALLI, G.; PLUYMERS, L. & OLLEVIER, F. 2001. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-n-nonylphenol. *Environmental Pollution*, 111: 241-246.
- MEREGALLI, G.; BETTINETTI, B.; PLUYMERS, L.; VERMEULEN, A.C.; ROSSARO, B. & OLLEVIER, F. 2002. Mouthpart deformities and nucleolus activity in field-collected *Chironomus riparius* larvae. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42: 405-409.
- METEYER, C.U.; LOEFFLER, I.K.; FALLON, J.F.; CONVERSE, K.; GREEN, E.; HELGEN, J.C.; KERSTEN, S.; LEVEY,

- R.; EATON-POOLE, L. & BURKHART, J.G. 2000. Hind limb malformations in free-living northern leopard frogs (*Rana pipiens*) from Maine, Minnesota, and Vermont suggest multiple etiologies. *Teratology*, 62: 151-171.
- NAZAROVA, L.B., RISS, W.H.; KAHLHEBER, A. & WERDING, B. 2004. Some observations of buccal deformities in chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) from the Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *Caldasia*, 26(1): 275-290.
- OSAKI, K.; KASHIWADA, S.; TATARAZAKO, N. & ONO, Y. 2006. Toxicity testing of leachate from waste landfills using medaka (*Oryzias latipes*) for monitoring environmental safety. *Environmental Monitoring and Assessment*, 117: 73-84.
- OUELLET, M. 2000. Amphibian deformities: Current state of knowledge. Pp. 617-661. In: D.W. Sparling, G. Linder & C.A. Bishop, (eds.), *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. SETAC Press, Pensacola, Florida. 904p.
- OUELLET, M.; BONIN, J.; RODRIGUE, J.; DESGRANGES, J.L. & LAIR, S. 1997. Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of Wildlife Diseases*, 33: 95-104.
- PALMER, A.R. 1996a. From symmetry to asymmetry: phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 93: 14279-14286.
- PALMER, A.R. 1996b. Waltzing with asymmetry. *BioScience*, 46(7): 518-532.
- PALMER, A.R. 2004. Symmetry breaking and the evolution of development. *Science*, 306: 828-833.
- PALMER, A.R. & STROBECK, C. 1986. Fluctuating asymmetry: Measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 391-421.
- PALMER, A.R. & STROBECK, C. 1997. Fluctuating asymmetry and developmental stability: Heritability of observable variation vs. heritability of inferred cause. *Journal of Evolutionary Biology*, 10: 39-49.
- PIHA, H.; PEKKONEN, M. & MERILA, J. 2006. Morphological abnormalities in amphibians in agricultural habitats: A case study of the common frog *Rana temporaria*. *Copeia*, 4: 810-817.
- POLAK, M. 1997. Ectoparasitism in mothers causes higher positional fluctuating asymmetry in their sons: Implications for sexual selection. *American Naturalist*, 149: 955-974.
- POUNDS, J.A. 2001. Climate and amphibian declines. *Nature*, 410: 639-640.
- PREZIOSI, R.F.; SNYDER, W.E.; GRILL, C.P. & MOORE, A.J. 1999. The fitness of manipulating phenotypes: Implications for studies of fluctuating asymmetry and multivariate selection. *Evolution*, 5: 1312-1318.
- REIK, W. & DEAN, W. 2002. Back to the beginning. *Nature*, 420: 127.
- RESH, V.H. 2008. Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 138: 131-138.
- ROSENBERG, D.M. 1993. Freshwater biomonitoring and Chironomidae. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 26: 101-122.
- ROSENBERRY, D.O. 2005. Malformed frogs in Minnesota: An update. <http://pubs.usgs.gov/fs/fs-043-01/>. Acessado em 28 de maio de 2008.
- SÆTHER, O.A. 1975. Nearctic chironomids as indicators of lake typology. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*, 19: 3127-3133.
- SAVAGE, A. & HOGARTH, P.J. 1999. An analysis of temperature-induced fluctuating asymmetry in *Asellus aquaticus* (Linn.). *Hydrobiologia*, 411: 139-143.
- SESSIONS, S.K.; FRANSSSEN, R.A. & HORNER, V.L. 1999. Morphological clues from multilegged frogs: Are retinoids to blame? *Science*, 284: 800-802.
- SERVIA, M.J.; COBO, F. & GONZÁLEZ, M.A. 1998. Deformities in larval *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) and their use as bioindicators of toxic sediment stress. *Hydrobiologia*, 385: 153-162.
- SERVIA, M.J.; COBO, F. & GONZÁLEZ, M.A. 2000. Seasonal and interannual variation in the frequency and severity of deformities in larva of *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) and *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) collected in a polluted site. *Environmental Monitoring and Assessment*, 64: 617-626.
- SERVIA, M.J.; COBO, F. & GONZÁLEZ, M.A. 2002. Ontogeny of individual asymmetries in several traits of larval *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) (Diptera, Chironomidae). *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1470-1479.
- SERVIA, M.J.; COBO, F. & GONZÁLEZ, M.A. 2004a. Effects of short-term climatic variations on fluctuating asymmetry levels in *Chironomus riparius* larvae at a polluted site. *Hydrobiologia*, 523: 137-147.
- SERVIA, M.J.; COBO, F. & GONZÁLEZ, M.A. 2004b. Multiple trait analysis of fluctuating asymmetry levels in anthropogenically and naturally stressed sites: A case study using *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) larvae. *Environmental Monitoring and Assessment*, 90: 101-112.
- SHYKOFF, J.A. & MØLLER, A.P. 1999. Fitness and asymmetry under different environmental conditions in the barn swallow. *Oikos*, 86: 152-158.

- SILVA, D.P.; VITAL, M.V.C. & DE MARCO, P.Jr. 2007. Assimetria Flutuante como Ferramenta de Bioindicação: Os Efeitos da Cidade de Manaus (AM) sobre *Erythemis peruviana* (Rambur, 1842) (Insecta: Odonata) junto à Bacia do Rio Amazonas. *In: Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu, MG. pp:1-2.
- SIMPSON, K.W. 1980. Abnormalities in the tracheal gills of aquatic insects collected from streams receiving chlorinated of crude oil wastes. *Freshwater Biology*, 10: 581-583.
- SKINNER, K.M. & BENNETT, J.D. 2007. Altered gill morphology in benthic macroinvertebrates from mercury enriched streams in the Neversink Reservoir Watershed, New York. *Ecotoxicology*, 16: 311-316.
- SLACK, J.M.W. 2002. Conrad Hal Waddington: The last Renaissance biologist? *Nature Reviews|Genetics*, 3: 889-985.
- SOIN, T. & SMAGGHE, G. 2007. Endocrine disruption in aquatic insects: A review. *Ecotoxicology*, 16: 83-93.
- SONG, Z.H. 2007. Effects of pentachlorophenol on *Galba perversa*, *Tubifex sinicus* and *Chironomus plumosus* larvae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79: 278-282.
- TAKLE, H.; BAEVERFJORD, G.; LUNDE, M.; KOLSTAD, K. & ANDERSEN, Ø. 2005. The effect of heat and cold exposure on HSP70 expression and development of deformities during embryogenesis of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 249: 515-524.
- TAYLOR, E.J.; BLOCKWELL, S.J.; MAUND, S.J. & PASCOE, D. 1993. Effects of lindane on the life-cycle of a freshwater macroinvertebrate *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 24(2): 145-150.
- THIENEMANN, A. 1921. Seetypen. *Die Naturwissenschaften*, 18: 343-346.
- THIENEMANN, A. 1954. *Chironomus. Leben, Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Chironomiden*. Die Binnengewässer XX, Stuttgart. 834p.
- VAN VALEN, L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 16(2): 125-142.
- VANDENLANGENBERG, S.M.; CANFIELD, J.T. & MAGNER, J.A. 2003. A regional survey of malformed frogs in Minnesota (USA) (Minnesota malformed frogs). *Environmental Monitoring and Assessment*, 82: 45-61.
- VEIGA, J.P.; SALVADOR, A.; MARTIN, J. & LOPEZ, P. 1997. Testosterone stress does not increase asymmetry of a hormonally mediated sexual ornament in a lizard. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41: 171-176.
- VØLLESTAD, L.A.; FJELD, E.; HAUGEN, T. & OXENEVAD, S.A. 1998. Developmental instability in grayling (*Thymallus thymallus*) exposed to methylmercury during embryogenesis. *Environmental Pollution*, 101: 349-354.
- VUORI, K.-M. & KUKKONEN, J. 2002. Hydropsychid (Trichoptera, Hydropsychidae) gill abnormalities as morphological biomarkers of stream pollution. *Freshwater Biology*, 47: 1297-1306.
- WADDINGTON, C.H. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150: 563-565.
- WANG, L.H. & TSAI, C.L. 2000. Temperature affects the development of central neurotransmitter systems of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Neuroscience Letters*, 285: 95-98.
- WARWICK, W.F. 1980. Palaeolimnology of the Bay of Quinte, Lake Ontario: 2800 years of cultural influence. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences*, 206: 1-117.
- WARWICK, W.F. 1985. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus* Meigen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42: 1881-1914.
- WARWICK, W.F. 1988. Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larvae as biological indicators of toxic stress. Pp. 281-320. *In: M.S. Evans, (ed.), Toxic Contaminants and Ecosystem Health; a Great Lakes Focus*. Wiley and Sons, Nova York. 602p.
- WARWICK, W.F. 1990. Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larvae from Lac St. Louis and Laprairie basins of the St. Lawrence River. *Journal of Great Lakes Research*, 16: 185-208.
- WARWICK, W.F. 1991. Indexing deformities in ligulae and antennae of *Procladius* larvae (Diptera: Chironomidae): Application to contaminant-stressed environments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 1151-1166.
- WARWICK, W.F. & TISDALE, N.A. 1988. Morphological deformities in *Chironomus*, *Cryptochironomus*, and *Procladius* larvae (Diptera: Chironomidae) from two differentially stressed sites in Tobin Lake, Saskatchewan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45: 1123-1144.
- WHITFIELD, S.M.; BELL, K.E.; PHILIPPI, T.; SASA, M.; BOLAÑOS, F.; CHAVES, G.; SAVAGE, J.M. & DONNELLY, M.A. 2007. Amphibian and reptile declines over 35 years at La Selva, Costa Rica. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 104(20): 8352-8356.
- WIEDERHOLM, T. 1976. Chironomids as indicators of water quality in Swedish lakes. *Naturvardsverkets limnologiska undersokningar information*, 10: 1-17.
- WIEDERHOLM, T. 1980. Use of benthos in lake monitoring. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 52: 537-547.

- WIEDERHOLM, T. 1984. Incidence of deformed chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in Swedish lakes. *Hydrobiologia*, 109(3): 243-249.
- WIJEYARATNE, W.M.D.N. & PATHIRATNE, A. 2006. Acetylcholinesterase inhibition and gill lesions in *Rasbora caverii*, an indigenous fish inhabiting rice field associated waterbodies in Sri Lanka. *Ecotoxicology*, 15: 609-619.
- WILLIAMS, D.D.; NESTEROVITCH, A.I.; TAVARES, A.F. & MUZZATTI, E.G. 2001. Morphological deformities occurring in Belarusian chironomids (Diptera: Chironomidae) subsequent to the Chernobyl nuclear disaster. *Freshwater Biology*, 46: 503-512.
- WILLMANN, R. 2003. From Haeckel to Hennig: the early development of phylogenetics in German-speaking Europe. *Cladistics*, 19: 449-479.
- WOODS, R.E.; SGRÒ, C.M.; HERCUS, M.J. & HOFFMANN, A.A. 1999. The Association between fluctuating asymmetry, trait variability, trait heritability, and stress: a multiply replicated experiment on combined stresses in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 53(2): 493-505.

*Submetido em 22/03/2008*

*Aceito em 02/07/2008*