

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTU SENSU
NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

FRANCISCO PIZZOLATO MONTANHA

**EFEITOS TOXICOLÓGICOS DE PIRETRÓIDES (CIPERMETRINA E
DELTAMETRINA) EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): FASE ADULTA E
DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO**

*(Toxicological effects of pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) in catfish
(Rhamdia quelen): phase adult and embryonic development)*

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2010

FRANCISCO PIZZOLATO MONTANHA

**EFEITOS TOXICOLÓGICOS DE PIRETRÓIDES (CIPERMETRINA E
DELTAMETRINA) EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): FASE ADULTA E
DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO**

*(Toxicological effects of pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) in catfish
(Rhamdia quelen): phase adult and embryonic development)*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Área de concentração: Ciência Animal do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Turra Pimpão

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2010

TERMO DE APROVAÇÃO (RESPONSABILIDADE DA SECRETARIA DA PPGCA)

(ENTREGUE PELA SECRETARIA)

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelo presente que me foi dado: a vida, por tudo que fez e faz por mim, pela proteção diária, por estar sempre presente em todos os momentos. Sem Você nada seria possível. Obrigado Senhor!

À Prof^a. Dr^a. Cláudia Turra Pimpão, pela amizade e orientação. Uma pessoa incomparável, atenciosa, dedicada. Uma pessoa que valeu muito a pena ter conhecido, um exemplo a ser seguido. Obrigado pelo voto de confiança em mim depositado quando me aceitou como seu orientado e por todo o conhecimento que me foi proporcionado.

As pessoas incríveis que são os meus pais Aliceu e Margareth e irmãos Lúcia, Aliceo Neto e Antonio, por todo o apoio, compreensão, por acreditarem em mim sempre, por me escutarem quando quis desabafar, por me ajudarem quando precisei, por me incentivarem quando desanimei. Vocês são muito importantes para mim. Amo vocês!

À minha esposa Mariana, que há onze anos participa da minha vida fielmente, por toda a paciência, sinceridade, palavras amigas, pela compreensão em momentos tensos e por tudo o que faz por mim. Obrigado!

À bibliotecária Liliana Luisa Pizzolato, pelos conselhos, apoio, palavras amigas, palavras de incentivo, palavras de elogios direcionados a mim. Por me ajudar na estruturação da minha dissertação e por ser a pessoa que é, sempre presente e disposta a enfrentar qualquer obstáculo. Vamos em frente tia, o caminho continua rumo ao Doutorado!

Aos professores e amigos Peter Gaberz Kirschnik, Luciana Ganeco e Rita Maria Venancio Mangrich Rocha, por toda a atenção, dedicação e conhecimentos compartilhados. Assumiram o compromisso do mestrado junto comigo. Deram-me o maior apoio. Obrigado!

Aos amigos Ana Carolina Fredianelli, Anne Tamy Nagata, Daniel Carlos Coatti Rocha, João Gabriel Phabiano Francisco, Luciana do Amaral Gurgel Galeb, Jorge Daniel Mikos, Roberta Wagner, Soraya Regina Sacco e Tiago Penna Pereira, que estiveram juntos comigo até o fim. Obrigado pela determinação, dedicação, paciência e todo o tempo gasto comigo. Vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do LAPEP, Paulo, Fran e Marciano por toda a colaboração para comigo.

À PUCPR, pois sempre encontrei, nesta renomada instituição de ensino, tudo o que precisei para a minha formação, nunca deixou nada a desejar. Muito obrigado. Eu, realmente, me considero filho da PUC.

Aos peixes, os quais sem eles nada disto teria acontecido. Fizeram parte de uma etapa muito importante da minha vida. Meu sincero agradecimento e eterno respeito.

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta colaboraram comigo para a conclusão de mais uma etapa vencida.

Dedico aos meus pais que tanto se
esforçaram para me tornar o que sou hoje.
Tenho a maior honra de fazer parte desta
família nota 10.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	- por cento
°C	- graus celsius
>	- maior
<	- menor
ALT	- Alanina Aminotransferase
AST	- Aspartato Aminotransferase
CEUA	- Comitê de Ética com Uso de Animais
CGE	- Células Granulocíticas Especiais
CHCM	- Concentrações de Hemoglobina Corpuscular Média
cm	- centímetros
cm ³	- centímetros cubico
CM	- Cipermetrina
DDT	- Dicloro Difenil Tricloroetano
DM	- Deltametrina
EDTA	- Ácido Etilenodiamino Tetracético
EUA	- Estados Unidos da América
FA	- Fosfatase Alcalina
g	- gramas
g/dL	- grama por decilitro
g/L	- grama por litro
GABA	- Ácido Gama Amino Butírico
GGT	- Gama Glutamilttransferase
GOT	- Glutamato Oxaloacetato Transaminase
GPT	- Glutamato Piruvato Transaminase
HCG	- Gonadotrofina Coriônica Humana
HCM	- Hemoglobina Celular Média
Kg	- quilograma
L	- Litro
LAPEP	- Laboratório de Pscicultura e Pesquisa
LDH	- Lactato Desidrogenase
m ²	- metros quadrados
mg/L	- miligrama por litro
ml	- mililitro
mm	- milímetro
µm	- micrometro
µg/L	- microgramas por litro
µL	- microlitro
pH	- Potencial Hidrogeniônico
ppm	- parte por milhão
PUCPR	- Pontifícia Universidade Católica do Paraná
rpm	- rotações por minuto
SNC	- Sistema Nervoso Central
UI	- Unidade Internacional
USEPA	- United States Environmental Protection Agency
VCM	- Volume Corpuscular Médio
VG	- Volume Globular
1 ppm	= 1 mg/L
1 mg/L	= 1000 microgramas por litro (ug/L)

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - NÚMERO DE ANIMAIS SOBREVIVENTES À EXPOSIÇÃO À CIPERMETRINA	89
--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

FIGURA 1 - MÉDIA DOS VALORES DO HEMATÓCRITO EM JÚNDIAS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS.....	109
FIGURA 2 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE HEMOGLOBINA EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS.....	109
FIGURA 3 - MÉDIA DO NÚMERO TOTAL DE ERITRÓCITOS EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS	110
FIGURA 4 - MÉDIA DO NÚMERO DE LEUCÓCITOS TOTAIS EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS	110
FIGURA 5 - MÉDIA DO NÚMERO DE TROMBÓCITOS NA CONTAGEM DIFERENCIAL DE CÉLULAS NUCLEADAS EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS	111
FIGURA 6 - MÉDIA DO NÚMERO TOTAL DE TROMBÓCITOS EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS	112
FIGURA 7 - MÉDIA DOS VALORES DE ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT) EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS	112
FIGURA 8 - MÉDIA DOS VALORES DE ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST) EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS.....	113
FIGURA 9 - MÉDIA DOS VALORES DA FOSFATASE ALCALINA (FA) EM JUNDIÁS EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 96 HORAS	113

CAPÍTULO 4

FIGURA 1 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO DE OVOS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À DELTAMETRINA.	135
FIGURA 2 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE ECLOSÃO DE OVOS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À DELTAMETRINA.....	136
FIGURA 3 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTAS À DELTAMETRINA APÓS 12 HORAS DA ECLOSÃO	136

FIGURA 4 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTAS À DELTAMETRINA APÓS 24 HORAS DA ECLOSÃO	137
FIGURA 5 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO DE OVOS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À CIPERMETRINA .	138
FIGURA 6 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE OVOS ECLODIDOS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À CIPERMETRINA	138
FIGURA 7 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE SOBREVIVÊNCIA DAS LARVAS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 12 HORAS	139
FIGURA 8 - MÉDIA DOS VALORES DA TAXA DE SOBREVIVÊNCIA DAS LARVAS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À CIPERMETRINA POR 24 HORAS.....	140

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
CAPÍTULO 1 - EFEITOS TOXICOLÓGICOS DE PIRETRÓIDES (CIPERMETRINA E DELTAMETRINA) EM PEIXES - REVISÃO.....	17
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
1 INTRODUÇÃO	20
2 PESTICIDAS	22
2.1 PIRETRÓIDES	24
2.1.1 Cipermetrina.....	31
2.1.2 Deltametrina	34
2.1.3 Mecanismo de Ação dos Piretróides	35
3 ECOTOXICOLOGIA E TIPOS DE INTOXICAÇÃO	37
4 ORGANISMOS TESTE	43
5 BIOMARCADORES	45
6 HEMATOLOGIA E ANÁLISES BIOQUÍMICAS	48
6.1 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS.....	55
6.1.1 Leucograma	57
6.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	65
6.2.1 Alanina Aminotransferase (ALT)	66
6.2.2 Aspartato Aminotransferase (AST).....	67
6.2.3 Fosfatase Alcalina (FA)	67
6.2.4 Gama Glutamilttransferase (GGT).....	67
6.2.5 Albumina	68
7 JUNDIÁ	70
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
9 REFERÊNCIAS	74

CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL E SUBLETAL EM JUNDIÁS (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS A CIPERMETRINA	81
RESUMO.....	82
ABSTRACT.....	83
1 INTRODUÇÃO	84
2 MATERIAL E MÉTODOS	87
3 RESULTADOS.....	89
4 DISCUSSÃO	91
5 CONCLUSÃO	95
6 REFERÊNCIAS.....	96
CAPÍTULO 3 - EFEITOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS EM JUNDIÁS (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS À CIPERMETRINA	99
RESUMO.....	100
ABSTRACT.....	102
1 INTRODUÇÃO	103
2 MATERIAL E MÉTODOS	106
3 RESULTADOS.....	108
3.1 ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS.....	108
3.2 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS.....	108
3.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	112
4 DISCUSSÃO	115
5 CONCLUSÃO	121
6 REFERÊNCIAS.....	122
CAPÍTULO 4 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SUBLETAL NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E AVALIAÇÃO DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO, ECLOSÃO E SOBREVIVÊNCIA EM JUNDIÁS (<i>Rhamdia quelen</i>) EXPOSTOS A CIPERMETRINA E A DELTAMETRINA	126
RESUMO.....	127
ABSTRACT.....	129
1 INTRODUÇÃO	130

2 MATERIAL E MÉTODOS	133
3 RESULTADOS.....	135
3.1 DELTAMETRINA.....	135
3.2 CIPERMETRINA	137
4 DISCUSSÃO	141
5 CONCLUSÃO	143
6 REFERÊNCIAS.....	144

RESUMO

O presente estudo teve o objetivo de determinar as concentrações letais e subletais e as alterações comportamentais, hematológicas e bioquímicas da cipermetrina por via hídrica em 96 horas no jundiá (*Rhamdia quelen*) na fase juvenil, bem como analisar os efeitos da cipermetrina e deltametrina nesta espécie na fase de desenvolvimento embrionário. Os peixes foram fornecidos pelo Laboratório de Piscicultura e Pesquisa (LAPEP) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Paraná, Brasil. Para a determinação da concentração letal e subletal e avaliação dos efeitos tóxicos da cipermetrina sobre o jundiá, os peixes foram aclimatados por quinze dias e após este período, foram pesados e medidos e, posteriormente, distribuídos de forma aleatória em aquários de 30L. Foram utilizadas as seguintes concentrações: 0 (grupo controle); 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 5; 10; 15 e 20 mg/L, com três repetições para cada concentração e quatro animais por aquário, totalizando 120 animais para determinar concentração letal e subletal. Para avaliar os efeitos tóxicos da cipermetrina no jundiá foram utilizadas as seguintes concentrações: 0 mg/L (grupo controle) com três repetições, 1,5 e 2,5 mg/L com cinco repetições cada concentração. Cada aquário com quatro animais, totalizando 52 animais. Após as 96 horas, os peixes foram anestesiados para a coleta de sangue. Foram analisados: hemograma completo, proteína plasmática, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT) e albumina. Para determinar os efeitos da cipermetrina e deltametrina por via hídrica em 96 horas sobre a fase de desenvolvimento embrionário, foram utilizadas as seguintes concentrações, respectivamente: 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 mg/L e 0; 0,001; 0,01; 0,1; 0,5; 1,0 mg/L. Foram analisados: taxa de fertilização, taxa de eclosão e taxa de sobrevivência em 12 e, posteriormente, em 24 horas. Para análise estatística dos dados foi utilizado o teste de Kruskal Wallis, seguido do teste de Dunns. Para determinar as concentrações letais e subletais da cipermetrina em jundiás, os peixes pesaram $59,58 \pm 4,50$ gramas e mediram $20,33 \pm 2,34$ centímetros. Doses acima de 3,0 mg/L foram consideradas letais, pois todos os animais vieram a óbito, enquanto que concentrações de 1 a 2,5 mg/L foram consideradas subletais em 96 horas. Para avaliar os efeitos tóxicos da cipermetrina no jundiá, os peixes pesaram $56,67 \pm 4,43$ gramas e mediram $18,92 \pm 1,16$ centímetros. Os animais apresentaram alterações comportamentais como perda de equilíbrio, alteração na natação, dispnéia mantendo a boca e os opérculos abertos, nados verticais e movimentos súbitos de natação em forma de espiral. Houve variação na intensidade dessas alterações nas concentrações testadas, sendo que na concentração de 2,5 mg/L estas alterações se apresentaram mais intensas. Houve diferença significativa entre os grupos (controle, 1,5 e 2,5 mg/L) nas análises: hematócrito, hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos, trombócitos, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA). Os demais parâmetros analisados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Na determinação dos efeitos tóxicos da cipermetrina e deltametrina sobre o desenvolvimento embrionário do jundiá, a taxa de fertilização, taxa de eclosão, taxa de sobrevivência em 12 horas e em 24 horas apresentaram diferença significativa entre os grupos. Tanto a cipermetrina como a deltametrina se mostraram tóxicas para o jundiá mesmo em baixas concentrações, causando alterações comportamentais, hematológicas, bioquímicas e no desenvolvimento embrionário.

desta espécie. Todos os parâmetros analisados estão intimamente relacionados com a condição de saúde dos animais, sendo assim, as alterações apresentadas neste estudo podem representar o estresse que os animais sofrem frente às alterações ambientais pelo uso constante dos pesticidas em nível mundial. É de grande importância o presente estudo, visto que, frequentemente animais que vivem em ambientes aquáticos são expostos a diferentes agentes tóxicos, muitas vezes em concentrações letais, o que pode representar ou agravar num futuro próximo, um grande impacto ambiental.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Pesticidas. Inseticidas. Biomarcadores. Peixes.

ABSTRACT

This study aimed to determine the lethal and sublethal concentrations and behavioral changes, hematological and biochemical characteristics of cypermethrin by water in 96 hours (*Rhamdia quelen*) in the juvenile, as well as analyze the possible effects of cypermethrin and deltamethrin in this species at the stage of embryonic development. The fish were provided from the Laboratory of Fish Culture and Research (LAPEP), Catholic University of Paraná (PUCPR), Paraná, Brazil. To determine the concentration lethal and sublethal effects and evaluation of toxic effects of cypermethrin on the silver catfish, fish were acclimated for 15 days and after this period, were weighed and measured and then divided randomly into aquariums 30 liters (L). To determine the lethal and sublethal concentrations of cypermethrin in silver catfish, were used the following concentrations: 0 (control group); 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 5; 10; 15 and 20 mg/L, with three replicates for each concentration and four animals per aquarium, totaling 120 animals. To evaluate the toxic effects of cypermethrin in silver catfish were used the following concentrations: 0 mg/L (control group) and three times, 1.5 and 2.5 mg/L with 5 replicates for each concentration. Each aquarium with four animals, totaling 52 animals. After 96 hours, the fish were anesthetized for blood collection, which analyzed: complete blood cell count and differential leukocyte, plasma protein, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) gamma glutamyl transferase (GGT) and albumin. To determine the effects of cypermethrin and deltamethrin by water in 96 hours on the stage of embryonic development, were used the following concentrations, respectively: 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 mg/L and 0,001; 0,01; 0,1; 0,5; 1,0 mg/L, beyond the control group. Were analyzed: fertilization rate, hatching rate and survival rate to 12 and then for 24 hours. For statistical analysis were used the Kruskal Wallis test followed by the Dunns. To determine the concentration lethal and sublethal effects, the fish weighed 59.58 ± 4.50 grams and measured 20.33 ± 2.34 cm. Doses above 3.0 mg/L were considered lethal, since all the animals died, while concentrations of 1 to 2.5 mg/L were considered sublethal in 96 hours. To assess the toxic effects of cypermethrin on the catfishes in the juvenile phase, the fish weighed 56.67 ± 4.43 grams and measured 18.92 ± 1.16 cm. At the concentrations tested, the animals showed behavioral changes such as loss of balance, change in swimming, dyspnea, keeping the operculum and mouth open, still-vertical and sudden movements of swimming in a spiral. There was variation in the intensity of these changes in concentrations, and that the concentration of 2.5 mg/L these changes were more intense. There were significant differences between groups (control, 1.5 and 2.5 mg/L) in the following analysis: hematocrit, hemoglobin, total erythrocytes count, total leukocyte count, thrombocytes, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP). The other parameters showed no significant differences between groups. To determine the toxic effects of cypermethrin and deltamethrin on the embryonic development of silver catfish, the following parameters analyzed showed significant differences between groups: fertilization rate, hatching rate, survival rate at 12 hours and survival rate in 24 hours. Both cypermethrin and deltamethrin proved toxic for silver catfish, even at low concentrations, causing behavioral changes, hematological, biochemical and embryonic development in this species. All measured parameters are intimately related to the health condition of animals, so the changes presented in this study may represent the stress that animals suffer in the face of

environmental changes by the constant use of pesticides worldwide. It is of great importance to this study, since often the animals that live in aquatic environments are exposed to different toxic agents, often in lethal concentrations, which may represent or worsen in the near future, a large environmental impact.

Keywords: Ecotoxicology. Pesticides. Insecticides. Biomarkers. Fish.

CAPÍTULO 1

EFEITOS TOXICOLÓGICOS DE PIRETRÓIDES (CIPERMETRINA E DELTAMETRINA) EM PEIXES - Revisão

(Toxicological effects of pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) in fish - review)

EFEITOS TOXICOLÓGICOS DE PIRETRÓIDES (CIPERMETRINA E DELTAMETRINA) EM PEIXES - Revisão

(Toxicological effects of pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) in fish - review)

Francisco Pizzolato Montanha¹; Cláudia Turra Pimpão²

¹ Mestrando em Ciência Animal - PUCPR, Médico Veterinário,
chicopm28@yahoo.com.br;

² Professora Titular - PUCPR, Médica Veterinária,
claudia.pimpao@pucpr.br

RESUMO- A cada ano, milhões de hectares de terra são convertidos, sobretudo, ao uso agropecuário e também urbano. Este crescimento tem como consequência a liberação de dejetos industriais nas águas e a emissão de partículas poluentes na atmosfera representando ameaças crescentes para a ictiofauna. Pesticidas utilizados em agriculturas, geralmente, escoam para sistemas aquáticos desencadeando uma série de alterações no ambiente aquático e nos organismos que o habitam. No âmbito da América Latina, o Brasil desponta como o maior consumidor de agrotóxicos, sendo a cipermetrina e a deltametrina piretróides pesticidas sintéticos potentes, de amplo espectro, usados amplamente e que vêm ganhando popularidade desde 1970. Estes pesticidas atuam sobre o sistema nervoso de vertebrados exercendo um efeito significativo sobre os canais de sódio e interagem com os receptores GABA nos filamentos nervosos. Os impactos da contaminação por agrotóxicos em peixes variam de acordo com os tipos de substâncias empregadas. Peixes são animais extremamente sensíveis aos piretróides. São excelentes animais para estudos de impacto toxicológico e têm sido amplamente utilizados neste propósito. O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe teleósteo nativo da América do Sul. A avaliação dos parâmetros comportamentais, hematológicos e bioquímicos é útil para o diagnóstico de patologias de peixes e para monitorizar o estado de saúde, assim, a análise sanguínea pode revelar disfunções agudas ou crônicas, atribuíveis à nutrição, qualidade da água, presença de toxinas e doenças, entre outros fatores. As alterações das atividades das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT) e a quantificação de albumina podem ser usadas para demonstrar os danos teciduais, principalmente o hepático, já que o fígado é um dos principais órgãos que sofrem os efeitos das substâncias tóxicas. Alterações nas atividades reprodutivas dos peixes provindas dos efeitos tóxicos de diferentes substâncias podem representar em longo prazo grande impacto ambiental. Todos estes parâmetros são de extrema importância para se analisar os efeitos de uma substância sobre uma população, já que estes indicam o verdadeiro efeito e condições de sobrevivência destes animais. O presente estudo teve o objetivo de desenvolver uma revisão de literatura atual sobre as alterações comportamentais, hematológicas e bioquímicas em peixes juvenis e em fase de desenvolvimento embrionário expostos aos piretróides.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Pesticidas. Biomarcadores. Hematologia. Desenvolvimento embrionário.

ABSTRACT- Each year, millions of hectares of land are converted, primarily to agricultural use and also urban. This growth has resulted in the release of industrial waste waters and particulate emissions into the atmosphere represents the growing threats to the fish fauna. Pesticides used in agriculture, usually draining into aquatic systems triggering a series of changes in the aquatic environment and organisms that inhabit it. Within Latin America, Brazil stands as the largest consumer of pesticides, and pyrethroids deltamethrin and cypermethrin synthetic pesticides potent, broad-spectrum, widely used and have been gaining popularity since 1970. These pesticides act on the nervous system of vertebrates exerting a significant effect on sodium channels and interacts with GABA receptors in the nerve filaments. The impacts of pesticide contamination in fish vary according to the types of substances used. Fish are extremely sensitive animals to pyrethroids. They are excellent animals for toxicological and impact studies have been widely used for this purpose. Silver catfish (*Rhamdia quelen*) is a teleost fish native to South America assessment of behavioral parameters, hematological and biochemical is useful for diagnosing diseases of fish and to monitor health status, so the blood test can reveal dysfunctions acute or chronic, attributable to nutrition, water quality, presence of toxins and disease, among other factors. Changes in enzyme activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamyltransferase (GGT) and the quantification of albumin can be used to demonstrate tissue damage, especially the liver, since liver is one of the main organs that suffer the effects of toxic substances. Changes in reproductive activities of fish originated from the toxic effects of different substances can pose long-term broad environmental impact. All these parameters are extremely important to examine the effects of a substance over a population, since they indicate the true purpose and conditions of survival of these animals. This study aimed to develop a review of current literature on the behavioral changes, hematological and biochemical alterations in juvenile fish and being exposed to pyrethroids.

Keywords: Ecotoxicology. Pesticides. Biomarkers. Hematology. Embryonic development.

1 INTRODUÇÃO

Com o surgimento da revolução industrial e o crescimento das formas de produção e consumo no século XVIII, aumentou o impacto ambiental de origem antrópica e os riscos a estes associados (COELHO, 2006). O processo de industrialização praticamente global, o crescimento incessante das populações humanas, a utilização crescente de veículos e do uso intensivo dos recursos naturais pela agropecuária, silvicultura e mineração são alguns dos principais fatores responsáveis pelo aumento da quantidade e complexidade dos resíduos que são lançados no meio ambiente, os quais provocam sérios problemas ecológicos e toxicológicos para a maioria dos países desenvolvidos e em desenvolvimento (JARDIM, 2004; MASSARO, 2006; MAYON et al., 2006; RODRIGUES, 2007; SILVEIRA, 2007; BERNARDI et al., 2008).

A cada ano, milhões de hectares de terra são convertidos, sobretudo, ao uso agropecuário e também urbano (BERNARDI et al., 2008). Este crescimento causa o desmatamento, a poluição doméstica, industrial e agrícola, que são ameaças crescentes para a ictiofauna (RODRIGUES, 2003) devido à liberação de dejetos industriais nas águas e a emissão de partículas poluentes na atmosfera. A redução da qualidade da água é evidente por causa desses dejetos (PIMPÃO, 2006).

Os organismos aquáticos estão em constante contato com substâncias estranhas ao seu organismo, substâncias estas denominadas xenobióticos (RODRIGUES, 2003). Amplo estudo toxicológico de diversas substâncias faz-se necessário já que, anualmente, são lançadas no mercado mais de mil novas substâncias químicas sintéticas sendo, a maioria, sem nenhuma avaliação adequada sob o ponto de vista da sua interação nos ecossistemas (BERNARDI et al., 2008).

Os piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados na agricultura. Cuidados devem ser tomados para sua utilização, já que podem exercer uma série de efeitos tóxicos nos vertebrados (SANTOS et al., 2007), como os peixes, que são altamente sensíveis aos efeitos neurotóxicos destes compostos químicos

(BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003; SVOBODOVÁ et al., 2003; AYDIN et al., 2005; URAL; SAGLAM, 2005; CENGİZ; UNLU, 2006, EL-SAYED et al., 2007; SINGH; SINGH, 2008).

Os biomarcadores são definidos como qualquer resposta biológica de um indivíduo quando exposto a um agente químico, demonstrando alguma mudança no estado fisiológico normal. Pela definição exposta, mensurações bioquímicas, celulares, fisiológicas, histológicas, morfológicas e comportamentais são consideradas biomarcadores (BOLS et al., 2001; MAYON et al., 2006, ARIAS et al., 2007; BERNARDI et al., 2008). Os efeitos dos poluentes sobre ecossistemas naturais podem ser aferidos também pelos efeitos dos poluentes sobre processos reprodutivos (TRIPATHI; SINGH, 2004).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma revisão de literatura atual sobre os efeitos toxicológicos dos piretróides cipermetrina e deltametrina em peixes, adultos e juvenis, visando identificar as possíveis alterações comportamentais, hematológicas, bioquímicas e alterações nas taxas de eclosão, fertilização e sobrevivência que ocorrem nos peixes.

2 PESTICIDAS

Os efeitos do uso de pesticidas constituem um problema reconhecido mundialmente e agravado pela utilização inadequada dos mesmos, como intoxicação em trabalhadores rurais que manipulam e aplicam estes produtos, consumidores de produtos agrícolas, animais domésticos, alimentos, frutos, vegetais, fontes hídricas e o ecossistema como um todo (PIMPÃO, 2006).

Recentemente, novos pesticidas foram desenvolvidos com potencial de uso generalizado no ambiente, tais como, pulverização em cultura de pomares e florestas para controle de mosquitos, e inevitavelmente tem contato com o meio aquático (AYDIN et al., 2005). Pesticidas, os quais são utilizados em agriculturas podem escoar para sistemas aquáticos desencadeando uma série de alterações como também deteriorações no ecossistema e afetar o sistema imune dos peixes (NAYAK et al., 2004).

O uso de praguicidas na agricultura tem estimulado pesquisas para avaliar o potencial de risco ambiental e os problemas que provocam tanto a organismos alvo como nos organismos não alvo (MATAQUEIRO, 2006), analisando respostas comportamentais, distúrbios em metabolismos de carboidratos, anormalidades hematológicas e histopatologia de órgãos vitais (MISHRA et al., 2005). Segundo Tavares-Dias et al. (2001) inseticidas podem causar alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas, as quais podem conduzir para distúrbios metabólicos, disfunções enzimáticas e disfunção nos organismos de peixes.

Agrotóxicos podem ser definidos como produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso na produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas e outros ecossistemas, bem como de ambientes urbanos, hídricos ou industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação de seres vivos considerados nocivos. Consideram-se também, nessa definição,

as substâncias empregadas como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento. Apesar de serem utilizados em diversos sistemas, naturais ou não, os agrotóxicos são empregados em maior escala no setor agropecuário (RODRIGUES, 2007).

Os agrotóxicos se diferenciam dos produtos orgânicos industriais pelo fato de serem trazidos ao ambiente com a intenção de apresentar efeitos tóxicos sobre um ou mais organismos considerados indesejados, sendo utilizados com o objetivo de aumentar a produtividade e a qualidade dos produtos, reduzindo custos com mão-de-obra, diminuindo perdas de alimentos armazenados, erradicando vetores de doenças, entre outros (RODRIGUES, 2007).

Estes compostos químicos usados pelo homem para destruir, repelir ou mitigar pragas, animais, fungos, plantas daninhas terrestres e aquáticas, podem causar danos à saúde das pessoas, dos animais e ao meio ambiente (MATAQUEIRO, 2006).

Em geral, quanto maior a concentração de pesticidas e mais longo o tempo de exposição, maiores as chances dos impactos negativos atingirem níveis superiores de organização biológica, como comunidades e ecossistema. Se um estresse dura tempo suficiente para levar à morte uma população de organismos, afetando as taxas de crescimento e de reprodução e impedindo o recrutamento de novas espécies, ela é então capaz de alterar a estrutura da comunidade (ARIAS et al., 2007).

Conhecidos também como defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, produtos fitossanitários, venenos, remédios de plantas, biocidas etc. A nomenclatura correta desses produtos, que pode variar de acordo com o interesse dos grupos envolvidos, apresenta discussões tão extensas quanto a sua lista de efeitos danosos. No entanto, o termo agrotóxico, além de ser utilizado na legislação brasileira, destaca a sua toxicidade e os riscos implícitos em sua utilização. Sua classificação pode ser baseada em diversos critérios, como estado físico (suspensão, grânulos etc.), espécies-alvo (inseticidas, herbicidas, fungicidas etc.),

padrão de uso (desfolhantes, repelentes, entre outros), mecanismos de ação (anticolinesterásicos, anticoagulantes, entre outros) ou estrutura química (piretróides, organofosforados, etc.) (RODRIGUES, 2007).

O uso praticamente global de praguicidas, desde *spray* doméstico até as toneladas de produtos utilizados anualmente na agricultura e na pecuária, constitui problema de impacto ambiental e de saúde pública e animal (MATAQUEIRO, 2006). Pois seu uso desordenado e excessivo provoca diversos impactos sobre o ambiente (RODRIGUES, 2007).

Por ano, são produzidos no mundo 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos (JOBIM et al., 2010) e deste total, 85% são utilizados na agricultura (PIMPÃO, 2006). No âmbito da América Latina, o Brasil desponta como o maior consumidor de agrotóxicos, com um consumo estimado em 50% da quantidade comercializada nesta região (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001; PIMPÃO, 2006, SANTOS et al., 2007). O uso de praguicidas no Brasil alcançou no ano de 2005, o patamar de produção e comercialização de, aproximadamente, 400 mil toneladas, considerado na época o 3º maior consumidor de agrotóxicos em nível mundial (SANTOS et al., 2007). A produção atual de agrotóxicos é de 250 mil toneladas por ano, fato que contribui para a classificação do país como o 8º maior consumidor de praguicidas no mundo (JOBIM et al., 2010).

No Brasil, os estados do Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Tocantins, são responsáveis pelo consumo de 70% do total utilizado no país. Na região sudeste, o consumo de agrotóxicos é estimado em 12 Kg de agrotóxico por trabalhador ao ano, valor que pode ser superior dependendo da área produtiva (RODRIGUES, 2007).

2.1 PIRETRÓIDES

Os piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados na agricultura (SANTOS et al., 2007). Estes compostos apresentam amplo espectro de atividade,

ação rápida, eficiência em baixa dose, baixo poder residual no ambiente e, adicionalmente, é praticamente atóxico para mamíferos, quando comparados a outros inseticidas (PIMPÃO, 2006; SANTOS et al., 2007). No entanto, apesar das vantagens apresentadas pelos piretróides em relação a outros inseticidas, os mesmos cuidados devem ser tomados para sua utilização, já que podem exercer nos vertebrados efeitos neurotóxicos e cardiotoxicos (SANTOS et al., 2007).

O primeiro pesticida piretróide, aletrina, foi identificado em 1949 (BRADBERRY et al., 2005). Os piretróides são inseticidas de origem vegetal, obtidos a partir da trituração das flores de algumas plantas pertencentes ao gênero *Chrysanthemum cinerariaefolium* (BORGES, 2005; CENGİZ; UNLU, 2006; PIMPÃO, 2006; TRAMUJAS et al., 2006, PIMPÃO et al., 2007; SANTOS et al., 2007) e *Chrysanthemum cocineum* (TRAMUJAS et al., 2006).

O piretro é um inseticida instável na luz e no ar, o que limita a sua efetividade na proteção de lavouras e no controle de insetos (PIMPÃO, 2006, SANTOS et al., 2007). Análogos sintéticos da piretrina têm sido desenvolvidos para contornar a rápida fotodegradação que ocorre com a piretrina natural (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; BORGES, 2005; PIMPÃO, 2006; OSTI et al., 2007; VELISEK et al., 2007; SELVI et al., 2008) mantendo a potente e rápida atividade inseticida e a toxicidade aguda relativamente baixa do piretro para mamíferos (PIMPÃO, 2006).

O uso dos piretróides sintéticos na agricultura iniciou-se na década de 70 após a mudança estrutural introduzida nas piretrinas. Assim, a inclusão de átomos de nitrogênio, enxofre e de halogênios às piretrinas solucionou os problemas de estabilidade relacionados às substâncias naturais, enquanto manteve relativamente baixa a toxicidade aguda em mamíferos. A baixa toxicidade para mamíferos dos piretróides sintéticos tem incentivado seu uso em agricultura, intensificando os riscos de poluição mundial (BEGUM, 2005; EL-SAYED et al., 2007). Na aquicultura tem sido usado substituindo pesticidas mais tóxicos e persistentes como organofosforados (BEGUM, 2005).

Os piretróides agem nos insetos com rapidez causando paralisia imediata e mortalidade, efeito de choque denominado *knock down* (SANTOS et al., 2007). São amplamente aceitos para o controle de insetos no mundo todo. Estes inseticidas são comumente divididos em composto tipo I, o qual falta um substituinte alfa-ciano, e composto tipo II, o qual contém o substituinte alfa-cianofenoxibenzil, o qual confere maior eficácia inseticida (OSTI et al., 2007).

Durante as investigações para modificar as estruturas químicas da piretrina natural certo número de piretróides sintéticos foi produzido com melhora nas propriedades físicas e químicas e maior atividade biológica. Diversos destes piretróides sintéticos foram comercializados com sucesso, principalmente para o controle de insetos em domicílios. Outros piretróides mais recentes têm sido desenvolvidos como inseticidas em agriculturas devido a sua excelente atividade contra uma ampla faixa de pragas e pela sua baixa persistência. Efeitos tóxicos dos piretróides sobre organismos não alvos têm sido analisados e relatados em partes por bilhão os resultados obtidos (VELISEK et al., 2007).

O desenvolvimento de piretróides sintéticos envolveu processos interativos de modificação estrutural e avaliação biológica para que estes fossem comercializados. A maior parte dos piretróides sintéticos foi desenvolvida pela substituição de elementos estruturais das piretrinas, os quais conservam parte da molécula original, a forma molecular e propriedades físicas da estrutura modelo (PIMPÃO, 2006).

A toxicidade dos piretróides é altamente dependente da estrutura química (VIRAN et al., 2003; URAL; SAGLAM, 2005; SANTOS et al., 2007). Todos os piretróides podem existir, pelo menos, quatro estereoisômeros, cada um com diferentes atividades biológicas (BRADBERRY et al., 2005). A toxicidade do piretróide é dependente da taxa de isômeros presentes (BASER et al., 2003), os isômeros *cis* demonstram uma toxicidade mais elevada em relação ao *trans* e o carregador não polar aumenta a toxicidade de ambos isômeros (BASER et al., 2003; SANTOS et al., 2007).

Piretróides são comercializados como misturas racêmicas ou como isômero único. O mecanismo pelo qual piretróides são tóxicos é complexo e se torna mais ainda quando eles são formulados com piperonil butóxido ou com um inseticida organofosforado, ou ambos, como em formulações comerciais, os quais agem como sinergistas inibindo a metabolização dos piretróides (BRADBERRY et al., 2005).

O uso amplificado de piretróides sintéticos pode aumentar os riscos de poluição em nível mundial (SINGH; SINGH, 2008). O uso generalizado destes pesticidas, conseqüentemente, leva trabalhadores, aplicadores a campo e o ecossistema à exposição causando possíveis efeitos tóxicos (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; BORGES, 2005; PIMPÃO, 2006, EL-SAYED; SAAD, 2007; OSTI et al., 2007; VELISEK et al., 2007).

Há uma baixa taxa de envenenamentos por piretróides em humanos, pois menos de dez mortes foram relatadas por ingestão ou exposição. A mais importante via de absorção dos piretróides é através da pele. Inalação é muito menos importante, mas aumenta a preocupação quando piretróides são utilizados em espaços fechados. O principal efeito adverso da exposição dermal é paraestesia, devido à hiperatividade das fibras nervosas sensoriais cutâneas. A face é mais comumente afetada e a paraestesia é exacerbada por estimulação sensorial como calor, luz solar, arranhões, sudorese ou aplicação de água. Com a ingestão de piretróides por humanos, dentro de minutos podem ocorrer: dor de garganta, náusea, vômito e dores abdominais. Ainda podem causar úlceras bucais, aumentando secreções e disfagia. Efeitos sistêmicos ocorrem entre 4 e 48 horas após exposição. Tonturas, dores de cabeça e fadiga são comuns, podendo chegar à coma e convulsões (BRADBERRY et al., 2005).

Os piretróides são amplamente usados no campo e nos domicílios para controle de pestes e contra piolhos humanos e veterinários (BORGES, 2005; CENGIZ; UNLU, 2006; SELVI et al., 2008). Têm múltiplas funções de uso na agricultura, na medicina veterinária e na saúde pública, principalmente para controle de vetores (PIMPÃO, 2006). São amplamente utilizados como inseticidas tanto em

propriedades residenciais como comerciais (ÇALISKAN et al., 2003; BRADBERRY et al., 2005) e na medicina para tratamento tópico de scabioses e piolhos. Em países tropicais mosquiteiros são comumente embebidos em soluções de piretróides como estratégias antimaláricas (BRADBERRY et al., 2005). Nas duas últimas décadas, aplicações de piretróides como inseticidas ou preparações antiparasitárias, vem aumentando significativamente (SVOBODOVÁ et al., 2003; BORGES, 2005).

Piretróides estão sucessivamente substituindo pesticidas usados anteriormente como organoclorados, organofosforados e carbamatos (DAS; MUKHERJEE, 2003; SVOBODOVÁ et al., 2003; TRIPATHI; SINGH, 2004; AYDIN et al., 2005; BORGES, 2005; CENGIZ; UNLU, 2006; MISHRA et al., 2005; CENGIZ, 2006; YILDIRIM et al., 2006; EL-SAYED, SAAD, 2007; PIMPÃO et al., 2007) devido a sua baixa persistência no ambiente tornando-o mais seguro (DAS; MUKHERJEE, 2003; EL-SAYED; SAAD, 2007; PIMPÃO et al., 2007; SINGH; SINGH, 2008), comparativamente menos tóxico para mamíferos (TRIPATHI; SINGH, 2004; BORGES, 2005; MISHRA et al., 2005; CENGIZ, 2006; EL-SAYED; SAAD, 2007; PIMPÃO et al., 2007), suas propriedades de alta bioeficácia (URAL; SAGLAM, 2005; EL-SAYED; SAAD, 2007) e devido aos perigos ecológicos a longo prazo associado ao uso de pesticidas organoclorados, organofosforados e carbamatos (YILDIRIM et al., 2006).

As principais vantagens do piretróide sintético são sua fotoestabilidade, altamente efetivo mesmo em baixas concentrações, fácil desintegração (SVOBODOVÁ et al., 2003) além de apresentar baixa toxicidade para pássaros e mamíferos, conforme supracitado, (SVOBODOVÁ et al., 2003; BORGES, 2005; URAL; SAGLAM, 2005; YILDIRIM et al., 2006; SINGH; SINGH, 2008), especialmente humanos (BORGES, 2005), devido a uma rápida metabolização no organismo da maioria dos animais (MISHRA et al., 2005; CENGIZ, 2006).

Por serem relativamente não persistente no ambiente (EL-SAYED; SAAD, 2007; SINGH; SINGH, 2008), não se espera que faça biomagnificação através da

cadeia alimentar (EL-SAYED; SAAD, 2007; SANTOS et al., 2007). Porém há uma tendência para a bioacumulação nos organismos (VELISEK et al., 2007).

No meio ambiente, os piretróides, assim como outros praguicidas, podem ser utilizados como modelo para o estudo da ecotoxicologia, pois contaminam o ar, a terra e a água provocando efeitos adversos que atingem desde uma bactéria até o homem (SANTOS et al., 2007). A avaliação dos riscos ecotoxicológicos causados por pesticidas nos ecossistemas baseia-se nos dados sobre toxicidade e efeitos dos pesticidas para organismos não alvos. Os peixes estão entre o grupo de organismos aquáticos não alvos (VELISEK et al., 2006).

Ensaio laboratoriais demonstraram que os piretróides são muito tóxicos para peixes, abelhas e alguns artrópodes aquáticos, tais como lagostas e camarões (OSTI et al., 2007; SANTOS et al., 2007) e benéfico a outros artrópodes aquáticos e comunidades de zooplâncton (URAL; SAGLAM, 2005).

Apesar de não ser persistente no ambiente, peixes são extremamente sensíveis aos efeitos neurotóxicos destes pesticidas (BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003; SVOBODOVÁ et al., 2003; AYDIN et al., 2005; URAL; SAGLAM, 2005; CENGİZ; UNLU, 2006; EL-SAYED et al., 2007; SINGH; SINGH, 2008). A toxicidade verificada para mamíferos é baixa, porém estudos toxicológicos recentes com 243 pesticidas mostraram que os piretróides estão entre os pesticidas mais tóxicos para organismos aquáticos, tais como peixes e crustáceos (BARRIONUEVO; LANÇAS, 2001; PIMPÃO, 2006; SAXENA; SETH, 2002).

Peixes fazem íntimo contato com a água do ambiente através das brânquias. Devido a sua lipofilicidade, piretróides tem uma alta taxa de absorção pelas brânquias, o qual é um fator que contribui para a sensibilidade dos peixes a exposições aquáticas por piretróides (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; BORGES, 2005; MISHRA et al., 2005; BORGES, 2007; EL-SAYED; SAAD, 2007; OSTI et al., 2007; SANTOS et al., 2007; VELISEK et al., 2007).

Piretróides são altamente tóxicos para as brânquias, causando sérias alterações epiteliais, o qual danifica as trocas gasosas (BORGES, 2007). Podem também causar alterações profundas como: lesões estruturais e morte das células das brânquias. As lesões têm sido detectadas histologicamente após exposições de peixes, tanto em laboratório quanto a campo, a uma série de compostos, incluindo metais pesados, pesticidas, organoestânicos, solventes orgânicos, xenobióticos orgânicos e surfactantes. Algumas lesões comuns no epitélio da brânquia foram levantadas como: necroses, hiperplasias, hipertrofias e rupturas (BOLS et al., 2001). Estes compostos são tóxicos também para o fígado, rins, cérebro e músculos dos peixes (BORGES, 2007).

Os piretróides sintéticos são metabolizados muito rapidamente no fígado de mamíferos. A reação inicial de desintoxicação em mamíferos é a clivagem da ligação éster, provavelmente por esterases (BORGES, 2005; PIMPÃO, 2006; OSTI et al., 2007; VELISEK et al., 2007), seguidas por reações de hidroxilação através do sistema citocromo P-450 e por várias reações de conjugação (PIMPÃO, 2006, PIMPÃO et al., 2007). A metabolização de um piretróide resulta no aumento significativo de sua hidrossolubilidade, facilitando assim sua rápida excreção através dos líquidos corporais, principalmente a urina (RODRIGUES, 2003; PIMPÃO, 2006).

O metabolismo em peixe é amplamente oxidativo (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; OSTI et al., 2007; VELISEK et al., 2007), logo, são deficientes no sistema enzimático que hidrolisa os piretróides (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; MISHRA et al., 2005; CENGIZ, 2006; BORGES, 2007; EL-SAYED; SAAD, 2007; PIMPÃO et al., 2007; SANTOS et al., 2007; VELISEK et al., 2007).

Especialmente em baixas temperaturas, animais ectotérmicos, como os peixes, metabolizam menos piretróides por causa da atividade de seu sistema enzimático reduzida (OSTI et al., 2007).

Em peixes, os piretróides são altamente tóxicos, podendo causar efeitos tóxicos e letais com uma dose cerca de dez a mil vezes menor comparando-se com

mamíferos (MOORE; WARING, 2001; AYDIN et al., 2005; URAL; SAGLAM, 2005; CENGIZ; UNLU, 2006; PIMPÃO, 2006; EL-SAYED; SAAD, 2007; EL-SAYED et al., 2007) e aves (AYDIN et al., 2005; URAL; SAGLAM, 2005; CENGIZ; UNLU, 2006; EL-SAYED; SAAD, 2007; EL-SAYED et al., 2007).

A eliminação e meia-vida de vários piretróides pela truta são todos acima de 48 horas, enquanto a eliminação e meia-vida para aves e mamíferos é realizada em um intervalo de 6 para 12 horas (VELISEK et al., 2006).

Assim, o uso indiscriminado de piretróides pode afetar o equilíbrio no meio ambiente, requerendo seu monitoramento pelas análises de seus resíduos e de seus efeitos (BARRIONUEVO; LANÇAS, 2001; PIMPÃO, 2006).

O monitoramento ocupacional tem se mostrado a forma mais eficiente de prevenir e diagnosticar precocemente os episódios de intoxicações provocados por pesticidas (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001).

Nenhuma substância química é totalmente segura ou totalmente danosa. Seu efeito está relacionado com a sua concentração no meio e seu tempo de permanência ou tempo de exposição sobre o organismo. Neste sentido os testes de toxicidade são aplicados para avaliar os efeitos adversos do composto químico em um organismo de forma padronizada, em condições replicáveis que permita comparações com outros compostos testados. Apenas técnicas de biomonitoramento, baseadas no uso de espécies sensíveis podem ser utilizadas para medir integrativamente as respostas aos efeitos interativos de tais substâncias (SILVEIRA, 2007).

2.1.1 Cipermetrina

A cipermetrina, um piretróide pesticida sintético potente e de amplo espectro é usado amplamente no controle do verme do algodão, *Heliothis armigera* (DAVID et al., 2004), usada também no tratamento de lã de ovelhas, tratamento de salmonídeos para piolhos aquáticos (MOORE; WARING, 2001; JAENSSON et al.,

2007), é frequentemente utilizado na agricultura no controle de pestes domésticas e industrial (TRIPATHI; SINGH, 2004; JAENSSON et al., 2007; SINGH; SINGH, 2008). Também para o controle dos ectoparasitas que infestam bovinos, ovinos, aves e alguns animais de companhia (VELISEK et al., 2006).

Recentemente, o composto foi usado como um agente quimioterapêutico de controle de ectoparasitas e infestações por piolhos do mar (*Lepeophtheirus salmonis* e *Caligus elongatus*) na cultura em gaiolas marinhas de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (VELISEK et al., 2006) e também em muitos corpos aquáticos para o controle de pragas, insetos e ectoparasitas como piolhos (BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003; TRIPATHI; SINGH, 2004; YILMAZ et al., 2004; BORGES, 2005; JAENSSON et al., 2007, SINGH; SINGH, 2008) podendo causar toxicidade subcrônicas e crônicas sérias para os peixes (BASER et al., 2003; ÇALISKAN et al., 2003). Por esse motivo, uma atenção especial é necessária nesses programas de controle de vetores em ambientes aquáticos (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; ÇALISKAN et al., 2003; CENGİZ, 2006).

A cipermetrina é categorizada como um pesticida de uso restrito pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) devido a sua alta toxicidade aos peixes (SAHA; KAVIRAJ, 2009). Na Índia a cipermetrina é usada em uma grande variedade de culturas e muitos corpos de água contendo culturas de peixes (BEGUM, 2004; SAHA; KAVIRAJ, 2009).

Cipermetrina (α -ciano-3-fenoxibenzil-2,2-dimetil-cis, trans-3 (2,2-diclorovinil-ciclopropanocaboxilato) (DAVID et al., 2004; SINGH; SINGH, 2008), $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$, de peso molecular 416.30, é um piretróide sintético que vem ganhando popularidade desde 1970 (JAENSSON et al., 2007). É uma base de pesticida muito utilizada em piretróides. É a mais eficaz entre estas preparações (VELISEK et al., 2006).

Produtos que contém cipermetrina são classificados como classe de toxicidade química II (toxicidade moderada) ou III (altamente tóxico), dependendo da formulação (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003). Seu uso tem substituído os

inseticidas organoclorados, organofosforados e carbamatos nas duas últimas décadas (BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003; BORGES, 2007).

Em 1995 houve um significativo aumento no número de sítios de água doce na Inglaterra e Gales, onde a cipermetrina excedeu o limite de concentração máxima permitida pela norma de qualidade ambiental de 1 ng. L^{-1} . Mais recentemente durante um programa de monitoramento da agência ambiental, níveis de cipermetrina variaram entre 0,078 e 0,101 $\mu\text{g. L}^{-1}$ tendo sido mensurados em riachos de apoio a desova de salmonídeos (MOORE; WARING, 2001).

Mesmo a cipermetrina sendo amplamente utilizada, atualmente poucas informações se tem a respeito dos efeitos destes inseticidas piretróides. Cipermetrina induz a alterações nas glândulas pituitárias gonadotróficas, em fígados, ovários, níveis plasmáticos e mortalidade espermática (SINGH; SINGH, 2008). Dificuldade respiratória é um dos sinais iniciais causados pelo envenenamento por pesticidas (ÇALISKAN et al., 2003). Shires (1983) relatou que mortalidade dos peixes pode ocorrer devido ao uso da cipermetrina em práticas de agriculturas (SAXENA; SETH, 2002).

A cipermetrina tem sido encontrada na superfície de águas em escala mundial - nos sistemas de escoamento ou aquicultura e até mesmo em águas pluviais (JAENSSON et al., 2007). Seus resíduos frequentemente alcançam ecossistemas aquáticos podendo ser transferidos através do fitoplâncton para peixes e finalmente para humanos (BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003). Resíduos de pesticidas têm sido encontrados em peixes selvagens capturados (SINGH; SINGH, 2008).

Vale ressaltar que a cipermetrina, assim como os piretróides em geral, é praticamente não tóxica para mamíferos e pássaros, mas é altamente tóxica para peixes e invertebrados aquáticos. O principal motivo disto é devido à metabolização e eliminação destes compostos serem significativamente mais lentos em peixes do que em mamíferos e pássaros (YILMAZ et al., 2004; BEGUM, 2005).

Moore e Waring (2001) relataram que a cipermetrina, mesmo em baixos níveis nos ambientes aquáticos, causa efeitos crônicos significativos sobre

populações de Atlantic Salmon através do rompimento das funções reprodutivas. Isto ocorre principalmente devido a metabolização e eliminação mais lenta desse composto por peixes (BEGUM, 2005).

Dörücü e Girgin (2001) relataram diferenças significativas nos níveis dos parâmetros sanguíneos de peixes expostos à cipermetrina em comparação ao grupo que não foi exposto ao piretróide.

Conforme Stephenson (1982 apud DAS; MUKHERJEE, 2003) a concentração, responsável pela morte de metade da população estudada (CL_{50}), da cipermetrina para espécies de carpa foi entre 0,9 e 1,1 $\mu\text{g/L}$; para truta marrom 1,2 $\mu\text{g/L}$ e para tilápia 2,2 $\mu\text{g/L}$.

2.1.2 Deltametrina

A deltametrina foi originada em 1974, com a inclusão do grupamento substituinte α -ciano no grupo 3-fenoxibenzil, atribuindo-lhe maior potência praguicida que o composto sintetizado anteriormente (permetrina) e comercializada a partir de 1977 (GALEB, 2010).

A fórmula molecular da deltametrina é $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{NO}_3$. Quimicamente é um isômero (1R, *cis*; α S) de oito estereoisômeros ésteres do análogo dibromo do ácido crisantêmico, ou seja, (S)- α -ciano-3-fenoxibenzil-(1R)-*cis*-3(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato. É preparada por esterificação do ácido 2,2-dimetil-3-(2,2-dibromovinil) ciclopropanocarboxílico (Br_2CA) com álcool α -ciano-3-fenoxibenzil, ou por recristalização seletiva dos ésteres racêmicos obtidos da esterificação de (1R, 3R ou *cis*)-ácido com o racêmico ou álcool -[α R, α S, ou α RS] (GALEB, 2010).

A deltametrina é um piretróide do tipo II, sendo estável na luz, umidade, ar, mas instável em meio alcalino. Podem-se considerar algumas características físicas e químicas da deltametrina: pó cristalino, sem cor e odor, densidade (20 °C) 0,5 g/cm^3 , ponto de fusão entre 98-101 °C, ponto de ebulição acima de 300 °C, solubilidade em água (20 °C) $<0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$, solúvel em solventes orgânicos (GALEB, 2010).

Após curtos períodos de exposição à deltametrina, catfish (*Heteropneustes fossilis*) adultos mostraram hipocalcemia. Os investigadores atribuem esta condição para o eventual comprometimento de qualquer um afluxo líquido de eletrólitos nas brânquias ou função renal (OSTI et al., 2007). De acordo com Velisek et al. (2007) valores de eritrócitos aumentaram significativamente ($p < 0,05$) em peixes expostos à deltametrina quando comparados com o grupo controle.

Viran et al. (2003) observaram os sinais de hiperexcitabilidade do sistema nervoso central ao expor guppy (*Poecilia reticulata*) com diferentes concentrações de deltametrina, variando entre 1 e 10,80 $\mu\text{g/L}$.

2.1.3 Mecanismo de Ação dos Piretróides

Os piretróides atuam no sistema nervoso central dos vertebrados e confere toxicidade em espécies seletivas, na ordem peixes > anfíbios > mamíferos > pássaros (ÇALISKAN et al., 2003).

Os inseticidas piretróides contendo o grupo α -ciano-fenoxibenzila, como a cipermetrina e deltametrina, atuam sobre o sistema nervoso de vertebrados. O mecanismo de seus efeitos, no caso de peixes, é o mesmo de outros piretróides que contenham o grupo α -ciano-fenoxibenzila (BORGES, 2005; VELISEK et al., 2006; VELISEK et al., 2007).

Os piretróides exercem um efeito sobre os canais de sódio dos filamentos nervosos, bloqueando a sua abertura e fechamento, ou seja, encurtando a fase despolarizante, prolongando o tempo de entrada dos íons de Na^+ para o interior da célula e atrasando o seu encerramento (BORGES, 2005; BRADBERRY et al., 2005; VELISEK et al., 2006; BORGES, 2007; SANTOS et al., 2007, VELISEK et al., 2007).

Além disso, eles interagem com os receptores do ácido gama amino butírico (GABA) nos filamentos nervosos (BORGES, 2005; BRADBERRY et al., 2005; VELISEK et al., 2006; BORGES, 2007; VELISEK et al., 2007), ou seja, ligam-se aos receptores do GABA bloqueando os canais de cloro e sua ativação (SANTOS et al., 2007), o que pode ser responsável pela hiperexcitabilidade observada em envenenamento severo por piretróides tipo II (BRADBERRY et al., 2005).

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC) e a ausência de inibição sináptica leva a uma hiperexcitabilidade do SNC (SANTOS et al., 2007), ou seja, a cipermetrina e a deltametrina, piretróides amplamente utilizados como pesticida terrestre e aquático atuam sobre o funcionamento do sistema nervoso central através dos canais iônicos nas células nervosas, provocando hiperatividade e subsequente falta de controle das funções normais nos peixes (BORGES, 2005).

3 ECOTOXICOLOGIA E TIPOS DE INTOXICAÇÃO

A ecotoxicologia nasceu de certa forma, da toxicologia ambiental. No entanto, a toxicologia ambiental aborda os efeitos prejudiciais de agentes químicos no ambiente considerando somente a saúde humana. Já a ecotoxicologia apresenta-se como um estudo dos efeitos danosos de agentes tóxicos sobre o ecossistema, ou seja, uma visão mais ampla e integrativa (BERNARDI et al., 2008).

A ecotoxicologia foi definida pela primeira vez por Truhaut em 1969 (COELHO, 2006; MASSARO, 2006), como sendo o ramo da toxicologia que abrange o estudo dos efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos, aos componentes bióticos dos ecossistemas, sejam animais (incluindo o homem), vegetais ou microrganismos (MASSARO, 2006) e suas consequências na estrutura e funcionamento das populações, comunidades e ecossistemas (COELHO, 2006).

Os estudos de toxicologia aquática se desenvolveram nos EUA e na Europa há mais de cem anos, a partir de duas disciplinas, a Biologia da Poluição da Água e a Limnologia (MASSARO, 2006). Devido ao interesse em estudar os danos causados por poluentes nas comunidades aquáticas e nos seus níveis de organização fez com que a Ecotoxicologia Aquática tivesse um grande desenvolvimento nos últimos anos (COELHO, 2006).

Uma vez lançadas no ambiente, quaisquer substâncias ou compostos químicos podem iniciar uma infinidade de interações entre si e com os constituintes do meio, que poderão resultar nas mais diferentes formas de ação sobre as comunidades biológicas a elas expostas (SILVEIRA, 2007).

Cada vez mais são requeridos estudos intensivos e a utilização de novas ferramentas para avaliar os impactos diretos e indiretos dos usos de produtos químicos nos ecossistemas naturais. Entre estas ferramentas, têm-se destacado os testes de toxicidade, os quais devem ser considerados como uma análise indispensável no controle da poluição hídrica, pois detectam os efeitos de contaminantes sobre a biota enquanto as análises químicas apenas identificam e

quantificam as substâncias presentes nas amostras ambientais (MASSARO, 2006; RODRIGUES, 2007).

Na ecotoxicologia, os testes de toxicidade são, em grande parte, aquáticos, em função da degradação desses sistemas (JARDIM, 2004; BERNARDI et al., 2008). Corpos hídricos têm sido usados como sistema de disposição de resíduos desde o início da civilização (JARDIM, 2004). Os testes de toxicidade aquática são alocados em quatro grandes grupos, como: testes de toxicidade aguda, testes de toxicidade crônica, testes de bioacumulação e testes fisiológicos e comportamentais (BERNARDI et al., 2008). Classificados em agudos ou crônicos de acordo com a sua duração e efeitos avaliados (RODRIGUES, 2007).

A primeira etapa para se compreender os efeitos das substâncias tóxicas são os testes de toxicidade aguda, enquanto que os testes crônicos fazem parte da segunda etapa e fornecem informações adicionais sobre as concentrações não detectadas nos testes agudos (JARDIM, 2004).

Os testes agudos são definidos como os efeitos severos sofridos pelos organismos decorrentes de um curto período de exposição. Nestes, a finalidade dos testes é determinar a concentração de uma substância-teste (produtos químicos ou efluentes) que produz efeitos deletérios em um grupo de organismos-teste sob condições controladas (RODRIGUES, 2007; BERNARDI et al., 2008). Esses testes medem os efeitos dos agentes tóxicos sobre as espécies durante uma curta fase da vida e frequentemente avaliam a sobrevivência após um período de 24 a 96 horas de exposição (JARDIM, 2004). Os efeitos observados vão desde a letalidade até qualquer outra manifestação do organismo que a anteceda (JARDIM, 2004; MASSARO, 2006; RODRIGUES, 2007; BERNARDI et al., 2008). Para o teste ser aceitável, a sobrevivência no controle deve ser de 90%, no mínimo (JARDIM, 2004).

As doses subletais são estimadas baseando-se nos valores dos testes de toxicidade aguda de máxima exposição, como por exemplo, a CL_{50} - 96h (concentração letal para metade da população em estudo dentro de um período de

96 horas), sendo as doses estabelecidas para os testes crônicos, inferiores a esta concentração (MASSARO, 2006).

Para determinar a concentração subletal (CL_{50}) obtém-se a medida da concentração de determinado agente químico em água que causa a morte de 50% dos animais testados. Os valores de CL_{50} e DL_{50} (estudos em animais terrestres) podem ser influenciados por muitos fatores, incluindo linhagem do animal, idade, sexo, bem como outros parâmetros ambientais, como temperatura, dureza da água e pH (BERNARDI et al., 2008).

Este índice (CL_{50}) corresponde a um valor calculado que representa a melhor estimativa da dose necessária para produzir a morte em 50% dos organismos (GRADVOHL, 2006).

Os testes de toxicidade crônica permitem avaliar efeitos adversos resultantes de uma exposição prolongada, abrangendo parte ou todo o ciclo de vida do organismo (MASSARO, 2006). Os efeitos crônicos observados em laboratório durante os testes de toxicidade incluem mudanças no desenvolvimento, crescimento, reprodução, metabolismo, fisiologia, e comportamento dos organismos-teste, sob concentrações subletais de uma substância tóxica (JARDIM, 2004; MASSARO, 2006).

Os testes ecotoxicológicos possibilitam, dentro de condições controladas, determinarem as concentrações das substâncias químicas que causam efeitos adversos a organismos aquáticos (JARDIM, 2004; MATAQUEIRO, 2006; RODRIGUES, 2007; BERNARDI et al., 2008). Por meio destes testes determinam-se o tempo e a concentração em que o agente é potencialmente prejudicial. Para qualquer produto, o contato com a membrana celular ou sistema biológico pode não produzir um efeito adverso se a concentração do produto for baixa, ou o tempo de contato for insuficiente. Concentração e tempo de exposição estão diretamente relacionados e, portanto, altas concentrações poderão ter efeitos prejudiciais em tempos de exposição extremamente curtos (MASSARO, 2006).

Os testes de toxicidade podem ser realizados *in situ* ou em laboratório. Os ensaios *in situ* representam a real condição do ambiente, à qual os organismos estão expostos (MASSARO, 2006), entretanto, os ensaios em laboratório são favorecidos pelo fato das condições experimentais serem controladas e as respostas dos organismos-teste melhor observadas (MASSARO, 2006; MATAQUEIRO, 2006).

Entre as variáveis que podem ser controladas estão: fatores abióticos (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, dureza, luminosidade, entre outros); substância química estudada (isolada ou em misturas); critérios para a avaliação do efeito danoso sobre os organismos (crescimento, reprodução, redução da sobrevivência); período de exposição dos indivíduos; concentrações de exposição do agente químico; espécies dos organismos, bem como a sua idade; e as condições de saúde e de cultivo dos organismos testados (RODRIGUES, 2007).

Os ensaios realizados em laboratórios não permitem extrapolar os resultados diretamente ao ecossistema, ficando restrito unicamente ao organismo-teste específico e às condições que levaram ao resultado do ensaio. Deduções sobre os processos complexos nos sistemas aquáticos, que até hoje são relativamente pouco conhecidos, podem ser feitas somente com cautela. Porém, os testes fornecem informações e indicações sobre os possíveis riscos e alterações prejudiciais ao ambiente, servindo, assim, como sistemas preventivos de proteção e alerta (SILVEIRA, 2007).

Os testes de toxicidade aquática fornecem informações sobre o perigo potencial dos efeitos de uma substância tóxica aos organismos aquáticos, tais como letalidade, carcinogênese, mutagênese, teratogênese, desordens comportamentais, efeitos fisiológicos cumulativos, antagonicos e sinérgicos (RODRIGUES, 2007).

O objetivo dos testes de toxicidade é verificar os efeitos provocados a médio e longo prazo, por doses subletais fornecidas contínua ou repetidamente durante certo tempo. Dificilmente se poderia obter esse tipo de informação, a partir, simplesmente, de dados analíticos. A toxicidade da água, ou seja, a sua capacidade de provocar estados mórbidos, nem sempre depende da presença de uma única espécie

química, mas sim da interação de diferentes espécies e condições físicas e químicas, da qual podem resultar atenuações ou, ao contrário, sinergismos, reduzindo ou acentuando os efeitos tóxicos individuais. Assim, o verdadeiro potencial de toxicidade da água só pode ser estimado, com relativo grau de segurança, através de ensaios sintéticos, ou empíricos, realizados com seres vivos. Testes de toxicidade podem ser eficientes instrumentos de avaliação da qualidade de água e/ou sedimento. A qualidade é definida dentro de padrões e exigências que assegurem o bem estar dos organismos no ambiente em estudo (SILVEIRA, 2007).

Quanto à renovação da solução que está sendo testada, os testes de toxicidade aguda podem ser conduzidos segundo quatro sistemas diferentes: a) sistema estático: a solução-teste não é renovada durante o teste; b) sistema de recirculação: o controle e as soluções-teste são bombeados e filtrados para manter a qualidade da água, e retornam aos recipientes-teste; c) sistema de renovação ou semi-estático: as soluções-teste e o controle são renovados e os organismos-teste são transferidos para as novas soluções e d) sistema de fluxo contínuo: as soluções-teste fluem pelo recipiente-teste, sem recirculação. Testes estáticos e semi-estáticos não são recomendados se o material testado é volátil ou possui grande demanda de oxigênio (JARDIM, 2004).

A adoção de estudos ecotoxicológicos permite fazer previsões sobre riscos de extinção, constituindo-se uma ferramenta para compreensão da extensão dos impactos, pois os organismos vivos utilizados nos testes de toxicidade funcionam como verdadeiros “biosensores” que respondem à presença de contaminantes (JARDIM, 2004).

Apesar da crescente utilização dos testes ecotoxicológicos, no Brasil são poucas as espécies de organismos aquáticos empregados em métodos padronizados. Os peixes têm sido usados em testes ecotoxicológicos uma vez que são importantes na composição da cadeia alimentar e facilmente obtidos, a fim de se prever o risco de acidentes ou intoxicações não intencionais resultantes do uso de agrotóxicos,

reconhecidos pelo seu efeito negativo não somente sobre os organismos-alvo, como também outros elementos do ambiente (RODRIGUES, 2007).

Uma espécie ou grupo de organismos somente é utilizado quando apresenta algumas características que as tornem "ideais", dentre as quais a ampla distribuição, a abundância numérica e a baixa variabilidade genética, além de uma taxonomia estável, bem definida e fácil de ser reconhecida (COELHO, 2006).

A importância da utilização de peixes como bioindicadores de toxicidade está centrada em dois fatores: ecológico, uma vez que, na maturidade, certos peixes ocupam níveis altos na cadeia trófica; e econômico, já que os mesmos representam importantes fontes de alimento para o homem, sendo de extrema importância os estudos de bioacumulação e ecotoxicologia, que acabam por servir de referência em programas de saúde para as populações que dependem dessas fontes de alimento (RODRIGUES, 2007).

4 ORGANISMOS TESTE

Apesar da crescente utilização dos testes ecotoxicológicos, no Brasil são poucas as espécies de organismos aquáticos empregados em métodos padronizados (RODRIGUES, 2007).

A característica mais importante no que se refere à escolha de um procedimento de um teste de toxicidade é justamente a seleção da espécie que deverá ser utilizada como indicadora dos efeitos contaminantes, pois a resposta deste teste com um pequeno grupo de organismos, geralmente é usada para representar uma comunidade inteira. Geralmente utilizam-se algas, bactérias, invertebrados ou peixes, por serem estes organismos sensíveis e representativos da biota aquática (MASSARO, 2006).

A seleção da espécie-teste é normalmente baseada em vários critérios, tais como: sensibilidade, o organismo deverá responder a uma ampla variedade de contaminantes em concentrações que podem ser encontradas no ambiente natural; fácil manutenção em laboratório, o organismo deverá ser adaptável às condições de cultivo em laboratório; biologia e ecologia, a qual deverá existir informações suficientes em relação à biologia e à ecologia da espécie; reprodutibilidade dos resultados, a repetição dos experimentos deverá fornecer resultados uniformes com limites de erros aceitáveis; relevância, o organismo deverá ter significado ecológico ou econômico, devido à sua abundância, importância econômica ou importância na cadeia alimentar; ciclo de vida de curta duração: esta característica facilita o tempo de duração do teste (MASSARO, 2006; RODRIGUES, 2007).

Dentre os diversos organismos utilizados para testes de toxicidade estão os peixes (CARVALHO, 2009). Peixes são importantes na composição da cadeia alimentar e são facilmente obtidos, os quais têm sido usados em testes ecotoxicológicos a fim de se predizer o risco de acidentes ou intoxicações não intencionais resultantes do uso de agrotóxicos, reconhecidos pelo seu efeito

negativo não somente sobre os organismos-alvo, como também outros elementos do ambiente (RODRIGUES, 2007).

Bioensaios com peixes permitem estudar, sob condições controladas, alguns parâmetros como mortalidade, alterações comportamentais e danos nos tecidos ou células, podendo ajudar a prever alguns efeitos de contaminantes em ecossistemas aquáticos naturais (CARVALHO, 2009).

Peixes são animais excelentes para estudos de impactos toxicológicos e têm sido amplamente utilizados neste propósito (MISHRA et al., 2005, OSTI et al., 2007). Vários efeitos biológicos de diferentes tóxicos ambientais têm sido estudados em uma ampla variedade de peixes (MISHRA et al., 2005).

Estes organismos são considerados organismos padrão para testes de toxicidade aguda, assim como para testes de toxicidade crônica. A importância de peixes de água doce em ecotoxicologia é tanto ecológica quanto econômica. O fato dos peixes, ocuparem níveis tróficos elevados entre os organismos aquáticos, faz com que estes animais, através da cadeia alimentar, acumulem altos teores de substâncias por biomagnificação. Além disso, os peixes podem ser considerados a principal rota de contaminação humana (CARVALHO, 2009).

5 BIOMARCADORES

Os biomarcadores são hoje definidos como respostas biológicas adaptativas a agentes estressores (CARVALHO, 2009). Qualquer resposta biológica de um indivíduo quando exposto a um agente químico, demonstrando alguma mudança do estado fisiológico normal é um biomarcador. Pela definição exposta, mensurações bioquímicas, celulares, fisiológicas, histológicas, morfológicas e comportamentais são consideradas biomarcadores (BOLS et al., 2001; MAYON et al., 2006, ARIAS et al., 2007; BERNARDI et al., 2008).

O propósito do uso de biomarcadores é avaliar as condições ambientais, pela análise das respostas bioquímicas e celulares, antes que animais e vegetais sofram efeitos adversos irreversíveis, atingindo populações ou, até mesmo, os ecossistemas (JONSSON et al., 2002; BERNARDI et al., 2008), ou seja, o uso de biomarcadores nas avaliações de risco apresenta a vantagem de possibilitar a detecção de exposições potencialmente tóxicas bem antes que efeitos adversos possam ocorrer (CARVALHO, 2009).

As duas características mais importantes dos bioindicadores são: permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos e possibilitam a mensuração de efeitos subletais. Esta última característica permite pôr em prática ações remediadoras ou, melhor ainda, ações preventivas (ARIAS et al., 2007).

Uma vantagem decisiva do uso dos biomarcadores no monitoramento ambiental é que mostram, no mínimo se a fisiologia dos organismos está dentro de limites normais, indicando que nenhuma ação reparadora é necessária (BERNARDI et al., 2008).

A resposta biológica às agressões ambientais pode ser evidenciada em qualquer nível de organização, desde ecossistemas até compartimentos subcelulares ou reações bioquímicas intracelulares, passando por comunidades, populações, organismos, sistemas fisiológicos e células (CARVALHO, 2009).

A necessidade de entender e prever os efeitos dos agroquímicos tem promovido a pesquisa de vários indicadores fisiológicos e bioquímicos de compostos tóxicos indutores de estresse. O conceito básico que sustenta a utilização de

bioindicadores de poluição ambiental por agroquímicos baseia-se no fato que os distúrbios no meio ambiente levam inicialmente à perturbação de uma reação bioquímica em um determinado organismo (JONSSON et al., 2002).

Em geral, na intoxicação aguda ocorre mortalidade em massa dos peixes. No entanto, a poluição é um processo muitas vezes crônico, aparentemente sem danos visíveis, podendo causar vários efeitos subletais (PIMPÃO, 2006).

A hematologia pode ser considerada como um parâmetro essencial para se avaliar o estado geral de saúde de diversas espécies de peixes (CARVALHO, 2009), considerada a maneira mais rápida de detectar sintomas de estresse (TAVARES-DIAS et al., 2003). São cada vez mais usados como indicadores de estresses fisiológicos resultantes de alterações endógenas ou exógenas em peixes (LERMEN et al., 2004). Sendo assim, a avaliação dos parâmetros sanguíneos pode ser útil para monitorar o estado fisiológico dos peixes e para os diagnósticos de patologias de peixes (DÖRÜCÜ e GIRGIN, 2001; BARCELLOS et al., 2003; BORGES, 2005; RANZANI-PAIVA et al., 2005).

Quando uma substância química entra em um organismo, diversas respostas fisiológicas, hematológicas e bioquímicas ocorrem as quais podem se adaptar ou conduzir para a toxicidade (BEGUM, 2004; BORGES, 2005, BORGES, 2007). As características bioquímicas estão entre os mais importantes parâmetros do meio interno dos peixes. As mudanças no perfil bioquímico refletem mudanças no metabolismo e em processos celulares do organismo, resultantes dos efeitos de vários poluentes, tornando possível estudar os mecanismos dos efeitos destas substâncias (BEGUM, 2004; BORGES, 2005).

Assim, a análise sanguínea pode revelar disfunções agudas ou crônicas, atribuíveis à nutrição, qualidade da água, presença de toxinas e doenças, entre outros fatores (BORGES, 2005).

Os efeitos dos poluentes sobre ecossistemas naturais podem ser aferidos também pelos efeitos dos poluentes sobre processos reprodutivos (TRIPATHI; SINGH, 2004).

Existem poucos dados a respeito do potencial de efeitos subletais dos pesticidas sobre a reprodução e a viabilidade em longo prazo nas populações de peixes (MOORE; WARING, 2001). Recentemente, grande atenção tem sido dada aos possíveis efeitos adversos decorrentes da exposição de animais aquáticos a agentes químicos durante as fases pré e perinatal (TRAMUJAS et al., 2006).

Moore e Waring (2001) relataram que mesmo baixas concentrações de cipermetrina em ambientes aquáticos, pode ser o suficiente para causar efeitos significantes à longo prazo em populações de salmão do atlântico através de disfunções reprodutivas (YILMAZ et al., 2004).

A exposição a pesticidas e outras substâncias tóxicas durante as fases pré e perinatal, pode alterar, além de componentes do sistema nervoso central, o sistema reprodutivo sem comprometer o crescimento e a viabilidade dos descendentes, mas causar alterações funcionais que se tornam aparentes posteriormente na idade adulta (TRAMUJAS et al., 2006). Até mesmo um estresse crônico pode afetar a reprodução e assim causar um declínio populacional (MAYON et al., 2006).

A fecundidade, o período e o tipo de desova são características específicas essenciais para a manutenção de qualquer espécie de peixe (GOMIERO et al., 2007). A reprodução em peixes, como em outros vertebrados, é afetada por fatores ambientais, sociais e nutricionais (PARRA et al., 2008). Os parâmetros reprodutivos são os indicadores mais complexos de exposição e acumulação de agentes químicos, dificultado por diversas razões, sendo as duas principais: os efeitos dos poluentes na reprodução ocasionados direta e indiretamente e o processo fisiológico (BERNARDI et al., 2008).

O desenvolvimento embrionário e larval é influenciado por fatores ambientais como temperatura e turbulência da água (GOMES et al., 2000).

Diversos xenobióticos são conhecidos por afetar a reprodução em vários organismos. Por esta razão, é importante avaliar as respostas destes compostos com relação aos parâmetros reprodutivos (MAYON et al., 2006).

6 HEMATOLOGIA E ANÁLISES BIOQUÍMICAS

O sangue dos peixes tem sido estudado com o intuito de determinar o perfil hematológico das diferentes espécies em seus ambientes naturais, então os valores de cada espécie podem ser padronizados, porém alguns fatores podem alterar esses valores. Isto tem sido visto em peixes que vivem em cativeiros onde anormalidades ocorrem devido a variações de temperaturas e oxigênio dissolvido, além de doenças e outros fatores. Além disso, análises sanguíneas podem ser utilizadas para determinar os efeitos de estresses causados por confinamentos, capturas e manipulação. Deste modo, a aquicultura precisa acurar essas informações para que seja possível a identificação destas situações de estresse e/ou doenças no sentido de assegurar a saúde dos peixes (TAVARES-DIAS et al., 2003).

Os tecidos linfomielóides de osteítes (*Osteichthyes*) são oriundos do timo, do baço e dos rins. O timo, primeiro órgão linfóide que se desenvolve, coloniza o baço e os rins com linfócitos. Em osteíctes, o rim é o principal órgão formador de sangue; os rins pronefro (anterior ou cabeça) e opistonefro (principal ou tronco) são os locais de hematopoiese nesses peixes. O rim opistonefro também atua como órgão excretor. Portanto, o rim (principalmente o pronefro) é o principal local de maturação e diferenciação de hemácias, granulócitos, linfócitos, monócitos e, possivelmente, trombócitos, na maioria dos osteíctes. Os estágios típicos de maturação dos granulócitos foram identificados nos rins de osteíctes. O baço de peixes teleósteos é semelhante ao de elasmobrânquios, mas geralmente tem uma função hematopoiética secundária, exceto em algumas espécies nas quais é o único órgão hematopoiético (THRALL et al., 2007b).

A eritropoiese nos teleósteos é similar a de mamíferos, pois admite-se que os eritrócitos derivam de uma célula fonte e de acordo com o seu grau de maturação essas células são denominadas de eritroblastos basofílicos, eritroblastos policromatofílicos, eritroblastos acidofílicos, reticulócitos e eritrócitos maduros. Entende-se por célula madura aquela que se diferenciou, tendo atingido a

possibilidade de desempenhar as suas funções específicas (CAMARGO et al., 2005).

A avaliação hematológica de peixes não é rotineiramente utilizada no diagnóstico de doenças de peixes, mas pode ser útil na detecção de alterações dos componentes celulares do sangue. Algumas doenças de peixes causam anemias, leucopenia, leucocitose, trombocitopenia e outros distúrbios às células sanguíneas. O hemograma pode ser útil na avaliação da evolução da doença ou da resposta ao tratamento (THRALL et al., 2007b).

A intensificação do cultivo de peixe, que no Brasil apesar de estar sendo desenvolvido nos últimos anos tem uma taxa de crescimento de 30% por ano, representa um desafio para a saúde desses animais (RANZANI-PAIVA et al., 2005). Muitas doenças que acometem os peixes causam anormalidades no sangue e em seus constituintes (SATAKE et al., 2009). Os peixes são também afetados por alterações ambientais (DÖRUCU; GIRGIN, 2001) as quais podem afetar o seu crescimento e a sua sobrevivência (RANZANI-PAIVA et al., 2005), como o uso de compostos químicos, os quais podem ser potencialmente imunossupressores e estão sendo introduzidos na rotina de culturas aquáticas no intuito de combater ectoparasitas, insetos e ervas daninhas (NAYAK et al., 2004).

Sabe-se que doenças e produtos químicos provenientes de atividades agrícolas presentes na água causam alterações nas células sanguíneas dos peixes resultando em perdas na aquicultura (DÖRUCU; GIRGIN, 2001). Estes imunossupressores, em longo prazo, podem causar efeitos deletérios em muitos sistemas fisiológicos dos peixes, como também potentes efeitos sobre o ambiente aquático (NAYAK et al., 2004).

Alguns sinais físicos, tais como perda de apetite, alterações comportamentais, hemorragia, pigmentação abdominal e diminuição da motilidade podem ser indicadores de doenças nos animais (RANZANI-PAIVA et al., 2005).

De acordo com Stoskopf (1993 apud BARCELLOS et al., 2003), a hematologia e a avaliação bioquímica do soro podem ser úteis para o diagnóstico de

patologias de peixes e para monitorizar o estado de saúde. No entanto, estas técnicas têm sido mal usadas porque os valores normais e seus intervalos de confiança para as diferentes espécies ainda estão indefinidos.

Em muitos ecossistemas, animais e plantas são expostos a muitos poluentes simultaneamente, por isso a dificuldade na interpretação dos dados (BERNARDI et al., 2008). Segundo Saravana Bhavan e Geraldine (2000 apud PIMPÃO, 2006) a exposição de organismos aquáticos, mesmo em concentrações muito baixas de pesticidas, resulta em alterações bioquímicas, fisiológicas e histológicas em tecidos vitais.

Parâmetros hematológicos são cada vez mais usados como indicadores de estresses fisiológicos resultantes de alterações endógenas ou exógenas em peixes (LERMEN et al., 2004). Sendo assim, a avaliação dos parâmetros sanguíneos pode ser útil para monitorar o estado fisiológico dos peixes e para os diagnósticos de patologias de peixes (DÖRUCU; GIRGIN, 2001; BARCELLOS et al., 2003; BORGES, 2005; RANZANI-PAIVA et al., 2005) avaliando as condições de saúde destes animais (RANZANI-PAIVA et al., 2005).

Uma vez que uma substância química entra em um organismo, diversas respostas fisiológicas, hematológicas e bioquímicas ocorrem as quais podem se adaptar ou conduzir para a toxicidade (BEGUM, 2004; BORGES, 2005, 2007). As características bioquímicas estão entre os mais importantes parâmetros do meio interno dos peixes. As mudanças no perfil bioquímico refletem mudanças no metabolismo e em processos celulares do organismo, resultantes dos efeitos de vários poluentes, tornando possível estudar os mecanismos dos efeitos destas substâncias (BEGUM, 2004; BORGES, 2005).

Assim, a análise sanguínea pode revelar disfunções agudas ou crônicas, atribuíveis à nutrição, qualidade da água, presença de toxinas e doenças, entre outros fatores (BORGES, 2005). Em geral, na intoxicação aguda ocorre mortalidade em massa dos peixes (PIMPÃO, 2006). As alterações das atividades das enzimas lactato desidrogenase (LDH), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e

glutamato piruvato transaminase (GPT) têm sido usadas para demonstrar o dano tecidual em peixes (BORGES, 2005). No entanto, a poluição é um processo muitas vezes crônico, aparentemente sem danos visíveis, podendo causar vários efeitos subletais (PIMPÃO, 2006).

O organismo animal responde a estímulos por meio do sistema nervoso central e organiza a defesa biológica, Haschek e Rousseaux (1996 apud MATAQUEIRO, 2006) relataram que muitas vezes na tentativa de se defender do estresse provocado por um xenobiótico, a célula acaba se prejudicando, respondendo a injúria celular de modo reversível (reparação) ou letal. A morte celular ocorre por mecanismos de necrose ou apoptose. Na injúria aguda reversível, as células apresentam-se hipertrofiadas, com sinais de esteatose, podendo apresentar também alterações na permeabilidade da membrana. Alguns dos efeitos mais importantes são alterações nos componentes estruturais da membrana celular, tais como inibição de certas enzimas microssomais; interferência na biossíntese ou no metabolismo de proteínas, lipídios e carboidratos e alterações na integridade do DNA, resultando em mutações e interferência na regulação do crescimento da célula. O mecanismo da lesão inicial no nível molecular é conhecido em alguns casos (BERNARDI et al., 2008).

SANCHO et al. (2000 apud MATAQUEIRO, 2006) relataram que a presença de poluentes no ambiente em concentrações subletais pode ocasionar em peixes alterações nos parâmetros bioquímicos com o objetivo de manter a homeostase ou atuar nas funções sensoriais e inibição da atividade enzimática, alterando o padrão de comportamento dos animais.

Em carpa (*Labeo rohita*), exposições às concentrações subletais de cipermetrina produziram alterações bioquímicas, enzimáticas e nos parâmetros hematológicos (BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003).

Poluentes podem induzir várias respostas biológicas em peixes, afetando os organismos em níveis bioquímicos até níveis populacionais. Durante os últimos vinte anos, uma grande massa de dados de biomonitorização tem sido acumulada a fim

de avaliar se as respostas do nível mais baixo poderiam ser utilizadas como indicadores para determinar o efeito tóxico dos xenobióticos (MAYON et al., 2006).

Ainda existem poucas ferramentas disponíveis a pesquisadores e produtores de peixes para avaliar as doenças. Muitas das técnicas usadas para o uso clínico em mamíferos não foram desenvolvidas para serem usadas em peixes (BORGES, 2005). Mesmo assim, alguns métodos rotineiros para exames hematológicos na determinação de valores sanguíneos em mamíferos têm sido utilizados com sucesso para peixes (TAVARES-DIAS et al., 2002a).

Porém, alguns parâmetros adotados em mamíferos não são adequados quando empregados em peixes. Um exemplo disto é a contagem diferencial de neutrófilos imaturos (mielócitos, metamielócitos e neutrófilos bastonetes), que não apresenta valor prognóstico em peixes. Pois, a observação de células jovens na corrente circulatória de peixes, quando em baixa intensidade, não está relacionada a alterações patológicas (SATAKE et al., 2009).

Apesar de alguns métodos para exames hematológicos em mamíferos serem usados para peixes, uma exceção se refere à contagem total de leucócitos. O primeiro método para contagem total de leucócitos e eritrócitos nucleados foi proposto por Warthin em 1907, para pássaros. Mais tarde, diferentes métodos foram recomendados para a contagem total de leucócitos em peixes com o uso de hemocítômetro. No entanto, o método de Shaw (1930) desenvolvido para sangue de aves, foi amplamente usado por pesquisadores. Outro método de sucesso usado para contagem total de leucócitos em aves foi o proposto por Natt e Herrick (1952), o qual tem sido testado em diferentes teleósteos, também usado para eritrócitos nucleados e trombócitos. Em 1973, Blaxhall e Daisley adaptaram o método para contagem total de leucócitos em peixes. Métodos diretos para quantificar os leucócitos totais em peixes geralmente usam diluentes com substâncias que mancham as células, permitindo sua contagem no hemocítômetro (TAVARES-DIAS et al., 2002a).

A técnica de colheita de sangue atua como fonte de variação de resultados no eritrograma, principalmente no hematócrito e na concentração de hemoglobina e no leucograma tais diferenças referem-se ao tipo e uso de anticoagulantes, o uso ou não de anestésicos, a forma de obtenção de sangue, o tempo decorrido entre a colheita sanguínea e as análises e outros fatores. Portanto, quando se pretende determinar valores hematológicos basais todos esses fatores devem ser levados em consideração e padronizados (PIMPÃO, 2006).

Emersão e manuseio do peixe para venipunção ou cardiocentese podem influenciar significativamente o hemograma, aumentando o hematócrito em até 25%. A magnitude desse efeito está diretamente relacionada ao manuseio e ao tempo de análise. O manuseio de peixes por período muito curto (20s) resulta na liberação de catecolaminas, que tende a provocar hemoconcentração e tumefação das hemácias. Portanto existe aumento do valor do hematócrito, mas a concentração de hemoglobina permanece inalterada, acarretando menor concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (THRALL et al., 2007b).

A amostra de sangue de peixes pode ser coletada da veia ou da artéria vertebral caudal. A venipunção desses vasos pode ser com ou sem sedação ou anestesia. O acesso aos vasos pode ser ventral ou lateral (THRALL et al., 2007b).

O sangue destinado aos exames hematológicos deve ser coletado em frascos com heparina ou com ácido etilenodiamino tetracético (EDTA), como anticoagulantes. Dentre as desvantagens do uso da heparina estão a tendência à agregação de leucócitos e trombócitos e a cor azul da extensão sanguínea corada com corantes do tipo Romanowsky. Caso a amostra de sangue contenha pequeno coágulo, a heparina não evita a progressão da coagulação (quando iniciada). Dentre as desvantagens do EDTA está a hemólise em amostras de algumas espécies de peixes. Também pode ocorrer hemólise quando se induz anestesia ou sedação com triclaína, mas a manutenção da amostra de sangue a 25°C e a preparação imediata da extensão sanguínea pode minimizá-la (THRALL et al., 2007b).

No peixe de água doce tambaqui (*Colossoma macropomum*) o hematócrito e a concentração de hemoglobina do sangue heparinizado são maiores se comparados ao sangue colhido com ácido etilenodiamino tetracético (EDTA 10%), para um mesmo animal (PIMPÃO, 2006).

A contagem total de hemácias de peixes pode ser obtida por técnicas de contagem manual, como hemocitômetro ou por contador eletrônico de células. Há três métodos de contagem manual para contagem total de hemácias de sangue de peixes: sistema Unopette para hemácias, método Natt-Herrick e método de Dacie modificado (THRALL et al., 2007b).

É possível calcular os índices de hemácias (volume corpuscular médio) [VCM], concentrações de hemoglobina corpuscular média [CHCM] e hemoglobina celular média [HCM] aplicando-se fórmulas específicas. Entretanto, a determinação eletrônica direta do VCM parece ser mais sensível e confiável na detecção de anormalidades no tamanho das hemácias de peixe que o cálculo do VCM pela fórmula (THRALL et al., 2007b).

Um método direto para contagem total de leucócitos envolve a preparação de uma diluição 1:200 com solução Natt-Herrick, ou a adição de 20 µL de sangue em 4 ml da solução Natt-Herrick. A vantagem desse método é o fato de também se obter a contagem de hemácias e de trombócitos utilizando o mesmo hemocitômetro preenchido com a amostra. Uma desvantagem é a dificuldade na diferenciação entre trombócitos e pequenos linfócitos. Embora sejam empregados vários métodos para determinar a concentração de hemoglobina no sangue de peixes, o método da cianometemoglobina oferece resultados mais confiáveis. Assim como ocorre na dosagem de hemoglobina de aves e reptéis, esse exame requer a centrifugação da mistura de sangue com cianometemoglobina para remover os núcleos de hemácias livres antes da leitura da densidade óptica (THRALL et al., 2007a).

6.1 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

Segundo Tavares-Dias et al. (2002b), jundiá (*Rhamdia quelen*) jovens estudados em suas pesquisas apresentaram valores de eritrócitos superiores do que jundiás adultos de ambos os sexos, assim como para o bagre americano e africano.

Peixe com anemia regenerativa costuma apresentar maior quantidade de hemácias imaturas e hemácias policromáticas na extensão sanguínea. Peixes anêmicos com discreto ou nenhum grau de policromasia tem anemia não regenerativa. Anemia normocítica e normocrômica é associada a estresse ambiental e a aumento da densidade populacional. Anemia microcítica hipocrômica com intenso grau de policitose (eritrócitos anormais) foi relatada em trutas (*Salmo gairdneri*) cuja dieta contendo levedura provocou lesão eritrocitária oxidativa. Anemia associada à presença de hemácias com núcleos picnóticos, eritroplástídeos (hemácias sem núcleos) e fragmentação de hemácias foi associada a condições que interferem na remoção esplênica de hemácias senescentes da circulação periférica. Núcleos de hemácias anormais (amitose, segmentação e fragmentação), bem como formação de eritroplástídeos, podem estar relacionados a distúrbios nutricionais, como deficiência de ácido fólico ou de vitamina E e à intoxicação por óleos rançosos e poluentes ambientais (THRALL et al., 2007b).

Em peixes, a anemia hemolítica é causada por toxinas (bacterianas ou ambientais), infecções virais, algumas deficiências nutricionais e hemoparasitas. A intoxicação de peixes por nitrito resulta em grave anemia hemolítica (THRALL et al., 2007b).

Anisocitose e policromasia discretas a moderadas são normais em várias espécies de peixes (THRALL et al., 2007b).

Como há eritropoiese no sangue periférico de peixe normal, hemácias imaturas podem ser vistas em extensões sanguíneas. (THRALL et al., 2007b).

Como os peixes têm hemácias e trombócitos nucleados, são utilizados métodos de contagem manual (THRALL et al., 2007b). Tem-se usado método de

contagem direta de eritrócitos e leucócitos em câmara ou hemocitômetro de Neubauer (BORGES, 2005) e várias soluções para diluição e coloração. Geralmente, se emprega o método Natt-Herrick. Os leucócitos têm aparência azul e sua cor é mais escura do que a de hemácias coradas pela técnica de Natt-Herrick. Pode ser difícil a diferenciação entre pequenos linfócitos maduros e trombócitos quando a contagem for feita em objetiva de 10x; as células são identificadas com maior segurança em aumentos maiores. A coloração em solução de Natt-Herrick durante 60 minutos também pode facilitar a diferenciação entre linfócitos pequenos e trombócitos. A vantagem desse método é a possibilidade de obtenção da contagem de hemácias, leucócitos e trombócitos em um mesmo hemocitômetro. Além disso, a técnica pode ser aplicada às amostras de sangue obtidas de qualquer vertebrado inferior (THRALL et al., 2007b).

O sangue dos peixes teleósteos é formado por eritrócitos, leucócitos e trombócitos, sendo que a produção estimada de células sanguíneas em um peixe de 120g está na ordem de 10^{12} células. As espécies mais ativas apresentam maior número de eritrócitos, maior concentração de hemoglobina, mas menor volume. Nesses peixes é alta a demanda de oxigênio e o metabolismo (BORGES, 2005).

Em geral, o hematócrito ou volume globular (VG) de peixes é menor que o de mamíferos e aves. Há variação no valor do hematócrito entre as espécies, bem como numa mesma espécie. Esse parece ser um comportamento normal dos peixes; em peixes menos ativos, o valor do hematócrito é menor que em peixes ativos que nadam rápido. Nota-se ainda variação do hematócrito durante o ciclo biológico dos peixes, por exemplo, durante a fase pré-desova, o hematócrito de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) é maior comparado com seu valor durante o período de desova. Idade, sexo, temperatura da água, fotoperíodo e variação sazonal também podem influenciar o VG. Na verdade, a variação no valor do VG de algumas espécies de peixes machos é tão ampla que são necessários dois intervalos de referência (THRALL et al., 2007b).

Em geral, peixes com VG superior a 45% são considerados desidratados, principalmente quando há, ao mesmo tempo, aumento da osmolalidade ou do teor de proteína total no soro sanguíneo. Peixe anêmico tem VG baixo (<20%); no entanto, em algumas espécies, como tubarão Port Jackson (*Heterodontus portusjacksoni*), o VG normal pode ser de 20%, valor considerado baixo (THRALL et al., 2007b).

O hematócrito também acompanha o aspecto evolutivo do peixe. Menores valores ocorrem em peixes mais primitivos na escala evolutiva, nos de ambiente lântico, nos sedentários e nos bentônicos. Já os maiores valores ocorrem em espécies marinhas ativas (BORGES, 2005).

A determinação do hematócrito é o procedimento mais utilizado para avaliar a massa eritrocitária de peixes. O método do microhematócrito é usado para obtenção do hematócrito de peixes (THRALL et al., 2007b).

6.1.1 Leucograma

Com a potencialidade econômica da piscicultura existe a clara necessidade de se entender os leucócitos de peixes para o conhecimento básico, estudos fisiológicos e filogenéticos e aplicação em diagnóstico (DAMATTA et al., 2009).

A primeira observação sobre inflamação em peixes foi realizada por Mesnill (1895) que relatou a fagocitose de *Bacillus anthracis* por leucócitos mononucleares peritoneal de peixes (MARTINS et al., 2006; BOZZO et al., 2007).

Em seguida, Metchnikoff (1905), estudou a fagocitose através da injeção de eritrócitos de porquinho da índia na cavidade visceral de kinguio (*Carassius auratus*) (MARTINS et al., 2006).

Muitos autores tentaram caracterizar as células encontradas em sítios inflamatórios induzidos por várias substâncias irritantes em diversas espécies de peixes e em diferentes períodos de observação. A injeção intraperitoneal de querosene em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) induziu acumulação de

neutrófilos e em *Yersina ruckeri* provocou acúmulo de linfócitos (57%) e polimorfonucleares (43%). Infiltração de linfócitos e macrófagos foi observada no goldfish (*Carassius auratus*), após uma injeção intramuscular de sílica (2%). Enquanto que a injeção de parafina na cavidade peritoneal de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) induziu a infiltração apenas de neutrófilos. A injeção de carragenina dentro da bexiga natatória de tilápia do Nilo e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) induziu a uma acumulação predominantemente de trombócitos, uma menor quantidade de macrófagos e menor quantidade ainda de granulócitos (BOZZO et al., 2007).

A caracterização de células que participam no processo inflamatório em peixes é complexa. Diferentes observações ou resultados podem ocorrer devido a muitas variáveis, começando pela espécie de peixe utilizada como também a dificuldade em distinguir os diferentes tipos de células observadas (BOZZO et al., 2007).

O fator mais importante nas análises hematológicas em diferentes espécies de peixes é identificar as variações em tipos, números e aparências dos leucócitos. A variação considerável nos relatos dos valores de leucócitos de peixes saudáveis, mesmo dentro de uma espécie, é também particularmente causada pelas diferenças na metodologia usada como também na interpretação dos tipos de células pelo analisador (PIMPÃO et al., 2007).

Até o presente momento, conhece-se muito pouco sobre a origem e o desenvolvimento de leucócitos em teleósteos. Outras dificuldades somam-se a heterogeneidade dos leucócitos, como sugerem estudos morfológicos e citoquímicos e ainda dificuldades em se identificar cada tipo de granulócito somente por coloração de rotina (PIMPÃO, 2006).

Apesar da primeira observação do núcleo da célula ter sido feita no sangue de peixe, devido ao grande número de espécies de teleósteos, relativamente pouco se sabe sobre a classificação e morfologia dos leucócitos de peixes. As células sanguíneas de peixes não possuem ainda uma classificação universal definida,

apesar de existirem estudos que tentam sistematizar essa classificação. Além disso, a coloração de leucócitos após uso de corantes tradicionais não gera necessariamente células com morfologia idêntica as já descritas em outras espécies (DAMATTA et al., 2009).

Existem dificuldades na padronização da nomenclatura, contagem e métodos para classificar os leucócitos. Constatou-se que a padronização de terminologia é urgente, visto que há grande divergência, principalmente para granulócitos. Essa situação dificulta a comparação de resultados entre diferentes autores para a mesma espécie. Soma-se a esse problema a diversidade de técnicas para a quantificação e identificação dos leucócitos. Técnicas, em geral, utilizam a contagem dos leucócitos em extensões sanguíneas coradas. Natt e Herrick (1952) consideram os métodos indiretos imprecisos, pois para sua exatidão seria necessário que as células sanguíneas estivessem igualmente distribuídas na extensão sanguínea. Entretanto, os leucócitos polimorfonucleares tendem a concentrar-se ao longo da extensão sanguínea (BORGES, 2005).

As características dos leucócitos (principalmente dos granulócitos) são muito variáveis entre as espécies de peixe, causando controvérsia e confusão. A nomenclatura e a classificação dos leucócitos de peixes se baseiam naquelas empregadas para aves e mamíferos, a partir de esfregaços sanguíneos corados com corantes do tipo Romanowsky. Em algumas espécies, o exame ultra-estrutural das células, a coloração citoquímica diferencial, a imunofluorescência e os testes de funcionalidade de leucócitos de peixes têm auxiliado no esclarecimento de parte dessas controvérsias (THRALL et al., 2007b).

Estudos ultra-estruturais e citoquímicos permitem a identificação de heterófilos, basófilos, linfócitos e monócitos de sangue periférico do catfish sustentando o uso da terminologia empregada em mamíferos na classificação dos leucócitos. Em geral, no esfregaço de sangue periférico de peixes da classe *Osteichthyes* (osteíctes ou teleósteos), relatam-se neutrófilos ou heterófilos, linfócitos e monócitos. Emprega-se a coloração com mieloperoxidase para a

diferenciação entre neutrófilos e heterófilos verdadeiros, pois os neutrófilos se coram positivamente, enquanto os heterófilos se mostram negativos a essa técnica de coloração (THRALL et al., 2007b).

É geralmente aceito que os leucócitos de sangue periférico de peixes mostram características morfológicas distintas às de aves e mamíferos, e compreendem trombócitos, linfócitos, granulócitos e monócitos. As diferenças mais notáveis nos peixes se relacionam com trombócitos, que são nucleados e muito maiores do que suas contrapartes de mamíferos e de granulócitos, que variam na aparência de seus grânulos, a sua proporção do total de leucócitos e a nomenclatura utilizada para descrevê-los. A função dos leucócitos de peixes, e não simplesmente a sua morfologia, precisa ser estabelecida antes da terminologia de mamíferos poder ser empregada. Portanto, diferentes autores têm utilizado uma variedade de testes citoquímicos para demonstrar substâncias específicas e as enzimas dentro da estrutura celular de leucócitos dos peixes ou marcadores específicos de membrana na superfície celular. A maioria desses estudos se concentra em determinadas espécies e/ou tipos de células específicas. (BURROWS et al., 2001).

Caracterizar os tipos de leucócitos de espécies de peixes é de suma importância para o entendimento básico dessas células. Essa informação é crucial para compreender o sistema imunológico e desenvolver tecnologias de diagnóstico (DAMATTA et al., 2009).

Os leucócitos são as células responsáveis pela defesa humoral e celular do organismo dos peixes, os quais utilizam a via sanguínea para realizar o monitoramento de possíveis infecções e danos teciduais. São compostos por diferentes linhagens celulares, as quais podem ser diferenciadas morfológicamente pela presença ou ausência de granulação, assim como pelas suas características morfológicas, tintoriais e citoquímicas (SATAKE et al., 2009).

Dos leucócitos observados, linfócitos, trombócitos e monócitos são os mais fáceis de classificar, baseado na morfologia após coloração com os corantes clássicos. No entanto, vale lembrar que linfócitos e monócitos são tipos celulares

que quando observados por microscopia óptica em extensões coradas podem ser confundidos, principalmente quando se tenta diferenciar monócitos pequenos de linfócitos grandes. Neste sentido, um estudo básico usando a microscopia eletrônica de transmissão e a cultura de células é importante para ajudar na classificação dessas células. É fácil discriminar linfócitos de monócitos na análise ultra-estrutural. Essa caracterização deve ser realizada para determinar com precisão esses tipos celulares (DAMATTA et al., 2009).

Em peixes teleósteos é comum a ocorrência de leucócitos em diferentes fases de maturação no sangue periférico. Esta característica dificulta a diferenciação destas células durante a contagem relativa, bem como na identificação das alterações morfológicas em peixes mórbidos. Entre as características utilizadas pelo patologista clínico para avaliar o estágio de maturação dos leucócitos estão o tamanho da célula, o aspecto da cromatina nuclear, a característica dos grânulos e a coloração citoplasmática (SATAKE et al., 2009).

Entre os leucócitos, os linfócitos ocorrem em maior percentual na circulação dos peixes (BORGES, 2005), geralmente, representam o tipo leucocitário mais abundante em esfregaço de sangue periférico também correspondendo a mais de 60% da contagem diferencial de leucócitos (THRALL et al., 2007b). Durante a contagem diferencial dos leucócitos é comum a observação de linfócitos com tamanhos distintos (BORGES, 2005).

Os linfócitos desempenham importante função na imunidade celular e humoral de peixes. Portanto, linfocitose indica estimulação imunogênica, enquanto linfopenia sugere condições imunossupressoras, como estresse ou excesso de glicocorticosteróides exógenos. Septicemia bacteriana, comum em peixes, resulta em leucopenia e linfopenia intensa, como ocorre nos tubarões (THRALL et al., 2007b).

O aumento na contagem de granulócitos indica resposta inflamatória (THRALL et al., 2007b). Apesar dos linfócitos de peixes participarem de processos

inflamatórios, a função dessas células nesses animais não está bem esclarecida e o estudo da sua composição química poderá auxiliar (PIMPÃO, 2006).

Neutrófilos de peixes que apresentam grânulos citoplasmáticos arredondados distintos em esfregaços sanguíneos corados com Romanowsky frequentemente são descritos na literatura como heterófilos (THRALL et al., 2007b).

Neutrófilos e heterófilos de peixes também participam de respostas inflamatórias, principalmente aquelas que envolvem microorganismos infecciosos. Nem sempre são fagocíticos e pouco se sabe a respeito de tal função, inclusive dos mecanismos de morte intracelular e digestão dos microorganismos fagocitados. Como as funções dos granulócitos de peixe não são conhecidas, é apropriado considerá-las como semelhantes às daquelas dos granulócitos de vertebrados superiores. Portanto, pode ser difícil interpretar alterações além daquelas detectadas na contagem de granulócitos do sangue periférico. Contudo, pode-se fazer ampla generalização até que os resultados de estudos adicionais indiquem as funções específicas e as respostas dessas células frente às enfermidades. Muitas vezes, neutrofilia ou heterofilia relativa está associada à linfopenia, sugerindo uma resposta de estresse em peixes (THRALL et al., 2007b).

Neutrofilia é a resposta mais comum às infecções em peixes. Os neutrófilos de truta arco-íris (*O. mykiss*) são os leucócitos de maior atividade migratória a exemplo do que ocorre em mamíferos. Os neutrófilos podem aderir às células endoteliais e migrar para o foco inflamatório atraídos por quimiotaxinas (PIMPÃO, 2006).

A ocorrência de alterações tóxicas em neutrófilos pode estar relacionada à liberação de neutrófilos imaturos para a circulação, isso ocorre quando estas células são produzidas de forma acelerada pelos órgãos leucopoiéticos atuando como parte da resposta inflamatória à infecção instalada. Segundo Smith (2000 apud SATAKE et al., 2009), as alterações tóxicas visualizadas em neutrófilos são em sua maioria observadas no citoplasma. Entre estas alterações estão incluídas a basofilia e

vacuolização citoplasmáticas, granulação tóxica, presença de corpúsculos de Döhle e neutrófilos gigantes (SATAKE et al., 2009).

Há pequena quantidade de monócitos (<5%, na contagem diferencial de leucócitos) no sangue periférico de peixes normais. Ocasionalmente eles podem ser detectados em esfregaços sanguíneos. Portanto, monocitose em peixes sugere resposta inflamatória, provavelmente associada a microorganismo infeccioso (THRALL et al., 2007b).

Os monócitos de peixes são células fagocíticas ativas que participam das respostas inflamatórias agudas. São semelhantes aos monócitos de aves e mamíferos (THRALL et al., 2007b).

Resultados de exames ultra-estruturais indicam que os monócitos de todas as espécies de peixe são semelhantes aos de outros vertebrados. O termo monócito/macrófago é muito utilizado para classificar os monócitos de peixes, porque essas células são semelhantes às formas de transição de monócito para macrófago, observados em esfregaços de sangue periférico. Entretanto, o termo monócito é reservado às células no sangue periférico e o termo macrófago se refere às células encontradas fora da corrente sanguínea. Os monócitos de peixes podem ser diferenciados de granulócitos e de linfócitos imaturos pela reação esterase positiva inespecífica apresentada pelos monócitos (THRALL et al., 2007b).

Os macrófagos possuem morfologia variável e são mais ativos que os monócitos dos quais derivam. Assim, em alguns tecidos de mamíferos os macrófagos estimulados adquirem o aspecto de células gigantes policariontes (PIMPÃO, 2006).

A contagem total de trombócitos pode ser obtida no mesmo hemocitômetro utilizado para contagem de hemácias ou leucócitos (método de Natt-Herrick). No hemocitômetro, os trombócitos são parecidos com as hemácias, mas muito menores, arredondados a ovais, com proporção núcleo citoplasma maior que a das hemácias. Todos os quadrados do grande quadrado central da câmara de Neubauer, em ambos os lados, são contados. Calcula-se o número médio de

trombócitos em um quadrado grande do hemocitômetro, multiplicado por 2.000 para se obter a contagem total de trombócitos por microlitro. Entretanto, como os trombócitos tendem a se agregar, podem ser difíceis contagens confiáveis (THRALL et al., 2007b).

Segundo Tavares-dias et al. (2002b), trombócitos e linfócitos foram as células de defesa orgânica mais frequentes nas extensões sanguíneas e apresentam correlação negativa entre si.

Os trombócitos de peixes também possuem fundamental importância na defesa orgânica e na homeostasia. Estas células podem desempenhar função fagocítica, além da sua habilidade de migrar para o foco inflamatório (SATAKE et al., 2009).

Os eosinófilos, geralmente, estão ausentes no sangue periférico dos peixes (BORGES, 2005; THRALL et al., 2007b). Esses granulócitos não foram observados no sangue circulante de truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*), na circulação e em órgãos hematopoiéticos de solha (*Pleuronectes platessa*). (BORGES, 2005). Há relato de eosinófilos em goldfish, esturjão branco e catfish (THRALL et al., 2007b).

Raramente há relatos de eosinófilos em esfregaço sanguíneo de osteíctes, eles aparecem com baixa frequência (BORGES, 2005; THRALL et al., 2007b), representando 0 a 3%, na contagem diferencial de leucócitos no sangue periférico de peixes normais. Alguns pesquisadores duvidam de sua existência em algumas espécies de peixe (THRALL et al., 2007b).

Os eosinófilos de peixes participam da resposta inflamatória juntamente com neutrófilos (heterófilos) e macrófagos e parecem ter capacidade fagocítica limitada. Em peixes, os eosinófilos aparentemente estão implicados no controle de infecções por metazoários. Além disso, eles participam de respostas imunes à estimulação antigênica. Portanto, o aumento da população de eosinófilos no sangue periférico de peixe sugere uma resposta inflamatória associada à infecção parasitária ou estimulação antigênica (THRALL et al., 2007b).

Basófilos são raros no sangue periférico de osteíctes. Foram relatados apenas em algumas espécies (THRALL et al., 2007b).

Martins et al. (2004) e Velisek et al. (2007) ao expor tilápia (*Oreochromis niloticus*) e truta arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*), respectivamente, a estímulos únicos e consecutivos de estresse e deltametrina puderam observar um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de hematócrito dos peixes que sofreram estresse em comparação com o grupo controle. Já Borges (2007) ao expor jundiá (*Rhamdia quelen*) à cipermetrina e Velisek et al. (2007) observaram um aumento nos níveis da hemoglobina dos animais intoxicados em relação ao grupo controle.

Tavares-Dias et al. (2001), Das e Mukherjee (2003) e Martins et al. (2004) ao intoxicarem diferentes espécies de peixes com diferentes pesticidas, notaram um aumento significativo na contagem total de leucócitos, enquanto que Dörücü e Girgin (2001) e Velisek et al. (2006) encontraram uma diminuição dos valores de leucócitos em relação ao grupo controle.

6.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

O exame do perfil bioquímico sanguíneo não faz parte da avaliação clínica de rotina de peixes. Os testes de rotina empregados para avaliação do perfil bioquímico sanguíneo de mamíferos parecem úteis ao estudo hematológico de peixes, todavia, a interpretação dos resultados torna-se difícil (GALEB, 2010).

Atualmente, pouca informação a respeito da avaliação laboratorial da função hepática de peixes está disponível. A atividade plasmática das enzimas hepáticas, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) podem se elevar em doença hepatocelular grave em algumas espécies de peixe (GALEB, 2010).

O fígado é o órgão de maior importância no metabolismo de drogas, uma vez que as células do parênquima hepático especializaram-se, ao longo da evolução, na remoção das substâncias recém absorvidas da corrente sanguínea, para

biotransformá-las e, posteriormente, lançar os produtos de biotransformação na circulação e consequentemente eliminá-las do organismo (RODRIGUES, 2003; FLORIO; SOUZA, 2006).

As funções do fígado em vários processos incluem participação no metabolismo de carboidratos, de lipídeos e de proteínas, na desintoxicação e excreção de catabólitos e de outras substâncias e na síntese de vários fatores de coagulação. Devido à importante função do fígado nesses e em outros processos, suas alterações patológicas podem ocasionar várias mudanças nos resultados de testes bioquímicos do soro sanguíneo (GALEB, 2010).

Como doença hepática (hepatócitos lesionados e/ou colestase) inclui-se hipóxia, doenças metabólicas, intoxicação, inflamação, neoplasia, traumatismo mecânico e obstrução de ducto biliar extra ou intrahepática. É identificada pela incapacidade de remover do sangue as substâncias comumente excretadas pelo fígado. O fígado tem grande capacidade de reserva e deve ocorrer perda de 70 a 80% da massa hepática funcional antes que se instale insuficiência hepática (GALEB, 2010).

6.2.1 Alanina Aminotransferase (ALT)

A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima de extravasamento que está livre no citoplasma. A maior concentração de ALT está nos hepatócitos. Qualquer enfermidade que cause lesão de hepatócitos, desde lesão da membrana até necrose, pode determinar aumento da atividade sérica de ALT. Hipóxia, alterações metabólicas, toxinas bacterianas, inflamação, neoplasia hepática, medicamentos e substâncias químicas tóxicas podem causar lesão de hepatócitos e, consequentemente, extravasamento de ALT, aumentando o nível destas na circulação sanguínea. Em lesão aguda, é provável que a atividade sérica de ALT seja proporcional à quantidade de células lesadas, porém, a magnitude da atividade de ALT não indica a causa ou o tipo da lesão de hepatócitos (por exemplo: lesão

subletal, necrose). A atividade sérica de ALT aumenta aproximadamente 12 horas após a lesão hepática e também pode aumentar durante a fase de recuperação da lesão hepática, quando há regeneração ativa de hepatócitos (THRALL et al., 2007).

6.2.2 Aspartato Aminotransferase (AST)

Presente em maior concentração nos hepatócitos e nas células musculares esqueléticas e cardíacas de todas as espécies. A AST não é uma enzima hepatoespecífica. É uma enzima de extravasamento, parte dela é observada livre no citoplasma dos hepatócitos e sua maior concentração está nas membranas das mitocôndrias. O aumento da atividade sérica de AST pode ser causado por necrose e lesão subletal de hepatócitos e de células musculares (GALEB, 2010).

6.2.3 Fosfatase Alcalina (FA)

Fosfatase alcalina é uma enzima de indução sintetizada no fígado, nos osteoblastos, nos epitélios intestinal e renal. Porém, os hepatócitos respondem pela maior parte da atividade sérica normal de FA. O aumento de FA em concentrações séricas pode ocorrer em casos de maior atividade osteoblástica, colestase, indução por drogas e várias doenças crônicas. O aumento de pressão no lúmen de ductos biliares induz o aumento na produção de FA pelos hepatócitos e, possivelmente, pelas células epiteliais desse ducto. Além disso, o sequestro de bile no sistema biliar causa solubilização de moléculas de FA aderidas à membrana celular e, em seguida, aumento da liberação dessas moléculas no sangue (THRALL et al., 2007). A redução nos níveis de FA pode estar relacionada com a destruição da membrana celular dos hepatócitos demonstrando insulto tóxico (GALEB, 2010).

6.2.4 Gama Glutamiltransferase (GGT)

Lesão hepática aguda pode provocar aumento imediato da atividade sérica de GGT, possivelmente devido à liberação de fragmentos de membrana que contêm

GGT. Ela é considerada uma enzima de indução e é sintetizada por quase todos os tecidos corporais, com maior concentração no pâncreas e nos rins. Além disso, está presente em baixa concentração nos hepatócitos, no epitélio de ductos biliares e na mucosa intestinal. A maior parte da GGT sérica é oriunda do fígado (THRALL et al., 2007; GALEB, 2010).

6.2.5 Albumina

Geralmente, não se observa hipoalbuminemia até que ocorra perda de 60 a 80% da função hepática. No entanto, parece haver algumas diferenças entre as espécies em relação à ocorrência de hipoalbuminemia em doença hepática (THRALL et al., 2007, GALEB, 2010).

Nayak et al., (2004) relataram uma redução nos valores de albumina e globulina em carpa (*Labeo rohita*) após intoxicação com permetrina (piretróide). Em contra partida, Velisek et al., (2007) relataram um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de albumina de truta arco-iris após exposição à deltametrina. Velisek et al., (2006) também observaram este aumento ao expor truta arco-iris em cipermetrina em concentração de 3,14 µg/L. Galeb (2010) não observou alteração significativa nos valores de albumina entre os grupos de jundiás expostos à deltametrina e o grupo controle.

Borges (2007), Velisek et al. (2007) e Galeb (2010) ao intoxicarem jundiá com cipermetrina e truta arco-iris e jundiá com deltametrina, observaram uma diminuição nos valores de ALT dos grupos intoxicados em comparação com o grupo controle, enquanto que David et al. (2004) e Begum (2005) relataram uma diminuição nos valores de ALT.

David (2004) testou a cipermetrina em carpa (*Cyprinus carpio*), Begum (2005) a cipermetrina em bagre (*Clarias batrachus*), Borges (2007) e Velisek et al. (2007), relataram um aumento significativo da AST nos grupos intoxicados em relação ao

grupo controle. Em contra partida, Galeb (2010) relatou uma diminuição nos valores de AST.

Das e Mukherjee (2003), Velisek et al. (2006) e Galeb (2010) ao intoxicarem carpa (*Labeo rohita*) com cipermetrina, truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) com cipermetrina e jundiá (*Rhamdia quelen*) com deltametrina, relataram uma diminuição nos valores de fosfatase alcalina (FA) nos animais intoxicados em relação ao grupo controle, enquanto que Borges (2007) e Saha e Kaviraj (2009), estes quando testaram a cipermetrina em catfish (*Heteropneustes fossilis*), relataram um aumento nos valores de FA em relação ao grupo controle.

7 JUNDIÁ

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe teleósteo (BORGES, 2005). Recentemente, Silfvergrip (1996) realizou uma ampla revisão taxonômica do gênero, baseado em caracteres da morfologia interna e concluiu que o gênero *Rhamdia* é formado de apenas 11 espécies dentre 100 anteriormente descritas (GOMES et al., 2000). *Rhamdia quelen* pertence à seguinte divisão taxonômica: Classe: *Osteichthyes*, Série: *Teleostei*, Ordem: *Siluriformes*, Família: *Heptapteridae*, Subfamília *Heptarinae*, Gênero: *Rhamdia*, Espécie: *quelen* (GOMES et al., 2000; BORGES, 2005, 2007; PAMPLONA, 2009).

Além de ser formado por 11 espécies, o gênero *Rhamdia* apresenta 49 sinonímias (GOMES et al., 2000; TAVARES-DIAS et al., 2002b) e ainda 10 nomes populares como: jundiá, jundiá-tinga, jandiá, jandiá-tinga, mandi, bagre, entre outros (GOMES et al., 2000).

Facilmente encontrado na América do Sul e Central, ao leste dos Andes e entre a Venezuela (BARCELLOS et al., 2003, GOMIERO et al., 2007) e desde o centro da Argentina até o sul do México, cujo cultivo está aumentando no sul do Brasil (GOMES et al., 2000; TAVARES-DIAS et al., 2002b; PAMPLONA, 2009). Tem distribuição neotropical (GOMES et al., 2000; PAMPLONA, 2009), muito encontrado em rios do interior do Rio Grande do Sul (BORGES, 2005).

Por ser uma espécie nativa da América do Sul, resiste bem ao frio do inverno e cresce rapidamente no verão (BARCELLOS et al., 2003; BORGES, 2005), sendo assim, uma espécie aceitável para sistemas de produção em regiões da parte sul da América do Sul devido a fácil adaptação ao clima temperado e subtropical (BORGES, 2005).

A coloração do jundiá varia de marrom-avermelhado claro a cinza ardósia (GOMES et al., 2000) podendo ser desde o cinza-esverdeado escuro no dorso até a coloração esbranquiçada no ventre (BORGES, 2005). A pigmentação da parte inferior da cabeça é variável. Os barbilhões têm crescimento alométrico negativo e

esta relação é provavelmente aumentada devido à grande possibilidade de dano dos barbilhões em exemplares grandes (GOMES et al., 2000). O corpo do jundiá é revestido por couro, apresentando uma longa nadadeira adiposa. Estes animais possuem a estrutura bucal de tamanho grande, sem dentes e com três pares de barbilhões sensitivos do lado externo (BORGES, 2005).

É considerada uma espécie euritérmica (GOMES et al., 2000; BORGES, 2005; PAMPLONA, 2009), resistindo a grandes oscilações de temperatura, embora o ideal térmico situe-se entre 22-28°C. Suporta níveis baixos de oxigênio na água (BORGES, 2005). Os alevinos aclimatados suportam temperaturas de 15 a 34 °C. A aclimação a temperaturas mais baixas proporcionam uma maior tolerância à redução de temperatura, mas o limite superior de tolerância praticamente não se altera (GOMES et al., 2000).

Os adultos da espécie são onívoros no ambiente natural (GOMES et al., 2000; GOMIERO et al., 2007; PAMPLONA, 2009) sendo um bagre bentônico especulador de substrato (GOMIERO et al., 2007), alimenta-se de insetos terrestres e aquáticos, crustáceos, restos vegetais, detritos orgânicos além de peixes como os lambaris e os guarús (GOMES et al., 2000; GOMIERO et al., 2007; PAMPLONA, 2009). São generalistas no que diz respeito à escolha do alimento. Essa característica contribui para sua adaptação ao alimento artificial, e assim, para sua domesticação (PAMPLONA, 2009). O hábito alimentar dos alevinos é onívoro com tendência a piscívoro (BORGES, 2005). Fígado bovino cru e pó de levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentam-se como alimentos viáveis para serem usados durante a primeira fase larval de *R. quelen*. (GOMES et al., 2000; BORGES, 2005) além de lecitina de soja (BORGES, 2005).

Vivem em lagos e rios (GOMES et al., 2000; GOMIERO et al., 2007; PARRA et al., 2008; PAMPLONA, 2009) e preferem ambientes mais calmos e profundos dos rios com seixos grandes, com troncos submersos, com fundo de areia e lama (GOMES et al., 2007; PAMPLONA, 2009) junto às margens e vegetação. Escondem-

se entre pedras, de onde saem à procura de alimento (GOMES et al., 2000). Este bagre tem hábitos noturnos (GOMIERO et al., 2009).

Alevinos de *R. quelen* suportam a transferência de água de 0‰ a 10‰ (água do mar), o que indica que essa espécie é estenoalina (GOMES et al., 2000) e suporta até 9,0 g/L de sal comum (cloreto de sódio - NaCl) (GOMES et al., 2000; BORGES, 2005) por 96 horas, de modo que o tratamento de doenças com sal comum pode ser utilizado nesta espécie. Experimentos de Marchioro (1997) demonstraram que os alevinos também suportaram uma variação de pH na faixa de 4,0 a 8,5 (dureza de 30,0 mg/L carbonato de cálcio - CaCO_3), mas estudos adicionais realizados pelos autores em laboratório indicam que a tolerância dessa espécie em pH alcalino pode ser maior (até pH 9,5) (GOMES et al., 2000). O melhor crescimento das larvas dessa espécie foi observado na faixa de pH de 8,0 a 8,5 (GOMES et al., 2000; BORGES, 2005).

O crescimento de alevinos é rápido, já que atingem aproximadamente 5 cm de comprimento padrão com 30 dias de idade em sistemas artificiais. O crescimento de alevinos foi significativamente maior em exemplares expostos à escuridão que nos expostos continuamente à luz ou ao fotoperíodo normal. Os exemplares submetidos continuamente à luz ou ao fotoperíodo normal apresentaram nadadeiras danificadas, provavelmente devido à luta entre eles (GOMES et al., 2000).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O amplo uso dos piretróides, tanto em domicílios como em indústrias e atividades agropecuárias, representa atualmente um potente fator causador de impacto ambiental e de saúde pública, os quais podem intensificar-se cada vez mais, já que o uso destes pesticidas está aumentando a cada dia.

Os resíduos destes pesticidas utilizados alcançam ambientes aquáticos com certa facilidade, tendo como consequência a exposição de organismos aquáticos, os quais são extremamente sensíveis aos efeitos tóxicos destas substâncias.

Quando os organismos aquáticos são expostos à xenobióticos, ocorrem alterações endógenas nestes animais, como: disfunção hepática, uma vez que o fígado é o órgão de maior importância no metabolismo destas substâncias alterando níveis de enzimas bioquímicas; alterações comportamentais, já que os piretróides atuam sobre o neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC), o ácido gama amino butírico (GABA), causando hiperexcitabilidade nestes animais; além disso, o potente efeito estressante que os pesticidas causam sobre os organismos aquáticos levando estes a apresentarem alterações hematológicas; por fim, também podem causar danos na fase reprodutiva de peixes.

9 REFERÊNCIAS

- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- AYDIN, R.; KOPRUCU, K.; DORUCU, M.; KOPRUCU, S. S.; PALA, M. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. **Aquaculture International**, v.13, p. 451-458, 2005.
- BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; RODRIGUES, L. B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R. M.; CERICATO, L.; CONRAD, J.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; LACERDA, L. A.; TERRA, S. Haematological and biochemical characteristics of male Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, n. 34, p. 1465-1469, 2003.
- BARRIONUEVO, W. R.; LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretroides em água. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 172-175, 2001.
- BASANTA KUMAR das, SUBHAS, Chandra Mukherjee. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Elsevier. Comparative Biochemistry and Physiology**, part c, n. 134, p. 109-121, 2003.
- BASER, S.; ERKOÇ, F.; SELVI, M.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 51, p. 469-474, 2003.
- BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response. **Aquatic Toxicology**, n. 66, p. 83-92, 2004.
- BEGUM, G. In vivo biochemical changes in liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure. **Pesticide Biochemical and Physiology**, v. 82, p. 185-196, 2005.
- BERNARDI, M. M.; MORAES, R. C.; VAROLI, F. M. F.; OSTI, S. C. Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. de S.; GÓMIAS, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. 942 p.
- BOLS, N. C.; BRUBACHER, J. L.; GANASSIN, R. C.; LEE, L. E. J. Ecotoxicology and innate immunity in fish. **Developmental and Comparative Immunology**, n. 25, p. 853-873, 2001.
- BORGES, A. Changes in hematological and serum biochemical values in Jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cipermetrin. **Chemosphere**, v. 69, p. 920-926, 2007.
- BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses sub-letais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá *Rhamdia quelen***. Porto Alegre, 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

- BOZZO, F. R.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R.; PEREIRA, G. T.; TAVARES-DIAS, M.; ONAKA, E. M. Kinetics of cellular component in inflammatory response induced by different stimuli in the swim bladder of pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887 (Characidae). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 38, n. 2, p. 302-308, Jun. 2007.
- BRADBERRY, S. M.; CAGE, S. A.; PROUDFOOT, A. T.; VALE, J. A. Poisoning due to Pyrethroids. **Toxicological Reviews**, v. 24, n. 2, p. 93-106, 2005.
- BURROWS, A. S.; FLETCHER, T. C.; MANNING, M. J. Haematology of the turbot, *Psetta maxima* (L.): ultrastructural, cytochemical and morphological properties of peripheral blood leucocytes. **Journal of Applied Ichthyology**, n. 17, p. 77-84, 2001.
- ÇALISKAN, M.; ERKMEN, B.; YERLI, S. V. The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lebistes reticulatus*. **Elsevier. Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 14, p. 117-120, 2003.
- CAMARGO, S. O.; POUEY, J. L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do Jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1406-1411, nov./dez. 2005.
- CARVALHO, S. **Toxicidade do sulfato de cobre para a tilápia. *Oreochromis niloticus* e teste ecotoxicológico com *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneriella subcapitata***. 2009. 103 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, 2009.
- CENGİZ, E. I. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 22, p. 200-204, 2006.
- CENGİZ, E. I.; UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 21, p. 246-253, 2006.
- COELHO, R. S. **Avaliação da toxicidade de fluidos de Usinagem através da ecotoxicologia aquática**. São Carlos, 2006. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- DAMATTA, R. A.; RIBEIRO, M. L. S.; CARVALHO, T. M. U.; NASCIMENTO, J. L. M. Caracterização morfológica e funcional de leucócitos de peixes. In: TAVAREZ-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009.
- DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 134, p. 109-121, 2003.
- DAVID, M.; MUSHIGERI, S. B.; SHIVAKUMAR, R.; PHILIP, G. H. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. **Chemosphere**, v. 56, p. 347-352, 2004.
- DÖRÜCÜ, M.; GIRGIN, A. The effect of cypermethrin on some haematological parameters of *Cyprinus capio*. **Aquaculture International**, v. 9, p.183-187, 2001.

EL-SAYED, Y. S.; SAAD, T. T.; EL-BAHR, S. M. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 24, p. 212-217, 2007.

EL-SAYED, Y. S.; SAAD, T. T. Subacute intoxication of a deltamethrin-based preparation (butox® 5% EC) in monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Journal Compilation Nordic Pharmacological Society. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, n.102, p. 293-299, 2007.

FLORIO, J. C.; SOUZA, A. B. Farmacocinética. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GALEB, L. A. G. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Curitiba, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2010.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.

GOMIERO, L. M.; SOUZA, U. P.; BRAGA, F. M. S. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. **Biota Neotropical**, v. 7, n. 3, p. 127-133, set. 2007.

GRADVOHL, S. T. S. **Avaliação dos riscos ambientais e ecotoxicológicos do reúso de águas residuárias em piscicultura**. Fortaleza, 2006. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Ceará, 2006.

JAENSSON, A.; SCOTT, A. P.; MOORE, A.; KYLIN, H.; OLSÉN, K. H. Effects of a pyrethroid pesticide on endocrine responses to female odours and reproductive behavior in male parr of brown trout (*Salmo trutta* L.). **Aquatic Toxicology**, n. 81, p. 1-9, 2007.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí, SP**. Piracicaba, 2004. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agossismtemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 2004.

JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, 2010.

JONSSON, C. M.; FERRACINI, V. L.; PARAÍBA, L. C.; RANGEL, M.; AGUIAR, S. R. Alterações bioquímicas e acúmulo em pacus (*Metynnis argenteus*) expostos ao paclobutrazol. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 441-446, jul./set. 2002.

LERMEN, C. L.; LAPPE, R.; CRESTANI, M.; VIEIRA, V. P.; GIODA, C. R.; SCHITINGER, M. R. C.; BALDISSEROTTO, B.; MORAES, G.; MORSCH, V. M. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Elsevier, Aquaculture**, n. 239, p. 497-507, 2004.

MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; FUJIMOTO, R. Y.; ONAKA, E. M.; BOZZO, F. R.; MORAES, J. R. E. Carrageenin induced inflammation in *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: characidae) cultured in Brazil. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 31-39, 2006.

MARTINS, M. L.; PILARSKY, F.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T.; FENERICK JR., J.; RIBEIRO, K.; MYIAZAKI, D. M. Y.; CASTRO, M. P.; MALHEIROS, E. B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 30, n.1, p. 71-80, 2004.

MASSARO, F. C. **Estudos ecotoxicológicos com *Hydra viridissima* (Cnidaria: Hydrozoa)**. São Carlos, 2006. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

MATAQUEIRO, M. I. **Toxicidade aguda do triclorfom em pacus juvenis *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887)**. Jaboticabal, 2006. 68 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP Campus de Jaboticabal, 2006.

MAYON, M.; BERTRAND, A.; LEROY, D.; MALBROUCK, C.; MANDIKI, S. N. M.; SILVESTRE, F.; GOFFART, A.; THOMÉ, J-P.; KESTEMONT, P. Multiscale approach of fish responses to different types of environmental contaminations: a case study. **Science of the Total Environment**, v. 367, p. 715-731, 2006.

MISHRA, D.; SRIVASTAV, S. K.; SRIVASTAV, A. K. Effects os the insecticide cypermethrin on plasma calcium and ultimobranchial gland of a teleost, *Heteropneustes fossilis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p. 193-197, 2005.

MOORE, A.; WARING, C. P. The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). **Aquatic Toxicology**, v. 52, p. 1-12, 2001.

NAYAK, A. K.; DAS, B. K.; KOHLI, M. P. S.; MUKHERJEE, S. C. The immunosuppressive effect of α -permethrin on Indian major carp, rohu (*Labeo rohita* Ham.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 16, p. 41-50, 2004.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos. **Brasil. Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

OSTI, S. C.; VAROLI, F. M. F.; MATUSHIMA, E. R.; BERNARDI, M. M. Comparative studies of delthametrin acute toxicity in exotic and brasilian fish. **Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology**, v. 2, n. 2, p.101-106, 2007.

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe *Rhamdia quelen***: estudo bioquímico, hematológico e histopatológico. Curitiba, 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PARRA, J. E. G.; NETO, J. R.; VEIVERBEG, C. A.; LAZZARI, R.; BERGAMIN, G. T.; PEDRON, F. A.; ROSSATO, S. SUTILI, F. J. Alimentação de fêmeas de Jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2011-2017, out, 2008.

PIMPÃO, C. T. **Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo**: estudo bioquímico e imunotóxico. Curitiba, 2006. 163 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, 2006.

PIMPÃO, C. T.; ZAMPRONIO, A. R.; SILVA DE ASSIS, H. C. Effects os deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 122-127, 2007.

POLAT, H.; ERKOÇ, F. U.; VIRAN, R.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 49, p. 39-44, 2002.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ROMAGOSA, E.; ISHIKAWA, C. M. Hematological parameters of “cachara”, *Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766 (Osteichthyes, pimelodidae), Reared in captivity. **Boletim Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 47-53, 2005.

RODRIGUES, B. K. **Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae)**. São Carlos, 2007. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

RODRIGUES, L. C. **Bioquímica sistema de biotransformação de xenobióticos**. Rio de Janeiro, 2003. Adaptado da tese "Estudo das glutathione S-transferases hepáticas solúveis do peixe *piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (pacu)" apresentada por Luciana Camacho Rodrigues à Pós-graduação em Biologia do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes/UERJ em fevereiro de 2003 para obtenção do grau de doutor em Ciência.

SAHA, S.; KAVIRAJ, A. Effects os cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation os ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. **Chemosphere**, v. 74, p. 1254-1259, 2009.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SATAKE, F.; PÁDUA, S. B.; ISHIKAWA, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In: TAVAREZ-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009.

SAXENA, K. K.; SETH, N. Toxic effects os cypermethrin on certain hematological aspects of fresh water fish *Channa punctatus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, p. 364-369, 2002.

SELVI, M.; SARIKAYA, R.; ERKOÇ, F.; KOÇAK, O. Acute toxicity of the cyfluthrin pesticide on guppy fish. **Environmental Chemistry Letters**, 2008.

SILVEIRA, R. M. **Bioensaios de toxicidade e organismos bioindicadores como instrumento para a caracterização ambiental do Rio Itajaí-Mirim, SC.** Itajaí, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Universidade do Vale do Itajaí, 2007.

SINGH, P. B.; SINGH, V. Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17 β and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Chemosphere**, v. 72, p. 422- 431, 2008.

SVOBODOVÁ, Z.; LUSKOVÁ, V.; DRASTICHOVÁ, J.; SVOBODA, M.; ZLÁBEK, V. Effect of Deltamethrin on Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). **Acta Veterinaria Brunensis**, v. 72, p. 79-85, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M. I.; PERECIN, D. Total leukocyte counts in fishes by direct or indirect methods? **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 155 -161, 2002a.

TAVARES-DIAS, M.; MELO J. F. B.; MORAES, G.; MORAES, F. R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do Jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.4, p. 693-698, 2002b.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S.; MORAES, F. R.; CARNEIRO, P. C. F. Physiological responses of "Tambaqui" *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 43-48, 2001.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R. Hematological characteristics of brasilian teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, São Paulo State, Brazil. **Boletim Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 109-115, 2003.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007a. Cap. 17: Hematologia de Aves.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Editora Roca, 2007b. Cap.19: Hematologia de Peixes.

TRAMUJAS, F. F.; FÁVARO, L. F.; PAUKA, L. M.; SILVA DE ASSIS, H. C. Aspectos reprodutivos do peixe-zebra, *Danio rerio*, exposto a doses subletais de deltametrina. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2006.

TRIPATHI, P. K.; SINGH, A. Toxic effects of cypermethrin and alphamethrin on reproduction and oxidative embolism of the freshwater snail, *Lymnaea acuminata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 58, p. 227-235, 2004.

URAL, M. S.; SAGLAM, N. A study on the acute toxicity of pyrethroid deltamethrin on the fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 83, p. 124-131, 2005.

VELISEK, J.; JURCIKOVÁ, J.; DOBSIKOVÁ, R.; SVOBODOVÁ, Z.; PIACKOVÁ, V.; MÁCHOVÁ, J.; NOVOTNY, L. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Sciencedirect. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 297-301, 2007.

VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; DOBSIKOVA, R.; NOVOTNY, L.; DUDZIK, M. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinarni Medicina**, v. 51, n. 10, p. 469-476, 2006.

VIRAN, R.; ERKOÇ, F. R.; POLAT, H.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, p. 82-85, 2003.

YILDIRIM, M. Z.; BENLİ, A. Ç. K.; SELVI, M.; OZKUL, A.; ERKOÇ, F.; KOÇAK, O. Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Fingerlings. Environmental Toxicology**, p. 614-620, 2006.

YILMAZ, M.; GUL, A.; ERBASLI, K. Acute toxicity of alpha-cypermethrin to guppy (*Poecilia reticulata*, Pallas, 1859). **Chemosphere**, v. 56, p. 381-385, 2004.

CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL E SUBLETAL EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A CIPERMETRINA

*(Determination of lethal and sublethal concentration in catfish (*Rhamdia quelen*)
exposed to cypermethrin)*

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL E SUBLETAL EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A CIPERMETRINA

(Determination of lethal and sublethal concentration in catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to cypermethrin)

Francisco Pizzolato Montanha¹; Luciana do Amaral Gurgel Galeb²; Peter Gaberz Kirschnik³; Jorge Daniel Mikos⁴; Cláudia Turra Pimpão⁵

¹Mestrando em Ciência Animal - PUCPR; Médico Veterinário, chicopm28@yahoo.com.br;

²Médica Veterinária, lucianagaleb@hotmail.com;

³Docente - PUCPR, peter.k@pucpr.br;

⁴Mestrando em Ciência Animal - PUCPR, Engenheiro Agrônomo, mikos.jd@hotmail.com;

⁵Professora Titular - PUCPR, Médica Veterinária, claudia.pimpao@pucpr.br

RESUMO- A cipermetrina é um inseticida amplamente utilizado atualmente e que apresenta alta toxicidade para os peixes. O presente estudo teve o objetivo de determinar a concentração letal e subletal da cipermetrina por via hídrica em 96 horas em jundiá (*Rhamdia quelen*). Para isso foram utilizados 120 jundiás com peso médio de $59,58 \pm 4,50$ g e comprimento médio de $20,33 \pm 2,34$ cm. As concentrações utilizadas foram 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg de cipermetrina por litro de água (mg/L). Os peixes foram expostos ao produto dentro de aquários com capacidade para 30 litros. Em cada aquário foram colocados quatro peixes e cada tratamento teve três repetições, totalizando doze peixes por tratamento e 120 peixes no experimento todo (n=120). Os jundiás apresentaram-se sensíveis à cipermetrina nas concentrações testadas, apresentando sinais de intoxicação como perda de equilíbrio, alteração na natação, dispnéia mantendo a boca e os opérculos abertos, nados verticais e movimentos súbitos de natação em forma de espiral. A intensidade destes sinais variou proporcionalmente a concentração utilizada. As concentrações acima de 3,0 mg/L foram consideradas letais para a espécie em 96 horas, pois todos os animais expostos a concentrações entre 3,0 e 20,0 mg/L vieram a óbito, enquanto que as concentrações entre 1,0 e 2,5 mg/L são subletais. A CL_{50} 96 horas da cipermetrina para o jundiá foi 1,71 mg/L. Conclui-se que mesmo que o jundiá se mostrou mais resistente à cipermetrina em comparação com outras espécies, a cipermetrina é tóxica para o *R. quelen*.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Piretróides. Pesticidas. Intoxicação aguda. Peixes.

ABSTRACT- The cypermethrin is insecticide widely used nowadays and which is highly toxic to fish. This study aimed to determine the concentration lethal and sublethal effects of cypermethrin by water in 96 hours (*Rhamdia quelen*). For this were used 120 catfishes, weighing an average of 59.58 ± 4.50 grams and measuring on average 20.33 ± 2.34 cm. The concentrations used were 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 5.0, 10.0, 15.0 and 20.0 mg of cypermethrin per liter of water (mg/L). The fish were exposed to the product in tanks with a capacity of 30 liters. Were placed in each aquarium and four fish each treatment had three replications, resulting in twelve fish per treatment and 120 fish in all experiments ($n = 120$). Fishes were also susceptible to cypermethrin in concentrations, showing signs of intoxication such as loss of balance, change in swimming, dyspnea, keeping the operculum and mouth open, still-vertical and sudden movements of swimming in a spiral. The intensity of these signals varied proportionally to the concentration used. Concentrations above 3.0 mg/liter were considered lethal for the species in 96 hours, because all animals exposed to concentrations between 3.0 and 20.0 mg/liter came to death, while concentrations between 1.0 and 2.5 mg/liter are sublethal. The 96 hours LC_{50} of cypermethrin for silver catfish was 1,71 mg/L. It is concluded that even if the catfish was more resistant to cypermethrin compared with other species, cypermethrin is toxic to *R. quelen*.

Keywords: Ecotoxicology. Pyrethroids. Pesticides. Acute intoxication. Fish.

1 INTRODUÇÃO

No âmbito da América Latina, o Brasil desponta como o maior consumidor de agrotóxicos, com um consumo estimado em 50% da quantidade comercializada nesta região (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001; PIMPÃO, 2006, SANTOS et al., 2007). No Brasil, a produção atual de agrotóxicos é de 250 mil toneladas por ano, fato que contribui para a classificação do país como o 8º maior consumidor de praguicidas no mundo (JOBIM et al., 2010). O uso de praguicidas no Brasil alcançou no ano de 2005, o patamar de produção e comercialização de, aproximadamente, 400 mil toneladas, considerado na época o 3º maior consumidor de agrotóxicos em nível mundial (SANTOS et al., 2007). No Brasil, os estados do Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Tocantins, são responsáveis pelo consumo de 70% do total utilizado no país. Na região sudeste, o consumo de agrotóxicos é estimado em 12 Kg de agrotóxico por trabalhador ao ano, valor que pode ser superior dependendo da área produtiva (RODRIGUES, 2007).

A intensificação do cultivo de peixe, que no Brasil tem sido desenvolvido nos últimos anos com uma taxa de crescimento de 30% ao ano, representa um desafio para a saúde desses animais (RANZANI-PAIVA et al., 2005). Muitas doenças que acometem os peixes causam anormalidades no sangue e em seus constituintes (SATAKE et al., 2009). Os peixes são também afetados por alterações ambientais (DÖRÜCÜ; GIRGIN, 2001) as quais podem afetar o seu crescimento e a sua sobrevivência (RANZANI-PAIVA et al., 2005), como o uso de compostos químicos, os quais podem ser potencialmente imunossupressores e estão sendo introduzidos na rotina de culturas aquáticas no intuito de eliminar ectoparasitas, insetos e ervas daninhas (NAYAK et al., 2004).

Os impactos da contaminação por agrotóxicos em peixes e nos macroinvertebrados variam de acordo com os tipos de substâncias empregadas, com a sua toxicidade e com a estabilidade nos ambientes aquáticos (ARIAS et al.,

2007). Os valores das concentrações subletais podem ser influenciados também por outros fatores, incluindo linhagem do animal, idade, sexo, bem como outros parâmetros ambientais, como temperatura, dureza da água e pH (BERNARDI et al., 2008). Os efeitos dos agrotóxicos em peixes podem variar desde letalidade maciça de populações a diversos efeitos subletais, afetando toda a estrutura da comunidade (ARIAS et al., 2007).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe teleósteo (BORGES, 2005). Recentemente, Silfvergrip (1996) realizou uma ampla revisão taxonômica do gênero, baseado em caracteres da morfologia interna e concluiu que o gênero *Rhamdia* é formado de apenas onze espécies dentre cem anteriormente descritas (GOMES et al., 2000). *Rhamdia quelen* pertence à Classe: *Osteichthyes*, Série: *Teleostei*, Ordem: *Siluriformes*, Família: *Heptapteridae*, Subfamília *Heptarinae*, Gênero: *Rhamdia*, Espécie: *quelen* (GOMES et al., 2000; BORGES, 2005; BORGES, 2007; PAMPLONA, 2009).

A cipermetrina, um piretróide amplamente utilizado como pesticida terrestre e aquático atua sobre o funcionamento do sistema nervoso central através dos canais iônicos nas células nervosas, provocando hiperatividade e subsequente falta de controle das funções normais (BORGES, 2005). É um tipo de piretróide categorizado como um pesticida de uso restrito pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) devido à alta toxicidade aos peixes (SAHA; KAVIRAJ, 2009).

Assim como os piretróides em geral, a cipermetrina é praticamente não tóxica para mamíferos e pássaros, mas é altamente tóxica para peixes e invertebrados aquáticos. O principal motivo disto é devido à metabolização e eliminação destes compostos serem significativamente mais lentos em peixes do que em mamíferos e pássaros (YILMAZ et al., 2004; BEGUM, 2005).

Os testes de toxicidade aquática fornecem informações sobre o perigo potencial dos efeitos de uma substância tóxica aos organismos aquáticos, tais como letalidade, carcinogênese, mutagênese, teratogênese, desordens comportamentais, efeitos fisiológicos cumulativos, antagônicos e sinérgicos (RODRIGUES, 2007).

Tanto nos testes agudos como nos crônicos uma quantidade conhecida de organismos é exposta ao agente estressante por períodos conhecidos de tempo e, posteriormente, os efeitos são avaliados quanto à sobrevivência ou mortalidade dos organismos, bem como efeitos comportamentais, morfológicos e fisiológicos (MASSARO, 2006).

Diversos estudos em laboratórios têm sido realizados, os quais evidenciam que a cipermetrina é extremamente tóxica para peixes mesmo em concentrações muito baixas variando entre 0,4 e 2,2 µg/L em 96 horas para algumas espécies. Isto é explicado devido à dificuldade dos peixes em degradar e metabolizar os piretróides (DAVID et al., 2004).

O amplo estudo toxicológico de diversas substâncias faz-se necessário, pois são lançadas no mercado mais de mil novas substâncias químicas sintéticas a cada ano, a maioria sem nenhuma avaliação adequada sob o ponto de vista da sua interação nos ecossistemas (BERNARDI et al., 2008). Sendo assim, o presente estudo teve o objetivo de determinar a concentração letal e subletal 96 horas da cipermetrina em jundiá (*Rhamdia quelen*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A espécie escolhida foi o *Rhamdia quelen*, um peixe fluvial nativo da região sul do Brasil, vulgarmente conhecido como jundiá. Os ensaios experimentais foram realizados no Laboratório de Piscicultura e Pesquisa (LAPEP) do Setor de Piscicultura do Patronato Santo Antônio da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética com Uso de Animais - CEUA/PUCPR (protocolo número 439).

O produto comercial Cypermade 250 SC (princípio ativo cipermetrina) testado foi doado pela empresa ADD Atlanta que também foi responsável pelos efluentes gerados.

Os peixes foram capturados dos tanques e aclimatados por quinze dias em aquários-estoques de mil (1.000) litros devidamente higienizados. A temperatura da água foi mantida em torno de 24 a 25 °C, com aeração constante, pH em torno de 7,0 e filtração biológica. Os peixes foram alimentados com ração comercial uma (1) vez ao dia e a cada três (3) dias foi renovada um terço da água do tanque de aclimação.

Antes do início do experimento propriamente dito, foram preparados aquários de 30 litros de água, com temperatura entre 24 a 25 °C, aeração constante e pH em torno de 7,0. Os aquários permaneceram envoltos por sacos plásticos pretos durante as 96 horas para evitar a fotodegradação do piretróide e o estresse dos animais por luminosidade.

Os peixes foram medidos e pesados individualmente, os quais apresentaram em média $59,58 \pm 4,50\text{g}$ e $20,33 \pm 2,34\text{cm}$ de peso e comprimento total, respectivamente.

As concentrações de cipermetrina utilizadas por via hídrica para o experimento foram: 0; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 5; 10; 15 e 20 mg/L, as quais foram dispostas nos aquários aleatoriamente conforme sorteio, em sistema estático. Foram distribuídos quatro peixes em cada aquário e cada tratamento teve três repetições,

totalizando 120 animais (n=120). O experimento foi realizado em 96 horas, sendo que, durante este período os animais não receberam alimentação.

Durante o experimento, os peixes mortos foram retirados dos aquários. A mortalidade foi analisada às 24, 48, 72 e 96 horas após exposição.

Para a determinação da concentração subletal (CL_{50}) os cálculos foram realizados através do software tablecurve 2D, versão 5.01. Para análise estatística dos dados foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguida por teste de Dunn's para as comparações entre os grupos, utilizando o software estatístico *Graphpad Prism* versão 3.00 for Windows, San Diego – California, EUA. O nível de significância adotado foi 5% ($\alpha < 0,05$).

3 RESULTADOS

Os animais do grupo controle permaneceram saudáveis durante todo o experimento, sendo que nenhuma mortalidade foi registrada nesse grupo.

Os peixes expostos à cipermetrina apresentaram perda de equilíbrio, alteração na natação, dispnéia mantendo a boca e os opérculos abertos, nados verticais e movimentos súbitos de natação em forma de espiral, sendo que essas alterações se intensificaram proporcionalmente com o aumento das concentrações utilizadas. Os peixes expostos às concentrações 2,5; 3; 5; 10; 15 e 20 mg/L tentaram saltar para fora dos aquários no momento da exposição. Os sinais iniciaram nos primeiros 30 minutos após a exposição e perduraram em alguns animais até o fim das 96 horas. Alguns animais não resistiram, vindo a óbito, conforme a Tabela 1.

Antes do óbito os peixes ficaram menos ativos, permanecendo verticalmente na água e, às vezes, imóveis no fundo do aquário.

As alterações *post-mortem* observadas nos animais expostos à cipermetrina nas concentrações 10, 15 e 20 mg/L foram: perda da pigmentação parcial e às vezes total da superfície corpórea, lesões hiperêmicas e ulceradas com pontos hemorrágicos em diversos pontos do corpo do animal e erosão de barbilhões e cauda com aspecto degenerativo.

TABELA 1 - NÚMERO DE ANIMAIS SOBREVIVENTES À EXPOSIÇÃO À CIPERMETRINA

TRATAMENTO	TOTAL DE ANIMAIS POR TRATAMENTO (n=12)			
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Controle	12	12	12	12
1,0 mg/L	12	09	09	09
1,5 mg/L	09	06	06	05
2,0 mg/L	09	06	06	04
2,5 mg/L	09	05	05	04
3,0 mg/L	06	00	00	00
5,0 mg/L	03	00	00	00
10,0 mg/L	04	01	00	00
15,0 mg/L	00	00	00	00
20,0 mg/L	00	00	00	00

NOTA: As concentrações 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg/L podem ser consideradas subletais e as concentrações 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg/L, letais.

De acordo com os resultados obtidos, apresentados na Tabela 1, pode-se observar que concentrações acima de 3,0 mg/L de cipermetrina podem ser consideradas letais para os jundiás (*Rhamdia quelen*), pois todos os peixes foram a óbito até 48 horas após a exposição. E concentrações entre 1,0 e 2,5 mg/L podem ser consideradas subletais, visto que os animais apresentaram uma mortalidade em torno de 50% durante as 96 horas de experimento. A CL_{50} 96 horas encontrada neste experimento foi 1,71 mg/L de cipermetrina.

4 DISCUSSÃO

Na busca em avaliar possíveis alterações nos organismos expostos a diferentes compostos químicos considerados tóxicos, tanto a mortalidade parcial como a mortalidade total e as alterações comportamentais como alterações internas no organismo devem ser consideradas.

As principais alterações comportamentais observadas no presente estudo foram relacionadas a distúrbios neurológicos e respiratórios, alterações estas que corroboram com os achados dos autores Polat et al. (2002), Yilmaz et al. (2004) quando testaram a cipermetrina em guppies (*Poecilia reticulata*); Borges (2005) e Borges (2007) quando testaram a cipermetrina em jundiá (*Rhamdia quelen*) e Kumar et al. (2007) que em seus estudos, ao exporem *Channa punctatus* a cipermetrina, também relataram estas alterações. Ainda Viran et al. (2003), Tramuja et al. (2006) e Galeb (2010) testaram a deltametrina em guppies (*Poecilia reticulata*), peixe-zebra (*Danio rerio*) e jundiá (*Rhamdia quelen*), respectivamente, e também observaram alterações neurológicas e respiratórias.

Baser et al. (2003) e Selvi et al. (2008) também citaram as alterações neurológicas e respiratórias em seus estudos quando testaram a permetrina e a ciflutrina, respectivamente, em guppy (*Poecilia reticulata*).

Ranzani-Paiva et al. (1997) ao expor curimatá (*Prochilodus scrofa*) ao dipterex 500 (Trichlorfon) relatou as mesmas alterações encontradas no presente estudo.

Essas alterações podem ocorrer em decorrência aos efeitos tóxicos que a cipermetrina exerce nos vertebrados. Esse piretróide exerce um efeito significativo sobre os canais de sódio dos filamentos nervosos, bloqueando a sua abertura e fechamento, ou seja, encurtando a fase despolarizante, prolongando o tempo de entrada dos íons de Na^+ para o interior da célula e atrasando o seu encerramento (BORGES, 2005; BRADBERRY et al., 2005; VELISEK et al., 2006; BORGES, 2007; SANTOS et al., 2007 e VELISEK et al., 2007). Além disso, interação com os

receptores GABA (neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central) nos filamentos nervosos (BORGES, 2005; BRADBERRY et al., 2005; VELISEK et al., 2006; BORGES, 2007; VELISEK et al., 2007).

Ranzani-Paiva et al. (1997), ao intoxicar curimatã (*Prochilodus scrofa*) com organofosforados e Galeb (2010) ao intoxicar jundiá (*Rhamdia quelen*) com deltametrina, observaram que os animais mudaram de pigmentação corpórea, apresentaram coloração esbranquiçada, pontos hemorrágicos e lesões ulceradas em todo o corpo. Este resultado também foi observado no presente estudo, sendo mais perceptível nas alterações *post-mortem*, o que demonstra o efeito irritante da cipermetrina sobre os organismos aquáticos.

O presente estudo revelou que a cipermetrina dissolvida em água é um inseticida tóxico para o *Rhamdia quelen*, sendo que as concentrações de 3,0; 5,0; 10; 15 e 20 mg/L de cipermetrina podem ser consideradas letais e as concentrações de 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg/L, subletais. A CL₅₀ 96 horas da cipermetrina para o jundiá é de 1,71 mg/L.

Diversos estudos em laboratórios têm sido realizados, os quais evidenciaram que a cipermetrina é extremamente tóxica para peixes em concentrações muito baixas variando entre 0,4 e 2,2 µg/L em 96 horas (DAVID et al., 2004). Conforme Stephenson (1982 apud DAS; MUKHERJEE, 2003) e Bradbury e Coats (1989 apud YILMAZ et al., 2004) a concentração da cipermetrina, responsável pela morte de metade da população de carpa (*Cyprinus carpio*) foi entre 0,9 e 1,1 µg/L; para truta marrom (*Salmo trutta*) foi 1,2 µg/L e para tilápia (*Tilapia nilótica*) 2,2 µg/L. Bradbury e Coats (1989 apud YILMAZ et al., 2004) cita ainda, 0,5 µg/L para truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) e 0,4 µg/L para rudd (*Scardinius erythrophthalmus*).

A concentração subletal da cipermetrina para carpa (*Labeo rohita*) foi 0,139 ppm; e para guppy (*Lebistes reticulatus*) 0,021 ppm (DAS; MUKHERJEE, 2003; BORGES, 2005).

Segundo Borges (2005) e Borges (2007), a concentração subletal da cipermetrina para o jundiá (*Rhamdia quelen*) após 24, 48, 72, 96 horas foram 0,295;

0,265; 0,198 e 0,193 ppm, respectivamente. Singh e Singh (2008) identificaram a concentração subletal para o catfish (*Heteropneustes fossilis*) como 0,1 ppm. Polat et al. (2002) relataram em guppy (*Poecilia reticulata*) a concentração de 21,4 µg/L de cipermetrina.

No catfish (*Heteropneustes fossilis*) a concentração de 0,96 µg/L é capaz de causar 50% de mortalidade dentro de 24 horas (SAHA; KAVIRAJ, 2009). O valor da concentração subletal de cipermetrina 24 horas foi 20,0 µg/L para *Barbus choloensis* e 4,50 µg/L para carpa (YILMAZ et al., 2004).

Baser et al. (2003) relataram a concentração subletal de cipermetrina em guppies sendo 5,7 µg/L. Stephenson (1983) determinou a concentração subletal de cipermetrina para as seguintes espécies: 2,8 µg/L para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e 0,93 µg/L para vairão vermelho (*Pimephales promelas*) (YILMAZ et al., 2004).

Segundo Basanta e Subhas (2003), a cipermetrina causou a morte de 10% das carpas da espécie *Labeo rohita* em uma concentração de 0,10 ppm em 48 horas e 100% de mortalidade na concentração de 0,20 ppm em 72 horas. As análises mostraram que as concentrações subletais em 24, 48, 72 e 96 horas foram 0,225; 0,162; 0,149 e 0,139 ppm, respectivamente.

O valor da concentração subletal da cipermetrina para guppy (*Lebistes reticulatus*) foi determinado como 21,35 µg/L (ÇALISKAN et al., 2003). Carpa (*Cyprinus capio*) vieram a óbito após 15 horas de exposição à cipermetrina em concentração de 0,02 ppm. (DÖRÜCÜ; GIRGIN, 2001). A concentração subletal da cipermetrina em truta arco íris (*Salmo gairdneri*) foi de 8,2 µg/L e em peixe-lua (*Mola mola*), 1,8 µg/L (POLAT et al., 2002).

Smith e Stratton (1986 apud POLAT et al., 2002) têm computado a concentração subletal em µg/L da cipermetrina em peixes das seguintes espécies salmão do atlântico (*Salmo solar*) 96 horas: 2,0; para truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) 96 horas: 6,0; para peixe mosquito (*Gambusia affinis*) 24 horas: 9,0 e 48 horas: 8,0; para pupfish (*Cyprinodon macularius*) 24 horas: 10,0 e 48 horas: 6,0.

A concentração subletal da cipermetrina foi 9,43 µg/L (8,24 a 11,20) para guppy (*Poecilia reticulata*) (YILMAZ et al., 2004).

Em *Channa punctatus* em concentrações de 0,1 e 0,2 mg/L de cipermetrina não houve mortes no período de 96 horas de exposição. No entanto, as concentrações de 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 mg/L o percentual de mortalidade foi 25, 50, 75 e 100% respectivamente. Sendo assim, a concentração subletal da cipermetrina para este peixe foi 0,4 mg/L e a concentração letal 0,6 mg/L. Para o período de 96 horas, os valores da concentração subletal de cipermetrina em diferentes espécies de peixes foram relatados, sendo 2 e 6 µg/L para truta (*Salmo salar*) e truta arco-íris (*Salmo gairdneri*), respectivamente (SMITH e STRATON (1986 apud KUMAR et al., 2007).

Galeb (2010) ao testar a deltametrina em jundiá (*Rhamdia quelen*), relatou a concentração subletal entre 1 e 1,5 mg/L e concentração letal acima de 1,7 mg/L.

Borges (2005) ao testar a cipermetrina no jundiá relatou valores das concentrações subletais menores do que os encontrados no presente estudo. Esta diferença pode estar relacionada ao sexo e tamanho dos animais, pois Borges utilizou animais machos com pesos e medidas maiores aos utilizados neste estudo. Ainda pode estar relacionado à própria toxicidade da formulação do princípio ativo testado e ao tempo de aclimação menor que no presente estudo, considerado fator estressante aos animais.

A diferença entre concentrações testadas em diversas espécies pode estar relacionada a linhagem do animal, idade, sexo, bem como outros parâmetros ambientais, como temperatura, dureza da água, pH ou relacionados a toxicidade dos compostos químicos testados, os quais são fatores que podem interferir nos valores de concentrações letais e subletais (BERNARDI et al., 2008). Isto pode ter contribuído com o presente estudo, onde o jundiá se apresentou mais resistente do que outras espécies quando expostos aos piretróides, uma vez que todas as concentrações testadas pelos autores supracitados são menores do que as concentrações utilizadas no presente estudo.

5 CONCLUSÃO

As concentrações de cipermetrina acima de 3 mg/L podem ser consideradas letais para o jundiá (*Rhamdia quelen*) já que todos os animais vieram a óbito após a exposição. Concentrações entre 1 e 2,5 mg/L podem ser consideradas subletais devido a mortalidade parcial do jundiá no presente estudo. A CL₅₀ 96 horas da cipermetrina para o jundiá é de 1,71 mg/L.

Em comparação com outras espécies, o jundiá (*Rhandia quelen*) apresentou-se relativamente mais resistente à exposição a cipermetrina.

6 REFERÊNCIAS

- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- BASANTA KUMAR das, SUBHAS, Chandra Mukherjee. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Elsevier. Comparative Biochemistry and Physiology**, part c, n. 134, p. 109-121, 2003.
- BASER, S.; ERKOÇ, F.; SELVI, M.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, n. 51, p. 469-474, 2003.
- BEGUM, G. In vivo biochemical changes in liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure. **Pesticide Biochemical and Physiology**, n. 82, p. 185-196, 2005.
- BERNARDI, M. M.; MORAES, R. C.; VAROLI, F. M. F.; OSTI, S. C. Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. de S.; GÓMIAK, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. 942 p.
- BORGES, A. Changes in hematological and serum biochemical values in Jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cipermetrin. **Chemosphere**, v. 69, p. 920-926, 2007.
- BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses sub-letais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá *Rhamdia quelen***. Porto Alegre, 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.
- BRADBERRY, S. M.; CAGE, S. A.; PROUDFOOT, A. T.; VALE, J. A. Poisoning due to Pyrethroids. **Toxicology Review**, v. 24, n. 2, p. 93-106, 2005.
- ÇALISKAN, M.; ERKMEN, B.; YERLI, S. V. The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lebistes reticulatus*. **Elsevier. Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 14, p. 117-120, 2003.
- DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 134, p. 109-121, 2003.
- DAVID, M.; MUSHIGERI, S. B.; SHIVAKUMAR, R.; PHILIP, G. H. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. **Chemosphere**, v. 56, p. 347-352, 2004.
- DÖRÜCÜ, M.; GIRGIN, A. The effect of cypermethrin on some haematological parameters of *Cyprinus capio*. **Aquaculture International**, v. 9, p.183-187, 2001.
- GALEB, L. A. G. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Curitiba, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2010.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.

JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, 2010.

KUMAR, A.; SHARMA, B.; PANDEY, R. S. Preliminary evaluation of the acute toxicity of cypermethrin and α -cyhalothrin to *Channa punctatus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, n. 79, p. 613-616, 2007.

MASSARO, F. C. **Estudos ecotoxicológicos com *Hydra viridissima* (Cnidaria: Hydrozoa)**. São Carlos, 2006. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

NAYAK, A. K.; DAS, B. K.; KOHLI, M. P. S.; MUKHERJEE, S. C. The immunosuppressive effect of α -permethrin on Indian major carp, rohu (*Labeo rohita* Ham.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 16, p. 41-50, 2004.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos. **Revista Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe *Rhamdia quelen***: estudo bioquímico, hematológico e histopatológico. Curitiba, 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PIMPÃO, C. T. **Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo**: estudo bioquímico e imunotóxico. Curitiba, 2006. 163 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, 2006.

POLAT, H.; ERKOÇ, F. U.; VIRAN, R.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 49, p. 39-44, 2002.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; RODRIGUES, E. L.; EIRAS, A. C.; VEIGA, M. L.; PACHECO, F. J. Alterações hematológicas em curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881, exposto ao dipterex 500 (Trichlorfon). **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 24 (especial), p. 187-196, 1997.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ROMAGOSA, E.; ISHIKAWA, C. M. Hematological parameters of "cachara", *Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766 (Osteichthyes, pimelodidae), Reared in captivity. **Boletim Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 47-53, 2005.

RODRIGUES, B. K. **Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae)**. São Carlos, 2007. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

SAHA, S.; KAVIRAJ, A. Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. **Chemosphere**, v. 74, p. 1254-1259, 2009.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SELVI, M.; SARIKAYA, R.; ERKOÇ, F.; KOÇAK, O. Acute toxicity of the cyfluthrin pesticide on guppy fish. **Environmental Chemistry Letters**, 2008.

SINGH, P. B.; SINGH, V. Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17 β and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Chemosphere**, v. 72, p. 422-431, 2008.

TRAMUJAS, F. F.; FÁVARO, L. F.; PAUKA, L. M.; SILVA DE ASSIS, H. C. Aspectos reprodutivos do peixe-zebra, *Danio rerio*, exposto a doses subletais de deltametrina. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2006.

VELISEK, J.; JURCIKOVÁ, J.; DOBSIKOVÁ, R.; SVOBODOVÁ, Z.; PIACKOVÁ, V.; MÁCHOVÁ, J.; NOVOTNY, L. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 297-301, 2007.

VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; DOBSIKOVA, R.; NOVOTNY, L.; DUDZIK, M. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinarni Medicina**, v. 51, n. 10, p. 469-476, 2006.

VIRAN, R.; ERKOÇ, F. R.; POLAT, H.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, p. 82-85, 2003.

YILMAZ, M.; GUL, A.; ERBASLI, K. Acute toxicity of alpha-cypermethrin to guppy (*Poecilia reticulata*, Pallas, 1859). **Chemosphere**, v. 56, p. 381-385, 2004.

CAPÍTULO 3

EFEITOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS À CIPERMETRINA

*(Clinical, biochemical and hematological effects in catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to cypermethrin)*

EFEITOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS À CIPERMETRINA

(Clinical, biochemical and hematological effects in catfish (Rhamdia quelen) exposed to cypermethrin)

Francisco Pizzolato Montanha¹; Ana Carolina Fredianelli²; Roberta Wagner³; Soraya Regina Sacco⁴; Daniel Carlos Coatti Rocha⁵; Cláudia Turra Pimpão⁶

¹Mestrando em Ciência Animal - PUCPR, Médico Veterinário,
chicopm28@yahoo.com.br;

²Ana Carolina Fredianelli - Acadêmica de Medicina Veterinária - PUCPR,
ana.fredianelli@yahoo.com.br;

³Roberta Wagner - Acadêmica de Medicina Veterinária - PUCPR,
roberta.wagner@hotmail.com;

⁴Soraya Regina Sacco - Doutoranda em Clínica Veterinária - UNESP,
soraya_sacco@rocketmail.com

⁵Acadêmico de Medicina Veterinária - PUCPR;
daniel_rocha90@hotmail.com;

⁶Professora Titular - PUCPR, Médica Veterinária,
claudia.pimpao@pucpr.br

RESUMO- A cipermetrina é um pesticida classificado como piretróide e é considerada altamente tóxica para peixes. Devido a lipofilicidade deste piretróide, grande parte deste produto é absorvido pelas brânquias dos peixes, os quais acabam sofrendo fortes efeitos tóxicos dos pesticidas. O presente estudo teve o objetivo de avaliar a intoxicação aguda da cipermetrina em Jundiá (*Rhamdia quelen*), com ênfase nos efeitos clínicos, bioquímicos e hematológicos. Para isso, jundiás pesando em média $56,67 \pm 4,43$ g e com comprimento médio de $18,92 \pm 1,16$ cm foram expostos à cipermetrina por via hídrica por 96 horas com concentrações subletais do pesticida para a espécie. Foram utilizados 52 peixes (n=52), divididos em três grupos expostos à cipermetrina por 96 horas nas seguintes concentrações: 0 (n=12); 1,5 (n=20) e 2,5 (n=20) mg/L. Em cada aquário foram colocados 4 peixes. O grupo controle teve três repetições e as demais concentrações, 5 repetições cada. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn's para comparação entre as médias. Nos animais que sofreram a intoxicação foi possível observar alterações comportamentais em diferentes intensidades, sendo mais intensos em concentrações mais altas de cipermetrina. As principais alterações foram: perda de equilíbrio, alteração na natação, dispnéia mantendo a boca e os opérculos abertos, nados verticais e movimentos súbitos de natação em forma de espiral. No final das 96 horas, foi realizada a coleta do sangue para análises hematológicas e bioquímicas. As análises realizadas foram: hemograma completo, proteína plasmática, albumina, Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato

Aminotransferase (AST), Gama Glutamiltransferase (GGT) e Fosfatase Alcalina (FA). Houve alteração nos valores de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, contagem total de leucócitos, trombócitos, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) entre os grupos expostos à cipermetrina em diferentes concentrações. Os resultados mostram que a contaminação ambiental pela cipermetrina pode causar alterações na fisiologia e até mesmo a morte desses animais, sendo este inseticida tóxico para a espécie estudada.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Peixes. Piretróides. Hemograma. Biomarcadores.

ABSTRACT- The cypermethrin is a pyrethroids pesticide classified and is considered highly toxic to fish. Due to the lipophilicity of pyrethroids, much of the product is absorbed through the gills of fish, which end up experiencing severe toxic effects of pesticides. This study aimed to evaluate the acute toxicity of cypermethrin in jundiá (*Rhamdia quelen*), with emphasis on clinical, biochemical and hematological parameters. For this, silver catfish juveniles weighing an average of 56.67 ± 4.43 g and measuring 18.92 ± 1.16 cm were exposed to cypermethrin by water in 96 hours with sublethal concentrations of the pesticide for the species. Were used 52 fish ($n = 52$) divided into three groups exposed to cypermethrin for 96 hours at the following concentrations: 0 ($n = 12$), 1.5 ($n = 20$) and 2.5 ($n = 20$) mg/L. Were placed in each aquarium fish 4. The control group had three replicates and the other concentrations, 5 replicates. Data were analyzed by Kruskal-Wallis followed by Dunn's test for comparison between means. In animals that had suffered the poisoning was possible to observe behavioral changes at different intensities, being more intense with higher concentrations of cypermethrin. The effects in fish were loss of equilibrium, abnormal swimming, dyspnea, keeping the operculum and mouth open, still-vertical and sudden movements of swimming in a spiral. At the end of 96 hours, was performed to collect blood for hematological and biochemical analysis. Analyses were performed: complete blood count, plasma protein, albumin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamyl transferase (GGT) and alkaline phosphatase (ALP). The erythrocytes, hematocrit, hemoglobin, total leukocyte count, thrombocytes, alanine aminotransferase (ALT), aminotransferase aspartate (AST) and alkaline phosphatase (ALP) showed significantly altered in the groups exposed to cypermethrin in the control group. The results show that environmental contamination by cypermethrin can cause changes in physiology and even death of these animals, which is toxic insecticide for the species studied.

Keywords: Ecotoxicology. Fish. Pyrethroids. Haematological analysis. Biomarkers.

1 INTRODUÇÃO

Os testes agudos são definidos como os efeitos severos sofridos pelos organismos decorrentes de um curto período de exposição à xenobióticos. A finalidade destes testes é determinar a concentração de uma substância-teste (produtos químicos ou efluentes) que produz efeitos deletérios em um grupo de organismos-teste sob condições controladas (RODRIGUES, 2007). Esses testes medem os efeitos dos agentes tóxicos sobre as espécies durante uma curta fase da vida e frequentemente avaliam a sobrevivência após um período de 24 a 96 horas de exposição (JARDIM, 2004). Os efeitos observados vão desde a letalidade até qualquer outra manifestação do organismo que a anteceda (JARDIM, 2004; MASSARO, 2006; RODRIGUES, 2007; BERNARDI et al., 2008).

Uma vez que uma substância química entra em um organismo, diversas respostas fisiológicas, hematológicas e bioquímicas ocorrem as quais podem se adaptar ou conduzir para a toxicidade (BEGUM, 2004; BORGES, 2005, 2007). As características bioquímicas estão entre os mais importantes parâmetros do meio interno dos peixes. As mudanças no perfil bioquímico refletem mudanças no metabolismo e em processos celulares do organismo, resultantes dos efeitos de vários poluentes, tornando possível estudar os mecanismos dos efeitos destas substâncias (BEGUM, 2004; BORGES, 2005).

Parâmetros hematológicos são cada vez mais usados como indicadores de estresses fisiológicos resultantes de alterações endógenas ou exógenas em peixes (LERMEN et al., 2004). Sendo assim, a avaliação dos parâmetros sanguíneos pode ser útil para monitorar o estado fisiológico, para os diagnósticos de patologias e de intoxicação dos peixes (DÖRÜCÜ; GIRGIN, 2001; BARCELLOS et al., 2003; BORGES, 2005; RANZANI-PAIVA et al., 2005; PIMPÃO et al., 2007; GALEB, 2010).

Assim, a análise sanguínea pode revelar disfunções agudas ou crônicas, atribuíveis à nutrição, qualidade da água, presença de toxinas e doenças, entre outros fatores (BORGES, 2005). Em geral, na intoxicação aguda ocorre mortalidade

em massa dos peixes (PIMPÃO, 2006). As alterações das atividades das enzimas lactato desidrogenase (LDH), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e glutamato piruvato transaminase (GPT) têm sido usadas para demonstrar o dano tecidual em peixes (BORGES, 2005). No entanto, a poluição é um processo muitas vezes crônico, aparentemente sem danos visíveis, podendo causar vários efeitos subletais (PIMPÃO, 2006).

Sabe-se que doenças, poluições e a presença de produtos químicos provenientes de atividades agrícolas nas águas causam alterações nas células sanguíneas dos peixes resultando em perdas na aquicultura (DÖRÜCÜ; GIRGIN, 2001).

Cipermetrina, um piretróide pesticida sintético potente e de amplo espectro é usado amplamente no controle do verme do algodão, *Heliothis armigera* (DAVID et al., 2004), usada também no tratamento de lã de ovelhas, tratamento de salmonídeos para piolhos aquáticos (MOORE; WARING, 2001; JAENSSON et al., 2007), é frequentemente utilizado na agricultura no controle de pestes domésticas e industrial (TRIPATHI; SINGH, 2004; JAENSSON et al., 2007; SINGH; SINGH, 2008). Também para o controle dos ectoparasitas que infestam bovinos, ovinos, aves e alguns animais de companhia (VELISEK et al., 2006).

Recentemente, o composto foi usado como um agente quimioterapêutico de controle de ectoparasitas e infestações por piolhos do mar (*Lepeophtheirus salmonis* e *Caligus elongatus*) na cultura em gaiolas marinhas de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (VELISEK et al., 2006) e também em muitos corpos aquáticos para o controle de pragas, insetos e ectoparasitas como piolhos (BASANTA KUMAR; SUBHAS, 2003; TRIPATHI; SINGH, 2004; YILMAZ et al., 2004; BORGES, 2005; JAENSSON et al., 2007; SINGH; SINGH, 2008) podendo causar toxicidade subcrônicas e crônicas sérias para os peixes (BASER et al., 2003; ÇALISKAN et al., 2003). Por esse motivo, uma atenção especial é necessária nesses programas de controle de vetores em ambientes aquáticos (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003; VIRAN et al., 2003; ÇALISKAN et al., 2003; CENGİZ; UNLU, 2006).

A cipermetrina é um pesticida de uso restrito pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) devido a sua alta toxicidade aos peixes (SAHA; KAVIRAJ, 2009). Na Índia a cipermetrina é usada em uma grande variedade de culturas e muitos corpos de água contendo culturas de peixes (BEGUM, 2004, SAHA; KAVIRAJ, 2009).

Vale ressaltar que a cipermetrina, assim como os piretróides em geral, é praticamente não tóxica para mamíferos e pássaros, mas é altamente tóxica para peixes e invertebrados aquáticos. O principal motivo disto é devido à metabolização e eliminação destes compostos serem significativamente mais lentos em peixes do que em mamíferos e pássaros (YILMAZ et al., 2004; BEGUM, 2005).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe teleósteo (BORGES, A., 2005) facilmente encontrado na América do Sul e Central, ao leste dos Andes e entre a Venezuela (BARCELLOS et al., 2003, GOMIERO et al., 2007) e desde o centro da Argentina até o sul do México, cujo cultivo está aumentando no sul do Brasil (GOMES et al., 2000; TAVARES-DIAS et al., 2002; PAMPLONA, 2009). Tem distribuição neotropical (GOMES et al., 2000; PAMPLONA, 2009), muito encontrado em rios do interior do Rio Grande do Sul (BORGES, 2005).

Por ser uma espécie nativa da América do Sul, resiste bem ao frio do inverno e cresce rapidamente no verão (BARCELLOS et al., 2003; BORGES, 2005), sendo assim, uma espécie aceitável para sistemas de produção em regiões da parte sul da América do Sul devido a fácil adaptação ao clima temperado e subtropical (BORGES, 2005).

O presente estudo teve o objetivo de avaliar os efeitos clínicos, bioquímicos e hematológicos no jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos à cipermetrina por 96 horas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A espécie escolhida foi o *Rhamdia quelen*, um peixe fluvial nativo da região sul do Brasil, vulgarmente conhecido como jundiá. Os animais foram produzidos no Setor de Piscicultura do Patronato Santo Antônio da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) e o experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura e Pesquisa (LAPEP/PUCPR). O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética com Uso de Animais - CEUA/PUCPR (protocolo número 439).

Os peixes foram capturados em tanques e aclimatados por quinze dias em aquários-estoques de mil litros. A temperatura da água foi mantida em torno de 24 a 25 °C, com aeração constante, filtro biológico, pH em torno de 7,0 e períodos de 12 horas - claro e escuro. Os peixes foram alimentados com ração comercial uma vez ao dia e a cada três (3) dias foi renovado um terço da água de aclimação.

No dia da intoxicação, os peixes foram pesados e medidos individualmente, apresentando em média $56,67 \pm 4,43\text{g}$ e $18,92 \pm 1,16\text{cm}$ de peso e comprimento total, respectivamente

No experimento os peixes foram mantidos em aquários de 30 litros com as mesmas condições de aclimação, porém sem alimentação e biofiltro. Os aquários permaneceram envoltos por sacos plásticos pretos durante as 96 horas do experimento para evitar a fotodegradação do piretróide e o estresse dos animais por luminosidade.

Os peixes (n=52) foram divididos aleatoriamente em três grupos expostos a cipermetrina nas seguintes concentrações subletais determinadas anteriormente no mesmo laboratório: 0; 1,5 e 2,5 mg/L. Em cada aquário foram colocados quatro peixes. O grupo com 0 mg/L teve três repetições (n=12), porém os outros dois grupos (1,5 e 2,5 mg/L de cipermetrina) tiveram cinco repetições cada (n=20). Para a intoxicação foi utilizado o produto comercial Cypermade 250 SC (cipermetrina) em sistema estático.

Durante as 96 horas de experimento, os peixes mortos foram retirados dos aquários e as lesões *post-mortem* foram observadas. Durante este período foram observadas as alterações comportamentais e os sinais clínicos dos peixes.

Após 96 horas de exposição, os peixes foram anestesiados com benzocaína na concentração de 60 mg/L para efetuar a coleta de sangue com seringas lavadas com EDTA 3% por meio de punção da veia caudal para as seguintes análises: número total de eritrócitos, número total e diferenciação de leucócitos, número total de trombócitos, hematócrito, hemoglobina, proteína plasmática, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA).

As extensões sanguíneas foram coradas pelo método de Rosenfeld (1947) para o diferencial leucocitário, avaliação morfológica, visualização de agregados trombocíticos e pesquisa de hemoparasitas. As contagens de eritrócitos, leucócitos e trombócitos foram determinadas manualmente com câmara de Neubauer em microscópio óptico após diluição 1:200 do sangue em corante Natt/Herrick's (1952). O hematócrito foi determinado em centrífuga de microhematócrito (SISLAB/MH) operada a 11.000 rpm por 5 minutos e a proteína plasmática total por meio de refratômetro (KERNCO - OS1270). O conteúdo de hemoglobina, expressa em g/dL, foi determinado espectrofotometricamente (Fanem - Excelsa Baby II - mod. 206-R) usando a reação de cianometahemoglobina após centrifugação a 3500 rpm por 5 minutos.

Os seguintes testes bioquímicos foram realizados por espectrofotometria (Drake - mod. Quick lab/ Siel - mod. EPECTROMATIC 710): aspartato aminotransferase (AST - UI/L - Labtest liquiform), alanina aminotransferase (ALT - UI/L - Labtest liquiform), fosfatase alcalina (FA - UI/L - Labtest liquiform), gama glutamiltransferase (GGT - UI/L - Labtest liquiform) e albumina (ALBUMINA - g/dL - Labtest colorimétrica).

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn's para comparação entre as médias. O nível de significância adotado foi 5% ($\alpha < 0,05$). Todos os cálculos foram realizados utilizando o Software estatístico GraphPad Prism version 3.00 for Windows, San Diego - Califórnia, EUA.

3 RESULTADOS

3.1 ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS

Os peixes que vieram a óbito durante o experimento foram retirados imediatamente, sendo que permaneceram 12 peixes em cada grupo até o final da experimentação. Antes do óbito os peixes ficaram menos ativos, permanecendo verticalmente na água e, às vezes, imóveis no fundo do aquário.

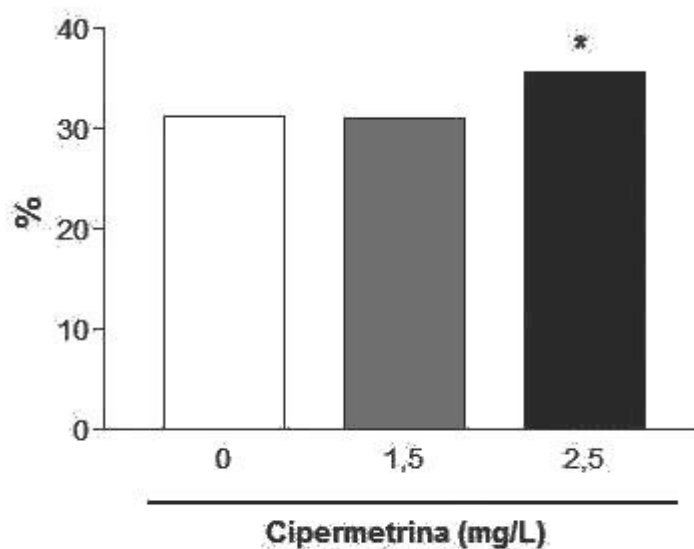
As alterações *post-mortem* observadas nos animais expostos à CM foram: perda parcial e às vezes total da pigmentação da superfície corpórea, lesões hiperêmicas e ulceradas com pontos hemorrágicos em diversos pontos do corpo do animal e erosão de barbilhões e cauda com aspecto degenerativo.

Os peixes expostos as concentrações de 1,5 e 2,5 mg/L de CM apresentaram perda de equilíbrio, alteração na natação, dispnéia mantendo a boca e os opérculos abertos, nados verticais e movimentos súbitos de natação em forma de espiral. Os peixes expostos a 0 mg/L de CM permaneceram saudáveis durante todo o experimento.

Os peixes expostos a concentração de 2,5 mg/L de CM tentaram saltar dos aquários. Esses sinais iniciaram nos primeiros 30 minutos após a exposição e perduraram até o fim das 96 horas.

3.2 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Os peixes expostos a 2,5 mg/L de CM apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) no valor do hematócrito em relação ao grupo 0 e 1,5 mg/L de cipermetrina, (Figura 1).

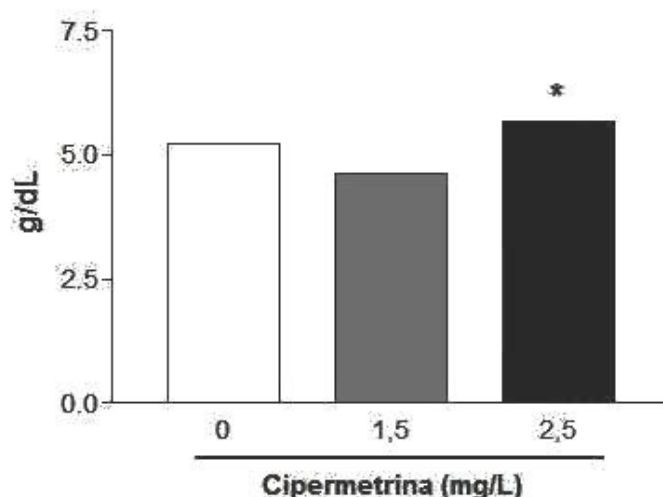


*p<0,05 em relação ao grupo 0 mg/L

*p<0,05 em relação ao grupo 1,5 mg/L

Figura 1 - Média dos valores do hematócrito em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas
 NOTA: Os peixes expostos a 2,5 mg/L de CM apresentaram um aumento significativo ($p<0,05$) no valor do hematócrito em relação ao grupo 0 e 1,5 mg/L de CM, os quais apresentaram uma média de $35,80 \pm 3,36\%$; $31,33 \pm 2,10\%$ e $31,17 \pm 4,95\%$, respectivamente.

De acordo com a Figura 2 pode-se observar que os peixes expostos a 2,5 mg/L de CM apresentaram a taxa de hemoglobina maior ($p<0,01$) do que os peixes expostos a concentração de 1,5 mg/L de CM.



*p<0,01 em relação ao grupo 1,5 mg de cipermetrina

Figura 2 - Média dos valores da taxa de hemoglobina em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas
 NOTA: Os peixes expostos a 2,5 mg/L de CM apresentaram a taxa de hemoglobina maior ($p<0,01$) do que os peixes expostos a concentração de 1,5 mg/L de CM, apresentando uma média de $5,70 \pm 0,80$ g/dL e $4,64 \pm 0,48$ g/dL, respectivamente.

Na contagem do número total de eritrócitos, o grupo 2,5 mg/L de CM apresentou um aumento ($p < 0,05$) em relação ao grupo 1,5 mg/L, conforme Figura 3.

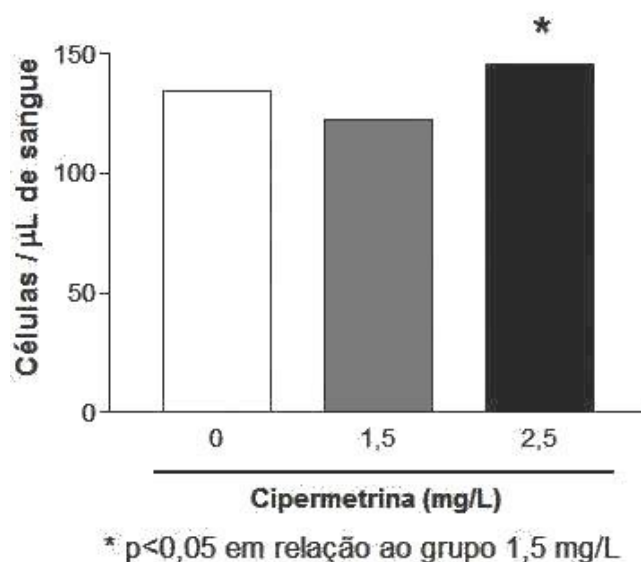


Figura 3 - Média do número total de eritrócitos em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas
 NOTA: O grupo 2,5 mg/L de CM apresentou um aumento ($p < 0,05$) em relação ao grupo 1,5 mg/L, os quais apresentaram uma média de $145,8 \pm 17,89$ células por μL de sangue e $122,3 \pm 18,99$ células por μL de sangue, respectivamente.

Com relação ao número total dos leucócitos, o grupo 2,5 mg/L de CM apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo 0 mg/L, conforme mostra a Figura 4.

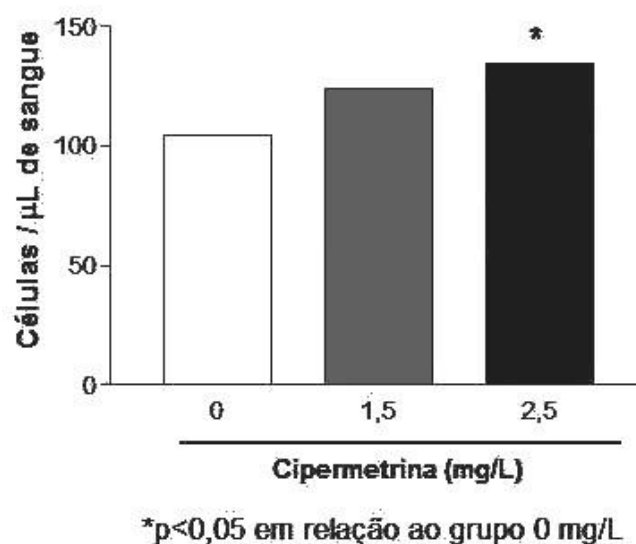


Figura 4 - Média do número de leucócitos totais em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas
 NOTA: O grupo 2,5 mg/L de CM apresentou uma média de $134,7 \pm 21,50$ células por μL de sangue, apresentando aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo 0 mg/L, que apresentou uma média de $104,9 \pm 28,8$ células por μL de sangue.

Na contagem diferencial dos leucócitos, houve uma tendência de aumento nos números de neutrófilos conforme os animais foram expostos às concentrações mais altas de CM, porém as alterações não foram significativas. Os valores de neutrófilos obtidos para os grupos 0; 1,5 e 2,5 mg/L foram $8,00 \pm 3,86 \%$; $9,00 \pm 7,43 \%$ e $10,67 \pm 2,30 \%$, respectivamente.

Na contagem diferencial de células nucleadas, ou seja, trombócitos e leucócitos, o número de trombócitos dos peixes do grupo 1,5 mg/L de CM mostrou-se aumentado ($p < 0,05$) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L de CM (Figura 5).

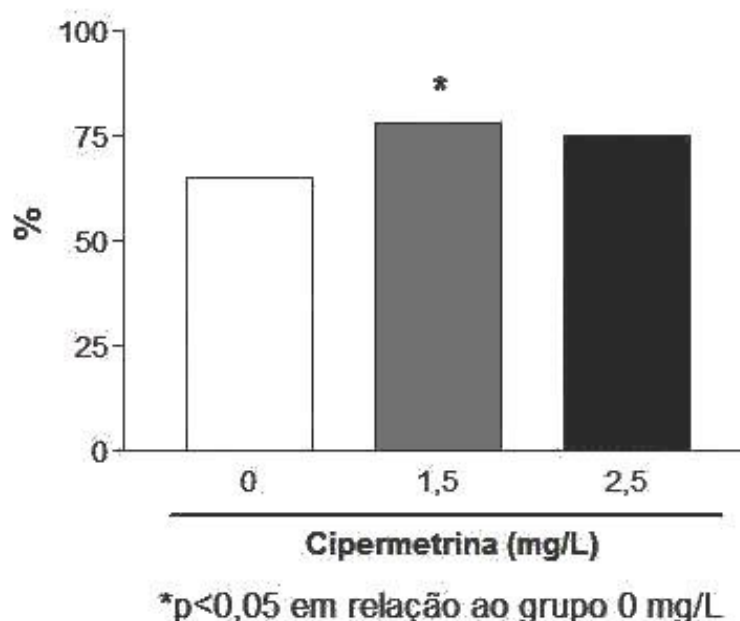


Figura 5 - Média do número de trombócitos na contagem diferencial de células nucleadas em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas

NOTA: O número de trombócitos dos peixes do grupo 1,5 mg/L de CM mostrou-se aumentado ($p < 0,05$) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L de CM, apresentando uma média de $78,00 \pm 10,65 \%$ e $65,00 \pm 10,14 \%$, respectivamente.

No entanto, para o número total de trombócitos, os peixes do grupo 2,5 mg/L de CM apresentaram-se com um valor aumentado ($p < 0,05$) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L de CM, conforme Figura 6.

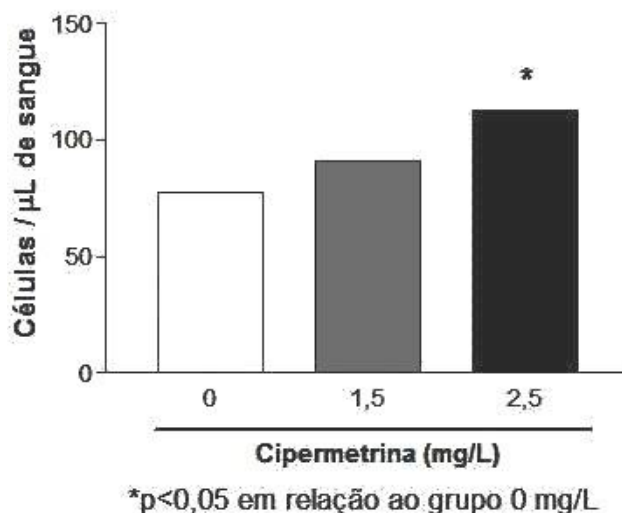


Figura 6 - Média do número total de trombócitos em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas
 NOTA: Os peixes do grupo 2,5 mg/L de CM apresentaram uma média de $112,7 \pm 29,18$ células por μL de sangue, com um valor aumentado ($p<0,05$) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L de CM que apresentaram uma média de $77,64 \pm 21,80$ células por μL de sangue.

Não houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos analisados com relação aos parâmetros neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos, células imaturas e proteína plasmática.

3.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Após 96 horas de exposição à CM, os peixes dos grupos 1,5 e 2,5 mg/L apresentaram uma diminuição significativa ($p<0,05$ e $p<0,01$, respectivamente) nos valores da enzima Alanina Aminotransferase (ALT) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L de CM, conforme Figura 7.

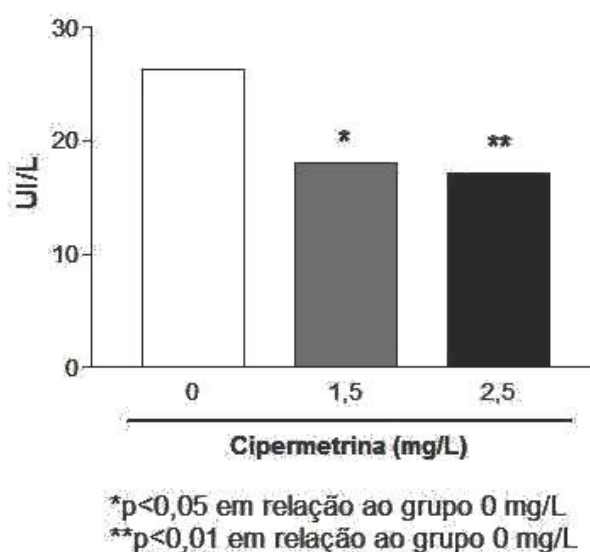


Figura 7 - Média dos valores de alanina aminotransferase (ALT) em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas
 NOTA: Os peixes dos grupos 1,5 e 2,5 mg/L apresentaram uma diminuição significativa ($p<0,05$ e $p<0,01$, respectivamente) nos valores da enzima Alanina Aminotransferase (ALT) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L de CM, apresentando uma média de $18,11 \pm 4,83$ U/L; $17,11 \pm 5,80$ U/L e $16,33 \pm 6,08$ U/L, respectivamente.

Os peixes expostos a concentração mais alta de CM (2,5 mg/L) apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) no valor da Aspartato Aminotransferase (AST) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L (Figura 8).

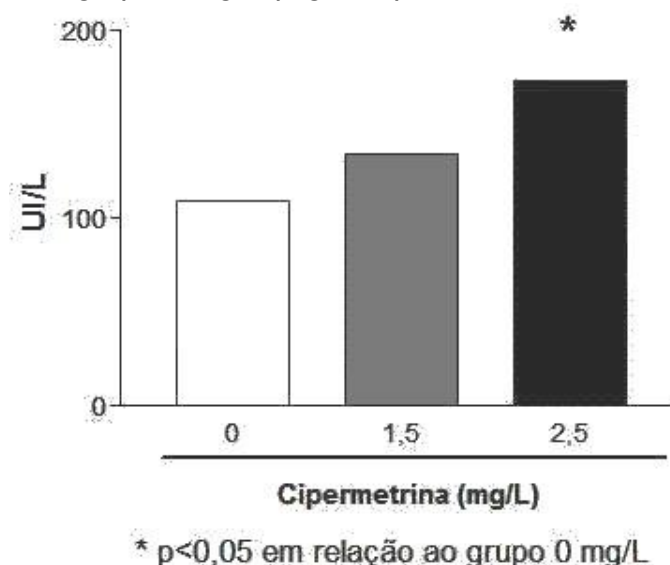


Figura 8 - Média dos valores de aspartato aminotransferase (AST) em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas

NOTA: Os peixes expostos a concentração mais alta de CM (2,5 mg/L) apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) no valor da Aspartato Aminotransferase (AST) em relação aos peixes do grupo 0 mg/L, os quais apresentaram uma média de $173,0 \pm 49,34$ UI/L e $109,4 \pm 33,92$ UI/L, respectivamente.

Em relação à fosfatase alcalina (FA), pode-se observar redução significativa ($p < 0,01$ e $p < 0,001$) nos peixes expostos a CM (1,5 e 2,5 mg/L) em relação ao grupo 0 mg/L, à medida que aumenta a concentração de CM, aumenta a redução dos valores de FA, conforme Figura 9.

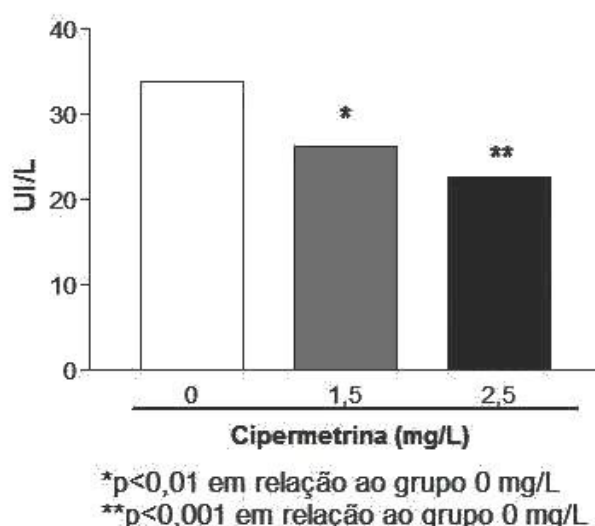


Figura 9 - Média dos valores da fosfatase alcalina (FA) em jundiás expostos à cipermetrina por 96 horas

NOTA: Observa-se redução significativa ($p < 0,01$ e $p < 0,001$) nos peixes expostos a CM (1,5 e 2,5 mg/L) em relação ao grupo 0 mg/L, à medida que aumenta a concentração de CM, aumenta a redução dos valores de FA. Os grupos 0; 1,5 e 2,5 apresentaram um média de $33,83 \pm 5,09$ UI/L; $26,40 \pm 2,36$ UI/L e $22,75 \pm 5,41$ UI/L, respectivamente.

Em relação a Albumina e a Gama Glutamiltransferase (GGT) não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos.

4 DISCUSSÃO

Quando os animais, em geral, são expostos a diferentes substâncias consideradas potencialmente tóxicas, várias alterações endógenas podem ocorrer. No presente estudo, os animais expostos às concentrações de 1,5 e 2,5 mg/L de CM apresentaram alterações comportamentais como: perda de equilíbrio, alteração na natação, dispnéia mantendo a boca e os opérculos abertos, nadados verticais e movimentos súbitos de natação em forma de espiral. Esses resultados corroboram com Polat et al. (2002), Yilmaz et al. (2004) quando testaram a cipermetrina em guppies (*Poecilia reticulata*); Borges (2005) e Borges (2007) quando testaram a cipermetrina em jundiá (*Rhamdia quelen*) e Kumar et al. (2007) que em seus estudos, ao exporem *Channa punctatus* a cipermetrina, também relataram estas alterações.

Ainda Viran et al. (2003), Tramuja et al. (2006) e Galeb (2010) quando testaram a deltametrina em guppies (*Poecilia reticulata*), peixe-zebra (*Danio rerio*) e jundiá (*Rhamdia quelen*), respectivamente, também observaram alterações neurológicas e respiratórias.

Baser et al. (2003) e Selvi et al. (2008) também citaram as alterações neurológicas e respiratórias em seus estudos quando testaram a permetrina e a ciflutrina, respectivamente, em guppy (*Poecilia reticulata*).

Ranzani-Paiva et al. (1997) ao expor curimatá (*Prochilodus scrofa*) a organofosforado (Trichlorfon) relatou as mesmas alterações encontradas no presente estudo.

Em todos os estudos relacionados à CM citados acima, independente da espécie exposta, foram utilizadas concentrações menores a utilizadas neste estudo (1,5 e 2,5 mg/L), mostrando que a espécie utilizada se mostrou mais resistente que as testadas por estes autores. Borges (2007) com o uso de CM em jundiá (*Rhamdia quelen*) obteve os mesmos tipos de resposta a deste estudo, porém utilizando concentrações bem menores a utilizada neste estudo (0,08 a 0,24 ppm). Esta

diferença pode estar relacionada ao sexo e tamanho dos animais, pois Borges utilizou animais machos com pesos e medidas maiores aos utilizados neste estudo. Ainda pode estar relacionado à própria toxicidade da formulação do princípio ativo testado e ao tempo de aclimação menor que no presente estudo, considerado fator estressante aos animais.

Estas mudanças comportamentais clínicas podem ser atribuídas ao efeito neurotóxico dos piretróides pelo bloqueio dos canais de sódio e inibição dos receptores GABA nos filamentos nervosos, resultando em uma estimulação excessiva do sistema nervoso central que pode levar à hipóxia cerebral (EL-SAYED et al., 2007).

Viran et al. (2003) ao estudarem guppy (*Poecilia reticulata*) expostos a DM, em concentração de 10,80 µg/L, observaram que estes sinais clínicos iniciaram antes de completar uma hora de exposição condizente com o presente estudo. Em contra partida, nos estudos de Viran et al. (2003), concentrações abaixo de 4 µg/L de DM em guppy (*Poecilia reticulata*) fizeram com que as primeiras alterações comportamentais aparecessem após uma hora de exposição ao pesticida. Polat et al. (2002), observaram o início dos primeiros sinais clínicos em guppy (*Poecilia reticulata*) expostos a CM após a primeira hora de exposição ao piretróide em concentrações de 15 a 50 µg/L e em concentrações mais baixas, as alterações comportamentais se iniciaram após duas horas da exposição. Kumar et al. (2007), testaram CM nas concentrações 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 mg/L em *Channa punctatus*, os quais apresentaram os primeiros sinais clínicos após 3 horas de exposição.

Ranzani-Paiva et al. (1997), ao expor curimatá (*Prochilodus scrofa*) sob efeitos de organofosforados e Galeb (2010) jundiá sob efeitos da DM, observaram que os animais mudaram de pigmentação corpórea apresentando coloração esbranquiçada, resultado este observado no presente estudo, sendo mais perceptível nas alterações *post-mortem*, apresentando também pontos hemorrágicos e lesões ulceradas em todo o corpo. Estas alterações são decorrentes do efeito irritante da CM sobre organismos aquáticos.

No presente estudo, o grupo exposto à concentração de 2,5 mg/L de CM apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) na taxa de hematócrito em relação aos grupos expostos a concentrações mais baixas de CM. Fato este que corrobora com os autores Martins et al. (2004) ao testar estímulos consecutivos de estresse em tilapia (*Oreochromis niloticus*) e Velisek et al. (2007) ao expor truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) sob efeito da DM. Contudo os resultados encontrados por Ranzani-Paiva et al. (1997) que testaram o organofosforado triclorfon em curimatã (*Prochilodus scrofa*), Tavares-Dias et al. (2001) que induziram estresse agudo em tambaqui (*Colossoma macropomum*) e Dörürü e Girgin (2001) que testaram a CM em carpa (*Cyprinus carpio*), mostraram a taxa de hematócrito reduzida nos peixes após exposição.

Segundo Tavares-Dias et al. (2002), os valores de referência do hematócrito para o jundiá estão entre 17 a 34%, condizentes com o presente estudo no qual o grupo que não foi exposto a CM apresentou a taxa de hematócrito dentro destes valores (31,33%).

Borges (2007) e Velisek et al. (2007) relataram aumento da hemoglobina em jundiá (*Rhamdia quelen*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostos à CM e à DM, respectivamente, corroborando com os resultados deste estudo com jundiás expostos a concentração de 2,5 mg/L de CM em relação ao grupo exposto a concentração de 1,5 mg/L ($p < 0,01$). Em contrapartida, Dörücü e Girgin (2001) e Das e Mukherjee (2003) ao testarem a CM em carpa (*Cyprinus capio*) e carpa (*Labeo rohita*), respectivamente, e Saxena e Seth (2002) ao expor *Channa punctatus* sob efeito da CM, observaram uma redução na taxa de hemoglobina nos grupos expostos ao piretróide em relação ao grupo controle.

Segundo Tavares-Dias et al. (2002), o valor de referência para hemoglobina em jundiá está entre 4,95 e 9,09 g/dL, corroborando com o valor encontrado neste estudo no grupo livre de CM (5,24 g/dL).

No presente estudo, a contagem do número total de eritrócitos no grupo 2,5 mg/L de CM apresentou-se aumentada ($p < 0,05$) em relação ao grupo 1,5 mg/L.

Dörücü e Girgin (2001) e Saxena e Seth (2002) ao avaliarem os efeitos da cipermetrina sobre *Cyprinus capio* e *Channa punctatus*, respectivamente, relataram uma redução das células vermelhas nos animais expostos ao piretróide. Velisek et al. (2006) e Das e Mukherjee (2003) ao testar a CM em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e carpa (*Labeo rohita*), respectivamente, não relataram alteração nos valores de eritrócitos entre os grupos expostos ao composto químico e o grupo controle.

Velisek et al. (2007) ao exporem a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) à DM observaram aumento nos valores de eritrócitos. Martins et al. (2004) ao provocarem estímulos únicos e consecutivos de estresse em *Oreochromis niloticus* também relataram esta alteração.

Tavares-Dias et al. (2001) relataram diminuição no número de eritrócitos em tambaqui (*Colossoma macropomum*) após estes sofrerem estímulos de estresse agudo.

As alterações nas taxas de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos podem ser atribuídas ao mecanismo de reativação da eritropoese induzida pelo baço e fígado em resposta à hipóxia cerebral e estresses causados pelos piretróides (PIMPÃO, 2006; PIMPÃO et al., 2007).

No presente estudo, os jundiás expostos à concentração mais alta de CM apresentaram aumento ($p < 0,05$) na contagem total dos leucócitos em relação ao grupo livre de CM, condizente com os resultados encontrados por Das e Mukherjee (2003) ao testarem a CM em carpa (*Labeo rohita*) e Galeb (2010) que expos jundiá (*Rhamdia quelen*) sob efeito da DM. No entanto, Dörücü e Girgin (2001) e Velisek et al. (2006) ao testarem a CM em carpa (*Cyprinus capio*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), respectivamente, relataram diminuição dos leucócitos nos grupos intoxicados.

A leucocitose pode estar relacionada com o estímulo imunogênico em resposta aos efeitos da CM sobre os peixes.

Velisek et al. (2006) ao expor truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) sob efeito da CM, relataram redução na contagem total de trombócitos. A redução deste parâmetro está relacionada ao grau de estresse dos peixes no momento da coleta, já que o cortisol liberado durante o estresse é um importante causador de diminuição da quantidade e qualidade dos trombócitos (GALEB, 2010), resultados estes diferentes aos encontrados neste estudo. Não houve redução do número de trombócitos nem no grupo livre de CM, podendo ser explicado pelo fato de os peixes serem anestesiados no momento da coleta de sangue, pois o valor obtido no presente estudo está entre os valores considerados como referência para o jundiá (TAVARES-DIAS et al. 2002). O aumento ($p < 0,05$) do número de trombócitos no grupo exposto a maior concentração de CM (2,5 mg/L) em relação ao grupo 0 mg/L no presente estudo pode estar associado a uma resposta compensatória do organismo frente aos pontos hemorrágicos presentes no corpo dos animais. Estas células possuem fundamental importância na defesa orgânica e na hemostasia (SATAKE et al., 2009).

No presente estudo, após 96 horas de exposição à CM, os peixes apresentaram diminuição significativa ($p < 0,05$ para a concentração 1,5 mg/L de cipermetrina e $p < 0,01$ para a concentração 2,5 mg/L de cipermetrina) no valor obtido da Alanina Aminotransferase (ALT) em relação ao grupo 0 mg/L, indicativo de degradação hepática. Estes valores corroboram com os resultados encontrados nos estudos realizados por Borges (2007) ao expor jundiá (*Rhamdia quelen*) à CM e Velisek et al. (2007) e Galeb (2010) ao testarem a DM em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e jundiá (*Rhamdia quelen*), respectivamente. No entanto, David et al. (2004) e Begum (2005) ao testarem a CM em carpa (*Cyprinus carpio*) e bagre (*Clarias batrachus*), respectivamente, relataram um aumento dos valores de ALT nos animais expostos ao piretróide em relação ao grupo controle.

Foi observado aumento ($p < 0,05$) no valor do aspartato aminotransferase (AST) no presente estudo no grupo exposto a concentração de 2,5 mg/L de cipermetrina em relação ao grupo 0 mg/L, corroborando com David (2004), Begum

(2005) e Borges (2007) os quais testaram a CM em carpa (*Cyprinus carpio*), bagre (*Clarias batrachus*) e jundiá (*Rhamdia quelen*), respectivamente. Velisek et al. (2007) ao exporem truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) sob o efeito de DM também observou aumento na AST. Porém, Galeb (2010) ao expor jundiá (*Rhamdia quelen*) em DM relatou redução nos valores de AST.

O aumento na atividade do aspartato aminotransaminase está relacionado ao parênquima hepático e sugere um reforço no catabolismo protéico e danos hepatocelular no organismo (BEGUM, 2005). O que acaba sendo esperado como resposta dos organismos que estão sob efeito de intoxicação aguda.

Os valores de fosfatase alcalina (FA) nos jundiás expostos à CM nas concentrações 1,5 e 2,5 mg/L reduziram ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente) em relação ao grupo 0 mg/L. Resultados estes que corroboram com os encontrados pelos autores Das e Mukherjee (2003) e Velisek et al. (2006) os quais testaram a CM em carpa (*Labeo rohita*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), respectivamente. Galeb (2010) ao expor jundiá (*Rhamdia quelen*) em DM também observou uma redução nos níveis de FA. Em contrapartida Borges (2007) e Saha e Kaviraj (2009) ao expor jundiá (*Rhamdia quelen*) e catfish (*Heteropneustes fossilis*), respectivamente, sob efeitos da CM relataram um aumento da FA em seus estudos. Redução nos níveis de FA pode estar relacionada com a destruição da membrana celular dos hepatócitos demonstrando insulto tóxico (GALEB, 2010).

As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são as aminotransferases mais importantes relacionadas ao metabolismo de aminoácidos no fígado de peixes teleósteos (COZ-RAKOVAC, 2008). Já a fosfatase alcalina (FA) e a gama glutamiltransferase (GGT) são enzimas importantes para detectar destruição da membrana celular dos hepatócitos (KRAMER e HOFFMANN, 1997). Não é conhecida, em peixes, a existência de isoenzimas da FA semelhantes às encontradas em mamíferos (HUBREC et al., 2001).

As demais análises realizadas neste estudo, como proteína plasmática, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos (células granulocíticas especiais), células

imaturas, albumina e gama glutamiltransferase (GGT) não apresentaram alteração significativa entre os tratamentos testados.

5 CONCLUSÃO

A CM provocou alterações bioquímicas significativas mostrando um comprometimento hepático no jundiá em resposta tecidual à exposição ao referido inseticida.

O jundiá (*Rhamdia quelen*) se apresentou mais resistente sob os efeitos dos piretróides quando comparados com outras espécies de peixes, porém a CM pode ser considerada tóxica para a espécie estudada, pois os animais apresentaram alterações comportamentais, sinais clínicos, alterações hematológicas e bioquímicas evidentes no presente estudo, as quais condizem com intoxicação, além da mortalidade parcial observada.

Esses efeitos mostram a grande importância nos cuidados que devem ser tomados no manuseio desses produtos, já que a utilização inadequada pode representar grande impacto ambiental conforme a frequência e a concentração destas exposições.

6 REFERÊNCIAS

- BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; RODRIGUES, L. B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R. M.; CERICATO, L.; CONRAD, J.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; LACERDA, L. A.; TERRA, S. Haematological and biochemical characteristics of male Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, n. 34, p. 1465-1469, 2003.
- BASANTA KUMAR das; SUBHAS, Chandra Mukherjee. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Elsevier. Comparative Biochemistry and Physiology**, part c, n. 134, p. 109-121, 2003.
- BASER, S.; ERKOÇ, F.; SELVI, M.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 51, p. 469-474, 2003.
- BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response. **Aquatic Toxicology**, n. 66, p. 83-92, 2004.
- BEGUM, G. In vivo biochemical changes in liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 82, p. 185-196, 2005.
- BERNARDI, M. M.; MORAES, R. C.; VAROLI, F. M. F.; OSTI, S. C. Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. de S.; GÓMIAS, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. 942 p.
- BORGES, A. Changes in hematological and serum biochemical values in Jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cipermetrin. **Chemosphere**, v. 69, p. 920-926, 2007.
- BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses sub-letais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá *Rhamdia quelen***. Porto Alegre, 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.
- ÇALISKAN, M.; ERKMEN, B.; YERLI, S. V. The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lebistes reticulatus*. **Elsevier. Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 14, p. 117-120, 2003.
- CENGİZ, E. I.; UNLU, E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 21, p. 246-253, 2006.
- COZ-RAKOVAC, R.; SMUC, T.; TOPIC POPOVIC, N.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; HACMANJEK, M.; JADAN, M. Novel methods for assessing fish blood biochemical data. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 24, p. 77-80, 2008.
- DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 134, p. 109-121, 2003.

DAVID, M.; MUSHIGERI, S. B.; SHIVAKUMAR, R.; PHILIP, G. H. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. **Chemosphere**, v. 56, p. 347-352, 2004.

DÖRÜCÜ, M.; GIRGIN, A. The effect of cypermethrin on some haematological parameters of *Cyprinus capio*. **Aquaculture International**, v. 9, p.183-187, 2001.

EL-SAYED, Y. S.; SAAD, T. T.; EL-BAHR, S. M. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 24, p. 212-217, 2007.

GALEB, L. A. G. **Avaliação dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Curitiba, 2010. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2010.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.

GOMIERO, L. M.; SOUZA, U. P.; BRAGA, F. M. S. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. **Biota Neotropical**, v. 7, n. 3, p. 127-133, set. 2007.

HUBREC, T. C.; SMITH, S. A.; ROBERTSON, J. L. Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *Morone saxatilis*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 30, n. 1, p. 8-15, 2001.

JAENSSON, A.; SCOTT, A. P.; MOORE, A.; KYLIN, H.; OLSÉN, K. H. Effects os a pyrethroid pesticide on endocrine responses to female odours and reproductive behavior in male parr of brown trout (*Salmo trutta* L.). **Aquatic Toxicology**, n. 81, p. 1-9, 2007.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí, SP**. Piracicaba, 2004. 138 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agossismtemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 2004.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzymology. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W. and BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. ed. California: Academic Press, 1997. p. 315.

KUMAR, A.; SHARMA, B.; PANDEY, R. S. Preliminary evaluation os the acute toxicity of cypermethrin and α -cyhalothrin to *Channa punctatus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, n. 79, p. 613-616, 2007.

LERMEN, C. L.; LAPPE, R.; CRESTANI, M.; VIEIRA, V. P.; GIODA, C. R.; SCHITINGER, M. R. C.; BALDISSEROTTO, B.; MORAES, G.; MORSCH, V. M. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters os silver catfish *Rhamdia quelen*. **Elsevier, Aquaculture**, n. 239, p. 497-507, 2004.

MARTINS, M. L.; PILARSKY, F.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T.; FENERICK JR., J.; RIBEIRO, K.; MYIAZAKI, D. M. Y.; CASTRO, M. P.; MALHEIROS, E. B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes:

cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 30, n.1, p. 71-80, 2004.

MASSARO, F. C. **Estudos ecotoxicológicos com *Hydra viridissima* (Cnidaria: Hydrozoa)**. São Carlos, 2006. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

MOORE, A.; WARING, C. P. The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). **Aquatic Toxicology**, v. 52, p. 1-12, 2001.

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe *Rhamdia quelen***: estudo bioquímico, hematológico e histopatológico. Curitiba, 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PIMPÃO, C. T. **Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo**: estudo bioquímico e imunotóxico. Curitiba, 2006. 163 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, 2006.

PIMPÃO, C. T.; ZAMPRONIO, A. R.; SILVA DE ASSIS, H. C. Effects os deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 122-127, 2007.

POLAT, H.; ERKOÇ, F. U.; VIRAN, R.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 49, p. 39-44, 2002.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; RODRIGUES, E. L.; EIRAS, A. C.; VEIGA, M. L.; PACHECO, F. J. Alterações hematológicas em curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881, exposto ao dipterex 500 (Trichlorfon). **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 24 (especial), p. 187-196, 1997.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ROMAGOSA, E.; ISHIKAWA, C. M. Hematological parameters of “cachara”, *Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766 (Osteichthyes, pimelodidae), Reared in captivity. **Boletim Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 47-53, 2005.

RODRIGUES, B. K. **Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae)**. São Carlos, 2007. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

SAHA, S.; KAVIRAJ, A. Effects os cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation os ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. **Chemosphere**, v. 74, p. 1254-1259, 2009.

SAXENA, K. K.; SETH, N. Toxic effects os cypermethrin on certain hematological aspects of fresh water fish *Channa punctatus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, p. 364-369, 2002..

SELVI, M.; SARIKAYA, R.; ERKOÇ, F.; KOÇAK, O. Acute toxicity of the cyfluthrin pesticide on guppy fish. **Environmental Chemistry Letters**, 2008.

SINGH, P. B.; SINGH, V. Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17 β and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Chemosphere**, v. 72, p. 422- 431, 2008.

TAVARES-DIAS, M.; MELO J. F. B.; MORAES, G.; MORAES, F. R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do Jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.4, p. 693-698, 2002.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E. F. S.; MORAES, F. R.; CARNEIRO, P. C. F. Physiological responses of "Tambaqui" *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 43-48, 2001.

TRIPATHI, P. K.; SINGH, A. Toxic effects of cypermethrin and alphamethrin on reproduction and oxidative embolism of the freshwater snail, *Lymnaea acuminata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 58, p. 227- 235, 2004.

VELISEK, J.; JURCIKOVÁ, J.; DOBSIKOVÁ, R.; SVOBODOVÁ, Z.; PIACKOVÁ, V.; MÁCHOVÁ, J.; NOVOTNY, L. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 297-301, 2007.

VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; DOBSIKOVA, R.; NOVOTNY, L.; DUDZIK, M. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinarni Medicina**, v. 51, n. 10, p. 469-476, 2006.

VIRAN, R.; ERKOÇ, F. R.; POLAT, H.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, p. 82-85, 2003.

YILMAZ, M.; GUL, A.; ERBASLI, K. Acute toxicity of alpha-cypermethrin to guppy (*Poecilia reticulata*, Pallas, 1859). **Chemosphere**, v. 56, p. 381-385, 2004.

CAPÍTULO 4

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SUBLETAL NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E AVALIAÇÃO DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO, ECLOSÃO E SOBREVIVÊNCIA EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A CIPERMETRINA E A DELTAMETRINA

*(Determination of sublethal concentration on embryonic development and evaluation of the rate of fertilization, outbreak and survival in catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to cypermethrin and deltamethrin)*

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SUBLETAL NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E AVALIAÇÃO DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO, ECLOSÃO E SOBREVIVÊNCIA EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A CIPERMETRINA E A DELTAMETRINA

(Determination of sublethal concentration on embryonic development and evaluation of the rate of fertilization, outbreak and survival in catfish (Rhamdia quelen) exposed to cypermethrin and deltamethrin)

Francisco Pizzolato Montanha¹; Luciana do Amaral Gurgel Galeb²;
Luciana Nakaghi Ganeco³; Tiago Penna Pereira⁴; Anne Tanaka⁵;
Peter Gaberz Kirschnik⁶; Cláudia Turra Pimpão⁷

¹Mestrado em Ciência Animal - PUCPR; médico veterinário,
chicopm28@yahoo.com.br;

²Médica Veterinária,
lucianagaleb@hotmail.com;

³Pesquisadora do Centro de Produção e Propagação de
Organismos Marinhos (CPPOM - PUCPR), Zootecnista,
lganeco@yahoo.com.br;

⁴Acadêmico de Medicina Veterinária - PUCPR,
tiagopenna@gmail.com;

⁵Acadêmica de Medicina Veterinária - PUCPR,
annetamy@gmail.com;

⁶Docente – PUCPR,
peter.k@pucpr.br;

⁷Professora Titular - PUCPR; Médica Veterinária,
claudia.pimpao@pucpr.br

RESUMO- O presente estudo teve o objetivo de determinar a concentração subletal da cipermetrina e da deltametrina durante o período inicial do desenvolvimento embrionário e verificar suas respectivas taxas de eclosão e sobrevivência sob exposição aos pesticidas em uma espécie de peixe fluvial nativo da região sul do Brasil, o *Rhamdia quelen* (jundiá). Para isso foi realizada a indução da ovulação em fêmeas de jundiá através de hormônios, com posterior coleta dos ovos. Os ovos foram hidratados e fertilizados em soluções de cipermetrina e deltametrina em diferentes concentrações, sendo estas: 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 e 10,0 mg/L para cipermetrina e 0,001; 0,01; 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L para deltametrina, além do grupo controle (0 mg/L). Após a fertilização, os ovos permaneceram em recipientes com os respectivos pesticidas até o momento da eclosão onde foi analisada a taxa de eclosão. Em seguida as larvas, a partir da eclosão dos ovos, foram mantidos nas respectivas concentrações de cipermetrina e deltametrina para analisar a taxa de sobrevivência frente aos inseticidas testados, durante 12 e 24 horas. Os resultados obtidos mostraram que tanto a cipermetrina como a deltametrina diminuíram significativamente os parâmetros analisados em comparação com o grupo controle.

Conclui-se que estes pesticidas podem influenciar o desenvolvimento embrionário, a taxa de eclosão e sobrevivência da espécie estudada.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Piretróides. Pesticidas. Desenvolvimento embionário. Peixes.

ABSTRACT- This study aimed to determine the sublethal concentration of cypermethrin and deltamethrin during the early period of embryonic development and check their rates of hatching and survival under exposure to pesticides in a river fish species native to Southern Brazil, jundiá (*Rhamdia quelen*). This study was conducted to induce ovulation in female catfishes through hormones, with subsequent collection of eggs. The eggs were fertilized and hydrated in solutions of cypermethrin and deltamethrin at different concentrations, which were: 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 and 10.0 mg/L for cypermethrin and 0.001, 0.01, 0, 1, 0.5 and 1.0 mg/L for deltamethrin, and the control group (0 mg/L). After that already fertilized eggs were kept in containers with their homemade pesticides until the outbreak was analyzed where the rate of egg hatching. Then the fry from the hatching of eggs, were kept with appropriate concentrations of cypermethrin and deltamethrin to analyze the survival rate compared to these insecticides tested for 12 and 24 hours. The results showed that both the cypermethrin and deltamethrin decreased significantly the parameters analyzed in comparison with the other groups. It is concluded that the pesticides cypermethrin and deltamethrin may influence the embryonic development, hatching rate and survival of this species.

Keywords: Ecotoxicology. Pyrethroids. Pesticides. Embryonic Development. Fish.

1 INTRODUÇÃO

Recentemente, novos pesticidas foram desenvolvidos com potencial de uso generalizado no ambiente. Estes inseticidas tendem a ser tóxicos para peixes e outros organismos aquáticos. Muitos produtos que contenham cipermetrina são classificados como "pesticidas de uso limitado" pela Agência de Proteção Ambiental, devido à toxicidade para os peixes (AYDIN et al., 2005).

O *Rhamdia quelen*, peixe conhecido como jundiá é encontrado desde o sul do México até o centro da Argentina, habita lagos e rios (BALDISSEROTTO; RADÜNZ NETO, 2004; SALHI et al., 2004).

Fêmeas de *Rhamdia quelen* respondem bem à gonadotrofina coriônica humana (HCG), pois doses de 100 a 400 U.I./Kg são suficientes para provocar a desova. Conforme a temperatura da água varia o tempo de eclosão dos ovos. Na temperatura de 16°C, a eclosão ocorre em torno de 3 dias, e com 24°C a eclosão demora em torno de 24 horas (GOMES et al., 2000).

A reprodução em peixes, como em outros vertebrados, é afetada por fatores ambientais, sociais e nutricionais (BALDISSEROTTO; RADÜNZ NETO, 2004; NAVAS et al., 1998). O desenvolvimento embrionário e larval é influenciado por fatores ambientais como temperatura e turbulência da água (GOMES et al., 2000).

Os piretróides são inseticidas sintéticos que apresentam amplo espectro de atividade, ação rápida, eficiência em baixa dose, baixo poder residual e baixa toxicidade para mamíferos comparada a outros inseticidas. No entanto, estes pesticidas são altamente tóxicos em organismos aquáticos (WHO, 1990; BARRIONUEVO; LANÇAS, 2001; GONZÁLES-DONCEL et al., 2003). A deltametrina está listada como desregulador endócrino, podendo interferir no sistema reprodutivo. Segundo a United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2002) os agentes químicos capazes de interferir no sistema endócrino são correntemente designados de desreguladores endócrinos (TRAMUJAS et al., 2006).

Os efeitos dos poluentes sobre ecossistemas naturais podem ser aferidos pelos efeitos dos poluentes sobre processos reprodutivos (TRIPATHI; SINGH, 2004).

Existem poucos dados a respeito do potencial de efeitos subletais dos pesticidas sobre a reprodução e a viabilidade em longo prazo nas populações de peixes (MOORE; WARING, 2001).

A fecundidade, o período e o tipo de desova são características específicas essenciais para a manutenção de qualquer espécie de peixe (GOMIERO et al., 2007). A reprodução em peixes, como em outros vertebrados, é afetada por fatores ambientais, sociais e nutricionais (PARRA et al., 2008). Os parâmetros reprodutivos são os indicadores mais complexos de exposição e acumulação de agentes químicos, dificultado por diversas razões, sendo as duas principais: os efeitos dos poluentes na reprodução ocasionados direta e indiretamente e o processo fisiológico (BERNARDI et al., 2008).

Recentemente, grande atenção tem sido dada aos possíveis efeitos adversos decorrentes da exposição de animais aquáticos a agentes químicos durante as fases pré e perinatal (TRAMUJAS et al., 2006). Diversos xenobióticos são conhecidos por afetar a reprodução em vários organismos. Por esta razão, é importante avaliar as respostas destes compostos com relação aos parâmetros reprodutivos (MAYON et al., 2006).

Moore e Waring (2001) relataram redução da taxa de fertilização em salmão do atlântico (*Salmo salar*) após exposição aos piretróides. Tramujas (2005) relatou redução na taxa de eclosão de ovos do peixe zebra (*Danio rerio*) expostos à deltametrina. Rodrigues (2007) relatou eclosão prematura em *Danio rerio* expostos ao DDT, com consequente redução da taxa de sobrevivência. Porém, Tramujas et al. (2006) ao expor peixe zebra (*Danio rerio*) à deltametrina não observou alteração na taxa de eclosão em relação ao grupo controle. Saravana e Geraldine (2000), Aydin (2005) e Rodrigues (2007) relataram redução na taxa de sobrevivência de camarão (*Macrobrachium malcomsonii*) sob efeito do inseticida endosulfan, carpa (*Cyprinus*

carpio) expostas a cipermetrina e em peixe zebra (*Danio rerio*) expostos ao DDT, respectivamente.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a concentração subletal da cipermetrina e da deltametrina durante o período inicial do desenvolvimento embrionário do *Rhamdia quelen* (jundiá) e verificar suas respectivas taxas de fertilização, eclosão e sobrevivência.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os jundiás, *Rhamdia quelen*, foram produzidos no Laboratório de Piscicultura e Pesquisa (LAPEP) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) onde foram realizados os experimentos. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética com Uso de Animais - CEUA/PUCPR (protocolo número 439).

Os peixes foram induzidos à reprodução através de aplicação de hipófise de carpa comum de acordo com as técnicas de Woynarovich e Horvath (1983). Após 24 horas da indução, foram retirados os ovócitos das fêmeas (n=7) e coletado o sêmen dos machos (n=3). Foram misturados os ovócitos de todas as fêmeas e o sêmen coletado. Desta mistura foram coletados 50 mL de ovos para diferentes recipientes, os quais foram hidratados e fertilizados com diferentes concentrações de cipermetrina e deltametrina.

Após a hidratação com as diferentes concentrações de cipermetrina (0; 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 e 10,0mg/L) e deltametrina (0; 0,001; 0,01; 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L) os ovos fertilizados foram acondicionados em incubadoras com temperatura controlada (26-27°C) e aeração constante. Após 6 horas da fecundação foi determinada a taxa de fertilização com a retirada de 10 mL de ovos de cada incubadora. Estes foram colocados em placas de pétri para a contagem de ovos fertilizados e gorados. Para determinação desta taxa este processo foi realizado com seis repetições cada tratamento.

A etapa seguinte consistiu em separar 50 ovos viáveis dos ovos fertilizados, os quais foram colocados em recipientes de 500 mL identificados, contendo as mesmas concentrações de cipermetrina (0; 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 e 10,0 mg/L) e deltametrina (0; 0,001; 0,01; 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L). Esta etapa foi realizada com seis repetições para cada concentração.

Após 21 horas de incubação iniciou a eclosão dos ovos, ou seja, 27 horas após a fertilização de acordo com a metodologia descrita por Silva et al. (2004).

Nessa fase foi realizada a contagem dos ovos que eclodiram e os ovos gorados foram contados e descartados, calculando assim a taxa de eclosão.

Depois desta etapa, as larvas eclodidas foram mantidas por 12 horas nas suas respectivas concentrações de inseticidas para estimar a taxa de sobrevivência. Em seguida foram separadas as larvas vivas e mortas das diferentes concentrações e submetidas novamente a mais doze horas de exposição às respectivas concentrações dos inseticidas para avaliação da taxa de sobrevivência em 24 horas de exposição aos inseticidas.

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn's para comparação entre as médias. O nível de significância adotado foi 5% ($\alpha < 0,05$). Os cálculos foram realizados utilizando o Software estatístico GraphPad Prism version 3.00 for Windows, San Diego - Califórnia, EUA. Para a determinação da concentração subletal (CL_{50}) os cálculos foram realizados através do software tablecurve 2D, versão 5.01.

3 RESULTADOS

3.1 DELTAMETRINA

De acordo com a Figura 1 percebe-se que houve uma tendência de redução da taxa de fertilização dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais altas de DM, porém houve diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$) dos grupos com concentração de 0,01 e 0,1 mg/L em relação ao grupo 0 e 0,001 mg/L de DM.

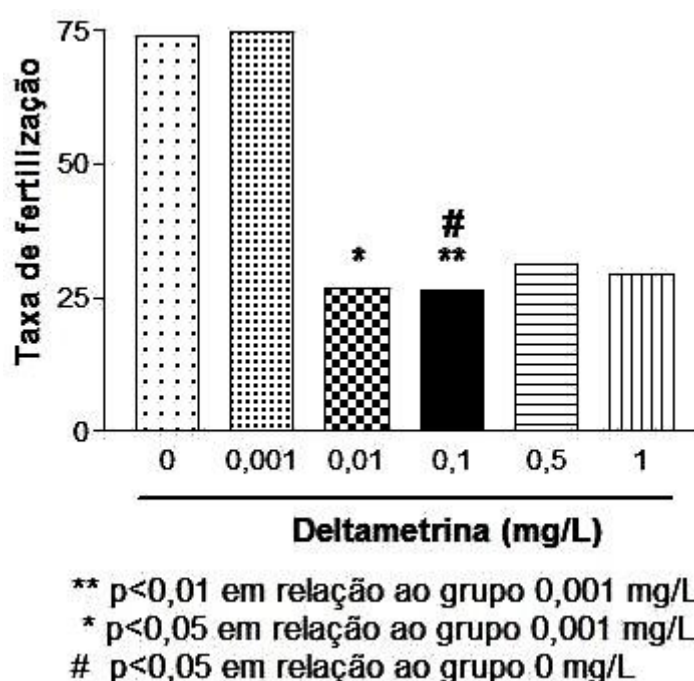


Figura 1 - Média dos valores da taxa de fertilização de ovos de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos à deltametrina

NOTA: Houve uma redução da taxa de fertilização dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais altas de DM, porém houve diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$) dos grupos com concentração de 0,01 e 0,1 mg/L de DM, apresentando uma média de $26,98 \pm 7,04$ e $26,33 \pm 6,71$, respectivamente de ovos fertilizados em relação ao grupo 0 e 0,001 de DM, os quais apresentaram uma média de $73,92 \pm 6,88$ e $74,98 \pm 15,65$, respectivamente.

De acordo com a Figura 2 constata-se que houve uma tendência de redução da taxa de eclosão dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais altas de DM. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) do grupo com concentração de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM em relação ao grupo 0 mg/L. Também houve diferença significativa ($p < 0,05$) dos grupos com concentração de 0,1; e 1,0 mg/L de DM em relação ao grupo 0,001 mg/L.

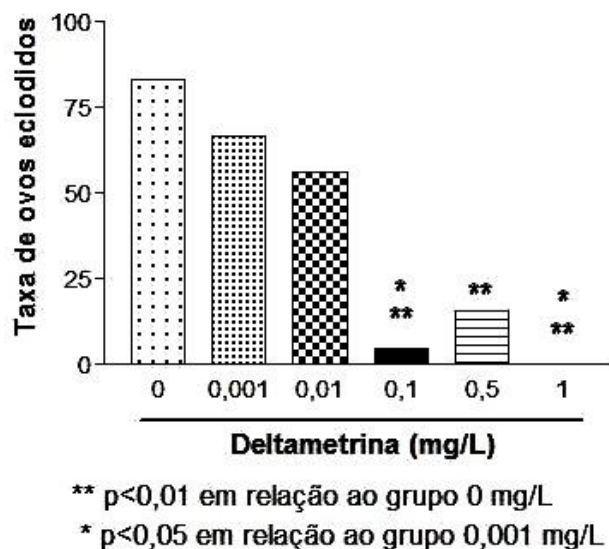


Figura 2 - Média dos valores da taxa de eclosão de ovos de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos à deltametrina

NOTA: Houve uma redução da taxa de eclosão dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais altas de DM. Houve diferença significativa ($p<0,01$) do grupo com concentração de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM apresentando uma média de $4,50 \pm 2,16$; $15,67 \pm 15,36$ e $0,33 \pm 0,81$, respectivamente em relação ao grupo 0 mg/L ($83,33 \pm 5,46$). Também houve diferença significativa ($p<0,05$) dos grupos com concentração de 0,1; e 1,0 mg/L de DM em relação ao grupo 0,001 mg/L, o qual apresentou uma média de $66,67 \pm 5,46$.

Na Figura 3 pode-se observar que houve uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas à medida que estas foram expostas a concentrações mais altas de DM no período de doze horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p<0,01$) do grupo com concentração de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM em relação aos grupos 0 mg/L.

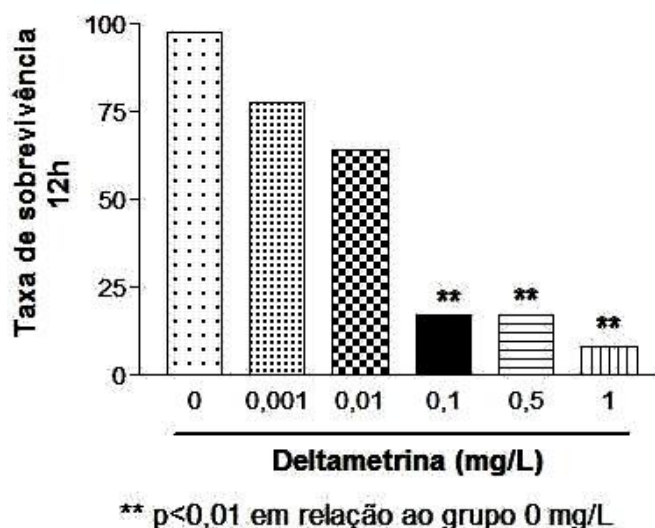


Figura 3 - Média dos valores da taxa de sobrevivência de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostas à deltametrina após 12 horas da eclosão

NOTA: Houve uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas à medida que estas foram expostas a concentrações mais altas de DM no período de doze horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p<0,01$) do grupo com concentração de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM em relação aos grupos 0 mg/L, os quais apresentaram uma média de $17,17 \pm 18,51$; $17,00 \pm 20,58$; $8,33 \pm 20,41$ e $97,80 \pm 2,03$, respectivamente

De acordo com a Figura 4 constata-se que houve uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas à medida que estes foram expostos a concentrações mais altas de DM no período de 24 horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) do grupo com concentração de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM em relação aos grupo 0 mg/L.

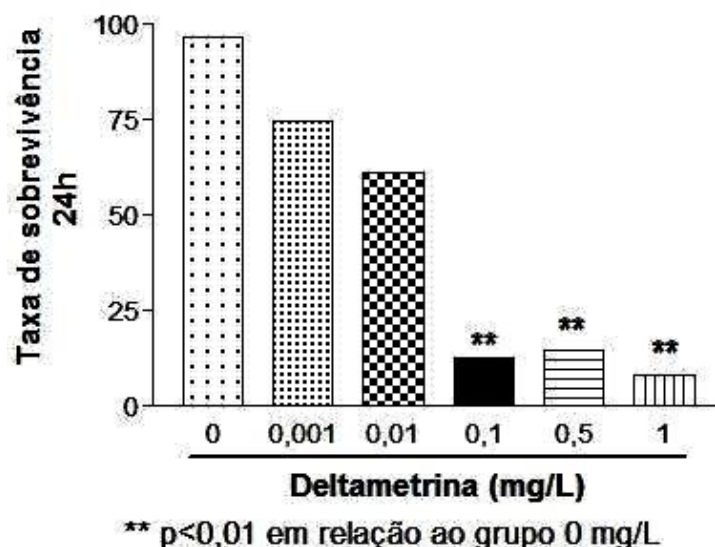


Figura 4 - Média dos valores da taxa de sobrevivência de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostas à deltametrina após 24 horas da eclosão

NOTA: Houve uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas à medida que estas foram expostas a concentrações mais altas de DM no período de 24 horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) do grupo com concentração de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM, apresentando uma média de $12,83 \pm 16,35$; $14,67 \pm 17,36$ e $8,33 \pm 20,41$, respectivamente em relação aos grupo 0 mg/L ($96,93 \pm 2,61$).

3.2 CIPERMETRINA

De acordo com a Figura 5 nota-se uma redução da taxa de fertilização dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais baixas de CM. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) dos grupos 0,001 e 0,1 mg/L em relação ao grupo 0 mg/L. Também houve diferença significativa ($p < 0,05$) do grupo 0,01 relação ao grupo 0 mg/L.

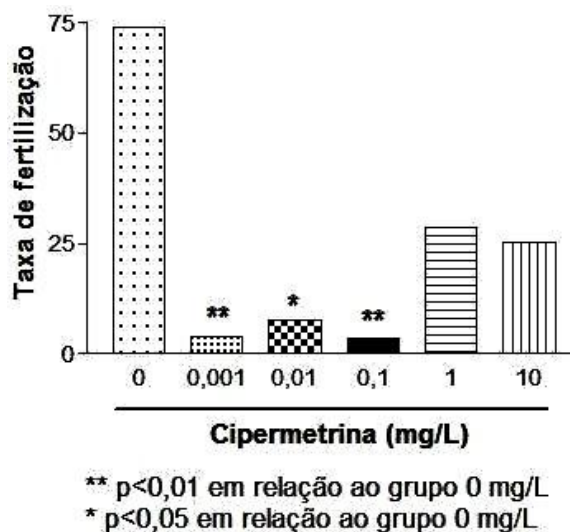


Figura 5 - Média dos valores da taxa de fertilização de ovos de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos à cipermetrina

NOTA: Houve uma redução da taxa de fertilização dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais baixas de CM. Houve diferença significativa ($p<0,01$) dos grupos 0,001 e 0,1 mg/L apresentando uma média de $4,03 \pm 3,92$ e $3,70 \pm 2,28$, respectivamente em relação ao grupo 0 mg/L ($73,92 \pm 6,88$). Também houve diferença significativa ($p<0,05$) do grupo 0,01 o qual apresentou uma média de $7,83 \pm 0,86$ em relação ao grupo 0 mg/L.

De acordo com a Figura 6 observa-se uma tendência de redução da taxa de eclosão dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais baixas de CM. Houve diferença significativa ($p<0,05$) dos grupos 0,001; 0,01 e 0,1 mg/L em relação ao grupo 0 mg/L.

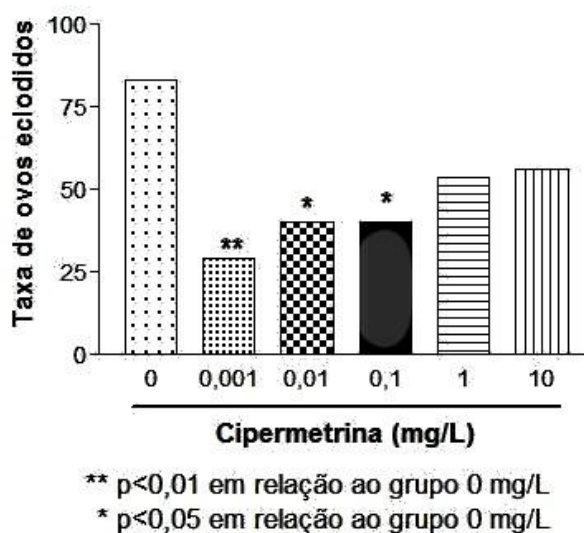


Figura 6 - Média dos valores da taxa de ovos eclodidos de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos à cipermetrina

NOTA: Observa-se uma tendência de redução da taxa de eclosão dos ovos à medida que estes foram expostos a concentrações mais baixas de CM. Houve diferença significativa ($p<0,05$) dos grupos 0,001; 0,01 e 0,1 mg/L, apresentando uma média de $29,33 \pm 3,72$; $40,33 \pm 6,62$ e $40,00 \pm 2,53$ em relação ao grupo 0 mg/L ($83,33 \pm 5,46$).

De acordo com a Figura 7 pode-se observar uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas de *Rhamdia quelen* expostas a concentração mais alta de CM por 12 horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) do grupo 10 mg/L de CM em relação ao grupo 0 mg/L de CM.

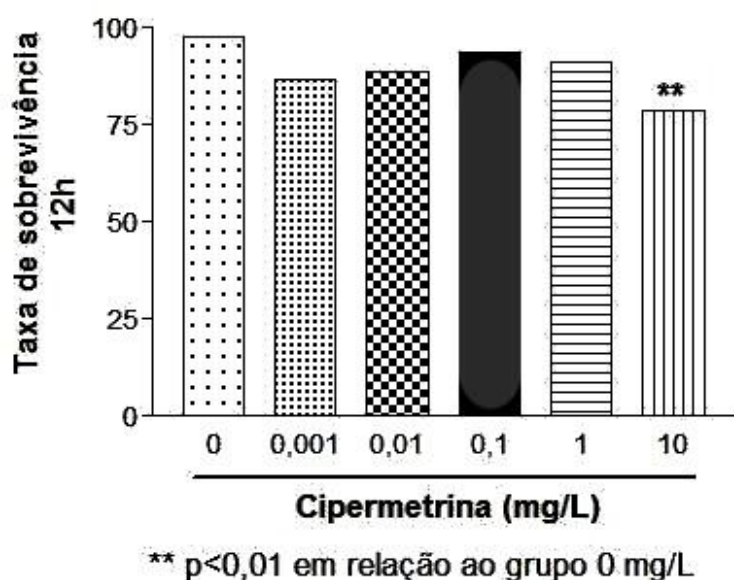


Figura 7 - Média dos valores da taxa de sobrevivência das larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostas à cipermetrina por 12 horas

NOTA: Houve uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas de *Rhamdia quelen* expostas a concentração mais alta de CM por 12 horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) do grupo 10 mg/L de CM, apresentando uma média de $78,95 \pm 11,02$ em relação ao grupo 0 mg/L de CM que apresentou uma média de $97,80 \pm 2,03$.

De acordo com a Figura 8 pode-se observar uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas de *Rhamdia quelen* expostas as concentrações 0,001 e 10 mg/L de CM por 24 horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) destes grupos em relação ao grupo 0 mg/L de CM.

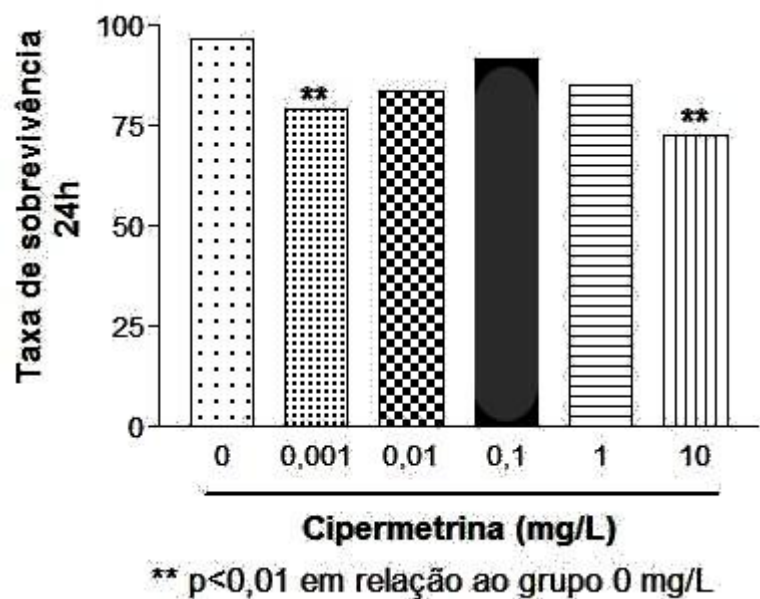


Figura 8 - Média dos valores da taxa de sobrevivência das larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos à cipermetrina por 24 horas.

NOTA: Houve uma tendência de redução da taxa de sobrevivência das larvas de *Rhamdia quelen* expostas as concentrações 0,001 e 10 mg/L de CM por 24 horas após a eclosão. Houve diferença significativa ($p<0,01$) destes grupos, os quais apresentaram uma média de $79,41 \pm 7,68$ e $72,52 \pm 14,14$, respectivamente em relação ao grupo 0 mg/L de CM que apresentou uma média de $96,93 \pm 2,61$.

4 DISCUSSÃO

Existem poucos dados a respeito do potencial de efeitos subletais dos pesticidas sobre a reprodução e a viabilidade em longo prazo nas populações de peixes (MOORE e WARING, 2001).

Recentemente, grande atenção tem sido dada aos possíveis efeitos adversos decorrentes da exposição de animais aquáticos a agentes químicos. Moore e Waring (2001) estudaram a exposição de ovos de salmão (*Salmo salar*) em CM e observaram que houve uma redução na taxa de fertilização quando comparado com o grupo controle, condizente com o resultado obtido neste estudo.

Tramujas (2005) ao testar DM em peixe zebra (*Danio rerio*) observou uma redução na taxa de eclosão dos ovos após exposição, conforme resultados obtidos no presente estudo. Rodrigues (2007) observou em seu estudo, uma eclosão prematura de ovos de peixe zebra (*Danio rerio*) após exposição ao DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano). Tramujas et al. (2006) não relatou alteração significativa na taxa de eclosão do peixe zebra (*Danio rerio*) após exposição à DM em concentrações subletais.

De acordo com os dados obtidos neste estudo, as concentrações 0,01 e 0,1 mg/L de DM se apresentaram tóxicas para a fertilização de ovos de jundiá. Já as concentrações 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM mostraram-se tóxicas nas taxas de eclosão e sobrevivência em 12 e 24 horas para ovos e larvas de jundiá.

A CM se mostrou tóxica para o jundiá na fase de desenvolvimento embrionário nas concentrações de 0,001; 0,01 e 0,1 mg/L em relação a taxa de fertilização e eclosão. Em relação a taxa de sobrevivência em 12 horas de exposição a CM após a eclosão, a concentração 10 mg/L se apresentou tóxica para as larvas de jundiá e em 24 horas, as concentrações de 0,001 e 10 mg/L.

Aydin (2005) e Rodrigues (2007) relataram mortalidade das larvas de carpas (*Cyprinus carpio*) expostas à CM e de peixe zebra (*Danio rerio*) expostos ao DDT, respectivamente após 12 horas de exposição. Ainda Saravana e Geraldine (2000),

ao expor camarão (*Macrobrachium malcomsonii*) ao endosulfan (organoclorado), também relataram uma redução na taxa de sobrevivência desta espécie.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com os resultados de Saravana e Geraldine (2000) que relataram que altas concentrações de DM apresentam um déficit para a sobrevivência dos organismos aquáticos.

Tramujas et al. (2006) relataram alterações em níveis histológicos nas gônadas de organismos aquáticos submetidos à diferentes concentrações de DM, o que poderá ser analisado em estudos futuros. Além disso, exposição à piretróides pode interferir no sistema reprodutivo, uma vez que estes agentes químicos são capazes de interferir no sistema endócrino.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, tanto a DM como a CM foram consideradas tóxicas para o jundiá na fase de desenvolvimento embrionário e fase larval.

As concentrações 0,01 e 0,1 mg/L de DM se apresentaram tóxicas para a fertilização de ovos de jundiá. Já as concentrações 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de DM mostraram-se tóxicas nas taxas de eclosão e sobrevivência em 12 e 24 horas para ovos e larvas de jundiá.

Em relação a CM, as concentrações de 0,001; 0,01 e 0,1 mg/L mostraram-se tóxicas para o jundiá na fase de desenvolvimento embrionário em relação a taxa de fertilização e eclosão. Em relação a taxa de sobrevivência em 12 e 24 horas, a concentração de 10 mg/L de CM se apresentou tóxica para os ovos e larvas de jundiá. A concentração de 0,001 mg/L de CM também se apresentou tóxica na taxa de sobrevivência em 24 horas.

6 REFERÊNCIAS

- AYDIN, R.; KOPRUCU, K.; DORUCU, M.; KOPRUCU, S. S.; PALA, M. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. **Aquaculture International**, n. 13, p. 451-458, 2005.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Editora UFSM, 2004. p. 67-71.
- BARRIONUEVO, R. W.; LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água. **Química Nova**, v. 24, p. 172- 175, 2001.
- BERNARDI, M. M.; MORAES, R. C.; VAROLI, F. M. F.; OSTI, S. C. Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. de S.; GÓMIAS, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. 942 p.
- GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 179 185, 2000.
- GOMIERO, L. M.; SOUZA, U. P.; BRAGA, F. M. S. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. **Biota Neotropical**, v. 7, n. 3, p. 127-133, set. 2007.
- MAYON, M.; BERTRAND, A.; LEROY, D.; MALBROUCK, C.; MANDIKI, S. N. M.; SILVESTRE, F.; GOFFART, A.; THOMÉ, J-P.; KESTEMONT, P. Multiscale approach of fish responses to different types of environmental contaminations: a case study. **Science of the Total Environmental**, v. 367, p. 715-731, 2006.
- MOORE, A.; WARING, C. P. The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). **Aquatic Toxicology**, v. 52, p. 1-12, 2001.
- NAVAS, J. M. et al. Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β - estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, v. 165, p. 65-79, 1998.
- PARRA, J. E. G.; NETO, J. R.; VEIVERBEG, C. A.; LAZZARI, R.; BERGAMIN, G. T.; PEDRON, F. A.; ROSSATO, S. SUTILI, F. J. Alimentação de fêmeas de Jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2011-2017, out, 2008.
- RODRIGUES, B. K. **Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae)**. São Carlos, 2007. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.
- SALHI, M. et al. Growth feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, v. 231, p. 435-444, 2004.
- SARAVANA B. P.; GERALDINE, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcomsonii* exposed to endosulfan. **Aquatic Toxicology**, v. 50, p. 331-339, 2000.

SILFVERGRIP, A. M. C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Stockholm, Stockholms Universitet, 1996. 156 p.

SILVA, L. V. F. et al. Reprodução. In: BALDISSEROTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: UFSM, 2004. p.95-106.

TRAMUJAS, F. F. **Avaliação dos efeitos reprodutivos de doses subletais de deltametrina em peixe zebra (*Danio rerio*)**. Curitiba, 2005. Universidade Federal do Paraná.

TRAMUJAS, F. F.; FÁVARO, L. F.; PAUKA, L. M.; SILVA DE ASSIS, H. C. Aspectos reprodutivos do peixe-zebra, *Danio rerio*, exposto a doses subletais de deltametrina. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2006. Printed in Brazil.

TRIPATHI, P. K.; SINGH, A. Toxic effects of cypermethrin and alphasmethrin on reproduction and oxidative embolism of the freshwater snail, *Lymnaea acuminata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 58, p. 227-235, 2004.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental health criteria 97 - deltamethrin**. Geneva: International Programme on Chemical Safety - IPCS, 1990.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. Brasília, DF: FAO/CODEVASF - CNPq, 1983. 220 p. (Manual de Extensão, 5).

Ficha catalográfica elaborada por:

Liliana Luisa Pizzolato

CRB 9ª/393

Montanha, Francisco Pizzolato

Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em jundiá (*Rhamdia quelen*) : fase adulta e desenvolvimento embrionário / Francisco Pizzolato Montanha. - São José dos Pinhais, 2010.

145 f.

Orientadora: Cláudia Turra Pimpão

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Setor de Ciências Agrárias e Ambientais. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Área de concentração: Ciência Animal,

Versão do título para o inglês: Toxicological effects of pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) in catfish (*Rhamdia quelen*): phase adult and embryonic development.

1. Ecotoxicologia. 2. Pesticidas. 3. Biomarcadores. 4. Peixes.
5. Inseticidas. I. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
II. Título.