

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**EFEITOS TÓXICOS DE INSETICIDAS PIRETRÓIDES SOBRE O
PEIXE TAMBAQUI (COLOSSOMA MACROPOMUM)**

FERNANDA DOS SANTOS CUNHA

ARACAJU-SE
DEZEMBRO - 2014

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**EFEITOS TÓXICOS DE INSETICIDAS PIRETRÓIDES SOBRE O
PEIXE TAMBAQUI (COLOSSOMA MACROPOMUM)**

Dissertação de Mestrado submetido à banca
examinadora como parte dos requisitos para
a obtenção do título de Mestre em Saúde e
Ambiente, na área de concentração Saúde e
Ambiente.

FERNANDA DOS SANTOS CUNHA

Orientadores:

Rodrigo Yudi Fujimoto, Dsc.

José Guedes de Sena Filho, Dsc.

ARACAJU-SE
NOVEMBRO, 2014

-
- Cunha, Fernanda dos Santos.
- C972e Efeitos tóxicos de inseticidas piretróides sobre o peixe tambaqui (*colossoma macropomum*). /Fernanda dos Santos Cunha; orientação [de] Prof. Dr. Rodrigo Yudi Fujomoto . Dr. José Guedes de Sena Filho. – Aracaju: UNIT, 2015.
54 p.; il.
- Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Tiradentes, 2015.
Inclui bibliografia.
1. Piretróides. 2. Tambaqui. 3. Ecotoxicologia. 4. Genotoxicidade. 5. Histopatologia. I. Fujomoto, Rodrigo Yudi. (orient.). II. Sena Filho, José Guedes de (orient.). III. Universidade Tiradentes. IV. Título.

CDU: 615.285.7: 639.219

**EFEITOS TÓXICOS DE INSETICIDAS PIRETRÓIDES SOBRE O PEIXE
TAMBAQUI (COLOSSOMA MACROPOMUM)**

FERNANDA DOS SANTOS CUNHA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDO À BANCA EXAMINADORA
PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM SAÚDE E AMBIENTE, NA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO SAÚDE E AMBIENTE.

Aprovada por:

Rodrigo Yudi Fujimoto, D.Sc.

Orientador

José Guedes de Sena Filho

Orientador

Silmara de Moraes Pantaleão, D.Sc.

Universidade Federal de Sergipe

Ricardo Luiz C. de Albuquerque Júnior, D.Sc.

Universidade Tiradentes

ARACAJU

JANEIRO-2015

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, meu anjo da guarda, Adauto Fernando.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Santa Terezinha por sempre me guiarem e nunca me abandonarem nos momentos mais difíceis desta caminhada.

Em especial, dedico toda esta vitória ao meu pai, meu anjo da guarda, Adauto Fernando (*in memoriam*). Ele foi o maior incentivador de todos os meus sonhos e sem ele, este não seria possível. Obrigada, pai!

Serei eternamente grata à minha melhor amiga, minha maior riqueza, minha mãe, Eliana. Ela foi a minha motivação neste mestrado. Obrigada, mãe, por todo carinho e amor!

Obrigada a minha família por estar presente nos meus momentos de vitória. Amo vocês.

Ao meu orientador Rodrigo Fujimoto por toda confiança, paciência e ensinamentos a mim transmitidos.

A José Guedes pela disponibilidade, incentivo e conselhos.

Aos professores Rubens Madi, Cláudia Moura, Silmara Pantaleão e Ricardo Albuquerque Jr. pelas colaborações nas bancas e aprendizados fora de aula. Obrigada.

A Embrapa Tabuleiros Costeiros, por toda estrutura para a realização do meu experimento e a todos meus amigos que lá fiz, por toda ajuda durante as minhas dificuldades e por todas as risadas, tornando essa caminhada mais alegre. Amo vocês!

Aos meus colegas de mestrado, em especial Taíssa, pela paciência e ajuda nos últimos e mais difíceis momentos do mestrado.

Aos meus fiéis amigos de longa data: Gicella, Bruna, Camila, Shirley, Kadja, Gustavo, Daniel e Carol, por entenderem minha ausência nos momentos mais divertidos e difíceis de vocês e, a Sté, por toda paz a mim transmitida, em forma de abraço. Amo muito cada um de vocês.

Por fim, agradeço a CAPES, pelo financiamento da bolsa e a todos os professores do Programa de Pós Graduação e Saúde e Ambiente.

SUMÁRIO

RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
2.1- Objetivo Geral	2
2.2- Objetivos Específicos	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3.1- Piretróides	2
3.2- Deltametrina	4
3.3- Esfenvalerato	4
3.4- Estudos Ecotóxicológicos	5
3.5- Estudos Toxicológicos de Piretróides em Peixes	6
3.6- Hematologia	7
3.7- Histologia	8
3.8- Importância Regional	9
4. MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1- Local de Estudo	10
4.2- Peixes	10
4.3- Toxicidade Aguda $Cl_{50-96\text{horas}}$	11
4.4- Qualidade de Água	12
4.5- Avaliação de Genotoxicidade	12
4.6- Análises Histopatológicas do Fígado e Brânquias	12
4.7- Análise Estatística	13
5- Referências	13
6. ARTIGO- Efeitos Histológicos e Genotóxicos nos Tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) expostos a concentrações letais e subletais de Deltametrina e Esfenvalerato.	14
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41

LISTA DE TABELAS

Classificação Toxicológica estabelecida por Zucker (1985) -----	6
Efeitos histopatológicos nas brânquias dos <i>Colossoma macropomum</i> expostos a diferentes concentrações de Deltametrina. (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa. -----	31
Efeitos histopatológicos nas brânquias dos <i>Colossoma macropomum</i> expostos a diferentes concentrações de Esfenvalerato. (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa. -----	31
Efeitos histopatológicos nos fígados dos <i>Colossoma macropomum</i> expostos a diferentes concentrações de Deltametrina. (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa. -----	33
Efeitos histopatológicos nos fígados dos <i>Colossoma macropomum</i> expostos a diferentes concentrações de Esfenvalerato (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa. -----	33

LISTA DE FIGURAS

Estrutura química básica dos Piretróides, mostrando os locais mais utilizados para modificar a molécula. -----	3
Estrutura química da Deltametrina. -----	4
Estrutura Química do Esfenvalerato. -----	4
Proximidade entre áreas agrícolas e estações de piscicultura. -----	10
Tanques para aclimação dos <i>Colossoma macropomum</i> . -----	11
Coleta do sangue através de punção caudal e sua extensão. A - coleta do sangue por punção caudal, B - Gotas de sangue do <i>C. macropomum</i> , C - Extensão sanguínea. -	12
Relação concentração-mortalidade do Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) para a Deltametrina durante o teste de toxicidade aguda. -----	26
Relação concentração-mortalidade do Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) para o Esfenvalerato durante o teste de toxicidade aguda. -----	26
Diferentes tipos de anomalias encontradas em eritrócitos de Tambaquis expostos a Deltametrina e Esfenvalerato. A - “8-shape”, B - “Notched”, C - “Blebbbed”, D - “Binucleado”, E - “Lobbed”, F - “Micronúcleo”. Giemsa 10% 1000x. -----	27
Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) expostos à Deltametrina em diferentes concentrações (mg.L ⁻¹). Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Dunn 5%. -----	28
Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) expostos à Deltametrina em um período de 96 horas Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Dunn 5%. MN - Micronúcleo, NO - Noched, LO - Lobbed, BL - Blebbbed, BI - Binucleado, 8-S - 8-Shape. -----	28
Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) expostos à diferentes tempos de exposição a Deltametrina. Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Dunn 5%. -----	29

Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos ao Esfenvalerato em um período de 96 horas. Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Dunn 5%. **MN**- Micronúcleo, **NO**- Noched, **LO**- Lobbed, **BL**- Blebbed, **BI**- Binucleado, **8-S**- 8-Shape. ----- 29

Alterações histológicas nas Brânquias dos Tambaquis expostos a Deltametrina e Esfenvalerato. **A**- Aneurisma. HE 400x; **B**- Fusão Lamelar HE 400x; **C**-Hiperplasia HE 1000x; **D**- Edema HE 400x; **E**- Necrose. HE 400x. ----- 30

Alterações histológicas no Fígado de Tambaquis expostos a Deltametrina e Esfenvalerato. **A**- Esteatose HE 1000x; **B**- Núcleo Picnótico HE 1000x; **C**- Congestão sanguínea (seta) e Necrose (*) HE. 400x. ----- 32

Resumo

Os piretróides são os pesticidas mais utilizados na agricultura por serem praticamente atóxico aos mamíferos, porém a utilização descontrolada contamina os recursos hídricos, tornando espécies altamente sensíveis ao produto, como os peixes, a eventuais efeitos tóxicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda dos piretróides (deltametrina e esfenvalerato) em Tambaquis (*Colossoma macropomum*) e avaliar os seus efeitos genotóxicos e histopatológicos. Foram realizados dois testes de toxicidade, um para a deltametrina e outro para o esfenvalerato, cada um com quatro concentrações, além do controle, e três repetições. Cada repetição continha quatro alevinos de Tambaqui de $9,15 \text{ g} \pm 1,49$. Estes foram monitorados a cada 6 horas nas primeiras 24 horas e a cada 24 horas até completar as 96 horas de experimento. Os parâmetros de água foram mensurados ao longo do experimento. Para a realização da contagem de Micronúcleo e Anomalias Nucleares, foi feita a coleta do sangue por punção caudal para a extensão sanguínea. As lâminas foram coradas com Giemsa 10% e 2000 eritrócitos foram avaliados. Para estudos histopatológicos, os peixes foram sacrificados por secção medular, o fígado e brânquias foram incluídos em Praplast e cortados a $5 \mu\text{m}$, corados com Hematoxilina- Eosina. Após a obtenção os dados foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis e teste Dunn (5%). A $\text{CL}_{50-96\text{hr}}$ da deltametrina foi de $0,05718 \text{ mg.L}^{-1}$ e a do esfenvalerato foi de $0,04257 \text{ mg.L}^{-1}$, consideradas extremamente tóxicas. Em relação às anomalias nucleares, o *Colossoma macropomum* exposto a deltametrina e esfenvalerato, não apresentou números significantes de Micronúcleo e núcleos Binucleados. As anomalias mais comuns na deltametrina foram “Notched”, “Blebbbed” e “8-shape” e no esfenvalerato foram “Notched” e “8-shape”. Peixes expostos às concentrações mais altas, na deltametrina, apresentaram um aumento na quantidade de anomalias. Em relação às brânquias as alterações encontradas foram fusão lamelar, hiperplasia, edema, aneurisma e necrose e ao fígado observou-se congestão, esteatose, necrose, e núcleos picnóticos indicando o comprometimento genotóxico e histopatológico desses peixes expostos aos piretróides.

Palavras-chave: Piretróides; Tambaqui; Ecotoxicologia; Genotoxicidade, Histopatologia

Abstract

Pyrethroids are the most commonly pesticides in agriculture to be practically non-toxic to mammals, but the uncontrolled use contaminates water resources, causing toxic effects in fishes. The objective of this study was to evaluate the acute toxicity of pyrethroids (deltamethrin and esfenvalerate) in Tambaquis (*Colossoma macropomum*) and evaluate the genotoxic and histopathological effects. Two acute toxicity tests were conducted, one to deltamethrin and another to esfenvalerate, each one with four concentrations, plus control, and three replicates. Each replicate contained four Tambaquis with average weight of 9.15 ± 1.49 g. The fish were monitored every 6 hours for the first 24 hours and every 24 hours to complete 96 hours of the experiment. The water parameters were measured during the experiment. Micronucleus test and Nuclear Anomalies count was made for blood flow extension. The slides were stained with Giemsa 10% and 2000 erythrocytes were evaluated. For histopathological studies, the fish were sacrificed by spinal cord section, liver, and gill were included in Paraplast, 5 μ m cut was made and stained with Hematoxilin- Eosin. The data was performed nonparametric Kruskal Wallis and Dunn test (5%). The $LC_{50-96hr}$ of deltamethrin was $0.05718 \text{ mg.L}^{-1}$ and the esfenvalerate was $0.04257 \text{ mg.L}^{-1}$, considered extremely toxic. About the nuclear abnormalities, the *Colossoma macropomum* exposed to deltamethrin and esfenvalerate, did not show significant numbers of micronucleus and binucleate nuclei. The most common abnormalities in deltamethrin were "Notched", "Blebbled" and "8-shape" and esfenvalerate test were "Notched" and "8-shape". Fish exposed to higher concentrations in deltamethrin, presented more abnormal nuclei than control group. In relation to the gills alterations were found lamellar fusion, hyperplasia, edema, aneurysm and necrosis and in the liver were observed congestion, steatosis, necrosis, and pyknotic nuclei indicating the genotoxic and histopathological commitments in these fishes exposed to pyrethroids.

Key words: Pyrethroids; Tambaqui; Ecotoxicology; Genotoxicity; Histopathology

1- INTRODUÇÃO

A utilização de pesticidas em culturas agrícolas tem se tornado o método mais comum para o controle de pragas devido ao baixo custo e a sua eficiência. O Brasil, desde 2008, lidera o ranking mundial da utilização destes produtos químicos e, entre eles, os piretróides possuem destaque por apresentarem bom desempenho no controle de pragas utilizando baixas dosagens, baixo poder residual e baixa toxicidade para os mamíferos (WHO, 1990; BARRIONUEVO; LANÇAS, 2001).

A Deltametrina e o Esfenvalerato são exemplos de Piretróides e possíveis fontes de contaminação de ambientes aquáticos, já que, muitas culturas agrícolas são realizadas próximas a esses ecossistemas, o que gera uma preocupação, pois estes pesticidas são extremamente tóxicos para os organismos aquáticos (BEGUN, 2005).

Nesse cenário, as pisciculturas são vulneráveis a essa contaminação, pois são implantadas próximas a culturas agrícolas e de recursos hídricos consequentemente, contaminando os peixes destinados ao consumo humano.

No Brasil uma das espécies mais cultivadas é a *Colossoma macropomum* (MPA, 2014). Em regiões como do baixo São Francisco- SE/AL esse peixe é cultivado paralelamente ao cultivo de arroz, que é uma das culturas que utilizam os piretróides para o controle de pragas (ANVISA, 2014; CODEVASF, 2014). Assim, essa proximidade entre as culturas é uma preocupação real e de importância regional e nacional para garantir a sustentabilidade destas atividades.

Os peixes, quando expostos a estes pesticidas (xenobióticos), desenvolvem várias reações no organismo como o movimento rápido das brânquias; perda do equilíbrio dos peixes; natação errática; presença na superfície da água e a má formação da estrutura óssea (HOLOCOMBE *et al.*, 1982).

Apesar dos piretróides serem considerados substâncias pouco bioacumulativas, de fácil degradação e de baixa toxicidade, quando comparada aos organoclorados (WILLIAMSON *et al.*, 1989), ainda há poucos estudos que relatem níveis seguros do composto que possam ser lançados ao meio ambiente (DATTA; KAVIRAJ, 2002) e seus efeitos em peixes nativos e outros organismos aquáticos. Para isso, avaliações ecotoxicológicas se tornam imprescindíveis para analisar qualquer substância química lançada ao meio ambiente com o objetivo de mensurar o quão nocivas elas são (HENARES *et al.*, 2008).

Os testes de toxicidade aguda avaliam, principalmente, a mortalidade do organismo assim como suas alterações de comportamento. Porém, somente esses dados não são suficientes para verificar a toxicidade dinâmica dos xenobióticos ou seus efeitos subletais. Com isso, análises complementares como as hematológicas, fisiológicas, histológicas, parasitológicas e de genotoxicidade são importantes para a elucidação do efeito tóxico no organismo (FERREIRA, 2004).

Com a possível contaminação dos recursos hídricos e estações de pisciculturas, através dos piretróides, há uma necessidade de observar os efeitos tóxicos que podem ser causados por estes pesticidas. Deste modo, se torna imprescindível a avaliação da toxicidade aguda da deltametrina e esfenvalerato em Tambaquis, principal espécie nativa cultivada no país.

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo Geral

Avaliar o efeito tóxico agudo dos pesticidas piretróides (deltametrina e esfenvalerato) em Tambaquis (*Colossoma macropomum*) a fim de fornecer informações para os programas de gestão e manejo para minimizar o impacto ambiental nos corpos hídricos.

2.2- Objetivos Específicos

- a) Determinar a concentração letal 50% (CL₅₀) 96h dos pesticidas deltametrina e esfenvalerato em Tambaquis;
- b) Avaliar a genotoxicidade dos pesticidas através dos testes de micronúcleo e anomalias nucleares em sangue de tambaquis;
- c) Avaliar os efeitos histopatológicos dos pesticidas sobre as brânquias e o fígado.

3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1- Piretróides

Os piretróides, de acordo com SANTOS *et. al* (2007), são os inseticidas mais utilizados na agricultura e isso ocorre porque além de serem pouco tóxicos aos mamíferos, é possível controlar as pragas com baixas dosagens. Esses compostos químicos são de origem vegetal, obtidos das piretrinas naturais, que são ésteres tóxicos isolados das flores *Chrysanthemum cinerariaefolium* (BORGES, 2005;

CENGIZ; UNLU, 2006; PIMPÃO, 2006; TRAMUJAS *et al.*, 2006, PIMPÃO *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2007)

As piretrinas eram utilizadas como inseticidas naturais, mas por apresentarem sensibilidade à luz solar e ar, não exerciam um controle efetivo contra as pragas. Deste modo, os piretróides sintéticos foram criados, na década de 70, com mais estabilidade, rápida atividade inseticida e com efeitos praticamente atóxicos aos mamíferos, como as piretrinas (SODERLUND *et. al*, 2001).

O desenvolvimento dos piretróides sintéticos (Figura 1) foi baseado na estrutura química das piretrinas, da qual elementos naturais foram substituídos, porém com parte da molécula original, forma molecular e propriedades físicas conservadas. O substituinte alfa-ciano na metade álcool 3-fenoxibenzil, por exemplo, produziu compostos como a deltametrina, mais potente que alguns outros piretróides, porém com a mesma fotossensibilidade (BALINT *et al.*, 1995).

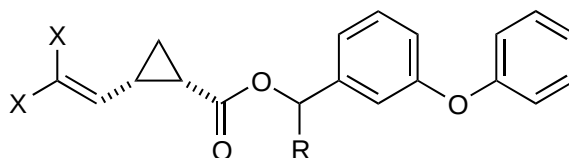


Figura 1: Estrutura química básica dos Piretróides, mostrando os locais mais utilizados para modificar a molécula.

Por serem considerados praticamente atóxicos aos humanos, os piretróides são utilizados como inseticidas domésticos e no controle de piolhos humanos e veterinários (PIMPÃO, 2006). Porém, a exposição via oral pode causar efeitos de intoxicação neuroexcitatórios, tremores, coreoatetose e salivação e, através da via dérmica, provocam irritação e edema na pele (CLARK,1995; SODERLUND,2001). Esses efeitos de intoxicação estão relacionados à ausência e presença do grupo alfa-ciano na porção fenoxibenzil, o que classifica o piretróide em Tipo I e Tipo II, respectivamente (VERSCOYLE; ALDRIDGE, 1980; LATUSZYNSKA *et al.*, 2003; NASUTI *et al.*, 2003)

O uso destes compostos na agricultura e de forma doméstica são fontes de poluição terrestre e aquática que podem comprometer acidentalmente as espécies que são altamente sensíveis, como os peixes (SANTOS *et al*, 2007).

3.2- Deltametrina

Criada em 1974, a deltametrina (Figura 2), foi o piretróide com maior potência inseticida devido à inclusão do grupamento substituinte alfa-ciano no grupo 3-fenoxibenzil, passando a ser comercializada em 1977 (SODERLUND *et. al*, 2001).

Sua fórmula molecular é $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ e sua preparação é feita 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 -[alfa-R, alfa-S, ou alfa-RS] (SODERLUND *et al.*, 2001).

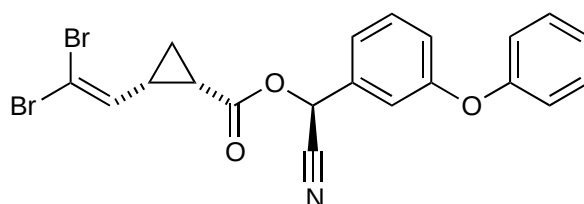


Figura 2: Estrutura química da Deltametrina.

A deltametrina é um piretróide do tipo II, instável na presença de luz solar, umidade e ar (BAYER, 2014). É utilizado em algumas culturas como arroz, batata, café, tomate e melancia no combate da grafolita (mariposa oriental), e possui alguns nomes comerciais como Deltamax, Decis, K-Otrine e Cislin (EMBRAPA, 2005; SANTOS *et. al*, 2007).

3.3- Esfenvalerato

O esfenvalerato (Figura 3) é um inseticida composto por quatro estereoisômeros enriquecido com o isômero S,S-, o mais ativo como inseticida. Originalmente, esses isômeros eram misturados em concentrações iguais, resultando no fenvalerato, porém com o conhecimento do potencial inseticida do isômero S,S-, este foi acrescentado em doses mais altas originando o esfenvalerato (SCHNEIDERS, 1994). A sua fórmula molecular é $C_{25}H_{22}ClNO_3$.

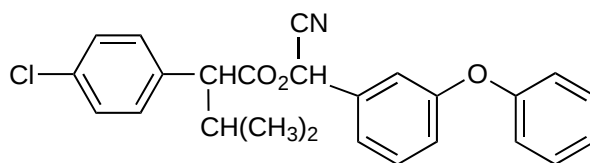


Figura 3: Estrutura Química do Esfenvalerato.

O Esfenvalerato é utilizado em algumas culturas como café, cebola e arroz (ANVISA, 2014) para o controle da *Empoasca kraemeri*, cigarrinha verde (EMBRAPA, 2005). Este inseticida é considerado moderadamente tóxico para aves e mamíferos, porém são extremamente tóxicos para peixes e anfíbios e, apesar de permanecerem no solo por mais de 100 dias, seus produtos de degradação não se lixiviam, oferecendo baixo risco de contaminação das águas subterrâneas (GUSTAFON, 1989; COHEN *et al.*, 1995).

3.4- Estudos Ecotoxicológicos

Os testes ecotoxicológicos são utilizados para estudar efeitos adversos das substâncias tóxicas sobre comunidades e espécies de um ecossistema (RAND *et al.*, 2005).

Estes testes podem ser classificados em crônicos e agudos os quais, respectivamente, detectam os efeitos longos, que passam por gerações, e os efeitos imediatos, que na maioria das vezes são irreversíveis (KNIE; LOPES, 2004).

A concentração letal média (CL₅₀) é uma ferramenta importante na avaliação toxicológica, uma vez que fornece a concentração estimada que causa morte em 50% dos animais em um determinado período de exposição, normalmente, de 24 a 96 horas (TOMITA; BEYRUTH, 2002).

A determinação da CL₅₀ fornece resposta sobre o risco potencial que uma substância química pode causar fisiopatologicamente em uma determinada espécie, bem como sua sensibilidade. As doses abaixo são chamadas subletais, e são tão importantes quanto, pois podem revelar prováveis alterações biológicas induzidas por um dado poluente, porém sem letalidade (HEATH, 1995).

Alguns testes de toxicidade puderam indicar que os piretróides são altamente tóxicos aos peixes, podendo ocasionar intoxicação e efeitos letais em doses de dez a mil vezes menores quando comparada a 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)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2014), as substâncias químicas podem ser classificadas em Extremamente Tóxica (Classe Ia), Altamente Tóxica (Classe Ib), Moderadamente Tóxica (Classe II) e Levemente Tóxica (Classe III), baseando-se na concentração letal média. A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância

Sanitária, 2014) classificou a Deltametrina como um pesticida de classe III, enquanto que o Esfenvalerato pertence a Classe I.

De acordo com a EPA (Environmental Protection Agency), os piretróides, de forma geral, são moderadamente tóxicos aos humanos, porém, altamente tóxicos aos organismos aquáticos. Para a determinação toxicológica de cada produto utiliza-se a tabela de ZUCKER (1985) (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação Toxicológica estabelecida por Zucker (1985)

Classificação	Concentração (mg.L ⁻¹)
Extremamente Tóxico	CL ₅₀ <0,1
Altamente Tóxico	0,1 < CL ₅₀ <1,0
Moderadamente Tóxico	1,0 < CL ₅₀ <10
Ligeiramente Tóxico	10 < CL ₅₀ < 100
Praticamente não Tóxico	CL ₅₀ > 100

3.5- Estudos Toxicológicos de Piretróides em Peixes

Os peixes são organismos padrão para testes de toxicidade aguda e podem representar a principal rota de contaminação humana (CARVALHO, 2009). Existem vários estudos em que diferentes espécies de peixes são expostos a diferentes produtos que contém Piretróides.

Das e Mukherjee *et al.* (2003) avaliaram a toxicidade da cipermetrina em Tilápia (*Oreochromis niloticus*), a Truta marrom (*Salmon trutta*) e a Carpa (*Cyprinus carpio*) e observaram que este piretróide é Moderadamente Tóxico para ambas as espécies, de acordo com a tabela de Zucker (1985).

Em relação a deltametrina, estudos comprovaram que a espécie *Poecilia reticulata* foi dez vezes mais resistente que os *Oncorhynchus mykiss*, apesar de terem um tamanho menor. A CL₅₀ da primeira espécie foi de 0,00513 mg.L⁻¹ enquanto a da segunda foi de 0,0005 mg.L⁻¹ (KAMRIN, 1970).

Além de observar a toxicidade aguda da deltametrina em *Channa punctata*, Ansari (2009) observou os efeitos genotóxicos causados pelo pesticida, nos quais a espécie

obteve um aumento de micronúcleos e anomalias nucleares quando expostos ao produto.

Dos poucos trabalhos citados sobre a exposição ao esfenvalerato, o de Wheelock *et al.* (2005) mostrou que o peixe *Oncorhynchus tshawytscha* foi altamente sensível a ele, já que estes não sobreviveram a uma concentração de 0,001mg.L⁻¹.

3.6- Hematologia

O material genético de células pode ser diretamente comprometido devido à presença de substâncias químicas e isto pode ser perceptível através da presença de anomalias cromossômicas (EVANS,1977). Deste modo, o teste do micronúcleo se mostrou um método eficaz como indicador da contaminação química para peixes, além de ser rápido e de baixo custo (HOSE *et al.*, 1987).

Outras anomalias nucleares, presentes nos eritrócitos dos peixes, foram observadas por HOOFTMAN e DE RAAT (1982) durante os testes de micronúcleo e, HOSE *et al.* (1987) comprovaram que essas anomalias eram significativamente diferentes entre o grupo controle, retirado de regiões não poluídas, e os peixes coletados de ambientes poluídos, sustentando a hipótese que estas anomalias são efeitos genotóxicos dos xenobióticos presentes na água. Desde então, a avaliação das anomalias nucleares, incluindo o micronúcleo, tem sido utilizada em estudos de impactos ambientais (SERIANI, 2014).

Apesar dos mecanismos geradores das alterações nucleares ainda sejam desconhecidos, o surgimento destas está associado à exposição de peixes a ambientes e produtos químicos que possam causar efeitos genotóxicos, citotóxicos e mutagênicos ou carcinogênicos (PACHECO; SANTOS, 1996; PALHARES;GRISOLIA,2002). Carrasco *et al.* (1990) e Fenech (2003) classificaram as anomalias em:

- “Blebbbed”- pequena evaginação da membrana nuclear. O tamanho destas evaginações varia desde pequenas protuberâncias a estruturas completamente circunscritas, semelhantes aos micronúcleos, porém ainda ligadas ao núcleo.
- “Lobed”- núcleos com evaginações mais largas do que as descritas para os “blebbed”. Sua estrutura não é tão definida como a anterior.
- “Notched”- núcleos que apresentam um corte bem definido em sua forma. Geralmente com uma profundidade apreciável no núcleo. Esses cortes

parecem não possuir nenhum material nuclear e parecem ser delimitados pela membrana nuclear.

- “Binucleada”- caracterizadas por tamanhos e cores semelhantes.
- “Micronúcleo” - partículas de cor e estrutura semelhantes ao da cromatina, sem brilho ou refração, com tamanho de 1/3 a 1/16 do núcleo principal, sem ponte de ligação, próximo, mas sem estar tocando no núcleo principal.

3.7- Histologia

A histopatologia é uma ferramenta que auxilia na detecção dos efeitos crônicos e agudos causados pela exposição dos organismos aos xenobióticos. Estas alterações podem estar ligadas às alterações bioquímicas, visto que, estas são ocasionadas por lesões histológicas (HINTON *et al.* 1992; HEATH, 1995).

O fígado é o órgão responsável pelo metabolismo de carboidratos, armazenamento de lipídios e glicogênio, fatores importantes na síntese e oxidação de ácidos graxos, sintetizam proteínas plasmáticas e também é responsável pelo processo de biotransformação dos xenobióticos (HEATH, 1987; HINTON *et al.*, 1992; LANDIS; YU, 1995; HINTON; LAURÉN, 1990, STEVENS; LOWE, 1995; TAKASHIMA; HIBIYA, 1995).

Algumas alterações como a hipertrofia nuclear dos hepatócitos podem ser explicadas pela grande atividade celular em decorrência da exposição a produtos químicos, que pode resultar em necroses do tecido (MEYER; HENDRICKS, 1985; HINTON *et al.*, 1992; TAKASHIMA; HIBIYA, 1995; FANTA *et al.*, 2003). A hiperemia ou congestão sanguínea, no tecido hepático, é um processo de adaptação em que o aumento do fluxo sanguíneo facilita o transporte de leucócitos a fim de melhorar a oxigenação das áreas danificadas, além de participarem no processo de detoxificação (ANDERSON; ZEEMAN, 1995).

Por apresentarem estas características, e serem altamente sensíveis, estes órgãos são utilizados em estudos ecotoxicológicos como indicadores de contaminação em várias espécies de peixes (SCHWAIGER *et al.*, 1997).

Outro órgão bastante utilizado em estudos histopatológicos é a brânquia, por apresentar um contato direto com os xenobióticos e, quando expostas a estes produtos químicos, podem gerar sérios danos epiteliais que prejudicam as trocas gasosas (BORGES, 2007). Os piretróides apresentam características lipofílicas, o que torna estes produtos altamente tóxicos às brânquias contribuindo para a alta

sensibilidade dos peixes e, conseqüentemente, a formação de alterações histológicas como necrose, hiperplasia, hipertrofias e rupturas (BOLS *et al.*, 2001; 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).

3.8- Importância Regional

Os piretróides são bastante utilizados nos perímetros de Betume, Cotinguiba e Propriá, situados no Baixo São Francisco Sergipano, para a cultura do arroz irrigado que representa mais de 80% da produção da região (ANVISA, 2014; CODEVASF, 2014). Martins *et al.* (1998) afirmaram que este tipo de cultivo é uma das atividades que mais utilizam pesticidas que, conseqüentemente, acarreta vários danos ambientais, tendo destaque a contaminação dos corpos hídricos, principalmente quando a cultura é feita de forma irrigada (SILVA *et al.*, 2009).

Os pequenos agricultores, que geralmente não utilizam equipamentos de segurança, acabam sendo vulneráveis à contaminação destes produtos, mesmo com a sua baixa toxicidade para humanos. A absorção cutânea é a via de contaminação mais comum dos piretróides e pode causar parestesia. A ingestão destes produtos pode causar dor de garganta, náusea, vômito e dores abdominais. Tonturas, dores de cabeça e fadiga também podem ocorrer, ocasionando coma e convulsões (BRADBERRY *et al.*, 2005).

Outra cultura presente na região do Baixo São Francisco é a piscicultura, sendo o Tambaqui (*Colossoma macropomum*) o peixe mais cultivado na região, contribuindo com 44,1% da produção (CODEVASF, 2014). Essa proximidade entre os cultivos agrícolas e as criações de peixes, agregado a utilização de produtos químicos para o controle de pragas, gera uma preocupação, já que há a possibilidade de contaminação dos peixes que serão destinados ao consumo humano (Figura 4).



Figura 4: Proximidade entre áreas agrícolas e estações de piscicultura. Fonte: Google Earth (2014). Seta – Piscicultura; (*) – Culturas Agrícolas.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Local de estudo

O estudo foi realizado na Embrapa Tabuleiros Costeiro localizada em Aracaju/ SE, sendo registrado na Comissão de Ética Animal da Universidade Tiradentes sob o número 030514 (Anexo I).

4.2- Peixes

O experimento foi realizado com alevinos de Tambaquis (*Colossoma macropomum*) adquiridos da CODEVASF no município de Porto Real do Colégio/AL. Antes da realização da CL₅₀, os animais foram mantidos durante três meses em tanques de 500 litros com temperatura de 27 ± 2 °C, constantemente aerados, quando foi fornecida a ração comercial para a espécie até a realização do experimento, sendo suspensa 24 horas antes do seu início (Figura 5).



Figura 5: Tanques para aclimação dos *Colossoma macropomum*

4.3- Toxicidade Aguda CL₅₀- 96horas

Antes da realização dos testes definitivos, foram realizados dois experimentos preliminares para determinar a faixa aproximada da ação nociva dos piretróides (deltametrina e esfenvalerato) aos peixes, ou seja, a menor diluição que causa 100% de mortalidade dos Tambaquis. Cada experimento foi realizado num período de 96 horas.

Após estas etapas, os animais foram transferidos para recipientes de polietileno com capacidade de 9 litros cada. Durante este processo, os peixes foram pesados para início dos testes definitivos. Para esses testes foram utilizados um total de 120 peixes com pesos médios de $9,15 \text{ g} \pm 1,49$. Os testes definitivos tiveram duração de 96 horas e foram utilizadas quatro concentrações equidistantes, estabelecidas a partir do teste preliminar. Para o teste com a deltametrina foram utilizadas as concentrações $0,00625 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,06875 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,13125 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,19375 \text{ mg.L}^{-1}$ e para o teste com esfenvalerato foram utilizadas $0,021 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,0417 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,0625 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,08835 \text{ mg.L}^{-1}$, além do controle. Cada recipiente continha quatro tambaquis. Ao longo do experimento os peixes não foram alimentados e, a cada seis horas (durante as primeiras 24 horas) e 24 horas (durante o restante do experimento), o comportamento e a mortalidade dos peixes foram monitorados. Os peixes mortos foram retirados e contabilizados. Animais moribundos, sem resposta natatória e com mínimo de batimento opercular, foram retirados e tiveram o sangue coletado, através de punção caudal, para análise de genotoxicidade e, posteriormente foram sacrificados, por secção medular, para a retirada dos órgãos destinados para os estudos histológicos.

A determinação da CL₅₀ foi realizada através do Trimmed Spearman Karber (HAMILTON, 1977).

4.4- Qualidade de Água

Durante os experimentos os parâmetros de qualidade de água como: oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹), pH, temperatura (°C) e condutividade (μs.cm), foram monitorados a cada 24 horas. O parâmetro de amônia total foi monitorado no início e no fim do teste. Para a análise dos parâmetros de água foi utilizada a sonda multiparâmetros Horiba U-53 e amônia (mg.L⁻¹) com auxílio de um fotocolorímetro HANNA®.

4.5- Avaliação de Genotoxicidade

Durante e ao final do experimento foi coletado o sangue dos peixes moribundos (aqueles que durante o experimento apresentavam o mínimo do batimento opercular) por punção dos vasos caudais. Após a retirada do sangue, foi feita a extensão sanguínea, sendo duas lâminas por peixe (Figura 6), que foram fixadas em Metanol P.A. (100%) durante 10 minutos. As lâminas foram coradas por Giemsa a 10%, lavadas com água destilada e secas ao ar em temperatura ambiente. Após a secagem, 2000 eritrócitos, por lâmina foram analisados em microscópio óptico em resolução 1000x. As anomalias foram contabilizadas e classificadas de acordo com Carrasco *et al.* (1990) e Fenech (2003).

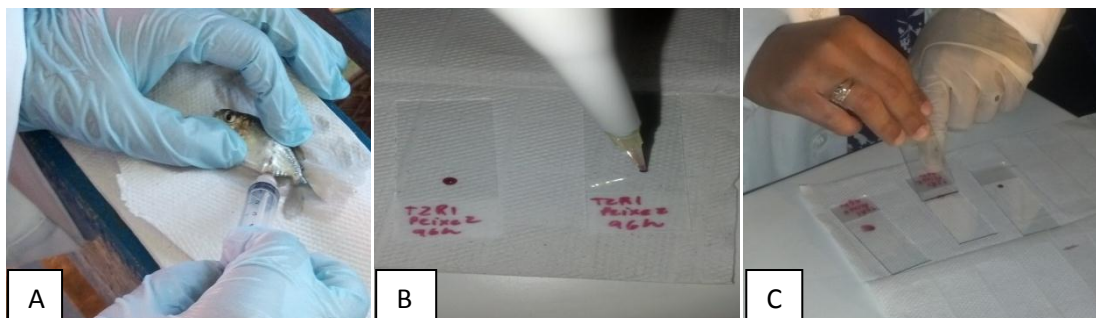


Figura 6: Coleta do sangue através de punção caudal e sua extensão. **A-** coleta do sangue por punção caudal, **B-** Gotas de sangue do *C. macropomum*, **C-** Extensão sanguínea.

4.6- Análises Histopatológicas do Fígado e Brânquias

Após a coleta do sangue, os peixes foram sacrificados, por secção medular, para a realização das análises histopatológicas. Fragmentos das brânquias e do fígado foram fixados em formol 10% (permanência mínima de 24 horas), desidratados em álcool 70%, 80%, 90% e 100% e, posteriormente foram diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast. Os blocos foram cortados em micrótomo, com cortes de 5μm de espessura

sendo corados com Hematoxilina e Eosina para a análise microscópica. Os cortes foram analisados em microscópio de luz e fotografados, utilizando-se uma câmera digital acoplada ao microscópio. O grau de severidade histopatológica, em cada órgão, foi realizado de acordo com Cengiz e Unlu (2006).

4.7- Análise Estatística

Após a obtenção dos dados, estes foram transformados em $\ln(x+1)$ e submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal Wallis e ao teste de Dunn (5%).

5- Referência

ANDERSON, D. P.; ZEEMAN, M. G. Immunotoxicology in fish. In: G M, Rand. *Fundaments of aquatic toxicology*. 2nd ed. Washington D.C. 1995.p. 317-402.

ANSARI, R. A.; KAUR, M.; AHMAD, F.; RAHMAN, S.; RASHID, H.; ISLAM, F. *et al*. Genotoxic and Oxidative Stress-inducing Effects of Deltamethrin in the Erythrocytes of a Freshwater Biomarker Fish Species, *Channa punctata* Bloch. *Environmental Toxicology* 2009; 24: 429-436.

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2014. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos**. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso: 29/12/2014

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* 2005; 13: 451-458.

BALINT, T.; SZEGLETES, Z.; SZEGLETES. Zs.; HALASY, K.; NEMCSÓK, J. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorous metidation and the pyrethroid deltamethrin. *Aquatatic Toxicology* 1995; 33: 279-295.

BARRIONUEVO, R. W.; LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água. *Química Nova* 2001; 24: 172-175.

BAYER. Epi Info [online]. 2014 [acessado em 29/12/2014]. Disponível em: [http://www.vectorcontrol.bayer.com/bayer/cropscience/bes_vectorcontrol.nsf/id/899A43E6F09934ADC1257878003B9348/\\$file/Brochure-K-OTab.pdf](http://www.vectorcontrol.bayer.com/bayer/cropscience/bes_vectorcontrol.nsf/id/899A43E6F09934ADC1257878003B9348/$file/Brochure-K-OTab.pdf)

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* 2005, 82:85-196.

BOLS, N. C.; BRUBACHER, J. L.; GANASSIN, R. C.; LEE, L. E. J. Ecotoxicology and innate immunity in fish. *Developmental and Comparative Immunology* 2001; 25: 853-873.

BORGES, A. *Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses sub-letais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá Rhamdia quelen*. [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.

BORGES, A. Changes in hematological and serum biochemical values in Jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cipermethrin. *Chemosphere* 2007; 69: 920-926.

BRADBERRY, S. M.; CAGE, S. A.; PROUDFOOT, A. T.; VALE, J. A. Poisoning due to Pyrethroids. *Toxicological Reviews* 2005; 24(2): 93-106.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento. 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso: 29/12/2014

CARRASCO,K.R., TILBURY,K.L, MYERS,M.S. Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Jornal Fish Aquatic Science* 1990, 47:2123-2136.

CARVALHO, S. *Toxicidade do sulfato de cobre para a tilápia. Oreochromis niloticus e teste ecotoxicológico com Ceriodaphnia dubia e Pseudokirchneriella subcapitata*, Jaboticabal- Brasil [Tese]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista ; 2009.

CENGIZ, E. I. Gill and kidney histopatology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2006; 22: 200-204.

CENGIZ, 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* 2006; 21: 246- 253.

CLARK, J. M. Effects and mechanisms of action pyrethrin and pyrethroid insecticides. In: Chang, L. W., Dyers, R. S., *Handbook of Neurotoxicology*. Marcel Dekker, Inc., New York; 1995. p. 511-546.

CODEVASF- Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba. 2014. [acesso em 29/12/201]. Disponível em: <http://www.codevasf.gov.br>.

COHEN, S.Z.; WAUCHOPE, R.D.; KLEIN, A.W.; EADSFORTH, C.V.; GRANEY, R. Offsite transport of pesticides in water: mathematical models of pesticides leaching and run-off. *Pure & Applied Chemistry* 1995; 67 12:2109-2148.

DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003; 134: 109-121.

DATTA, M.; KAVIRAJ, A. Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltamethrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus*. *Bulletin of Environmental contamination toxicology* 2006, 70: 296–299.

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* 2007; 102: 293-299.

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* 2007, 24: 212-217.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias. 2005. **Cultivo de Tomate para a Industrialização.** Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/autores.htm. Acesso em: 30/12/2014.

EVANS, H. J. Molecular mechanisms in the induction of chromosome aberrations, in: SCOTT, D.; BRIDGES, B. A.; SOBELS, F. H. (Eds.), *Progress in Genetic Toxicology* 1977; 57–74.

FENECH, M.; CHENG, W.P.; KIRSCH-VOLDERS, M.; HOLLAND, N.; BONASSI, S.; ZEIGER, E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research* 2003, 534.65-75.

FERREIRA, C. M. Análises complementares obtidas a partir de testes de toxicidade aquática. In: *Sanidade de Organismos Aquáticos*. Ranzani Paiva, M. J. T., Takemoto R. M., Lizama, M. A. P., Ed. Varela; 2004. p. 273-284.

FANTA, E.; RIOS, F. S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A.C.C. AND FREIBERGER, S. Histopathology of fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2003; 54: 119-130.

GUSTAFSON, D. I. Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1989, 8(4): 339-357, 1989.

HEATH, A. G. *Water Pollution and Fish Physiology*. C.R.C. Press, 1987.

HEATH, A.G. *Water pollution and fish physiology*. 2ed. Lewis Publishers; 1995.

HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F. Toxicidade Aguda e Histopatologia do Herbicida Reward® na Brânquia e no Fígado do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol* 2008, 3(1):41-45.

HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. 1992. Histopathologic Biomarkers. In: Huggett, R. J.; R.J.; Kimerle, R.A.; Mehrle, J.R.; Bergman, H.L. *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of anthropogenic stress*. Lewis Publishers, Boca Raton. 1992

HINTON, D. E.; LAURÉN, D. J. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. *American Fisheries Society Symposium* 1990; 8: 51- 66.

HOLCOMBE, S. W.; PHIPPS, G. L.; TANNER, D. K. The acute toxicity of kethane, dursban, disulfoton, pydrin, and permethrin to fathead minnows *Pimephales promelas* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Environmental. Pollutution Search* 1982; 29:167–178.

HOOFTMAN, R. N.; de RAAT, W. K. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmaea* by ethyl ethanesulphonate. *Mutation Research, Amsterdam* 1982; 104:147–152.

HOSE, J.E., CROSS, J., SMITH, S.G., DICHL, D. Elevated circulating erythrocyte micronuclei in fishes from contaminates sites off Southern California. *Marine Environmental Research* 1987; 22: 167–176.

KAMRIN, A.C. *Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate*. Lewis publishers; 1997.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Indicações para aplicação dos *biotestes*. In: FATMA, GTZ. *Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis; 2004. p 23.

LANDIS W. G.; YU, MING-HO. Introduction to environmental toxicology impacts of chemicals upon ecological systems. Florida: Boca Ration, 1995.

LATUSZYNSKA, J.; LUTY, S.; RASZEWSKI, G.; PREBIROWSKA, D.; TOKARSKA-RODA, M. Neurotoxic effect of dermally applied chlorpyrifos and cypermethrin. Reversibility of changes. *Ann. Agric. Environmental Medicine* 2003; 10: 197-201.

MALLAT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical Review. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 1985; 42: 630

MEYER A A.; CRASS, R.A.;LIM, R.C.;JEFFERY,R,B.;FEDERLE, M.P. TUNKEY,D.D. Selective nonoperative management of blunt liver injury using computed tomography. *Arch Surg* 1985;120:550–554.

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* 2005; 60:193-197.

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* 2001; 52: 1-12.

NASUTI, C.; CANTALAMESSA,F.; GABIANELLI, R. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology* 2003; 191 (2): 233-244.

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* 2007; 2 (2): 101-106.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2002; 53: 331 – 347.

PALHARES, D.; GRISOLIA C.K. Comparation between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Genetic and Molecular Biology* 2002; 25: 281–284.

PIMPÃO, C. T. *Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo: estudo bioquímico e imunotóxico*, Curitiba- Brasil [Tese de Doutorado] Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2006.

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

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

RAND, G.M., WELLS P.G.; MCCARTY, L.S. Introduction to aquatic toxicology. In *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, Rand, G.M. (Eds.); 1995.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. *Alimentos e Nutrição* 2007; 18 (3):339-349.

SCHNEIDERS, G.E. *Acceptability of fenvalerate confined crop rotation and field studies to support fenvalerate uses*. Wilmington : E.I. duPont de Nemours and Company, 1994. 1v (Relatório Técnico).

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 1997; 6 (1): 75-86.

SERIANI, R.; ABESSA, D.M.S.; KIRSCHBAUM, A.A.; PEREIRA, C.D.S.; ROMANO, P.; RANZANI- PAIVA, M.J.T. Relationship between water toxicity and hematological changes in *Oreochromis niloticus*. *Braz.J.Aquat.Sci.Tech.* 2014; (15): 47–53.

SILVA, D. R. O.; AVILA, L.A; AGOSTINETTO, D.; MAGRO, T.D.; OLIVEIRA, E.; ZANELLA, R., NOLDIN J.A. Monitoramento de agrotóxicos em águas superficiais de regiões orizícolas no sul do Brasil. *Ci. Rural* 2009, 39(9): 2383-2389.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of Pyrethroid Neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 2001.

STEVENS, A.; LOWE, J. Histologia. Ed. Manole Ltda, 1995.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology normal and pathological features. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag; 1995.

TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. *Toxicologia de Agrotóxicos em Ambiente Aquático*. O Biológico 2002; 64 (2):135-142.

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* 2006; 11(1): 48-53.

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* 2005; 83: 124-131.

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

VERSCHOYLE, R. D.; ALDRIDGE, W. N. Structureactivity relationships of some pyrethroids in rats. *Arch. Toxicology* 1980; 45: 325-329.

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

WHEELOCK, C.E.; EDER, WERNER, I.; HUANG, H.; JONES, P.D.; BRAMMELL, B.F.; ELSKUS, A.A.; HAMMOCK, B.D. Individual variability in esterase activity and CYP1A levels in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) exposed to esfenvalerate and chlorpyrifos. *Aquatic Toxicology* 2005; 74: 172-192.

WHO (1990). Environmental health criteria 97 - deltamethrin. *International Programme on Chemical Safety (IPCS)*, World Health Organization, Geneva.

WILLIAMSON, E. G.; LONG, S. F.; KALLMAN, M.J.; WILSON, M. C. A comparative analysis of the acute toxicity of technical-grade pyrethroid insecticides and their commercial formulations. *Ecotoxicol Environ Saf* 1989,18: 27–34.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The WHO recommended classification of pesticides by hazard. [acessado em: 20/12/2014] Disponível em http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazards/

ZUCKER, E. Hazard evaluation division – Standard evaluation procedure – Acute toxicity test for freshwater fish. 1985 [acessado em 10 ago 2014]. Disponível em: <www.epa.gov>.

6- ARTIGO

EFEITOS HISTOLÓGICOS E GENOTÓXICOS NOS TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*) EXPOSTOS A CONCENTRAÇÕES LETAIS E SUBLETAIS DE DELTAMETRINA E ESFENVALERATO.

Fernanda dos Santos CUNHA¹; José Guedes SENA FILHO²; Rodrigo Yudi FUJIMOTO³.

¹ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Saúde e Ambientes - Universidade Tiradentes, Av. Murilo Dantas, 300, Farolândia, CEP 49032-490, Aracaju, SE, Brasil. E-mail para correspondência: fe.cunha@hotmail.com

² Embrapa Tabuleiros Costeiros- Analista, Av. Beira Mar, 3250, Caixa Postal 44 - CEP 49025-040 - Aracaju/SE - Brasil.

³ Embrapa Tabuleiros Costeiros- Pesquisador, Av. Beira Mar, 3250, Caixa Postal 44 - CEP 49025-040 - Aracaju/SE - Brasil.

Resumo

O objetivo do trabalho foi determinar a sensibilidade do *C. macropomum* a deltametrina e esfenvalerato, como também os efeitos genotóxicos e histopatológicos. O experimento foi realizado com três concentrações de deltametrina (0,00625 mg.l⁻¹; 0,06875mg.L⁻¹; 0,13125 mg.L⁻¹ e 0,19375mg.l⁻¹) e de esfenvalerato (0,021 mg.L⁻¹; 0,0417 mg.L⁻¹; 0,0625 mg.L⁻¹ e 0,08835mg.l⁻¹) e todos os experimentos com três repetições e quatro alevinos de Tambaquis de peso médio 9,15 g ± 1,49, contendo cinco litros de água, durante 96 horas. Extensões sanguíneas foram realizadas para a realização do Teste de Micronúcleo e contagem das anomalias nucleares. Para estudos histopatológicos, o fígado e brânquias foram incluídos em Paraplast e cortados a 5 µm. Após a obtenção os dados, foram realizados o teste não paramétrico de Kruskal Wallis e teste Dunn (5%). A CL_{50-96hr} da deltametrina foi de 0,05718 mg.L⁻¹ e a do esfenvalerato foi de 0,04257 mg.L⁻¹, consideradas extremamente tóxicas. As anomalias mais comuns na deltametrina foram “Notched”, “Blebbled” e “8-shape” e no esfenvalerato foram “Notched” e “8-shape”. Peixes expostos às concentrações mais altas, na deltametrina, apresentaram um número maior de anomalias. Em relação às brânquias, as alterações encontradas foram fusão lamelar, hiperplasia, edema, aneurisma e necrose e ao fígado observou-se congestão, esteatose, necrose, e núcleos picnóticos, indicando o comprometimento genotóxico e histopatológico desses peixes expostos aos piretróides.

Palavras- chave: Piretróides; Tambaquis; Genotoxicidade; Histopatologia

Abstract

The objective of this work was to evaluate the genotoxic and histopathological effects of the acute toxicity of deltamethrin and esfenvalerate to *C. macropomum*. The experiment was conducted with four concentrations of deltamethrin ($0.00625 \text{ mg.L}^{-1}$; $0.06875 \text{ mg.L}^{-1}$; $0.13125 \text{ mg.L}^{-1}$ and $0.19375 \text{ mg.L}^{-1}$) and esfenvalerate (0.021 mg.L^{-1} , 0.0417 mg.L^{-1} ; 0.0625 mg.L^{-1} and $0.08835 \text{ mg.L}^{-1}$) with three replicates each, plus control. Recipients with five liters were used with four Tambaquis with average weight $9.15 \text{ g} \pm 1.49$ each. Blood smears were made to perform the micronucleus test and nuclear abnormalities count. For histological examination, liver, and gill were included in Paraplast and cut to $5 \text{ }\mu\text{m}$. The data, we performed nonparametric Kruskal Wallis and Dunn's test (5%). The $\text{CL}_{50-96\text{hr}}$ of deltamethrin was $0.05718 \text{ mg.L}^{-1}$ and the esfenvalerate was $0.04257 \text{ mg.L}^{-1}$, considered extremely toxic. The most common abnormalities in deltamethrin were "Notched", "Blebbled" and "8-shape" and esfenvalerate were "Notched" and "8-shape". Fish exposed to higher concentrations in deltamethrin, presented a higher number of anomalies. The alterations lamellar fusion, hyperplasia, edema, aneurysm and necrosis were observed in gills and congestion, steatosis, necrosis, and pyknotic nuclei were observed in liver, indicating the genotoxic and histopathological commitments in these fishes exposed to pyrethroids.

Keywords: Pyrethroids; Tambaqui; Genotoxicity; Histopathology

1- Introdução

Por possuírem baixa toxicidade para os mamíferos e aves, os Piretróides se tornaram os pesticidas mais utilizados na agricultura. A sua eficácia no controle de insetos em baixas dosagens e o baixo poder residual no meio ambiente, minimizam o risco de impacto ambiental quando comparado aos carbamatos e organofosforados (PIMPÃO 2006; SANTOS *et al.*, 2007).

No entanto, os piretróides são altamente tóxicos para algumas espécies como os peixes, abelhas e os artrópodes aquáticos (VIRAN *et al.*, 2002; GRISOLIA, 2005). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1993) os piretróides podem ser 1000 vezes mais tóxicos aos peixes quando comparados aos mamíferos.

A deltametrina e o esfenvalerato são dois tipos de piretróides utilizados em diversos tipos de culturas como o arroz e batata, por exemplo, e oferecem risco de contaminação hídrica por permanecerem mais de 100 dias no meio ambiente (SANTOS *et al.*, 2007). Assim, os peixes expostos a estes xenobióticos podem desencadear vários tipos de reação comportamental como o movimento rápido das brânquias, perda de equilíbrio, natação errática, presença na superfície da água como também a má formação da estrutura óssea (HOLCOMBE *et al.*, 1982).

Além das respostas comportamentais, as alterações biológicas dos peixes são utilizadas para monitorar a saúde dos ambientes aquáticos (WALKER *et al.*, 1996). As alterações genotóxicas e histológicas são exemplos desses biomarcadores ambientais (HINTON *et al.*, 1992; ALBERTINI *et al.*, 2000).

A presença de micronúcleo e outras anomalias nucleares nos eritrócitos dos peixes é utilizada para o monitoramento ambiental, já que estas correspondem aos efeitos genotóxicos e citotóxicos quando os organismos estão expostos a ambientes contaminados (KIRSCHBAUM *et al.*, 2009; OSSANA *et al.*, 2009; SERIANI *et al.*, 2010; BUCKER *et al.*, 2012; CARROLA *et al.*, 2014, SERIANI *et al.*, 2014).

Alterações histopatológicas das brânquias também funcionam como biomarcador ambiental, visto que este órgão mantém um contato direto com o ambiente, que quando poluído, pode ocasionar danos severos dificultando as trocas gasosas (BORGES, 2007) e iônicas. O fígado, por ser o órgão responsável pelo processo de biotransformação e detoxificação dos xenobióticos, acaba expondo suas células às essas substâncias químicas, que resultam em danos teciduais. Devido a este caráter, as alterações hepáticas são bastante utilizadas no monitoramento de ambientes poluídos (HEATH, 1995).

Os piretróides são os agrotóxicos mais utilizados nas agriculturas, contaminando os corpos hídricos e, conseqüentemente, os organismos aquáticos (SANTOS *et al.*, 2007). Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da deltametrina e esfenvalerato em Tambaquis (*Colossoma macropomum*), espécie nativa mais cultivada no Brasil. Estes foram submetidos a testes de toxicidade para a determinação da CL₅₀, para cada produto, e avaliação dos seus efeitos genotóxicos e histopatológicos.

2- Material e Métodos

Para a realização do experimento, foram utilizados 120 alevinos de *Colossoma macropomum* com peso médio de 9,15 g $\pm$ 1,49 coletados da CODEVASF, no município de Porto Real do Colégio. Os peixes foram previamente acondicionados em tanques de 500 litros, constantemente aerados e com temperatura média de 27 $\pm$ 2 °C, aonde foi fornecida a ração, suspensa 24 horas antes do início do teste de toxicidade aguda.

Antes da realização do teste definitivo, foi realizado um teste preliminar para cada produto com duração de 96 horas para determinar a faixa aproximada da ação nociva dos piretróides (deltametrina e esfenvalerato). Os testes definitivos, que tiveram duração de 96 horas, foram realizados em recipientes de polietileno com capacidade de 9 litros cada, nos quais foram inseridos quatro alevinos. Em cada teste definitivo, foram utilizadas quatro concentrações além do controle, e três repetições.

Durante a realização do teste de toxicidade da deltametrina, os peixes foram mantidos a uma temperatura de 28,6 $\pm$ 0,46 °C, pH 7,6 $\pm$ 0,1, amônia 0,3 $\pm$ 0,1 mg.L⁻¹, oxigênio dissolvido 6,5 $\pm$ 0,37 mg.L⁻¹ e condutividade de 129,3 $\pm$ 2,9 μ S.cm⁻¹, aonde foram expostos às concentrações de 0,00625 mg.L⁻¹, 0,06875 mg.L⁻¹, 0,13125 mg.L⁻¹ e 0,19375 mg.L⁻¹ além do controle.

Para o teste do esfenvalerato, os peixes foram acondicionados a uma temperatura de 26,6 $\pm$ 0,84 °C, pH 7,9 $\pm$ 0,23, amônia 1,8 $\pm$ 0,23 mg.L⁻¹, oxigênio dissolvido 6,3 $\pm$ 0,72 mg.L⁻¹ e condutividade de 171 $\pm$ 10,39 μ S.cm⁻¹ e submetidos às concentrações 0,021 mg.L⁻¹, 0,0417 mg.L⁻¹, 0,0625 mg.L⁻¹ e 0,08835 mg.L⁻¹.

Ao longo de ambos os testes, o comportamento dos peixes foi monitorado a cada 6 horas, nas primeiras 24 horas, e a cada 24 horas até completar as 96 horas de experimento. Os peixes mortos foram retirados e contabilizados, e os moribundos, com o mínimo de batimento opercular, teve seu sangue coletado por punção dos

vasos caudais para a análise hematológica e, posteriormente, foram sacrificados por secção medular para a coleta das brânquias e fígado destinados à análise histológica.

Para análise do micronúcleo e anomalias nucleares foi realizado a extensão sanguínea de cada peixe. Cada lâmina foi fixada com Metanol 100% (P.A.) e corada com Giemsa 10%. Foram contabilizados 2000 eritrócitos, dos quais as anomalias e micronúcleo foram classificados de acordo com Carrasco *et al.* (1990) e Fenech (2003).

Para as análises histológicas, os órgãos foram fixados em formol a 10%, desidratados em soluções gradativas de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast. Foram realizados cortes histológicos de 5 μm em micrótomo, corados com Hematoxilina e Eosina (BEHMER *et al.*, 1976) para a análise microscópica. Os órgãos foram avaliados seguindo os critérios de Cengiz e Unlu (2006).

Para o cálculo da CL_{50-96h} foi utilizado o programa Trimmed Spearman Karber (HAMILTON, 1977). Após a obtenção da CL_{50-96h} os dados foram comparados de acordo com a tabela de ZUCKER (1995). Os dados do micronúcleo foram transformados em $\ln(x+1)$ e submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal Wallis e ao teste de Dunn (5%).

3- Resultados

3.1- Teste de toxicidade aguda da Deltametrina e Esfenvalerato

Os Tambaquis, quando expostos à deltametrina, apresentaram 100% de mortalidade nas concentrações 0,13125 mg.L^{-1} e 0,19375 mg.L^{-1} nas primeiras 6 e 12 horas de experimento; 33,3% na concentração 0,06875 mg.L^{-1} e 0% de mortalidade na concentração 0,00625 mg.L^{-1} e controle. Com base nesses dados, foi determinada a CL_{50-96} horas de 0,05719 mg.L^{-1} com limite superior de 0,09 mg.L^{-1} e inferior de 0,04 mg.L^{-1} resultando na equação de regressão $y = 585,7x - 0,19$ $R^2 = 0,9239$ (Figura 7)

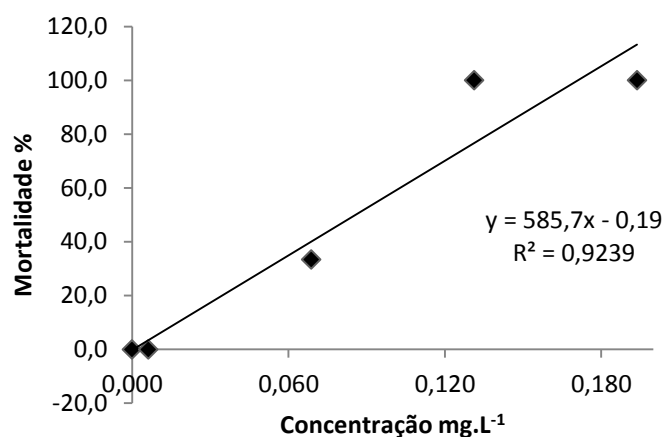


Figura 7: Relação concentração-mortalidade do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) para a Deltametrina durante o teste de toxicidade aguda.

No teste definitivo realizado com o esfenvalerato, os Tambaquis apresentaram 100% de mortalidade nas concentrações 0,0625 mg.L⁻¹ e 0,0835 mg.L⁻¹ nas primeiras 6 e 12 horas de experimento; 33,3% na concentração 0,0417mg.L⁻¹ e 0% de mortalidade na concentração 0,021 mg.L⁻¹ e controle . Com base nesses dados, foi determinada a CL₅₀₋₉₆ horas de 0,04257 mg.L⁻¹ com limite superior de 0,05 mg.L⁻¹ e inferior de 0,04mg.L-1 resultando na equação de regressão $y = 1365,8x - 11,64$ com $R^2 = 0,869$ (Figura 8)

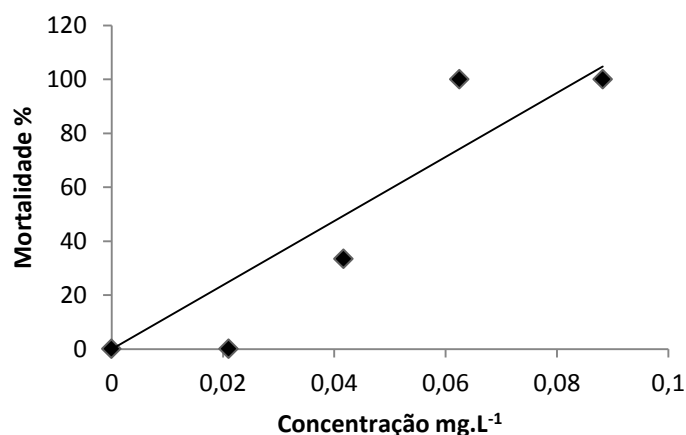


Figura 8: Relação concentração-mortalidade do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) para o Esfenvalerato durante o teste de toxicidade aguda.

Apesar dos Tambaquis (*C. macropomum*) terem se apresentado mais sensíveis ao esfenvalerato, com base nos valores da CL₅₀₋₉₆ h, foi possível observar que ambos os piretróides são extremamente tóxicos a esta espécie, de acordo com a tabela de

Zucker (1985). Ao serem expostos a esses pesticidas, os peixes apresentaram tremores, natação errática e aumento no batimento opercular.

3.2- Teste do Micronúcleo e Anomalias Nucleares

Em relação às anomalias nucleares, todas elas foram observadas nos eritrócitos dos Tambaquis expostos à deltametrina e esfenvalerato (Figura 9). Os peixes expostos a Deltametrina apresentaram uma diferença significativa de anomalias nucleares quando comparadas ao controle (Figura 10); além disso, as anomalias que mais apareceram foram “Notched”, “Blebbbed” e “8-shape” (Figura 11). Apesar de permanecerem de 6 a 12 horas nos tratamentos mais altos, os Tambaquis apresentaram um maior número de anomalias quando comparado às 96 horas de exposição nos tratamentos mais baixos (Figura 12).

Nos peixes submetidos às concentrações de esfenvalerato, as anomalias “Notched” e “8-shape” foram as que apresentaram valores significativos (Figura 13).

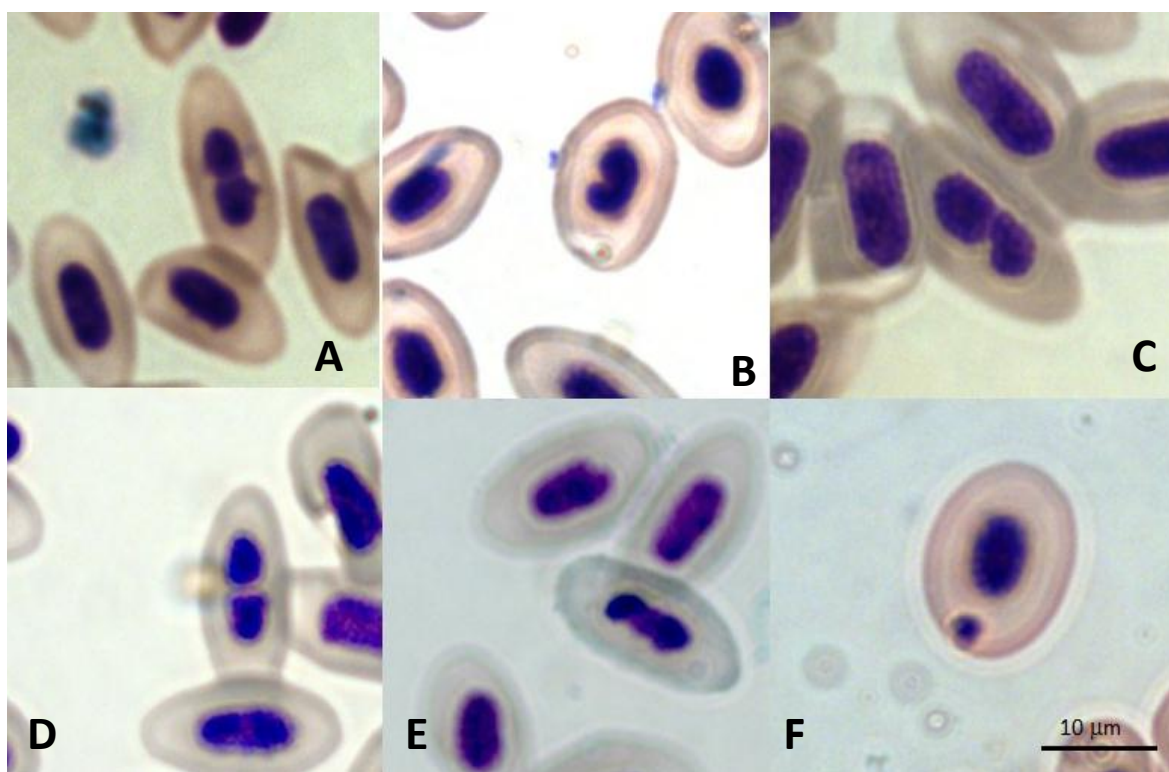


Figura 9: Diferentes tipos de anomalias encontradas em eritrócitos de Tambaquis expostos a Deltametrina e Esfenvalerato. A- “8-shape”, B- “Notched”, C- “Blebbbed”, D- “ Binucleado”, E- “Lobbed”, F- “Micronúcleo”. Giemsa 10% 1000x.

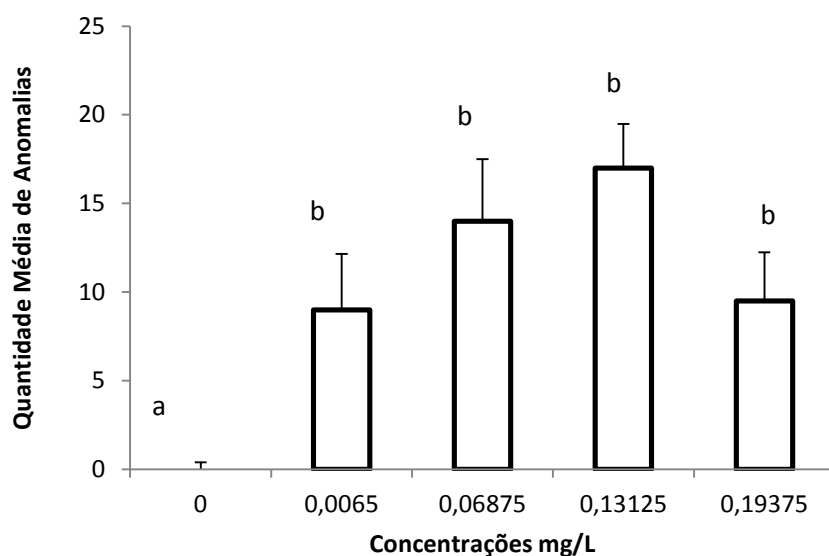


Figura 10: Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos à Deltametrina em diferentes concentrações (mg.L⁻¹). Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskall Wallis e Dunn 5%.

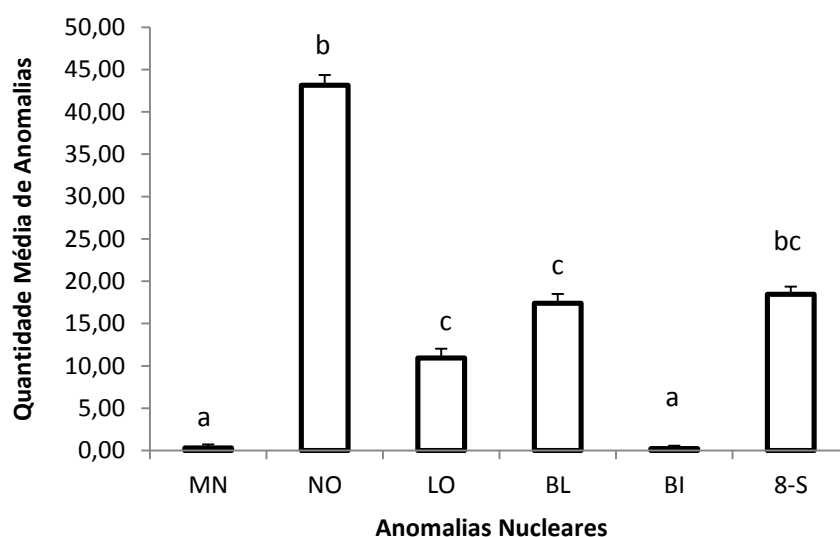


Figura 11: Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos à Deltametrina em um período de 96 horas. Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskall Wallis e Dunn 5%. **MN**- Micronúcleo, **NO**- Noched, **LO**- Lobbed, **BL**- Blebbed, **BI**- Binucleado, **8-S**- 8-Shape.

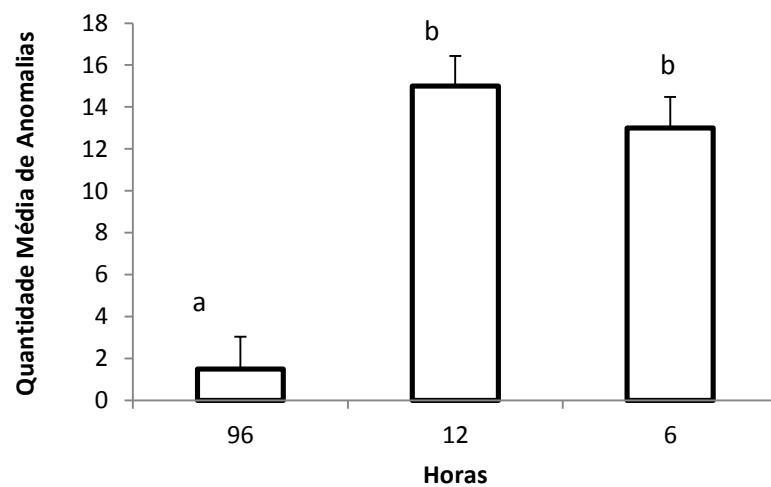


Figura 12: Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos à diferentes tempos de exposição a Deltametrina. Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Dunn 5%.

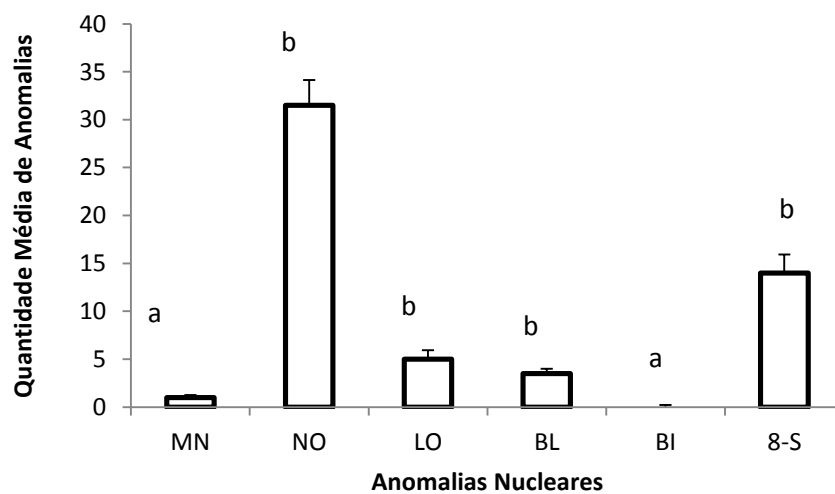


Figura 13: Frequência das anomalias nucleares em eritrócitos dos Tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos ao Esfenvalerato em um período de 96 horas. Médias com letras semelhantes não apresentam diferenças significativas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Dunn 5%. **MN**- Micronúcleo, **NO**- Noched, **LO**- Lobbed, **BL**- Blebbed, **BI**- Binucleado, **8-S**- 8-Shape.

3.3- Análise Histopatológica

Nas análises histológicas das brânquias, foram encontradas alterações como fusão lamelar, hiperplasia, edema, aneurisma e necrose nos peixes expostos a ambos os piretróides (Figura 14). O grau de lesão está descrito na Tabela 2 e Tabela 3.

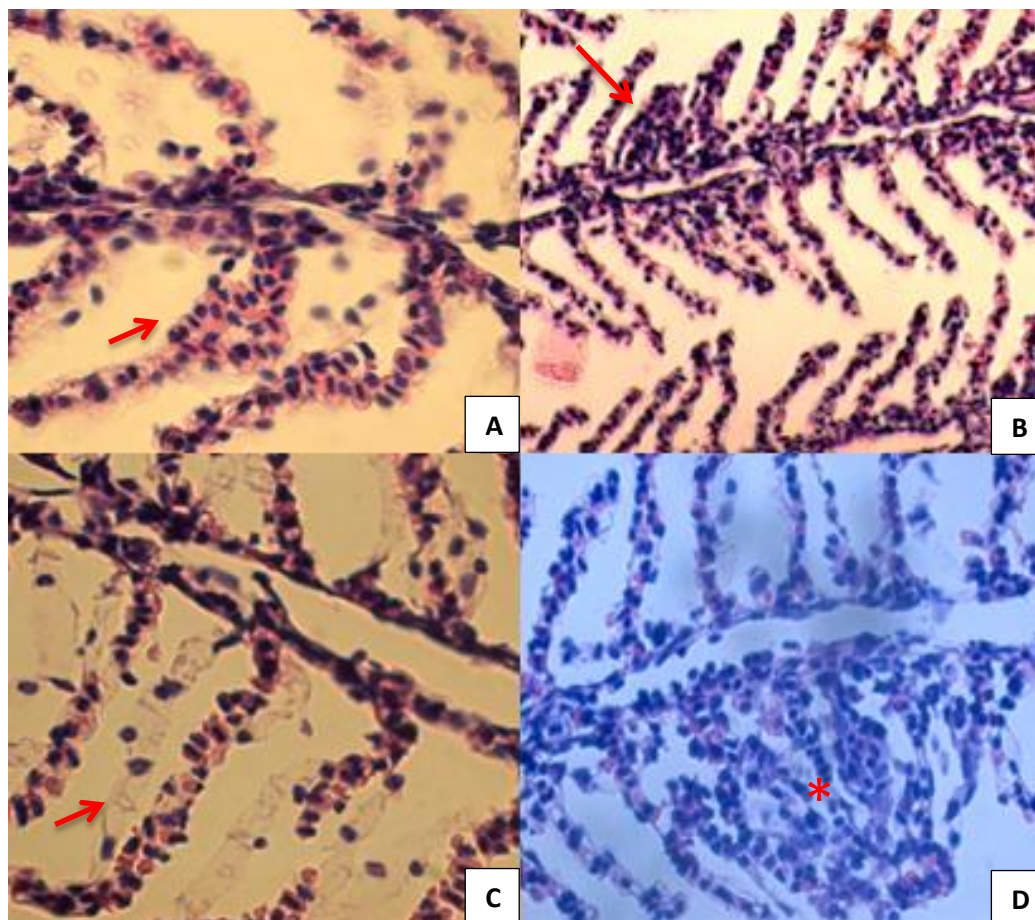


Figura 14: Alterações histológicas nas Brânquias dos Tambaquis expostos a Deltametrina e Esfenvalerato. **A-** Aneurisma. HE 400x; **B-** Fusão Lamelar HE 200x; **C-** Edema HE 1000x; **D-** Hiperplasia (*) HE 200x

Tabela 2: Efeitos histopatológicos nas brânquias dos *Colossoma macropomum* expostos a diferentes concentrações de Deltametrina. (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa.

Concentração mg.L ⁻¹	Tempo	Fusão Lamelar	Hiperplasia	Edema	Aneurisma	Necrose
Controle	96 horas	-	-	-	-	-
0,00625	96 horas	+	-	+	+	-
0,06875	96 horas	++	+	++	+	+
0,13125	12 horas	+	+	+++	+++	-
0,19375	6 horas	+++	-	+++	++	+

Tabela 3: Efeitos histopatológicos nas brânquias dos *Colossoma macropomum* expostos a diferentes concentrações de Esfenvalerato. (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa.

Concentração mg.L ⁻¹	Tempo	Fusão Lamelar	Hiperplasia	Edema	Aneurisma	Necrose
Controle	96 horas	-	-	-	-	-
0,021	96 horas	-	-	+	++	-
0,0417	96 horas	+	+	+++	+	-
0,0625	12 horas	-	-	+++	++	-
0,0835	6 horas	++	-	+++	+	+

Alterações hepáticas como Congestão, Esteatose, Necrose, presença de grânulos amarronzados e Núcleos Picnóticos (Figura 15) foram encontradas nos peixes

submetidos às diferentes concentrações dos piretróides, descritas nas Tabelas 4 e Tabela 5.

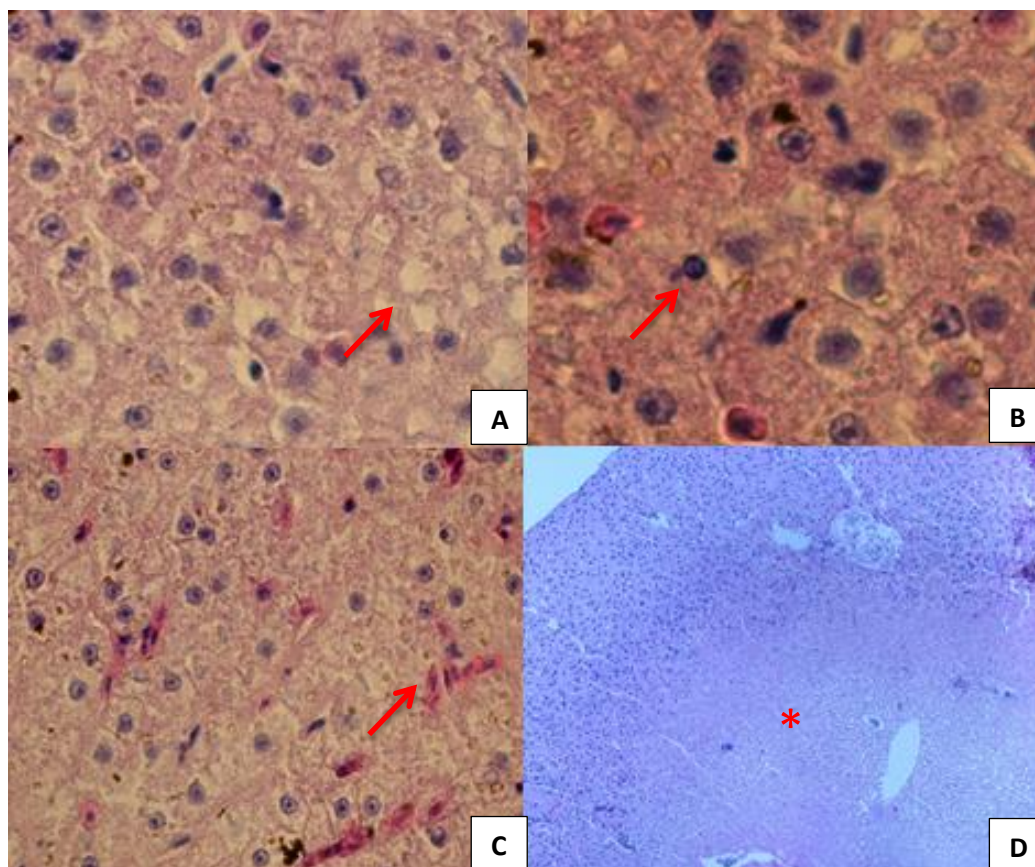


Figura 15: Alterações histológicas no Fígado de Tambaquis expostos a Deltametrina e Esfenvalerato. **A-** Esteatose HE 1000x; **B-** Núcleo Picnótico HE 1000x; **C-** Congestão sanguínea; **D-** Necrose HE. 100x.

Tabela 4: Efeitos histopatológicos nos fígados dos *Colossoma macropomum* expostos a diferentes concentrações de Deltametrina. (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa.

Concentração mg.L ⁻¹	Tempo	Congestão	Esteatose	Necrose	Picnose
Controle	96 horas	-	-	-	-
0,00625	96 horas	++	-	++	+
0,06875	96 horas	+++	+++	++	++
0,13125	12 horas	++	++	+++	++
0,19375	6 horas	+	++	+++	+

Tabela 5: Efeitos histopatológicos nos fígados dos *Colossoma macropomum* expostos a diferentes concentrações de Esfenvalerato (-) Nenhuma Anomalia; (+) Baixa Ocorrência; (++) Ocorrência Moderada e (+++) Ocorrência severa.

Concentração mg.L ⁻¹	Tempo	Congestão	Esteatose	Necrose	Picnose
Controle	96 horas	-	-	-	-
0,021	96 horas	+++	++	+++	++
0,0417	96 horas	+	+++	+++	+
0,0625	12 horas	++	++	+	+
0,0835	6 horas	+++	+	++	++

4- Discussão

Após as 96 horas de exposição à deltametrina e esfenvalerato, a CL_{50} encontrada foi de 0,05719 $mg.L^{-1}$ e 0,04257 $mg.L^{-1}$, respectivamente. Essa alta sensibilidade possivelmente ocorreu porque os peixes possuem um sistema deficiente em enzimas que hidrolisam os piretróides, além desses compostos apresentarem caráter lipofílico, aumentando a absorção através das brânquias (POLAT *et al.*, 2002; VIRAN *et al.*, 2003).

O Tambaqui se mostrou mais resistente à Deltametrina quando comparado à Tilápia (*Oreochromis niloticus*), que apresentou um CL_{50} de 0,01547 $mg.L^{-1}$ de acordo com Boateng *et al.* (2006). As carpas (*Cyprinus carpio*), expostas ao mesmo produto utilizado neste trabalho, apresentaram uma maior resistência no período de 96 horas à deltametrina, no qual a CL_{50} foi de 0,078 $mg.L^{-1}$ (KAMRIN,1977). Possivelmente, espécies de clima temperado tenham uma maior resistência a este composto.

Em relação ao esfenvalerato, Werner *et al.* (2002) avaliaram a toxicidade do xenobiótico em relação ao *Oryzias latipes* e Mulla *et al.* (1978) observaram o efeito do produto em *Tilápia mossambica*. Ambas as espécies foram mais resistentes em relação ao Tambaqui, avaliado neste estudo. O primeiro autor observou que a CL_{50} foi de 0,094 $mg.L^{-1}$. e o segundo, uma CL_{50} de 0,2 mg/L , enquanto que a do Tambaqui foi de 0,04257 $mg.L^{-1}$, o que mostra uma maior sensibilidade desta espécie.

Os testes de toxicidade aguda avaliam, principalmente, a mortalidade do organismo assim como, suas alterações de comportamento. Porém, somente esses dados não são suficientes para verificar a toxicidade dinâmica dos xenobióticos ou seus efeitos subletais. Com isso, análises complementares como de genotoxicidade e histológicas são importantes para a elucidação do efeito tóxico no organismo (FERREIRA, 2004).

Através da avaliação de genotoxicidade nos Tambaquis, foi possível observar, em ambos os testes, uma diferença estatística entre as anomalias nucleares. O Micronúcleo e a núcleos binucleados, em ambos os testes, tiveram menor frequência quando comparadas às outras anomalias. A presença de uma anomalia pode ter relação direta com a outra já que, CHAPADENSE *et al.* (2009) ao submeterem Tambaquis à atrazina, outro tipo de pesticida, observaram a presença de núcleos binucleados durante a contagem de micronúcleo. De acordo com o mesmo autor, a formação destas ocorre antes do processo de diferenciação celular.

As “bolhas” presentes nas anomalias como “Blebbbed” e “Micronúcleo” são respostas do organismo em expelir o DNA danificado, amplificado, com falhas de replicação ou

condensado de forma indevida, por isso são associadas a efeitos genotóxicos, ou seja, quando o DNA é alvo do agente químico. No entanto, as anomalias como “Binucleada” e “8-shaped” são utilizados como indicador de cromossomos dicêntricos, associados a efeitos citotóxicos quando ocorre um dano celular (PACHECO; SANTOS, 2002; PALHARES; GRISOLIA, 2002; LINDBERG *et al.*, 2007; SUMMAK *et al.*, 2010).

Com base nos resultados foi possível observar que a deltametrina produziu um efeito genotóxico e citotóxico nos Tambaquis por apresentar números significantes de núcleos (BL) e (8-S) enquanto que o esfenvalerato apenas apresentou efeitos citotóxicos, representados pela presença significativa de anomalias (8-S), provavelmente ocasionados por problemas durante a divisão celular (SANDERSON; FAUSER, 2008).

Outro fator observado na indução das anomalias foi o tempo de exposição. No teste de esfenvalerato, não houve diferença estatística. No entanto, os peixes expostos a deltametrina apresentaram uma maior quantidade de anomalias em um menor espaço de tempo (6- 12 horas), quando submetidos às concentrações mais altas do produto. Isto pode ser justificado, pois as anomalias nucleares, de acordo com Ayllon e Garcia-Vasquez (2000) e Kirschbaum *et al.* (2009) representam uma resposta prévia da formação de Micronúcleo.

Com base nos resultados dos efeitos histopatológicos das brânquias, observa-se que na concentração 0,06875 mg.L⁻¹ de deltametrina os peixes apresentaram uma maior quantidade de alterações. Isto possivelmente ocorre porque os peixes ficaram mais tempo expostos e desenvolverem diferentes expressões morfológicas de exposição.

O edema e a fusão lamelar foram as alterações mais frequentes nos peixes expostos a deltametrina. O edema pode ter sido ocasionado pela elevação de uma lâmina contínua no epitélio lamelar das células pilares, que aumentam a distância entre o meio externo e o sangue este espaço pode ser preenchido com água, formando estas alterações (WENDELAARBONGA, 1997; THOPHON *et al.*, 2003), que pode prejudicar as trocas gasosas e o transporte iônico (MALLAT, 1985; WINKALER *et al.*, 2001).

O produto também induziu aos Tambaquis a desenvolverem a fusão lamelar, possivelmente, por ser um mecanismo natural de defesa. Este mecanismo faz com que o epitélio tenha um menor contato com o produto químico (HEATH, 1987; OJHA, 1999).

Cengiz (2006) observaram que as Carpas expostas a 0,041 mg.L⁻¹ de Deltametrina durante 96 horas produziram um grau severo de hiperplasia, porém nas brânquias dos

Tambaquis submetidos às concentrações 0,19375 mg.l⁻¹ de deltametrina e 0,08835 mg.L⁻¹ de esfenvalerato, não foi encontrada hiperplasia, possivelmente em decorrência do tempo curto de exposição de apenas 6 horas.

As alterações hepáticas são normalmente iguais entre diferentes espécies e diferentes produtos, não fornecendo respostas específicas dos poluentes (SALAMAT; ZARIE, 2014). No entanto, são comumente utilizadas para estudos de poluição ambiental. Como neste trabalho, em que foi possível observar uma alteração hepática nos Tambaquis expostos aos piretróides.

Os fígados dos *C. macropomum* expostos a deltametrina e esfenvalerato apresentaram alterações histopatológicas como a congestão sanguínea, esteatose hepática, necrose e núcleos picnóticos. Nas concentrações mais altas dos dois compostos foram encontrados graus severos de necrose, provavelmente causada por hipertrofia nuclear dos hepatócitos que podem ser explicadas pela grande atividade celular em decorrência da exposição a produtos químicos (MEYER; HENDRICKS, 1985; HINTON *et al.*, 1992; TAKASHIMA; HIBIYA, 1995; FANTA *et al.*, 2003), e a congestão sanguínea no tecido hepático, decorrente do fluxo sanguíneo, a fim de melhorar a oxigenação das áreas danificadas, além de participarem no processo de detoxificação (ANDERSON; ZEEMAN, 1995).

A espécie *Cirrhinus mrigala*, submetida a teste de toxicidade com organofosforado, outro tipo de pesticida, apresentou alterações hepáticas semelhantes ao presente trabalho, como a congestão sanguínea e necrose em todas as concentrações utilizadas, exceto no controle (VELMURUGAN *et al.*, 2009). *G. affinis* expostas a Deltametrina durante 30 dias, apresentaram, além das anomalias encontradas neste trabalho, um desarranjo nos canais sinusóides e um aumento das células de Kupffer (CENGIZ *et al.*, 2006).

5- Conclusão

Através deste estudo, foi possível avaliar que os piretróides: deltametrina e esfenvalerato, foram extremamente tóxicos aos Tambaquis, com CL₅₀ de 0,05719 mg.L⁻¹ e 0,04257 mg.L⁻¹, respectivamente. Quando expostos a estes produtos, os peixes apresentaram efeitos citotóxicos e genotóxicos além de alterações histológicas no fígado e nas brânquias.

6- Referências

- ALBERTINI R.J.; ANDERSON, D.; DOUGLAS, G.R.; HAGMAR, L.; HEMMINKI, K.; MERLO, F., NATARAJAN, A.T.; NORPPA, H.; SHUKER, D.E.G.; TICE, WALTERS M.D.R.; AITIO, A. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research* 2000; 463:111-72.
- ANDERSON, D. P.; ZEEMAN, M. G. Immunotoxicology in fish. In: G M, Rand. *Fundaments of aquatic toxicology*. 2nd ed. Washington D.C. 1995.p. 317-402.
- AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ,E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessmen to fthe fish micronucleus test. *Mutation.Research* 2000; 467: 177–186.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G; Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Editora da Universidade de São Paulo; 1976
- BOATENG, J.O.N.; NUNOO, F.K.E.; DANKWA, H.R.; OCRAN, M.H. Acute toxic effects of deltamethrin on tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *West African Journal Appied. Ecology* 2006, 9: 1-18.
- BORGES, A. Changes in hematological and serum biochemical values in Jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cipermethrin. *Chemosphere* 2007; 69: 920-926.
- BUCKER, A.; CARVALHO,M.; CONCEIÇÃO,M.; ALVES-GOMES,J. Micronucleus test and comet assay in erythrocytes of the Amazonian electric fish *Apteronotus bonapartii* exposed to benzene. *Ecotoxicology Environmental Contam.* 2012; 7(1):65–73.
- CARROLA,J.; SANTOS,N.; ROCHA,M.J.; FONTAINHAS-FERNANDES,A.; PARDAL,M.A.; MONTEIRO, R.A.,ROCHA; E..Frequency of micronuclei and of other nuclear abnormalities in erythrocytes of the grey mullet from the Mondego, Douro and Ave estuaries – Portugal. *Environmental Science Pollution Research*.21:6057–6068.
- CENGIZ, E. I. Gill and kidney histopatology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2006; 22: 200-204.
- CENGIZ, 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* 2006; 21: 246- 253.

CHAPADENSE, P. F. G.; CASTRO, F. J.; ALMEIDA, J. A.; MORON, S. E. Toxicidade do herbicida atrazina em *Colossoma macroporum*. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 2009; 10(2): 398-405.

FERREIRA, C. M. Análises complementares obtidas a partir de testes de toxicidade aquática. In: *Sanidade de Organismos Aquáticos*. Ranzani Paiva, M. J. T., Takemoto R. M., Lizama, M. A. P., Ed. Varela; 2004. p. 273-284.

FANTA, E.; RIOS, F. S.; ROMÃO, S.; VIANNA, A.C.C. AND FREIBERGER, S. Histopathology of fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2003; 54: 119-130.

GRISOLIA, C.K. 2005. *Agrotóxicos: mutações, cancer & reprodução*. Editora Universidade de Brasília; 2005.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science Techonology* 1977, 7: 714-719.

HEATH, A. G. *Water Pollution and Fish Physiology*. C.R.C. Press, 1987.

HEATH, A.G. *Water pollution and fish physiology*. 2ed. Lewis Publishers; 1995.

HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. 1992. Histopathologic Biomarkers. In: Huggett, R. J.; R.J.; Kimerle, R.A.;Mehrlé,J.R.; Bergman, H.L. *Biomarkers: Biochemical, Physiologicaland Histological Markers of anthropogenic stress*. Lewis Pubishers, Boca Raton.1992

HOLCOMBE, S. W.; PHIPPS, G. L.; TANNER, D. K. The acute toxicity of kethane, dursban, disulfoton, pydrin, and permethrin to fathead minnows *Pimephales promelas* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Environmental. Pollutution Search* 1982; 29:167–178.

KAMRIN, A.C. *Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate*. Lewis publishers; 1997.

KIRSCHBAUM, A.A.; SERIANI,R.; PEREIRA,C.D.; ASSUNÇÃO,A.; ABESSA,D.M.; ROTUNDO,M. M.; RANZANI-PAIVA, M.J. Cytogenotoxicity biomarkers in fat snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP,Brazil. *Genetic and Molecular Biology* 2009; 32(1),151–154.

LINDBERG, H.K.; WANG, X.; JARVENTAUS, H.; FALCK, G.C.M.; NORPPA, H.; FENECH, M. Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes. *Mutation Research* 2007; 617: 33-45.

MALLAT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical Review. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 1985; 42: 630

MEYER A A.; CRASS, R.A.;LIM, R.C.;JEFFERY,R,B.;FEDERLE, M.P. TUNKEY,D.D. Selective nonoperative management of blunt liver injury using computed tomography. *Arch Surg* 1985;120:550–554.

MULLA, M.S., H.A. NAVVAB-GOJRATI AND H.A. DARWAZEH Toxicity of mosquito larvicidal pyrethroids to four species of freshwater fishes. *Environmental. Entomology* 1978, 7: 428-430.

OJHA, J. Fish gills: potential indicators of ecodegradation of aquatic environments. In: Mittal, A K, Eddy, F B, Dattamunshi, J S. *Water/air transition in biology*. E.U.A.: Science Publishers; 1999; 263 – 279.

OSSANA, N.A.; EISSA, B.L.; SALIBIAN, A.Short communication: cadmium bio-concentration and genotoxicity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal Environmental Health* 2009; 3: 302–309.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2002; 53: 331 – 347.

PALHARES, D.; GRISOLIA C.K. Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Genetic and Molecular Biology* 2002; 25: 281–284.

PIMPÃO, C. T. *Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo: estudo bioquímico e imunotóxico*, Curitiba- Brasil [Tese de Doutorado] Paraná: 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* 2002, 49: 39-44.

SALAMAT,N.; ZARIE, M. Fish histopathology as a tool for use in marine environment monitoring: A review. *Comparative Clinical Pathology* 2014, 24: 1-6.

SANDERSON, H., FAUSER, P., THOMSEN, M., LARSEN, J.B. Weight-of evidence environmental risk assessment of dumped chemical weapons after WWII along the Nord-Stream gas pipeline in the Bornholm Deep. *J. Hazard. Mater.* 2012; 215-216.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. *Alimentos e Nutrição* 2007; 18 (3):339-349.

SERIANI, R.; MOREIRA, L.B.; ABESSA, D.M.S.; MARANHO, L.A.; ABUJAMARA, L.D.; CARVALHO, N.S.B.; KIRSCHBAUM, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Haematological analysis in *Micropogonias furnieri* from two estuaries at Baixada Santista, São Paulo. *Brazilian Journal Oceanography* 2010; 57: 1–8.

SERIANI, R.; ABESSA,D.M.S.; KIRSCHBAUM,A.A.; PEREIRA,C.D.S.; ROMANO,P.; RANZANI- PAIVA,M.J.T. Relationship between water toxicity and hematological changes in *Oreochromis niloticus*. *Braz.J.Aquat.Sci.Tech.* 2014; (15): 47–53.

SUMMAK, S.; AYDEMIR, N.C.; VATAN, O.; YILMAZ, D.; ZORLU, T.; BILALOGLU, R. Evaluation of genotoxicity from Nilufer Stream (Bursa/ Turkey) water using piscine micronucleus test. *Food Chemistry Toxicology* 2010, 48: 2443-2447.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology normal and pathological features. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag; 1995.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*. 2003; 121: 307 – 320.

VELMURUGAN,B.; SELVANAYAGAM, M.; CENGIZ, E.I.; UNLU, E. Histopathological changes in the gills and liver tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* exposed to dichlorvos. *Brazilian Archive Biology and Technology* 2009, 52: 1291-1296.

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

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. *Principles of ecotoxicology*. Londres: Taylor & Francis; 1996.

WENDELAAR BONGA, S. E. The Stress Response in Fish. *Physiological Review* 1997; 77 (3): 591- 620.

WERNER, I.; GEIST, J.; OKIHIRO, M.; ROSENKRANZ, P.; HILTON, D. E. Effects of dietary exposure to the pyrethroid pesticide efenvalerate on medaka (*Oryzias latipes*). *Marine Environmental Research* 2002, 54:609-614.

WINKALER, E. V.; SILVA, A. G.; GALINDO, H. G.; MARTINEZ, C. B. R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde dos peixes de ribeirões de Londrina, estado do Paraná. *Acta Scientiarum* 2001, 23(2):507-514.

ZUCKER, E. Hazard evaluation division – Standard evaluation procedure – Acute toxicity test for freshwater fish. 1985 [acessado em 10 ago 2014]. Disponível em: <www.epa.gov>.

7- CONSIDERAÇÕES GERAIS

Apesar dos piretróides serem praticamente atóxicos aos seres humanos, o uso indiscriminado destes pode ocasionar sérios problemas ambientais, principalmente no comprometimento das espécies mais sensíveis, como os peixes.

Além disto, os piretróides também são utilizados como inseticidas domésticos e no controle de piolhos humanos e veterinários, gerando novas formas de contaminação e expondo pessoas a riscos de intoxicação.

No presente trabalho, foi possível determinar duas concentrações letais (deltametrina e esfenvalerato) para os Tambaquis, principal espécie nativa cultivada no país e na região do Baixo São Francisco Sergipano. Deste modo, estes resultados podem auxiliar programas de manejo, a fim de minimizar os impactos ambientais causados por estes inseticidas.

Mais além, o trabalho foi de caráter inovador visto que, não existem estudos que avaliaram o efeito destes compostos em Tambaquis, dando base para trabalhos futuros.

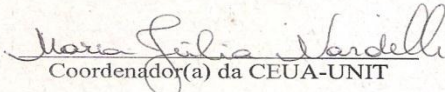
8- ANEXO



UNIVERSIDADE TIRADENTES
DIRETORIA DE PESQUISA E EXTENSÃO
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

DECISÃO DA CEUA-UNIT

O projeto, “Avaliação dos efeitos tóxicos da Deltametrina e Esfenvalerato em Tambaquis (*Colossoma macropomum*) da região do Baixo São Francisco Sergipano” processo nº 030514, foi submetido à avaliação na CEUA-UNIT, pela pesquisador **Rodrigo Yudi Fujimoto**, onde recebeu o parecer de **Aprovado**, dos membros dessa comissão, na reunião realizada no dia 22 de maio de 2014.


Coordenador(a) da CEUA-UNIT

UNIVERSIDADE TIRADENTES - URJ
Pres.^a Maria Júlia Nardelli
Comitê de Ética no Uso Animal
Coordenadora

UNIVERSIDADE TIRADENTES
AV. MURILO DANTAS Nº 300 B.FAROLÂNDIA
CEP: 49.032-490 | ARACAJU - SE - BRASIL

TELEFONE: (79)3218 2112
F AX: (79) 3218 21 00

1