

Notas Científicas

Respostas fisiológicas de tambaqui a banhos terapêuticos com mebendazol

Edsandra Campos Chagas⁽¹⁾, Lucelle Dantas de Araújo⁽¹⁾, André Luiz Ferreira da Silva⁽¹⁾,
Levy de Carvalho Gomes⁽¹⁾ e Franmir Rodrigues Brandão⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Amazônia Ocidental, Caixa Postal 319, CEP 69011-970 Manaus, AM. E-mail: edsandra@cpa.embrapa.br, levy@cpa.embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818) a banhos terapêuticos com mebendazol. Juvenis de tambaqui (n = 108, massa média de 37,80±0,24 g) foram submetidos a banhos terapêuticos de mebendazol a 0, 100, 300 e 600 mg L⁻¹, com três repetições, em exposições de 30, 60 e 120 minutos. Não foram observadas diferenças significativas para íons plasmáticos (sódio, potássio e cálcio) e parâmetros hematológicos – hematócrito, número de eritrócitos e constantes corpusculares –, com exceção da hemoglobina, que apresentou aumento significativo, após 120 minutos na concentração de 300 mg L⁻¹ de mebendazol, de forma similar ao que ocorreu com a glicose. Os indicadores fisiológicos de estresse avaliados revelam que o tambaqui mantém a sua homeostasia em concentrações de até 600 mg L⁻¹ de mebendazol por até 120 minutos, com boa tolerância ao mebendazol.

Termos para indexação: *Colossoma macropomum*, estresse fisiológico, hematologia, concentração de íons plasmáticos, piscicultura.

Physiological responses of tambaqui to therapeutic baths of mebendazole

Abstract – The objective of this work was to evaluate the physiological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818) to therapeutic baths with mebendazole. Tambaqui juveniles (n = 108, mean weight 37.80±0.24 g) were submitted to therapeutic baths with mebendazole at 0, 100, 300 and 600 mg L⁻¹, with three replicates, during 30, 60 and 120 minutes. No significant differences were observed for plasma ions (sodium, potassium and calcium) concentration and for hematological parameters (hematocrit, eritrocit numbers and corpuscular indices), except hemoglobin, which increase after exposure of 120 minutes in the mebendazole concentration of 300 mg L⁻¹ was significant, similarly to the observed for glucose. Stress physiological indices evaluated showed that tambaqui maintains its homeostasis in concentrations until 600 mg L⁻¹ of mebendazole for 120 minutes, presenting a good tolerance to mebendazole.

Index terms: *Colossoma macropomum*, physiological stress, hematology, plasma ions concentrations, fish culture.

O tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818), espécie mais cultivada na Região Norte do Brasil (Val et al., 2000), apresenta bom desempenho em criação intensiva (Melo et al., 2001). Nesse sistema, os peixes são expostos continuamente a vários estressores (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997), como alterações na química da água, altas densidades de estocagem, manuseio excessivo e uso indiscriminado de drogas no tratamento de doenças (Wedemeyer, 1996).

As respostas ao estresse são divididas em três categorias: primária, secundária e terciária (Wendelaar

Bonga, 1997). Em geral, diante de um estressor, a resposta primária consiste na liberação de hormônios como o cortisol (Barton & Iwama, 1991; Acerete et al., 2004); a secundária está relacionada ao metabolismo energético, como hiperglicemia e alteração da homeostase eletrolítica no sangue e tecidos (Barton & Iwama, 1991; McDonald & Milligan, 1997; Wendelaar Bonga, 1997); a terciária inclui o comprometimento no desempenho, mudanças no comportamento e aumento da suscetibilidade a doenças (Wedemeyer, 1996; Wendelaar Bonga, 1997).

O tratamento de doenças parasitárias, como as causadas pelos monogenóides, parasitas de maior ocorrência em tambaquis criados em tanques-rede (Varella et al., 2003), ainda é um problema, principalmente porque os produtos usualmente aplicados são tóxicos para os peixes e para o meio ambiente. O controle de monogenóides tem sido realizado com o uso do mebendazol, bitionol e praziquantel, administrados por meio de banhos e oralmente (Schmahl & Taraschewski, 1987; Kim & Choi, 1998; Martins et al., 2001), sendo o mebendazol considerado uma das drogas mais eficazes e menos tóxicas para os peixes (Kim & Choi, 1998; Martins et al., 2001). Contudo, não há relatos sobre tolerância do tambaqui às drogas utilizadas no controle de doenças parasitárias.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas de tambaqui (*C. macropomum*) expostos a banhos terapêuticos com mebendazol.

Juvenis de tambaqui (comprimento padrão, $13,48 \pm 0,48$ cm, e massa $37,80 \pm 0,24$ g) foram criados em tanques escavados de 200 m^3 no setor de piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental e alimentados com ração comercial para peixes onívoros (36% PB) até a saciedade aparente, seis dias por semana, durante o período pré-experimental.

Nos ensaios, 108 tambaquis foram distribuídos em 12 tanques de polietileno (100 L), segundo um delineamento inteiramente casualizado, em quatro tratamentos experimentais, correspondentes às concentrações de mebendazol de 0, 100, 300 e 600 mg L^{-1} , com três repetições por tratamento. Em cada unidade experimental, foram estocados nove animais, aclimatados por 24 horas antes do início dos banhos terapêuticos, que tiveram a duração de 120 minutos. Nesse período, a alimentação dos animais foi suspensa.

Parâmetros físico-químicos das unidades experimentais, como temperatura ($26,93 \pm 0,23^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($7,57 \pm 0,09 \text{ mg L}^{-1}$) e pH ($6,81 \pm 0,05$) foram monitorados durante a execução dos banhos terapêuticos.

A tolerância do tambaqui a banhos terapêuticos com mebendazol foi avaliada mediante análise de indicadores fisiológicos, em intervalos de 30, 60 e 120 minutos. Para isso, com os peixes previamente anestesiados (100 mg L^{-1} de benzocaína), procedeu-se à coleta de sangue de nove peixes de cada tratamento (três de cada repetição) nos diferentes tempos de exposição, mediante punção de vasos caudais com seringas heparinizadas, para determinação do hematócrito (Ht), depois da centrifugação do sangue (12.000 g , 10 minutos), em tubos microcapilares heparinizados, e posterior leitura em

escala padronizada; concentração de hemoglobina (Hb), segundo o método da cianometá-hemoglobina; e contagem do número de eritrócitos (RBC), realizada em uma câmara de Neubauer, depois da diluição do sangue em solução de formol citrato. Equações hematimétricas (Acerete et al., 2004) foram utilizadas para determinação das constantes corpusculares, como o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). A concentração de glicose foi determinada usando um monitor de glicose no sangue (Advantage). Depois desse procedimento, o sangue foi centrifugado a 3.500 rpm , por cinco minutos, para obtenção do plasma, visando à determinação dos níveis de Na^+ e K^+ , utilizando fotômetro de chama (B462, Micronal), e dos níveis de Ca^{2+} , estimados por espectrofotometria de absorção atômica (Varian AA-1475).

Os resultados estão expressos em média \pm erro-padrão da média. As diferenças entre as médias dos tratamentos foram estabelecidas por análise de variância de dois fatores (two way ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto às diferentes concentrações de mebendazol avaliadas, não foi observada a ocorrência de mortalidade de tambaquis em 30, 60 e 120 minutos de exposição. A avaliação hematológica não mostrou alterações significativas nos valores de Ht, RBC, VCM, HCM e CHCM nas diferentes concentrações de mebendazol e tempos de exposição (Tabela 1). Por sua vez, aumento significativo nos valores de Hb foi observado nos tambaquis expostos à concentração de 300 mg L^{-1} de mebendazol depois de 120 minutos, em comparação ao tempo de 60 minutos. Essa variação intra-específica na hemoglobina também foi observada por Tavares-Dias & Mataqueiro (2004) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*), em decorrência dos elevados valores do coeficiente de variação da hemoglobina, normalmente registrados em peixes sob uma mesma condição ambiental. Apesar dessa variação, relatada para hemoglobina, na concentração de 300 mg L^{-1} de mebendazol, os valores deste indicador e dos demais parâmetros hematológicos analisados foram similares aos verificados em tambaquis cultivados e outras 25 espécies de peixes da Bacia Amazônica (Marcon et al., 1999; Chagas et al., 2003), em pacu do Pantanal (Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004) e jundiá (*Rhamdia quelen*) (Borges et al., 2004).

A concentração de glicose dos peixes expostos a 300 mg L⁻¹ de mebendazol foi significativamente maior aos 120 minutos de exposição, se comparada a 30 e 60 minutos, e quando comparada aos valores obtidos nas concentrações 0 e 100 mg L⁻¹ em 120 minutos de exposição (Tabela 1). Os níveis de sódio, potássio e cálcio plasmático não apresentaram diferenças significativas nas diferentes concentrações de mebendazol e tempos de exposição.

Tabela 1. Parâmetros fisiológicos de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após exposição ao mebendazol⁽¹⁾.

Tempo de exposição (minutos)	Mebendazol (mg L ⁻¹)			
	0	100	300	600
Hematócrito (%)				
30	31,97 ± 1,69a	30,45 ± 1,04a	30,69 ± 1,30a	28,33 ± 1,69a
60	33,28 ± 1,92a	34,53 ± 1,79a	33,86 ± 1,85a	29,67 ± 1,60a
120	33,33 ± 1,04a	32,50 ± 2,50a	33,11 ± 0,62a	32,81 ± 1,62a
Hemoglobina (g dL ⁻¹)				
30	8,38 ± 0,62a	8,41 ± 0,52a	9,38 ± 0,79ab	9,27 ± 0,47a
60	10,01 ± 0,98a	10,16 ± 0,34a	8,52 ± 0,67a	8,61 ± 0,29a
120	9,36 ± 0,26a	9,89 ± 0,37a	11,01 ± 0,37b	9,86 ± 0,46a
Número de eritrócitos (10 ⁶ mm ⁻³)				
30	2,51 ± 0,15a	2,26 ± 0,26a	2,24 ± 0,26a	2,17 ± 0,25a
60	2,42 ± 0,19a	2,34 ± 0,19a	2,23 ± 0,21a	1,86 ± 0,18a
120	2,55 ± 0,23a	2,52 ± 0,30a	2,50 ± 0,16a	2,28 ± 0,18a
Volume corpuscular médio (µm ³)				
30	130,44 ± 8,85a	148,75 ± 15,38a	153,46 ± 18,58a	145,66 ± 18,89a
60	140,08 ± 6,79a	163,71 ± 27,46a	160,30 ± 13,74a	166,68 ± 11,44a
120	143,48 ± 11,02a	144,30 ± 16,88a	154,85 ± 11,24a	150,55 ± 12,91a
Hemoglobina corpuscular média (pg)				
30	34,21 ± 2,94a	39,98 ± 3,56a	47,25 ± 6,31a	47,79 ± 6,63a
60	41,33 ± 2,95a	47,26 ± 6,41a	39,39 ± 2,81a	48,79 ± 3,55a
120	38,72 ± 2,99a	43,76 ± 4,88a	45,12 ± 2,59a	45,04 ± 3,68a
Concentração de hemoglobina corpuscular média (%)				
30	26,49 ± 2,00a	27,66 ± 1,47a	30,56 ± 2,21a	33,06 ± 1,44a
60	29,59 ± 1,71a	29,91 ± 1,51a	25,29 ± 1,69a	29,35 ± 0,97a
120	27,08 ± 1,01a	31,60 ± 2,00a	29,66 ± 1,39a	30,36 ± 1,42a
Glicose (mg dL ⁻¹)				
30	58,80 ± 3,03a	55,56 ± 3,54a	55,89 ± 2,81a	58,67 ± 2,61a
60	58,63 ± 3,14a	52,86 ± 2,71a	52,67 ± 1,76a	57,68 ± 2,96a
120	58,11 ± 2,63aA	61,57 ± 2,76aA	73,13 ± 3,01bB	66,75 ± 4,34aAB
Sódio plasmático (mEq L ⁻¹)				
30	124,89 ± 2,09a	126,25 ± 2,75a	122,77 ± 2,64a	128,18 ± 1,53a
60	121,99 ± 2,92a	127,02 ± 2,25a	118,90 ± 5,91a	122,55 ± 4,85a
120	119,31 ± 3,68a	126,05 ± 2,30a	123,76 ± 1,75a	124,12 ± 2,43a
Potássio plasmático (mEq L ⁻¹)				
30	5,55 ± 0,29a	5,80 ± 0,14a	5,70 ± 0,35a	6,06 ± 0,15a
60	5,63 ± 0,27a	5,46 ± 0,34a	5,70 ± 0,34a	5,57 ± 0,09a
120	5,38 ± 0,27a	5,50 ± 0,36a	5,31 ± 0,19a	5,41 ± 0,37a
Cálcio plasmático (mEq L ⁻¹)				
30	5,84 ± 0,16a	6,08 ± 0,30a	6,12 ± 0,16a	5,93 ± 0,14a
60	5,90 ± 0,21a	6,24 ± 0,16a	6,08 ± 0,21a	5,99 ± 0,12a
120	5,84 ± 0,11a	5,91 ± 0,23a	5,94 ± 0,16a	6,48 ± 0,13a

⁽¹⁾Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, apresentam diferença significativa em relação aos diferentes tempos de exposição e às diferentes concentrações de mebendazol, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A dosagem da glicose sanguínea é considerada um método valioso no diagnóstico da ocorrência de estresse fisiológico em peixes (Wendelaar Bonga, 1997; Acerete et al., 2004), por sua precisão e praticidade. A elevada concentração de glicose dos peixes expostos a 300 mg L⁻¹ de mebendazol, em 120 minutos, pode estar relacionada à resposta individual, visto que diversos fatores ambientais e não ambientais influem nos níveis de glicose em peixes (Barton & Iwama, 1991; Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004). Nesse estudo, em concentrações superiores (600 mg L⁻¹ de mebendazol), o tambaqui não apresentou elevação dos teores de glicose que caracterizasse a ativação de respostas de adaptação geral. Os indicadores fisiológicos avaliados mostram que o tambaqui, quando exposto ao mebendazol (0, 100, 300 e 600 mg L⁻¹), por até 120 minutos, ainda consegue manter a sua homeostasia.

O mebendazol tem sido empregado no controle de monogenóides, nos peixes, em concentrações de até 500 mg L⁻¹, em banhos de curta duração (Martins et al., 2001). Neste estudo, o tambaqui apresentou boa tolerância ao mebendazol até 600 mg L⁻¹, corroborando estudos realizados com outras espécies, que relatam que o mebendazol é uma droga com baixa toxicidade para os peixes (Kim & Choi, 1998; Martins et al., 2001). Contudo, é necessário avaliar a eficácia dos banhos terapêuticos com mebendazol, mediante a realização da avaliação parasitológica dos animais para, com os resultados deste estudo, estabelecer uma concentração que apresente baixa toxicidade para peixes e alta eficácia no controle de monogenóides.

Referências

- ACERETE, L.; BALASCH, J.C.; ESPINOSA, E.; JOSA, A.; TORT, L. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*, v.237, p.167-178, 2004.
- BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, v.1, p.3-26, 1991.
- BORGES, A.; SCOTTI, L.V.; SIQUEIRA, D.R.; JURINITZ, D.F.; WASSERMANN, G.F. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.30, p.21-25, 2004.
- CHAGAS, E.C.; LOURENÇO, J.N.P.; GOMES, L.C.; VAL, A.L. Desempenho e estado de saúde de tambaquis cultivados em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Goiânia. *Anais*. Jaboticabal: Aquabio, 2003. v.2, p.83-93. Editado por E.C. Urbinati, J.E.P. Cyrino.

- KIM, K.H.; CHOI, E.S. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea) on the gills of cultured rockfish (*Sebastes schelegeli*) with oral administration of mebendazole and bithionol. **Aquaculture**, v.167, p.115-121, 1998.
- MARCON, J.L.; CHAGAS, E.C.; KAVASSAKI, J.M.; VAL, A.L. Intra-erythrocytic phosphates in 25 fish species of the Amazon: GTP as a key factor in the regulation of Hb-O₂ affinity. In: VAL, A.L.; VAL, V.M.F. de A. (Ed.). **Biology of tropical fishes**. Manaus: Inpa, 1999. p.229-240.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatius* (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes, Characidae) in Brazil. Efficacy and hematology. **Acta Parasitologica**, v.46, p.332-336, 2001.
- McDONALD, D.G.; MILLIGAN, C.L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWAMA, G.K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; SCHRECK, C.B. (Ed.). **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p.119-144.
- MELO, L.A.S.; IZEL, A.C.U.; RODRIGUES, F.M. **Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas**. Embrapa Amazônia Ocidental, 2001. 30p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 18).
- SCHMAHL, G.; TARASCHEWSKI, H. Treatment of fish parasites. 2. Effects of praziquantel, niclosamide, levamisole-HCl, and metrifonate on monogenea (*Gyrodactylus aculeati*, *Diplozoon paradoxum*). **Parasitology Research**, v.73, p.341-351, 1987.
- TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M.I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, v.26, p.157-162, 2004.
- VAL, A.L.; ROLIM, P.R.; RABELO, H. Situação atual da aqüicultura na Região Norte. In: VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. (Ed.). **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/MCT, 2000. p.247-266.
- VARELLA, A.M.B.; PEIRO, S.N.; MALTA, J.C. de O.; LOURENÇO, J.N.P. Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Osteichthyes: Characidae) cultivado em tanques-rede em um lago de várzea da Amazônia, Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Goiânia. **Anais**. Jaboticabal: Aquabio, 2003. v.1, p.95-106. Editado por E.C. Urbinati, J.E.P. Cyrino.
- WEDEMEYER, G.A. **Physiology of fish in intensive culture systems**. New York: Chapman & Hall, 1996. 232p.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v.77, p.591-625, 1997.

Recebido em 2 de maio de 2005 e aprovado em 4 de outubro de 2005