

Toxicidade Aguda do Paration Metílico para Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

André Luiz Ferreira da Silva
Edsandra Campos Chagas

Resumo

O paration metílico é um inseticida organofosforado geralmente empregado na aqüicultura em tratamentos via banhos terapêuticos no controle de parasitas monogenóides, contudo não é conhecida a tolerância do tambaqui a este organofosforado. O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade aguda do paration metílico para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Para isso, juvenis de tambaqui foram expostos a sete diferentes concentrações de paration metílico (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0 mg/L) em testes de toxicidade aguda com duração de 96 horas. Foram conduzidos ensaios preliminares para estabelecer as concentrações a serem utilizadas nos testes definitivos. Os ensaios preliminares e os testes definitivos foram conduzidos em tanques de polietileno (100 L), com três repetições por tratamento, sendo estocados 8 peixes por caixa. Os parâmetros de qualidade de água das unidades experimentais foram monitorados durante os ensaios e a alimentação foi suspensa nesse período. O valor de CL_{50} (concentração média letal) foi determinado pelo método Trimmed Spearman-Kärber, utilizando a mortalidade média dos peixes. A CL_{50} de paration metílico para o tambaqui foi estimada em 2,91 mg/L, indicando baixa tolerância do tambaqui a este organofosforado.

Termos para indexação: Ecotoxicologia, piscicultura, organofosforados.

Toxicity acute of parathion methylic to tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Abstract

Paration methylic is a organophosphorade insecticide generally used in the aquaculture in therapeutical baths to the control of monogeneans

parasites, however the tolerance of tambaqui to this organophosphorade is not known. The objective of this work was to determine the acute toxicity of paration methylic for tambaqui (*Colossoma macropomum*). For this, juveniles of tambaqui had been displayed in seven different concentrations of paration methylic (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 and 6,0mg/L) in tests of acute toxicity with duration of 96h. Preliminary test were conducted to establish the concentrations to be used in the definitive tests. The preliminary test and the definitive tests were conducted in polyethylene tanks (100 L), with three repetitions for treatment and the stocking density was 8 fish for box. The parameters of water quality of the experimental units were monitored during the test and the feeding suspended in this period. The value of LC_{50} (lethal average concentration) was determined by the method Trimmed Spearman-Kärber, using the average mortality of the fish. The LC_{50} of paration methylic for tambaqui was 2,91 mg/L, indicating low tolerance of tambaqui to this organophosphorade.

Index terms: Ecotoxicology, culture fish, organophosphorade.

Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um teleósteo de água doce pertencente à ordem Characiformes, família Serrasalmidade (GERY, 1977), sendo nativo das bacias do Amazonas, Orinoco e afluentes. É uma espécie com excelente potencial para cultivo por apresentar bom crescimento, hábito gregário, resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido na água e excelente utilização de alimentos (SAINT-PAUL, 1986).

Dentre as doenças parasitárias, as mais comumente relatadas para o tambaqui são causadas por acantocéfalos (*Neoechinorhynchus buttnerae*), *Myxobolus* sp., monogenóides, copépodos, branquiúros e fungos (MALTA et al., 2001; VARELLA et al., 2003). Além desses grupos de parasitas relacionados muitos outros são conhecidos por parasitar o tambaqui tanto em ambiente natural quanto em condições de cultivo (MALTA et al., 2001; VARELLA et al., 2003), sendo as enfermidades mais severas causadas por monogenóides (PAVANELLI, 2002).

Os protocolos de tratamento comumente empregados no controle de parasitas de peixes consistem na realização de banhos terapêuticos,

uso de rações medicadas e aplicação de vacinas (THUNE et al., 1997; WISE & JOHNSON, 1998; REED et al., 1999; WISE et al., 2000; FOUZ et al., 2001; WISE & TERHUNE, 2001). Tratamentos via banhos com vários químicos terapêuticos e inseticidas têm sido conduzidos com várias espécies de peixes utilizando-se paration metílico, formalina, permanganato de potássio, cloreto de sódio, ácido acético, peróxido de hidrogênio, sal e mebendazol (KABATA, 1985; THATCHER, 1991; PAVANELLI, 2002; ARAÚJO et al., 2004; ARAÚJO, 2005).

O uso do paration metílico tem sido bastante estudado pelo fato de ser um inseticida organofosforado muito utilizado na agricultura, geralmente em doses de 20 kg/hectare, e também na aqüicultura para o controle de parasitas monogenóides, controle de larvas de odonatas e copépodos (NOGA, 1996; SILVA et al., 1993; RODRIGUES et al., 1997; CRUZ et al., 2004).

Os organofosforados atuam inibindo a ação da enzima acetil colinesterase, formando um complexo estável no sítio esterásico da enzima, impedindo a reação da acetilcolina com este sítio (LARINI, 1987). Estudos realizados com paration metílico demonstram que a exposição a esse químico pode resultar na inibição da enzima acetilcolinesterase ou prejudicar as atividades reprodutivas dos peixes quando utilizado em concentrações inadequadas (AGUIAR et al., 2004; ALMEIDA et al., 2005; ADITYA ?CHATTOPADDDHYAY, 2000; FERRARI et al., 2004), além de causar alterações histológicas nas lamelas branquiais em sua exposição aguda (FANTA et al., 2003).

O tratamento de doenças parasitárias em peixes é ainda um grande problema, principalmente pelo fato de serem aplicados químicos tóxicos aos peixes, uma vez que poucas são as informações disponíveis sobre a toxicidade desses químicos terapêuticos utilizados para o controle de parasitas em peixes, devendo a tolerância da espécie a esses químicos ser avaliada para estabelecer protocolos eficazes e com boa margem de segurança. Neste caso, os testes de toxicidade aguda e crônica são essenciais por simularem a situação ambiental (características físico-químicas da água) na qual os organismos são expostos a uma determinada substância tóxica, durante um curto espaço de tempo (24 a 96 horas) (BERTOLETTI, 1990).

Para amostras de potencial tóxico desconhecido, sejam elas ambientais ou compostos químicos, é recomendada antes da realização do teste definitivo a execução de um teste preliminar para conhecer a faixa

aproximada da sua ação nociva, ou seja, a maior diluição que causa morte a 100% dos peixes e a menor diluição na qual não se observa o efeito. Esses valores-limite definem a diluição inicial, o intervalo entre as diluições e a diluição da série de diluições do teste definitivo (KNIE ? LOPES, 2004).

O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade aguda do paration metílico para o tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Material e Métodos

Material Biológico

Os juvenis de tambaqui foram adquiridos na fazenda Santo Antônio em Rio Preto da Eva AM. Em seguida esses animais foram transportados para o campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental localizado no Km 29 da Rod. AM010 (estrada Manaus-Itacoatiara), onde foram aclimatados em tanques escavados de 200 m³ durante o período pré-experimental. Os peixes foram alimentados seis dias por semana com ração comercial para tambaqui (34%PB) até saciedade aparente, durante sua permanência nos tanques escavados. A alimentação dos animais foi suspensa 24 horas antes do início dos testes e durante os mesmos.

Os parâmetros de qualidade da água foram avaliados diariamente durante a execução dos testes experimentais. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de pHmetro da marca YSI Environmental, modelo 100, as medidas de temperatura e oxigênio dissolvido foram realizadas com o auxílio de um monitor YSI 55, alcalinidade (mg/L) e dureza (mg/L) por titulação e amônia total (mg/L) pelo método de endofenol.

Ensaio preliminar

Para determinação da CL₅₀-96 horas do paration metílico foram realizados testes preliminares para estabelecer um intervalo de concentrações a ser utilizado no ensaio definitivo. As diluições do inseticida foram preparadas em intervalos de cinco concentrações. Os ensaios tiveram duração de 48 horas com avaliações comportamentais e de mortalidade a cada 24 horas. Ao final do ensaio foi determinada a maior concentração que causa letalidade a 100% dos organismos e a menor concentração na qual não se observa letalidade. Dados de mortalidade em cada concentração permitiram o cálculo da concentração letal mediana (CL₅₀). Com base no valor da CL₅₀ preliminar foram definidas duas concentrações acima e duas abaixo para uso no ensaio definitivo de toxicidade aguda.

Determinação da concentração média letal (CL_{50} 96 h) de paration metílico

A CL_{50} 96 h é a concentração de uma determinada substância tóxica que promove a parada total dos movimentos respiratórios, da locomoção, perda de equilíbrio e ausência de respostas a estímulos de 50% dos animais expostos durante ensaios de 96 horas (SPRAGUE, 1990).

Para determinação da CL_{50} -96 horas do paration metílico os exemplares de tambaqui foram transferidos para caixas de polietileno com volume fixo de 100 L, onde no momento da transferência foram registrados o peso e o comprimento dos animais. As caixas foram dotadas de um sistema semi-estático com aeração constante durante os testes. Após um período de aclimação de 24 horas os juvenis de tambaqui foram expostos a diferentes concentrações de paration metílico (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0 mg/L), estabelecidas no ensaio preliminar, por um período de 96 horas. Os teste foram efetuados com grupos de oito animais e cada concentração foi testada com três repetições em um delineamento inteiramente casualizado. A alimentação dos animais foi suspensa 24 horas antes do início dos testes e durante os mesmos. Os animais mortos durante os ensaios da CL_{50} -96 horas foram contados e retirados a cada 24 horas. Também foi feita uma observação comportamental dos peixes durante a exposição ao paration metílico.

Análise estatística

Para a estimativa da CL_{50} -96 horas foi usado o método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977), utilizando-se os dados médios de mortalidade dos peixes.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água foram analisados no período de aclimação dos animais nas unidades experimentais (Tabela 1), cujos valores de oxigênio, temperatura e pH estão semelhantes aos encontrados por Izel & Melo (2004) para tambaquis cultivados. Os valores de amônia estão em níveis considerados normais para criação de peixes, sendo valores recomendados abaixo de 1 mg/L (PAVANELLI, 2002). Os valores de alcalinidade e dureza registrados nesse estudo foram baixos (inferiores a 10 mg/L), contudo, as águas de ocorrência natural da espécie normalmente apresentam baixas concentrações de

íons dissolvidos (ARAÚJO-LIMA & GOULDING, 1998; IZEL, 1995) e esse padrão é comumente encontrado nos sistemas produtivos onde não se realiza a calagem do viveiro, além disso, para o tambaqui não há registros de níveis adequados para a criação da espécie.

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários experimentais de testes de toxicidade com paration metílico para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Valores expressos em média \pm desvio padrão.

Parâmetros de qualidade da água	Valores
Oxigênio dissolvido (mg/L)	8,3 \pm 1,22
Temperatura (°C)	24,9 \pm 0,70
pH	5,31 \pm 0,36
Alcalinidade (mg de CaCO ₃ /L)	2,09 \pm 0,24
Dureza (mg de CaCO ₃ /L)	9,20 \pm 2,59
Amônia (mg/L)	0,07 \pm 0,05

As concentrações de 0,0 e 1,0 mg/L não ocasionaram mortalidade dos peixes, por outro lado, as concentrações de 5,0 e 6,0 causaram 100% de mortalidade em 96 horas de exposição ao paration metílico (Fig. 1). A taxa de mortalidade foi diretamente proporcional ao aumento na concentração de paration metílico adicionado na água dos tanques experimentais, demonstrando uma boa relação dose-resposta (Fig. 1).

A CL₅₀-96 horas de paration metílico calculada para o tambaqui foi de 2,91 mg/L. Esta dosagem demonstra uma baixa tolerância do tambaqui a este organofosforado quando comparado a juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e o peixe mosquito (*Gambusia affinis*), que tiveram suas CL₅₀-96 horas calculadas em 6,0 mg/L, 9,86 mg/L e 13,45 mg/L de paration metílico, respectivamente (BOONE & CHAMBERS, 1996; AGUIAR et al., 2004; CRUZ et al., 2004).

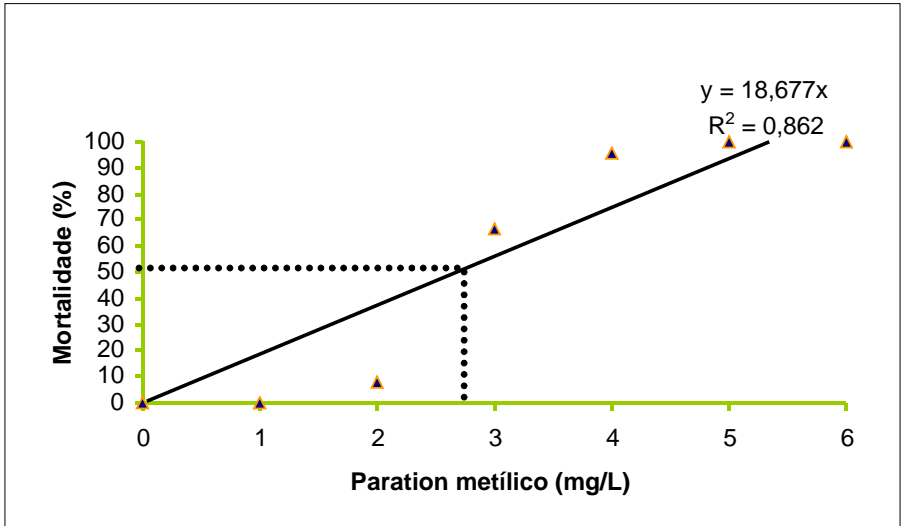


Fig. 1. Mortalidade, após 96 horas, de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) expostos ao paration metílico em diferentes concentrações.

De uma forma geral em todas as concentrações testadas os peixes demonstraram sinais de asfixia subindo várias vezes à superfície para captação do oxigênio, se mostrando hiperativos. Foram observados um aumento na frequência do batimento opercular e uma intensa liberação de muco após 24 horas de exposição, seguida de perda de equilíbrio, olhos saltados e hemorragias nasais em tambaquês expostos as concentrações de 5,0 e 6,0 mg de paration metílico/L. Esses mesmos sinais foram observados para o pacu e matrinxãs quando expostos ao paration metílico (CRUZ et al., 2004; AGUIAR et al., 2004). Esses sinais geralmente são observados devido à ação do agrotóxico na inibição do sistema enzimático colinérgico (CRUZ et al., 2004).

Conclusão

A CL_{50} -96 horas de paration metílico calculada para o tambaqui foi de 2,91 mg/L, demonstrando uma baixa tolerância da espécie ao organofosforado.

Referências

ADITYA, A. K.; CHATTOPADHYAY, S. Accumulation of methyl parathion in the muscle and gonad of *Labeo rohita*. *Journal of Environmental Biology*, v. 21, n. 1, p. 55-57, 2000.

AGUIAR, L. H. et al. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater matrinxã, *Brycon cephalus*. *Environmental Research*. v. 95, p. 224-230, 2004.

ALMEIDA, L. C.; AGUIAR, L. H.; MORAES, G. Effect of methyl parathion on the muscle and brain acetylcholinesterase activity of matrinxã (*Brycon cephalus*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1412-1416, 2005.

ARAÚJO, L. D. Eficácia da administração oral do mebendazol no controle de monogenóides parasitas de brânquia do tambaqui (*Colossoma macropomum*). 2005. 27 f. Monografia Embrapa, Esbam, Manaus.

ARAÚJO, L. D.; CHAGAS, E. C.; GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R. Efeito de banhos terapêuticos com formalina sobre indicadores de estresse em tambaqui. *Revista Brasileira de Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, p. 217-221, 2004.

Araújo-Lima, C.; Goulding, M. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Brasília, DF: Sociedade Civil Mamirauá: CNPq, 1998. 186 p.

Bertoletti, E. Toxicidade e concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. *Ciência & Cultura*, v. 42, p. 271-227, 1990.

CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J. G.; MENEZES, M. L. Toxicidade aguda do inseticida paration metílico e do biopesticida azadiractina de folhas de Neem (*Azadirachta indica*) para alevino e juvenil de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio ambiente*, Curitiba, v. 14, p. 93-102, 2004.

FANTA, E. et al. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 54, p. 119130, 2003.

FERRARI, A.; VENTURINO, A.; D'ANGELO, A. M. P. Time course of brain cholinesterase inhibition and recovery following acute and subacute azinphosmethyl, parathion and carbaryl exposure in the goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 57, p. 420425, 2004.

FOUZ, B. et al. Field testing of a vaccine against eel diseases caused by *Vibrio vulnificus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 45, p. 183-189, 2001.

GÉRY, J. Characoids of the world. Neptune: Tropical Fish Hobbyist, 1977. 672 p.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, v. 11, p. 714-719, Correction (1978) 12, 417, 1997.

IZEL, A. C. U.; MELO, L. A. S. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em tanques escavados no Estado do Amazonas. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2004. 19 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 32).

IZEL, A. C. U. A qualidade do solo e da água. In: VAL, A. L.; HONCZARYK. (Ed.). Criando peixes na Amazônia. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1995. p. 17-28.

LARINI, L. Toxicologia. São Paulo: Manole, 1987. 315 p.

KABATA, Z. Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. London: Taylor & Francis, 1985. 318 p.

KNIE, J. L. N.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos- métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004. 289 p.

MALTA, J. C. O. et al. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* GOLVAN, 1956, (EOACANTHOCEPHALA, NEOECHINORHYNCHIDAE) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) cultivados na Amazônia Central. Acta Amazônica, v. 31, n. 1, p. 133-143, 2001.

NOGA, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment. St. Louis: North Carolina State University, College of Veterinary Medicine, 1996. 367 p.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 2. ed. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. 305 p.

REED, P.; FRANCIS-FLOYD, R.; KLINGERR, R. Monogenean trematodes. Gainesville: University of Florida, 1999. 5 p. (Fact sheet, 28).

RODRIGUES, E. L. et al. Efeito agudo do organofosforado Dipterex 500 (Trichlorfon) em baço de curimatá *Prochilodus scrofa* (STEINDACHNER, 1881). Pirassununga: CEPTA, 1997. p. 197-203. (Boletim Técnico CEPTA).

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American freshwater fisher: a review. Aquaculture, v. 54, p. 205-240, 1986.

SILVA, H. C. et al. Sublethal effects of the organophosphate Folidol 600 (methyl parathion) on *Callichthys callichthys* (Pisces:Teleostei). Comparative Biochemistry and Physiology, Oxford, v. 105c, n. 2. p. 197-201, 1993.

SPRAGUE, J. B. Aquatic toxicology. In: SCHRENCH, C. B.; MOYLE, P. B. (Ed.). Methods for fish biology. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p. 491-528.

THATCHER, V. E. Amazon fish parasites. *Amazoniana*, v. 11, p. 263-572, 1991.

THUNE, R. L.; COLLINS, L. A.; PENA, M. P. A. A Comparison of immersion, immersion/oral combination and injection methods for the vaccination of channel catfish *Ictalurus punctatus* against *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 28, n. 2, p. 193-201, 1997.

VARELLA, A. M. B. et al. Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Osteichthyes: Characidae) cultivado em tanques-rede em um lago de Várzea na Amazônia, Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: Aquabio, 2003. v. 2. p. 95-106.

WISE, D. J. et al. Vaccination of mixed and full-sib families of channel catfish *Ictalurus punctatus* against enteric septicemia of catfish with a live attenuated *Edwardsiella ictaluri* isolate (re-33). *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 31, n. 2, p. 206-212, 2000.

WISE, D. J.; TERHUNE, J. S. The relationship between vaccine dose and efficacy in channel catfish *Ictalurus punctatus* vaccinated as fry with a live attenuated strain of *Edwardsiella ictaluri* (re-33). *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 32, n. 2, p. 177-183, 2001.

WISE, D. J.; JOHNSON, M. R. Effect of feeding frequency and romet-medicated feed on survival, antibody response, and weight gain of fingerling channel catfish *Ictalurus punctatus* after natural exposure to *Edwardsiella ictaluri* (re-33). *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 29, n. 2, p. 169-175, 1998.