

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

Efeito da exposição ao carbofurano sobre o comportamento e metabolismo de Lambaris (*Deuterodon iguape*)

Ricardo Claudionor Mendes

Orientador: Prof. Dr. Edison Barbieri

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA – SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca

São Paulo
Janeiro – 2019

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

Efeito da exposição ao carbofurano sobre o comportamento e metabolismo de Lambaris (*Deuterodon iguape*)

Ricardo Claudionor Mendes

Orientador: Prof. Dr. Edison Barbieri

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA – SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca

São Paulo
Janeiro – 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação. Instituto de Pesca, São Paulo

M538e

Mendes, Ricardo Claudionor

Efeito da exposição ao carbofurano sobre o comportamento e metabolismo de lambaris (*Deuterodon iguape*). - São Paulo, 2019
iv 57f. ; il. ; gráf. , tab.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Orientador: Edison Barbieri

1. Poluentes. 2. Aquáticos. 3. Velocidade. 4. Amônia. 5. Oxigênio
I. Barbieri, Edison

CDD 597.8

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar ao Ser maior em quem acredito Deus, pelo direcionamento de minha vida. Em especial a minha família, começando pela minha esposa Josi que compreendeu este plano, por ter me motivado mesmo sendo penoso para ela, pois nos momentos em que eu estava ocupado com os trabalhos, era ela quem gerenciava com maestria nossa família e nosso lar. Aos nossos filhos Vinícius e Davi por serem minhas inspirações, e por cada sorrisinho deles que me abastecia de disposição. Aos meus pais e irmãos pela alegria que manifestaram quando iniciei esta etapa, sendo para mim uma razão especial de incentivo.

Ao meu orientador, Professor Dr. Edison Barbieri, pelo convite de ser seu orientado, pelo desprendimento de seu tempo para com meu trabalho, pelo conhecimento repassado, pelas diversas correções necessárias, e claro, pela amizade. Tenha certeza professor, seu exemplo de excelente profissional é o impulso para nós alunos.

À Professora Dr Karina pelos ensinamentos a mim e a outros alunos, por ter apresentado um experimento em sua aula, pois foi ali que nasceu o interesse em desenvolvê-lo em minha dissertação e também pela sua gentil amizade.

Aos demais professores, pesquisadores e funcionários do Instituto de Pesca, em especial para a equipe da unidade de Cananéia. Agradecimentos também ao sr Dito pelos cuidados para com o laboratório e aos nossos peixes. Agradecer também ao meu ex-aluno, colega, companheiro e amigo Kelison pela ajuda “deboa” durante o trabalho.

Não poderia deixar de agradecer ao sr Ocimar pela excelente recepção e o ótimo tratamento a todos nós alunos, sempre gentil e pronto a ajudar.

Enfim, devo gratidão a todos vocês, pois, sem a participação peculiar de cada um, esta oportunidade, este sonho e este momento grandioso não teria acontecido em minha vida.

Obrigado!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO GERAL	iii
ABSTRACT	iv
INTRODUÇÃO GERAL	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
ARTIGO	15
RESUMO	16
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. <i>Poluente utilizado</i>	21
1.2. <i>Organismo teste</i>	21
1.3. <i>Ensaio de exposição no comportamento</i>	22
1.4. <i>Contagem dos movimentos operculares e movimentos de nadadeiras dorsais</i>	22
1.5. <i>Coletas de informações da velocidade de natação</i>	23
1.6. <i>Análises Estatísticas para comportamento</i>	24
1.7. <i>Ensaio de exposição para metabolismo</i>	24
1.8. <i>Análise do consumo de oxigênio e excreção de amônia</i>	24
1.9. <i>Análises estatísticas</i>	25
2. RESULTADOS	25
2.1. <i>Comportamento: Movimentos operculares nos aquários de exposição (exposição-reposo)</i>	26
2.2. <i>Comportamento: movimentos operculares durante filmagens</i>	28
2.3. <i>Comportamento: movimentos das nadadeiras dorsais nos aquários de exposição-reposo</i>	31
2.4. <i>Comportamento: movimentos das nadadeiras dorsais durante filmagens</i> . 34	
2.5. <i>Comportamento: velocidade da natação</i>	37
2.6. <i>Metabolismo: Consumo específico de oxigênio</i>	37
2.7. <i>Metabolismo: Excreção específica de amônia</i>	38
3. DISCUSSÃO	39
4. CONCLUSÃO	42
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
Anexo 01:	51
Sistema para análise - Experimento.....	51
Anexo 02:	52
Análise estatística – Movimentos operculares.....	52

RESUMO GERAL

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da exposição de lambaris (*Deuterodon iguape*) em diferentes concentrações de carbofurano ($C_{12}H_{15}NO_3$). Os parâmetros analisados foram o movimento opercular, o movimento de nadadeiras dorsais e a velocidade de natação, referentes ao comportamento; e o consumo específico de oxigênio e a excreção específica de amônia, referentes ao metabolismo. Para o comportamento foram utilizados seis aquários de mesmas dimensões abastecidos com 30L úteis de água, onde quatro referem-se aos grupos de exposição, um ao grupo controle e um aquário para o registro de filmagens. Para os quatro grupos de exposição, as concentrações utilizadas do poluente foram de 0,01mg/L, 0,05mg/L, 0,1mg/L e 0,5mg/L. Cada um dos grupos de exposição, e o controle, receberam cinco indivíduos de *D. iguape* escolhidos aleatoriamente. As coletas dos dados de movimentos operculares e nadadeiras dorsais ocorreram nos períodos de 0, 2, 24 e 48 horas, tanto nos aquários de exposição quanto no aquário para registro de filmagens. Já os dados de velocidade de natação foram coletados nestes mesmos períodos, mas apenas no aquário de filmagens. Os aquários das filmagens foram utilizados para o registro pós estresse dos peixes, haja vista a transferência de aquário. Para as avaliações do metabolismo foram utilizados cinco aquários de mesmas dimensões, com 30L úteis de água, divididos em quatro grupos de exposição conforme concentrações (0,05; 0,1; 0,25; e 0,5mg/L), e um aquário para o grupo controle. O período de exposição foi de 24 horas, onde após o término, os indivíduos foram transferidos para um sistema fechado de respirometria. As amostras foram retiradas do respirômetro, a fim de aferir o consumo de oxigênio e a excreção de amônia. Os resultados demonstraram que para o comportamento e metabolismo, os peixes expostos apresentaram alterações consideráveis, frente ao controle. As alterações de movimentos operculares, nadadeiras dorsais e velocidade de natação, principalmente nas concentrações mais altas, demonstraram maior diminuição dos dados nos períodos de 24 e 48 horas. Já para o metabolismo, os parâmetros apresentaram aumento dos dados em todas as concentrações utilizadas.

Palavras-chave: Poluentes, Aquático, Velocidade, Amônia e Oxigênio.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of lambaris exposure (*Deuterodon iguape*) on different concentrations of carbofuran ($C_{12}H_{15}NO_3$). The analyzed parameters were the operculum movement, the dorsal fin movement and the swimming speed, referring to the behavior; and the specific oxygen consumption and the specific excretion of ammonia, referring to the metabolism. For the behavior, six aquariums of the same size were used, supplied with 30L of water, where four refer to the exposure groups, one to the control group and one aquarium to record the footage. For the four exposure groups, the pollutant concentrations used were 0.01mg / L, 0.05mg / L, 0.1mg / L and 0.5mg / L. Each of the exposure groups, and control, received five randomly chosen *D. iguape* individuals. The data collection of operculum and dorsal fin movements occurred in the periods of 0, 2, 24 and 48 hours, both in the aquariums and in the aquarium for filming records. The swim speed data were collected in these same periods, but only in the aquarium. The filming aquariums were used for post-stress recording of the fish, in view of the aquarium transfer. For the metabolism evaluations, five aquariums of the same dimensions were used, with 30L of water, divided into four exposure groups according to concentrations (0.05, 0.1, 0.25 and 0.5mg / L), and one for the control group. The exposure period was 24 hours, where after the end, subjects were transferred to a closed respirometry system. Samples were taken from the breathalyser in order to measure oxygen uptake and ammonia excretion. The results showed that for the behavior and metabolism, the exposed fish showed considerable changes, compared to the control. Changes in operculum movements, dorsal fins and swimming velocity, especially in the highest concentrations, showed a greater decrease of the data in the periods of 24 and 48 hours. For the metabolism, the parameters presented increase of the data in all the concentrations used.

Keywords: Pollutants, Aquatic, Velocity, Ammonia and Oxygen.

INTRODUÇÃO GERAL

As alterações em ambientes aquáticos representam riscos aos organismos ali existentes, uma vez que a água é um fator fundamental para a vida. Com a poluição química ameaçando estes ecossistemas, a preocupação tem-se aumentado por parte dos pesquisadores em todo o mundo (MONTANHA *et al.*, 2011). De modo geral os ecossistemas, de alguma maneira, já sofreram algum tipo de alteração sob a ação antrópica, não ficando isento os ambientes aquáticos (GOULART & CALLISTO, 2003). As fontes destas contaminações derivam principalmente de efluentes domésticos, agrícolas e industriais (MARTINEZ & CÓLUS, 2002), os quais não são tratados e assim lançados nos corpos hídricos.

Conforme ARIAS *et al.* (2007) e BARBIERI *et al.* (2013) poluentes recorrentes, nocivos a biota do ambiente aquático, são os agrotóxicos, que em áreas de agricultura intensiva, há uso constante destes produtos, onde os rios e lagos acabam recebendo quantidades consideráveis devido ao transporte por águas pluvial. Dependendo da concentração e a acumulação de pesticidas, nestes ambientes, pode ocasionar problemas para as espécies locais (GRISOLIA, 2005).

BRASCO (1988) explica que apesar da qualidade e o aumento na produtividade agrícola devido ao uso de agrotóxicos, o emprego destes produtos é realizado de forma exorbitante no Brasil. Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2018), o país é o terceiro maior consumidor de pesticidas do mundo, principalmente pelo aumento de cultivo de monoculturas como a soja, que possui baixa resistência a pragas. Há anos que novos pesticidas estão sendo desenvolvidos, principalmente os de uso generalizado, utilizados pelo método de pulverização, o que potencializa sua dispersão no meio e aumenta o contato com o ambiente aquático (AYDIN *et al.*, 2005).

BULL & HATHAWAY (1986), salientam que a situação do uso de agrotóxicos, em excesso ou inadequado, acarreta grandes riscos para o meio ambiente, comprometendo os ecossistemas aquáticos, por seu potencial de recepção no meio.

Dentre estes produtos existe o grupo dos carbamatos, ou uretanos, que pertencem a classe mais comum de agrotóxicos do Brasil, pois a sua eficiência

no extermínio de pragas agrícolas é muito grande (FMC, 1997). Como exterminadores de pragas existem os inseticidas, que podem ser os derivados CARB (carbamatos) que possuem ação idêntica aos inseticidas OF (organofosforados), porém, geram um complexo instável com a colinesterase o que contribui para uma rápida recuperação enzimática, diferentemente aos inseticidas OF que ao ligarem-se a acetilcolinesterase através do centro esterásico, impossibilitam a função de hidrolisar o neurotransmissor da acetilcolina (SAÚDE, 2019). Um dos grandes representantes dos carbamatos é o carbofurano (2,3-diidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil metil carbamato), considerado extremamente tóxico para o ser humano e animais, onde a ingestão mínima pode representar grandes riscos à saúde. Segundo a World Health Organization (1996) a ingestão involuntária aceitável de porção de carbofurano possui margem entre 0 a 0,002mg / Kg / dia, desta forma o que for além pode comprometer à saúde dos organismos.

MOREIRA (2004) afirma que, devido ao processo de dispersão do carbofurano quando utilizado, mesmo apresentando rápida degradação, seus efeitos são de escala destrutiva. Por razão desta alta toxicidade, o carbofurano foi proibido nos Estados Unidos e em toda a Europa, considerado assim assunto de saúde pública e ambiental (USEPA, 2006). Em contrapartida, no Brasil, ainda se comercializa e utiliza o produto em grande escala, mesmo com a intensificação dos esforços para o seu banimento do país, principalmente pelo fato de que a ANVISA emitiu a Nota Técnica de Reavaliação nº02/2017, discutindo sobre o assunto, carbofurano, e sua periculosidade para a sociedade e para o meio ambiental.

PRESTES *et al* (2013) esclarece que apesar da ação tóxica destes compostos químicos em muitos organismos, há de se considerar também as interações entre contaminantes que estão no ambiente, o que podem agravar ainda mais a toxidade local e aumentar os impactos. ZAGATTO & BERTOLETTI (2006), relatam que a presença destes contaminantes conduzem à síntese química, pois as suas configurações estruturais envolvem átomos ou grupos funcionais que são raramente, ou nunca, encontrados no ambiente. No ambiente aquático, estes contaminantes passam por processos de transformação e transporte, onde podem ser adsorvidos no sedimento. Dissolvidos na água ou dispersos, devido a volatilização no ambiente, podem

ainda sofrer hidrólise, oxidação ou fotólise, contribuindo para o surgimento de novos compostos químicos, ou mesmo ocorrer a biodegradação (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Estudos já comprovaram a biodegradação de muitos pesticidas inclusive o carbofurano, no entanto, o tempo de duração desta biodegradação acaba se tornando um risco iminente para os organismos (FELSOT, 1989; HEAD *et al.* 1992; MEGHARAJ *et al.* 1994; HUSSAIN *et al.* 2007; CÁCERES *et al.* 2008). BERTOLETTI (1990) afirma que são estes dados que auxiliam na classificação de um ambiente adequado, bem como, na avaliação do impacto ambiental.

Em se tratando de organismos aquáticos, considera-se em especial os peixes, pois quando em exposição a poluentes são os que tendem a manifestar e indicar, por meio do comportamento, a condição desfavorável da água e sua provável alteração (APHA, 1985). As reações ligadas a presença de poluentes, afetam a natação, dificultando o deslocamento para busca de alimentos e fuga de predadores, bem como afetam também a disposição respiratória e fisiológica (BARBIERI & FERREIRA, 2011).

LANFRANCHI (2006) esclarece que os peixes possuem um sistema de absorção muito direta, uma vez que, as vias de respiração e ingestão facilitam o direcionamento dos poluentes para a rota gastrointestinal. TIERNEY (2013) salienta que os mecanismos celulares de absorção como difusão passiva, difusão facilitada, filtração por canais de membrana, transporte ativo e endocitose, são sistemas em que os poluentes percorrem até chegarem a órgãos específicos, ocasionando efeitos biológicos instantâneos. Caso o poluente não tenha sido alterado durante o processo de absorção, pode afetar visivelmente as atividades de interação com o meio (SANTANA & CAVALCANTE, 2016).

Das atividades de interação com o meio destacam-se o movimento opercular (devido a respiração) e a natação, porém, o consumo específico de oxigênio e a excreção de amônia podem ser utilizados como biomarcadores ao nível metabólico em peixes. Movimentos operculares, natação e sua velocidade, bem como o movimento de nadadeiras dorsais, são mecanismos vitais para os peixes, pois é por meio da interação desses comportamentos que os organismos se locomovem para adquirir alimentos, fugir de predadores e realizar suas atividades importantes para algumas espécies como a migração

(HOWARD, 1975; RAND, 1984; BERTOLETTI, 1990; CACERES *et al.*, 2008 e BARBIERI *et al.* 2013). O surgimento de limitações a natação (diminuição de velocidade e direção) dos peixes, ocasionadas pela exposição a poluentes, indicam que tais parâmetros são ideais para a avaliação diante das possíveis condições ambientais (HOWARD, 1975; WICKS *et al.*, 2002; BARBIERI *et al.* 2002; BARBIERI & FERREIRA, 2011). Considerando a natação como parâmetro, este comportamento pode auxiliar não somente na identificação de presença de poluentes, como também seus efeitos sobre a saúde do peixe (RAND, 1984; BARBIERI *et al.*, 1998; SANTANA & CAVALCANTE, 2016).

O presente estudo teve como espécie experimental o *Deuterodon iguape*, uma vez que é muito comum em corpos hídricos da região do Vale do Ribeira, São Paulo, ocorrendo desde os rios da costa sul do Estado até o litoral-centro no município de Cubatão-SP (OYAKAWA *et al.*, 2006). A espécie é comumente estudada, em se tratando de sua sistemática ecológica, carecendo ainda no aspecto comportamental (LUCENA, 1992; LUCENA, 2002; TIERNEY, 2013). *D. iguape* é popularmente conhecido como lambari, pertence à ordem Characiformes, família Characidae, que conforme estudos é considerado como um bioindicador adequado devido a sua sensibilidade com alterações no ambiente (OYAKAWA *et al.*, 2006), o que pode contribuir de forma importante para neste trabalho.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o efeito do carbofurano no comportamento e no metabolismo de *D. iguape*.

Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da exposição ao carbofurano sobre o comportamento de *D. iguape*, considerando movimentos operculares, movimento de nadadeiras dorsais e velocidade da natação.

Avaliar os efeitos da exposição ao carbofurano considerando o metabolismo, através dos resultados do consumo de oxigênio e da excreção de amônia.

Avaliar a viabilidade do emprego de *D. Iguape* como bioindicador para a testes ecotoxicológicos.

Apresentação da Dissertação

Este trabalho é apresentado em forma de um artigo científico, onde trata sobre a verificação de alterações nos movimentos operculares, movimentos de nadadeiras dorsais, velocidade de natação e metabolismo (consumo específico de oxigênio e excreção de amônia), frente a exposição ao carbofurano.

Artigo: Efeito da exposição ao carbofurano sobre o comportamento e metabolismo de Lambaris (*Deuterodon iguape*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2018. Anvisa divulga resultado do monitoramento de agrotóxico em alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/publicacoes> . Acesso em: 16 Fev.

ANVISA, Nota Técnica de Reavaliação. GGTXO/ANVISA. Reavaliação. 2017.

APHA. 1985. Standard Methods of the examination of water and Waster. 16 th ed., New York. American Public Health Association.

ARIAS, A.R.L.; BUSS, D.F; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A.F; FREIRE, M.M.; EGLER, M.; MUGNAL, R.; BAPTISTA, D.F. 2007 Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. Ciência e Saúde Coletiva 12 (1): 61 – 72.

AYDIN, R.; KOPRUCU, K.; DORUCU, M.; KOPRUCU, S. S.; PALA, M. 2005. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Aquaculture International*, v.13, p. 451-458.

BARBIERI, E.; PHAN, V.N.; GOMES, V. 1998. Efeito do DSS, dodecil sulfato de sódio, no metabolismo e na capacidade de natação de *Cyprinus carpio*. *Rev. Brasil. Biol.* 58, 263-271.

BARBIERI, E., I. R. OLIVEIRA e P. C. S. SERRALHEIRO. 2002. The use of metabolism to evaluate the toxicity of dodecil benzen sodium sulfonate (LAS-C12) on the *Mugil platanus* (mullet) according to the temperature and salinity. *J. E. Mar. Biol. Ecol.* 277: 109-127

BARBIERI, E.; FERREIRA, L.A.A. 2011 Effects of the organophosphate pesticide Folidol 600 on the freshwater fish, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Pest. And physiology* 99:209-214.

BARBIERI, E.; BRANCO, J. O.; FERRÃO, M. C.; HIDALGO, K. R. 2013. Effects of Cadmium and Zinc on Oxygen consumption and ammonia excretion of the Sea-Bob shrimp, according to temperature. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39 (3):299-309.

BERTOLETTI, E. 1990 *Ensaio biológicos com organismos aquáticos e sua aplicação no controle da poluição*. São Paulo: Cetesb.

BRASCO, S.M. 1988 *O Meio Ambiente em Debate*. Ed. Moderna: São Paulo.

BULL, D. e HATHAWAY, D. 1986 *Pragas e venenos: agrotóxicos no Brasil e no terceiro mundo*. Vozes, Petrópolis, 236.

CÁCARES, T. P.; MEGHARAJ, M. E NAIDU, R. 2008. Biodegradation of the pesticide fenamiphos by ten different species of algae and cyanobacteria. *Current Microbiology*. 57:643-646.

FELSOT, A. S. 1989. Enhanced biodegradation of insecticides in soil: Implications for Agroecosystems. *Annual Reviews Entomology*. 34:

FMC, 1977. Carbofuran data summary. Philadelphia: FMC Corporation: 97.

GOULART M.E., Callisto M., 2003. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Rev. FAPAM*. 2(1), 153 - 164.

GRISOLIA, C.K. 2005. Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução. Brasília: UNB, 395pp.

HEAD, IM.; CAIN, RB. E SUETT, DL. 1992. Characterization of carbofuran degrading bacterium and investigation of the role of plasmids in catabolism of the insecticide carbofuran. *Archives Microbiology*. 158:302–308.

HOWARD, T.E. 1975. Swimming performance of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to bleached kraft pulpmill effluent. *J. Fish. Res. Bd Can.* 32, 789-793.

HUSSAIN, S.; ARSHAD, M.; SALEEM, M. E KHALID, A. 2007. Biodegradation of α and β endosulfan by soil bacteria. *Biodegradation*. 18:731–740.

LANFRANCHI A.L., MENONE M.L., MIGLIORANZA K.S.B., JANISOT L.J., AIZPUN J.E., MORENO V.J. 2006. Striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*): a biomonitor of organochlorine pesticides in estuarine and near-coastal zones. *Mar Poll Bull* 52(74-80).

LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. 1992. Revisão das espécies do gênero *Deuterodon*, Eigenmann, 1907 dos sistemas costeiros do sul do Brasil, com a descrição de quatro espécies novas (Ostariophysi, Characiformes, Characidae). *Comun. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS, Sér. Zool.*, Porto Alegre, v.5, n.9, pag 123-168.

LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. 2002. Redefinição do gênero *Deuterodon*, *Eigenman* (Characiformes: Characidae). Comun. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS, Sér. Zool. Porto Alegre, v.15, n.1, p.113-159.

MARTINEZ C.B.R., CÓLUS I.M.S., 2002. Biomarcadores em peixes neotropicais para monitoramento da poluição aquática na bacia do Rio Tibagi. In: Moacyr, E., Bianchini, E., Shibatta, A, O., Pimenta, J, A. (Eds), A Bacia do Rio Tibagi. MC. Gráf., Londrina. 49. pp. 551 – 577.

MEGHARAJ, M.; MADHAVI, DR.SREENIVASULU C.; UMAMAHESWARI, A. e VENKATESWARLU, K. 1994. Biodegradation of methyl parathion by soil isolates of microalgae and cyanobacteria. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 53:292-299

MONTANHA, F. P., ASTRAUSKAS, J. P., KIRNEW, M. D., NAGASHIMA, J. C., PIMPÃO, C. T. 2011. Características fisiológicas e reprodutivas de *Rhandia quelen*. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano IX – N 17.

MOREIRA, M.R.S.; MUCCI, J.L.N.; ABAKERLI, R.B. 2004 Monitoramento dos resíduos de carbofurano em área de produção de arroz irrigado – Taubaté, São Paulo. Arquivo Instituto Biológico 71(2): 221 – 226.

OYAKAWA, O. T.; AKAMA, A.; MAUTARI, K. C.; NOLASCO, J. C. 2006. Peixes de riachos da Mata Atlântica nas unidades de conservação do Vale do Rio Ribeira de Iguape no Estado de São Paulo. São Paulo: Ed. Neotrópica, 221p.

PRESTES, E.B., CLEMENTE Z., CASTRO V.L.S.S., JONSSON C.M., 2013. Avaliação da toxicidade aguda de Piraclostrobin, Epoxiconazol e sua Mistura em *Colossoma macropomum* (Tambaqui). Ecotoxicol. Environ. Contam. 8(1), 125 – 128.

RAND, G. M; PETROCEL, I S. R. 1984. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Hemisphere, New York. 335 – 373.

SANTANA, L. M. B.; CAVALCANTE, R. M. 2016. Transformações metabólicas de agrotóxicos em peixe: uma revisão. *The Electronic Journal of Chemistry*, v. 8, n. 4, p. 257 – 268.

SAÚDE, 2019. Intoxicação por agrotóxicos. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. Disponível em: http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/zoonoses_intoxicacoes/Intoxicacao_por_Agrotoxicos.pdf. Acessado em 04FEV19.

TIERNEY, K. B.; KENNEDY, C. J.; GOBAS, F.; GLEDHILL, M.; SKELA, M. 2013. Organic Contaminants and Fish. In: *Fish Physiology*. Farrell, A. P.; Brauner, C. J., eds. UK; Elsevier, vol. 33, chapter 1.

USEPA, 2006 Interim Reregistration Eligibility Decision – Carbofuran. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA- 738-R-706-031.

ZAGATTO P. A. ; BERTOLETTI E. 2006. *Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações*. Rima, 89-90-94-464 pp.

WICKS, B.J.; JOENSEN, R.; TANG, Q.; RANDALL, D.J. 2002 Swimming and ammonia toxicity in salmonids: the effects of sub lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 59, 55-69.

WORD HEALTH ORGANIZATION, 1996 Guidelines for drinking-water quality. 2ed. Geneva 2. Health criteria and other supporting information: 940 – 946.

ARTIGO

Efeito da exposição ao carbofurano sobre o comportamento e metabolismo de Lambaris (*Deuterodon iguape*).

(Artigo está redigido nas normas da Revista
“*Ecotoxicology and Environmental Safety*”)

Efeito da exposição ao carbofurano sobre o comportamento e metabolismo de lambaris (*Deuterodon iguape*).

Autores: Ricardo Claudionor Mendes ^a, Edison Barbieri ^{b*}

^a Programa de Pós-Graduação do Instituto de Pesca, APTA, SAA/SP, Caixa Postal 157, 11990-000 - Cananéia, SP, Brazil

^b Instituto de Pesca – APTA, SAA/SP, Caixa Postal 157, 11990000 - Cananéia, SP, Brasil

* Corresponding author at:

Instituto de Pesca – APTA- SAA/SP, Caixa Postal 157, SP11900-000 – Cananéia, SP, Brazil. E-mail address: edisonbarbieri@yahoo.com.br (E. Barbieri).

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da exposição ao carbofurano sobre *Deuterodon iguape*, considerando os parâmetros de comportamento e metabolismo. As análises para o comportamento consideraram os movimentos operculares, movimentos das nadadeiras dorsais e velocidade de natação, e como biomarcador considerou-se o consumo específico de oxigênio e a excreção específica de amônia. Para a verificação do comportamento foram utilizados cinco grupos de peixes de peso médio de 11,76g ($\pm 1,90$) dispostos em aquários de mesmas dimensões (altura 35 cm x comprimento 50 cm x largura 25 cm), com 30L úteis de água (25 cm de coluna de água), sendo um aquário para o Grupo Controle, quatro aquários para os Grupos de Exposição, também chamados de aquário exposição-reposo, contendo as diferentes concentrações de carbofurano: 0,01, 0,05, 0,1 e 0,5 mg/L, bem como, um sexto aquário para o registro de filmagens. As coletas foram realizadas durante os períodos de 0, 2, 24 e 48 horas, tanto nos aquários de exposição-reposo, quanto no aquário para o registro de filmagens.

Para os testes de metabolismo (consumo específico de oxigênio e excreção de amônia) também foram utilizados 5 grupos, com cinco indivíduos cada, de peso médio de 9,35g ($\pm 3,82$), sendo quatro Grupos de Exposição, submetidos as concentrações de 0,05, 0,1, 0,25, e 0,5mg/L, além do Grupo Controle. Os peixes permaneceram expostos durante 24horas, sendo que, após este período foram transferidos para o sistema de respirometria, acondicionados em recipientes herméticos tubulares de vidro com água circular, por 60min (aclimatação). Terminado o período de aclimatação o sistema circular da água foi interrompido, onde permaneceram por 90min acondicionados nos recipientes, sendo coletadas as amostras após este período e comparados aos dados anteriores registrados. Os resultados demonstraram que os parâmetros de comportamento e metabolismo sofreram alterações devido a exposição ao carbofurano. No comportamento foram observados que apenas para os registros em exposição-reposo, de movimentos operculares, houve um aumento médio (10,1% $\pm 1,57$), diferentemente dos demais dados, pois sofreram diminuição: movimentos operculares no aquário para registros de filmagens (-8% $\pm 2,65$); movimentos de nadadeiras dorsais em exposição-reposo (-20,6% $\pm 1,84$); movimentos de nadadeiras dorsais nos aquários para registros de filmagens (-18,6% $\pm 2,97$); e velocidade de natação (-66,4% $\pm 1,83$). Sobre o metabolismo, os resultados do consumo de oxigênio dos Grupos de Exposição frente ao Grupo Controle apresentaram aumento médio de 58,4% ($\pm 0,072$) e excreção de amônia frente ao controle um aumento médio de 90,6% ($\pm 0,00816$). Desta maneira, conclui-se que as concentrações de carbofurano utilizadas para a exposição dos peixes, possuem toxicidade suficientes para alterarem os parâmetros utilizados, bem como indicar *D. iguape* como indivíduo adequado como bioindicador.

Palavras Chave: Poluentes, Aquático, Velocidade, Amônia e Oxigênio.

Effect of exposure to carbofuran on the behavior and metabolism of Lambaris (*Deuterodon iguape*).

The objective of this work was to verify the effects of exposure to carbofuran on *Deuterodon iguape*, considering the parameters of behavior and metabolism. The analyzes for the behavior considered the operculum movements, dorsal fin movements and swimming speed, and those of the metabolism were considered the specific consumption of oxygen and the ammonia excretion. Five groups of fish weighing 11,76g ($\pm 1,90$) were placed in aquariums of the same size (height 35 cm x length 50 cm x width 25 cm) with 30 L of water (25 cm column of water), being an aquarium for the Control Group, four aquariums for the Exposure Groups, also called the exposure-rest aquarium, containing the different concentrations of carbofuran: 0,01 mg/L; 0,05; 0,1 and 0,5 mg/L, as well as a sixth aquarium for filming. The collections were carried out during the periods of 0, 2, 24 and 48 hours, both in the exhibition and rest aquaria, as well as in the aquarium for filming records.

For the metabolism tests (specific oxygen consumption and ammonia excretion), 5 groups of *D. iguape* were also used, with five subjects each weighing 9,35 g ($\pm 3,82$), four of which were submitted concentrations of 0,05, 0,1, 0,25, and 0,5mg/L, in addition to the Control Group. The fish remained exposed for 24 hours, after which time they were transferred to the respirometry system, packed in hermetically sealed glass containers with circular water, for 60min (acclimation). After the acclimation period, the circular water system was interrupted, where they remained for 90min conditioned in the containers, being collected the samples after this period and compared to the previous data recorded. The results showed that the parameters of behavior and metabolism were altered due to exposure to carbofuran. In the behavior, it was observed that there was a mean increase (10,1% $\pm 1,57$) in the exposition-resting records of operculum movements, differently from the other data, since they decreased: operculum movements in the aquarium for filming records (-8% $\pm 2,65$); movements of dorsal fins in exposure-rest (-20,6% $\pm 1,84$); dorsal fin movements in aquariums for filming records (-18,6% $\pm 2,97$); and swimming speed (-66,4% $\pm 1,83$). On the metabolism, the oxygen consumption results of the Exposure Groups versus the Control Group presented an average increase

of 58,4% ($\pm 0,072$) and excretion of ammonia against the control, an average increase of 90,6% ($\pm 0,00816$). Thus, it is concluded that the concentrations of carbofuran used for fish exposure have enough toxicity to alter the parameters used, as well as to indicate *D. iguape* as a suitable bioindicator.

Key words: Pollutants, Aquatic, Velocity, Ammonia and Oxygen.

1. INTRODUÇÃO

Apesar dos agrotóxicos garantirem um aumento da produção agrícola, pela proteção das plantas de seus “inimigos naturais”, o seu manejo inadequado pode comprometer os solos, mananciais e, conseqüentemente, os organismos não alvos (GUNNINGHAM & SINCLAIR, 2005). Neste sentido, a utilização constante destas substâncias causa grande preocupação, pois uma vez presente no ambiente, afetam de formas diversas os organismos existentes (GUIVANT, 1992; HERNÁNDEZ-MORENO *et al.*, 2011 e SANTIAGO-MOREIRA, 2013).

Os aspectos da dinâmica que determinam o fluxo dos agrotóxicos, como a biodisponibilidade, a degradação por microorganismos e sua duração, estão ligadas as propriedades ambientais, como a composição do material orgânico, a permeabilidade, as propriedades físico-químicas, dimensões de partículas e sua solubilidade e polaridade (LALAH & WANDIGA, 1996). Aspectos que irão determinar o tempo da degradação do poluente no ambiente afetado.

Dentre muitas substâncias tóxicas, denominadas também como poluentes, estão os carbamatos, pertencentes a uma das classes de inseticidas mais utilizadas no país, os quais possuem eficiência sobre amplo número de pragas. Dentre os carbamatos se encontra o carbofurano, o maior representante da classe que produz efeitos deletérios capazes de atingirem organismos não-alvos antes mesmo de seu estabelecimento no ambiente (MOREIRA *et al.*, 2004).

JASH & BHATTACHARAYA (1983) observaram em peixes que os efeitos originados pela exposição ao carbofurano provocavam a inibição de neurotransmissores, afetando os impulsos nervosos e musculares. Nos estudos de LITTLE & FINGER (1990) e HIDALGO *et al.*, (2016) as alterações

verificadas, pós-exposição a diferentes concentrações de pesticidas, demonstraram alterações do comportamento, evidenciadas pela diminuição da atividade natatória.

De acordo com JURY & GHODRATI (1989), TRAUBE (1997) e BARBIERI *et al.* (2016) o carbofurano apesar de muito letal, possui pouca persistência e tende a se degradar muito rapidamente em áreas inundadas, no entanto, em solos sua persistência de degradação foi moderada, uma média de 40 dias para degradação total.

Os efeitos da exposição a agrotóxicos, pelos organismos aquáticos, podem ser diversos, porém, em peixes, as funções essenciais são visivelmente prejudicadas, sendo elas: latência para comer, comportamentos agressivos, resposta adversa ao predador, respiração, alteração da habilidade e capacidade natatória, e conseqüente efeito na reprodução (BARBIERI, 2005). Desta maneira, pode-se em primeiro instante notar, durante o processo da exposição, que as atividades vitais de peixes são diretamente afetadas, antes de vir a morte.

As respostas comportamentais dos peixes podem ser utilizadas como bioindicadores importantes, ainda mais se as alterações são perceptíveis (VAN DYK, 2005). Dentre as alterações comportamentais mais afetadas e observadas se destacam a natação e a respiração (RAND, 1984), parâmetros importantes para o processo de avaliação dos efeitos tóxicos (LITTLE & FINGER, 1990; CHRISTIANSEN *et al.*, 1998; BARBIERI, 2007).

Levanto em consideração esse contexto, este trabalho objetivou estudar os efeitos da exposição ao carbofurano sobre lambaris (*Deuterodon Iguape*), utilizando como biomarcador os parâmetros de comportamento como: movimento opercular movimento de nadadeiras dorsais e velocidade de natação; e os parâmetros metabólicos: consumo específico de oxigênio e excreção específica de amônia.

MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. Poluente utilizado

A substância química utilizada foi o carbofurano (2,3-diidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil metil carbamato) (99,5%, Sigma), pesticida químico conhecido popularmente como carbofurano, muito utilizado na agricultura (Figura 1).

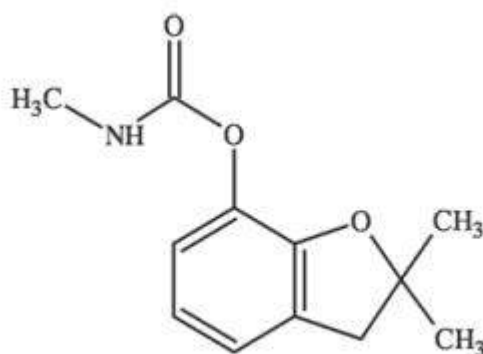


Figura 1: Estrutura química do carbofurano (VALENCIA et al., 2008).

1.2. Organismo teste

No total foram utilizados 50 indivíduos de *D. iguape*, sendo 25 indivíduos para testes de comportamento os quais possuíam peso médio de 11,76g ($\pm 1,90$) e média de 11 cm ($\pm 1,41$), bem como, 25 indivíduos para os testes de metabolismo, com peso médio de 10,35g ($\pm 3,82$) e média de 10,7 cm ($\pm 1,24$). Os peixes foram obtidos do Instituto de Pesca – Sede de Santos, SP, e mantidos na Base do Instituto de Pesca em Cananéia, SP. Os indivíduos foram acondicionados em tanques de 1000 L para aclimação e alimentação, sendo que durante este período os peixes foram alimentados com ração comercial uma vez ao dia.

Não houve alimentação dos peixes no período que compreendeu as 24 horas que antecederam os testes, nem mesmo durante estes, sendo que nenhum dos peixes foi utilizado mais que uma vez.

1.3. Ensaios de exposição no comportamento

Para o experimento foram utilizados 6 (seis) aquários idênticos (altura 35 cm x comprimento 50 cm x largura 25 cm), com 30 L úteis de água (25 cm de coluna de água), para que os peixes não corressem o risco de saltarem para fora do aquário. A água utilizada teve o cloro neutralizado com a utilização de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) P.M. 248,19g.mol⁻¹. Os seis aquários dividem-se em 01 (um) para o Grupo Controle, 04 (quatro) para os Grupos de Exposição e 01 (um) para o Aquário para Registros de Filmagens (ARF), para onde os peixes foram transferidos.

Os 25 peixes foram divididos em 5 grupos aleatoriamente, cada grupo em um aquário e definidos como Grupo Controle e quatro Grupos de Exposição, enumerados de 01 a 04. A água dos aquários permaneceu constantemente aerada, apresentando pH de 6,5, com temperatura controlada entre 20°C e 22°C, sendo que as concentrações de carbofurano foram colocadas nos aquários 30 min antes da inserção dos peixes.

Os peixes dos Grupos de Exposição permaneceram expostos em diferentes concentrações de carbofurano: 0,01 ; 0,05 ; 0,1 e 0,5 mg/L; e as informações foram coletadas nos períodos de 0, 2, 24 e 48 horas. Devido ao sistema semi-estático, a cada 24 horas os aquários foram sifonados para remoção de fezes e realizada a troca de 50% do volume da água. A coleta dos dados nos aquários de exposição-reposo se deu a 30 minutos antes da transferência dos peixes para o aquário de registro de filmagens-ARF.

1.4. Contagem dos movimentos operculares e movimentos de nadadeiras dorsais

As contagens de número de movimentos operculares e de nadadeiras dorsais foram feitas de forma direta e ocorreram em dois momentos de cada período (0; 2; 24 e 48 horas), sendo que a primeira contagem ocorreu nos aquários onde permaneciam expostos (exposição-reposo), 30 minutos antes da transferência para o aquário de filmagens. As contagens foram realizadas

em 10 segundos para cada peixe e definidos assim, devido aos movimentos bruscos dos peixes no interior do aquário, o que atrapalhava nas contagens em tempo mais longo.

A segunda contagem ocorreu no aquário para registro de filmagens (ARF), iniciando-se sempre após um minuto da transferência dos peixes, para obedecer a rápida aclimação. Passado o minuto pós transferência, as contagens foram feitas durante 10 segundos para cada peixe.

1.5. Coletas de informações da velocidade de natação

A coleta das informações para obtenção deste parâmetro foi realizada considerando a velocidade de natação de cada indivíduo, coletadas no aquário para registro de filmagens-ARF. Duas câmeras foram posicionadas em perspectivas diferentes, uma câmera na lateral do comprimento do aquário e a outra sobre o aquário, a fim de coletar a tomada “aérea”.

O tempo determinado foi de 1 (um) minuto de filmagem para cada perspectiva, simultaneamente e tiveram início 1 (um) minuto após a transferências dos peixes para o ARF. Em testes anteriores o tempo das filmagens foi de 3 (três minutos), e as informações foram divididas em três trechos de um minuto comparando-as em seguida. Verificou-se que não houve diferenças, entre os três trechos, que pudesse justificar a utilização de 3 minutos para este trabalho. O que se observou foi que em todos os registros de filmagens o primeiro e segundo minutos foram pontuais para se verificar, o que se denominou neste trabalho, “Velocidade da Natação Imediata Devido ao Estresse”, ou seja, o primeiro momento de esforço da velocidade de natação, atenuando-se a partir do terceiro minuto.

Esta observação facilitou na verificação da velocidade dos indivíduos expostos ao carbofurano, principalmente pela razão de que em ambiente natural *D. iguape* está vulnerável às alterações comportamentais, devido a dinâmica das relações entre o ambiente e entre demais espécies aquáticas (predadores e outros). Encerradas as filmagens os dados foram trabalhados utilizando-se do programa gratuito Tracker.

1.6. Análises Estatísticas para comportamento

Para as análises estatísticas, foram feitas análises de, Kruskal-Wallis para teste de normalidade e Levene para se verificar a homocedasticidade. Após esse procedimento utilizou-se ANOVA para as análises da variância.

A fim de verificar as alterações ao longo dos períodos, foram realizadas comparações entre os dados de cada grupo nos períodos e também comparações entre os períodos dos mesmos.

1.7. Ensaios de exposição para metabolismo

Para o experimento os 25 indivíduos foram divididos igualmente em 5 (cinco) aquários idênticos (altura 35cm x comprimento 50cm x largura 25cm). Os aquários possuem capacidade de 40L de água, porém utilizado coluna útil de 30 L (24 cm de coluna de água), para não correrem o risco de saltarem para fora dos aquários. A água utilizada foi desclorificada com a utilização de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) P.M. 248,19g.mol⁻¹. Os aquários tinham aeração constante, ph em 6,5 e temperatura entre 20°C e 22°C. Os cinco aquários, referem-se a 01 (um) para o Grupo Controle e 04 (quatro) para os Grupos de Exposição.

Os peixes foram submetidos a 24horas de exposição ao carbofurano nas seguintes concentrações: 0,05 , 0,1 , 0,25 e 0,5 mg/L. Vale ressaltar que as concentrações de carbofurano foram inseridas nos aquários 30 minutos antes da inserção dos peixes.

1.8. Análise do consumo de oxigênio e excreção de amônia

O experimento foi realizado utilizando-se de um sistema da técnica de respirômetria fechada, com água desclorificada e sem presença de quaisquer substâncias. O sistema é constituído por duas caixas de PVC de 40L de capacidade, sobrepostas com sistema circulatório de água.

Na caixa inferior, são acondicionados os recipientes herméticos tubulares de vidro, chamados de respirômetros, onde os peixes foram inseridos após exposição a cada concentração de carbofurano. Os respirômetros são cuidadosamente marcados para se evitar incorreções nos dados. Com os peixes já nos respirômetros, estes passam pelo processo de aclimação por um período de 60 min, com água circulando no sistema. Este procedimento é realizado a fim de atenuar o estresse da transferência dos peixes (aquário x respirômetro). Finalizada a aclimação o circuito da água foi interrompido e os respirômetros fechados, permanecendo assim por período de 90 min.

Com o término do período, amostras de água de cada respirômetro foram coletadas. Os resultados são aqueles calculados entre a diferença das amostras coletadas, das concentrações de oxigênio e da amônia total anteriores e ao final do confinamento dos peixes, resultando no consumo específico de oxigênio ($\text{mLO}_2/\text{g/L/h}$) e na excreção específica de amônia (mg/L/g/h). Para as análises foram considerados o volume no respirômetro, o peso úmido do animal e o tempo de confinamento. A determinação do oxigênio foi segundo o método de WINKLER (WINKLER, 1888) e para a determinação da excreção de amônia o método de NESSLER (Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water).

1.9. Análises estatísticas

As médias do consumo de oxigênio e excreção de amônia dos *D. iguape* foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, com confiabilidade de 95% e ao teste de homocedasticidade de Levene. Posteriormente, aplicou-se o teste ANOVA e os testes de comparações múltiplas de Tukey ($p>0,05$).

2. RESULTADOS

2.1. Comportamento: Movimentos operculares nos aquários de exposição (exposição-repouso)

O movimento opercular em indivíduos expostos ao carbofurano não apresentou nenhuma diferenças estatísticas nas concentrações estudadas (0,01mg/L a 0,5mg/L) em relação ao controle (figura 1).

No período subsequente (2 horas) houve uma tendência de diminuição nas médias dos movimentos operculares, onde para a concentração de 0,05 mg/L houve diferença estatística em relação ao controle (Figura 2).

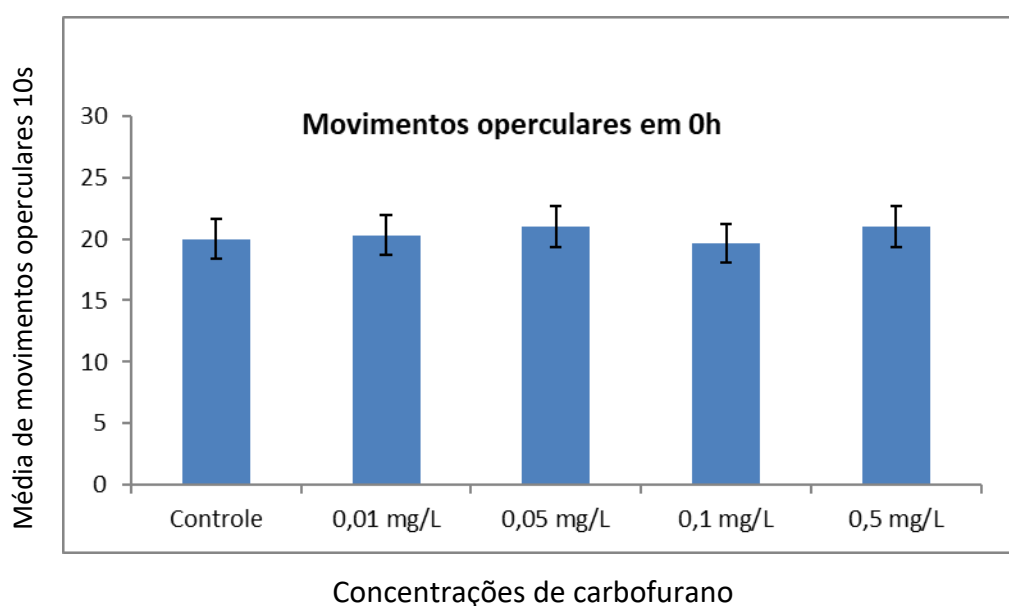


Figura 1: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, frente ao Grupo Controle no período da 0 hora. As colunas representam as médias, as barras são os respectivos desvios padrões.

No período de 24 horas a média geral demonstrou diminuição dos movimentos operculares nas concentrações mais altas e apresentando diferença estatística na concentração de 0,5 mg/L em relação ao Grupo Controle (Figura 3). Observa-se a mesma tendência de diminuição, que ocorreu no período de 2 horas.

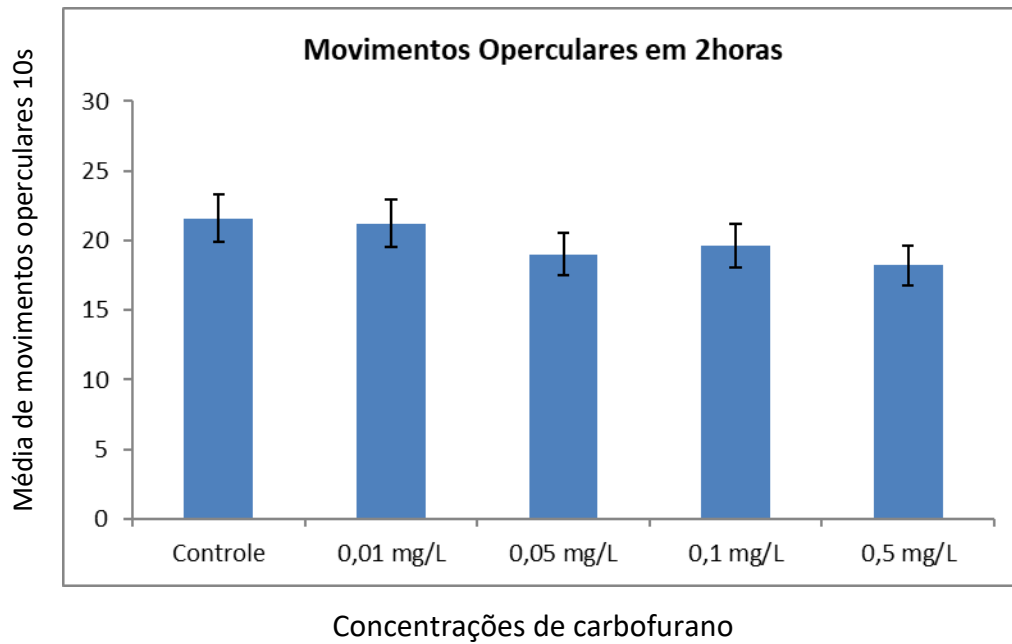


Figura 2: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, frente ao Grupo Controle no período de 2 horas. As barras representam aos respectivos desvios padrões.

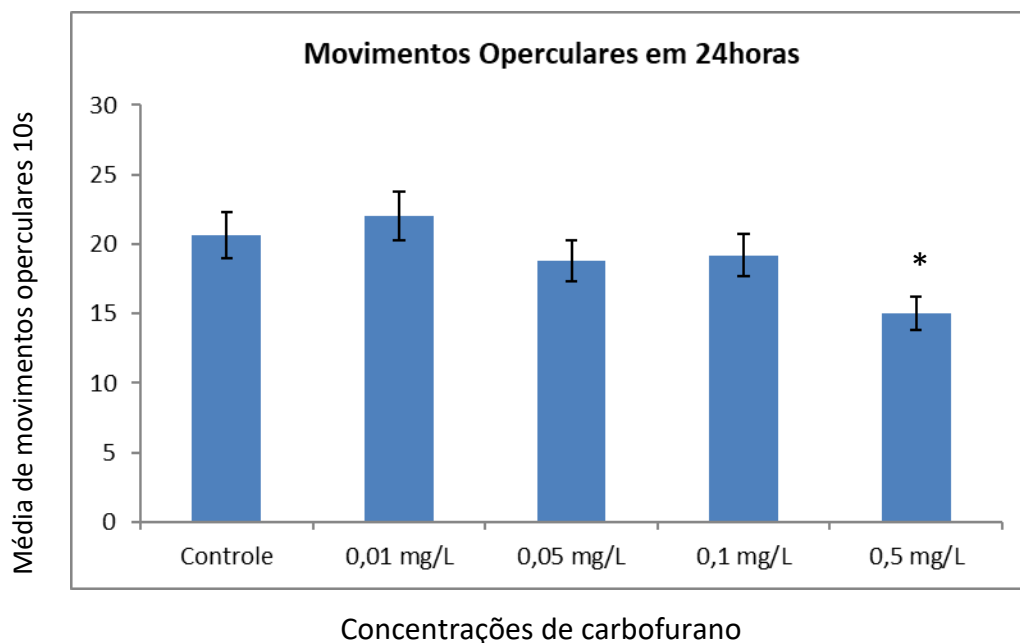


Figura 3: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, no período de 24 horas. As barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco a diferença estatística em relação ao controle.

Contrário ao que aconteceu nos períodos anteriores percebe-se que em 48 horas os grupos apresentaram aumento em suas médias, porém 0,01mg/L, 0,05mg/L e 0,5mg/L permaneceram com médias menores no período, sendo que neste último há diferença estatística. Comparando-se com as médias do período de 24 horas, houve aumento considerável das médias, no entanto o grupo de 0,1mg/L apresentou uma variação ascendente (Figura 4).

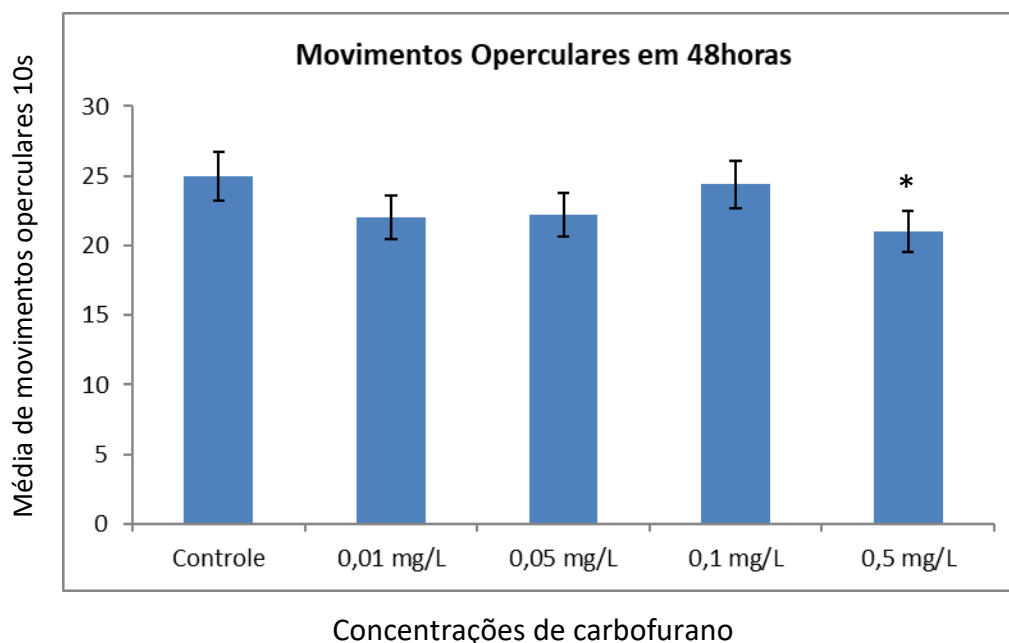


Figura 4: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, no período de 48 horas. As barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco a diferença estatística em relação ao controle.

2.2. Comportamento: movimentos operculares durante filmagens.

No período de 0 hora, as médias de movimentos operculares apresentaram uma equalização, semelhança com o grupo controle (Figura 5). No período de 2 horas os grupos apresentaram queda de suas médias frente ao controle, com diferenças estatísticas em 0,01mg/L e 0,5mg/L, destacando-se a tendência de diminuição de médias. Comparadas ao período de 0 hora, observa-se a tendência de diminuição das médias frente ao controle (Figura 6).

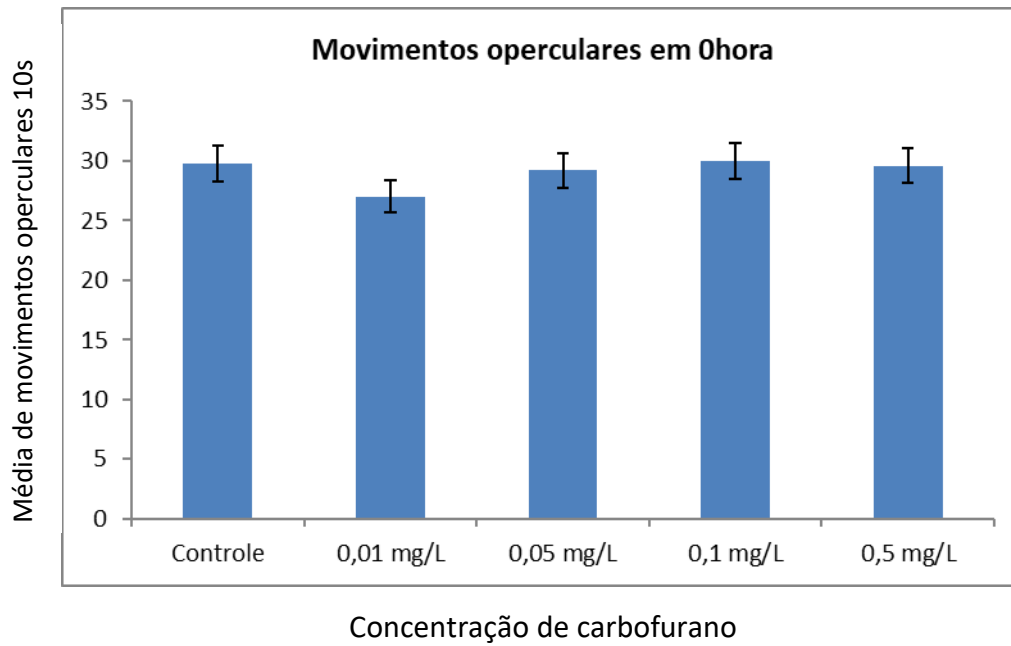


Figura 5: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, no período de 0 hora. As barras são os respectivos desvios padrões.

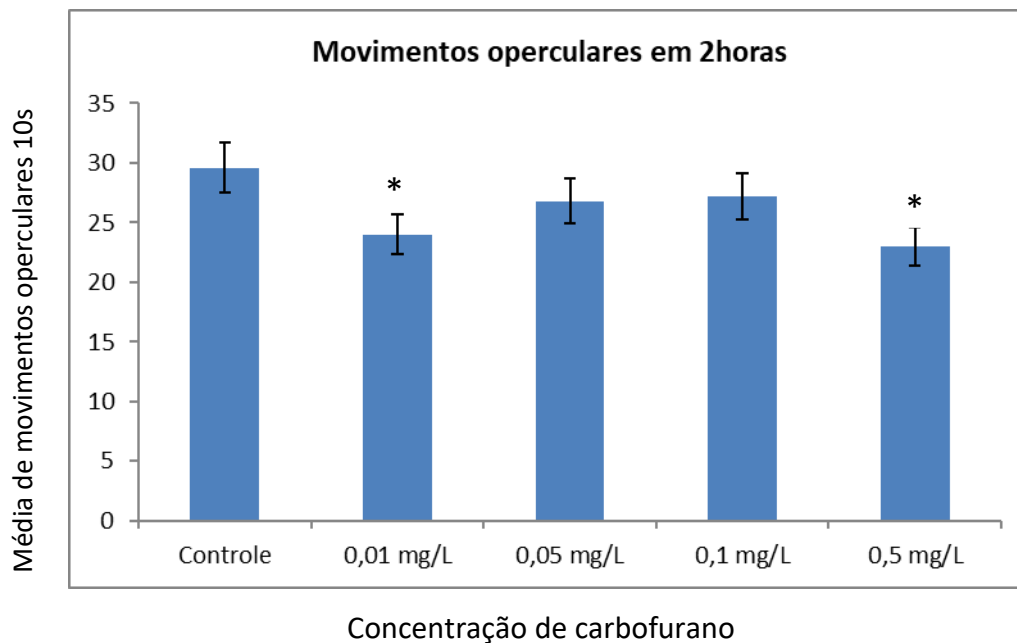


Figura 6: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, no período de 2 horas. As barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco a diferença estatística em relação ao controle.

Em 24 horas ocorreu diminuição das médias dos grupos frente ao controle, demonstrando a tendência de diminuição de movimentos, com diferença estatísticas dos grupos exposto e o controle. Comparando os dados de 24 horas e os de 2 horas, percebe-se nitidamente a tendência mais pontual da diminuição das médias dos grupos expostos frente ao controle.

Em 48 horas foi possível observar que houve um estabelecimento da diminuição das médias dos grupos expostos, apresentando ainda diferenças estatísticas frente ao controle. Ao serem comparados ao período de 24 horas, percebe-se uma estabilização dos grupos expostos, mesmo que ambos períodos apresentem tendência de diminuição frente ao controle (Figura 7 e 8).

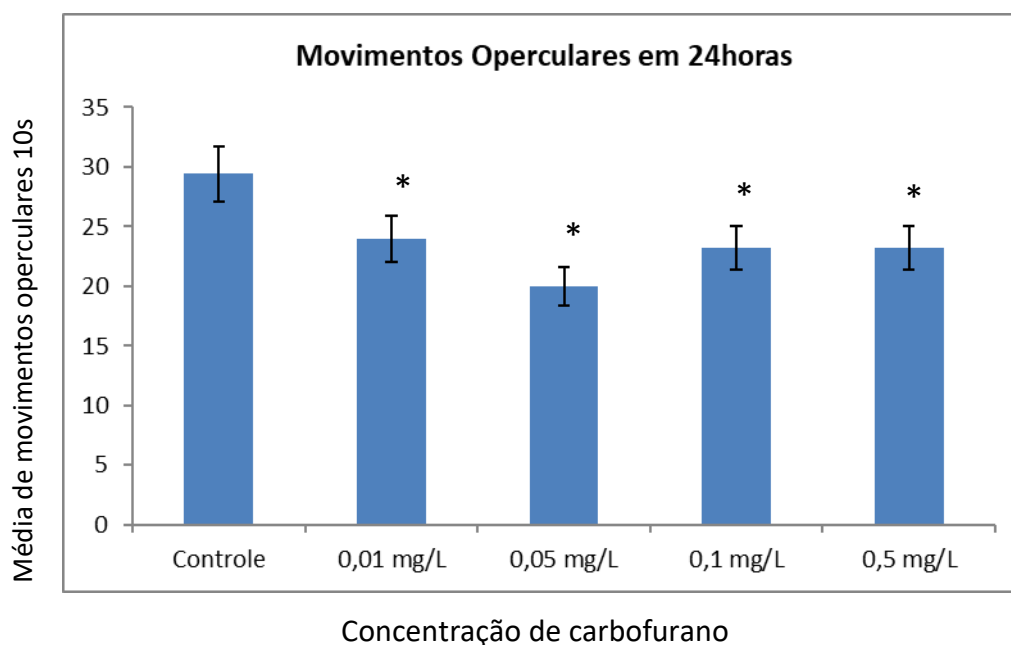


Figura 7: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, no período de 24 horas. As barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco a diferença estatística em relação ao controle.

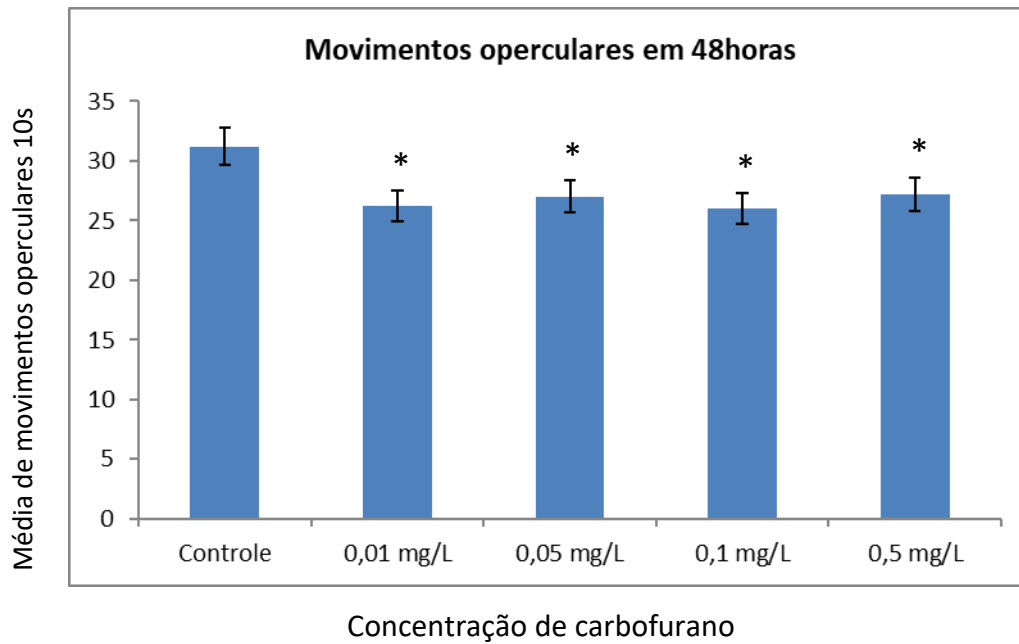
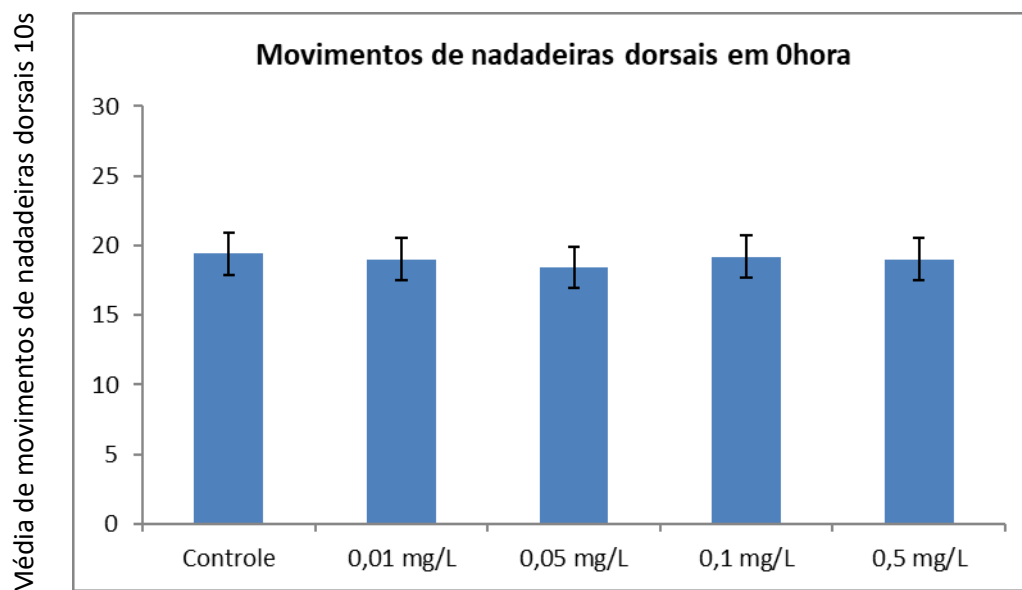


Figura 8: Médias de movimentos operculares, de cada grupo, no período de 48 horas. As barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco a diferença estatística em relação ao controle.

2.3. Comportamento: movimentos das nadadeiras dorsais nos aquários de exposição-reposo

No gráfico do período 0 hora, não foram observadas variações entre as concentrações frente ao controle, outrossim, similaridades em suas médias (Figura 09).



Concentração de carbofurano

Figura 9: Médias de movimentos de nadadeiras dorsais. As barras são os respectivos desvios padrões.

No período de 2 horas as médias dos movimentos de nadadeiras dorsais dos grupos apresentaram semelhanças, no entanto demonstraram diminuição nas médias dos movimentos. Ao serem comparados com os movimentos do período de 0 hora, será possível observar uma diminuição dos movimentos entre tais períodos, sendo constatada a tendência da diminuição dos movimentos entre eles (Figura 10).

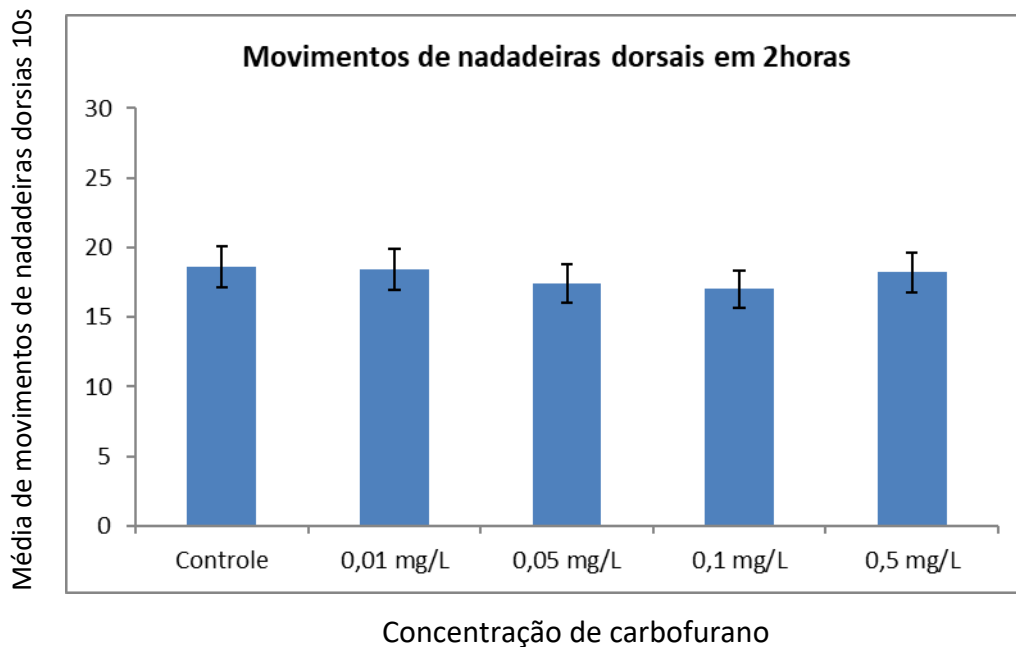


Figura 10: Médias de movimentos de nadadeiras dorsais. As barras são os respectivos desvios padrões.

O gráfico do período de 24 horas demonstra uma pequena variação de médias de movimentos de nadadeiras dorsais, no entanto de forma geral podem ser observadas médias semelhantes, porém sem diferenças estatísticas. O verificado neste período frente ao período anterior é que a tendência de diminuição continuou ocorrendo, uma vez que em 24 horas houve média que atingiu números abaixo de 15 movimentos (Figura 11).

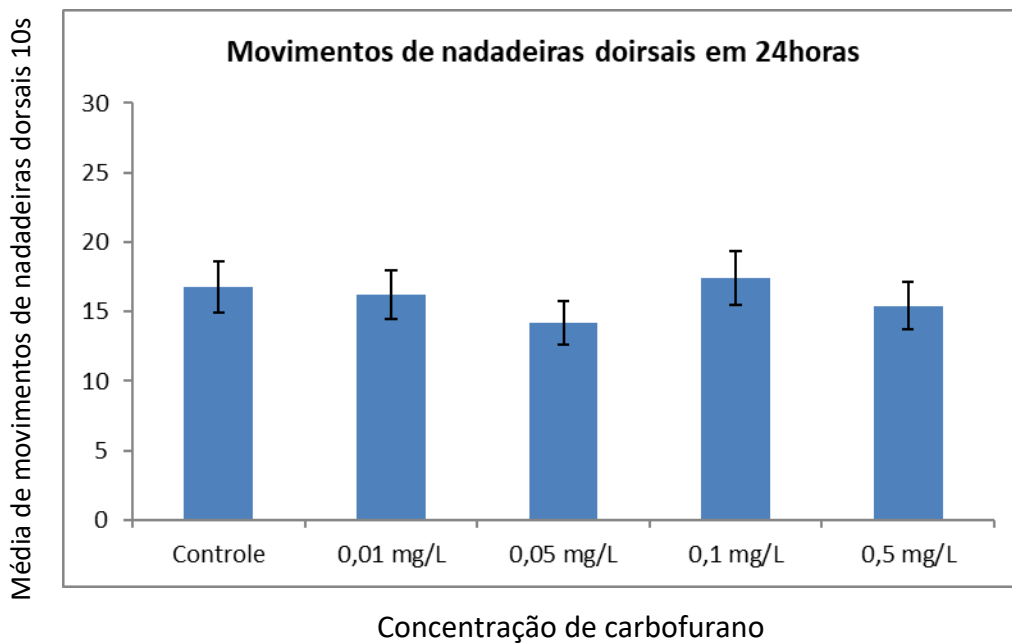
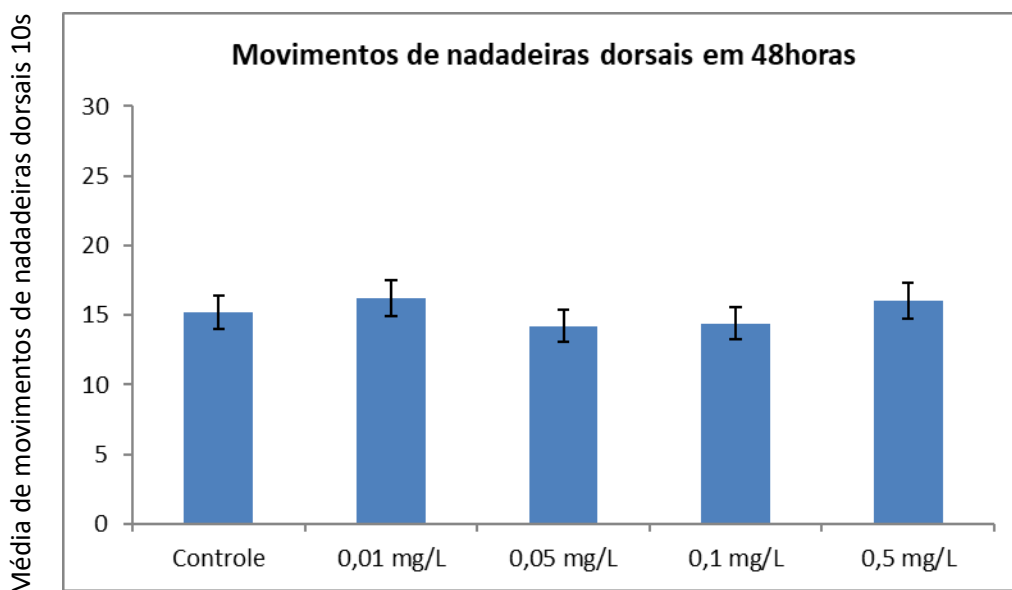


Figura 11: Médias de movimentos de nadadeiras dorsais. As barras são os respectivos desvios padrões.

O período de 48 horas apresenta médias semelhantes e demonstra a continuação de diminuição das médias de movimentos se comparada ao período de 24 horas (Figura 12). Para os movimentos de nadadeiras a perda foi considerável ao comparar a média de entrada (20) no período de 0 hora com a média de saída (15) no período de 48 horas, onde esta perda chegou a 25%.



Concentração de carbofurano

Figura 12: Média de movimentos de nadadeiras dorsais. As barras são os respectivos desvios padrões.

2.4. Comportamento: movimentos das nadadeiras dorsais durante filmagens.

Nos testes para verificação dos movimentos de nadadeiras dorsais, foi possível verificar que no período de 0 hora três das concentrações apresentaram semelhanças de médias (± 28 mov) frente ao controle, onde apenas a maior concentração (0,5mg/L) apresentou não só diferença na média de movimentos (22 mov), como também diferença estatística frente ao controle (Figuras 13).

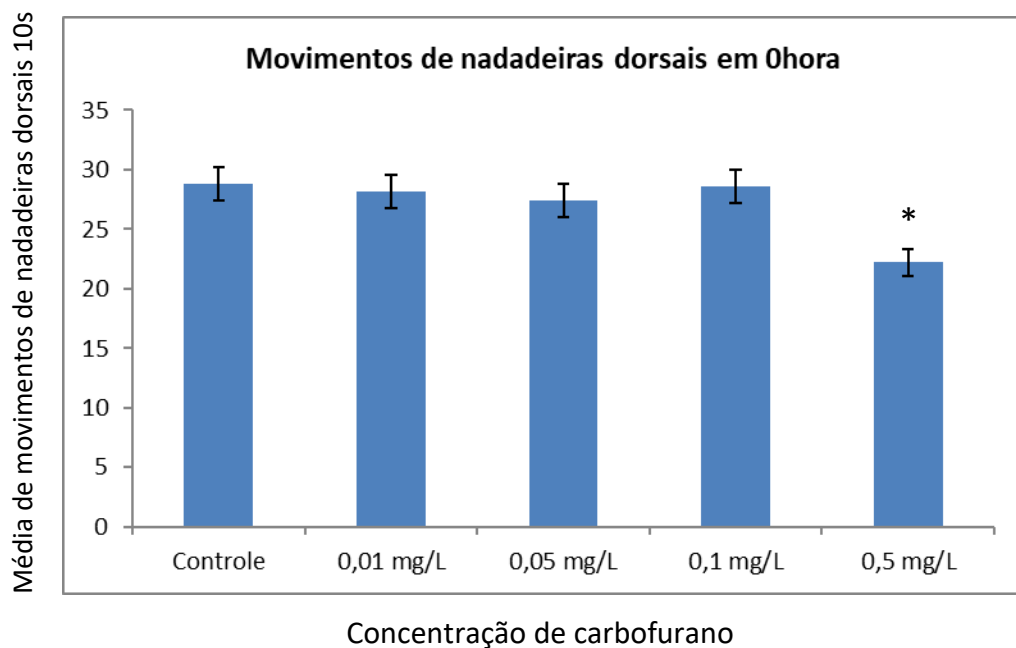


Figura 13: Médias de movimentos das nadadeiras dorsais para peixes submetidos a várias concentrações. As barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco representa a concentração na qual houve diferença estatística em relação ao controle.

No gráfico abaixo, do período de 2 horas, observa-se uma equalização das médias sem diferenças estatísticas. Observa-se ainda que comparadas ao

período anterior (0 hora), pode ser verificado que as médias diminuíram, o que as colocaram em semelhança com a média da concentração de 0,5mg/L, com mesma média do período anterior (Figura 14).

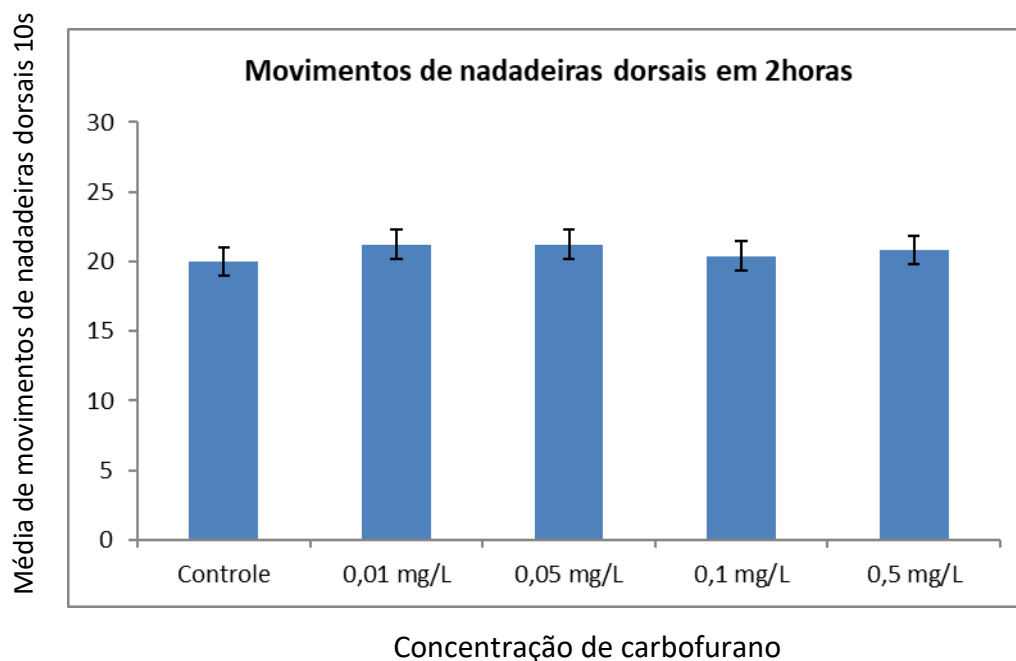


Figura 14: Médias de movimentos das nadadeiras dorsais para peixes submetidos a várias concentrações. As barras são os respectivos desvios padrões.

O período de 24 horas apresentou uma variação nas médias dos grupos frente ao controle, com diferenças estatísticas em 0,01mg/L e 0,5mg/L. A Observou-se que há uma tendência de diminuição das médias em todos os grupos, inclusive no controle ao compará-las com o período anterior (2 horas), podendo ser observado no gráfico a oscilação estabelecida (Figura 15).

Durante a coleta de dados no período de 48 horas, a variação foi mais acentuada onde percebe-se que as médias dos grupos de exposição estão menores que as do controle, uma vez ainda que o controle e o grupo de 0,05mg/L apresentaram um aumento ao compará-los com o período de 24 horas. Percebe-se ainda, ao comparar os períodos, que a tendência de diminuição de médias se estabeleceu entre os grupos nos períodos (Figura 16).

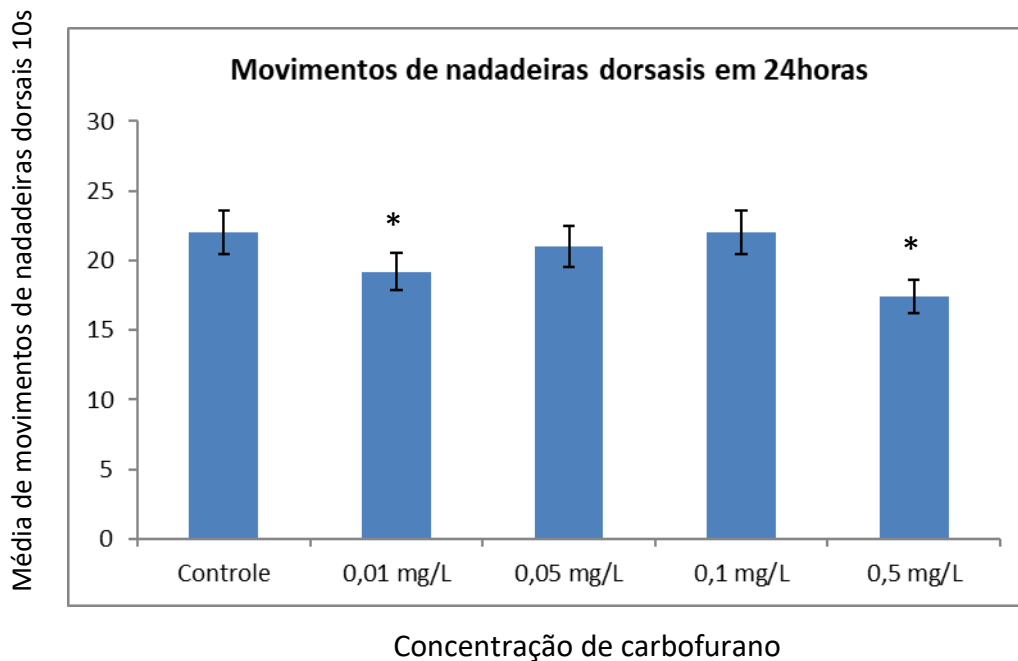


Figura 15: Médias de movimentos das nadadeiras dorsais para peixes submetidos a várias concentrações. As barras são os respectivos desvios padrões e os asteriscos representam as concentrações nas quais houve diferença estatística em relação ao controle

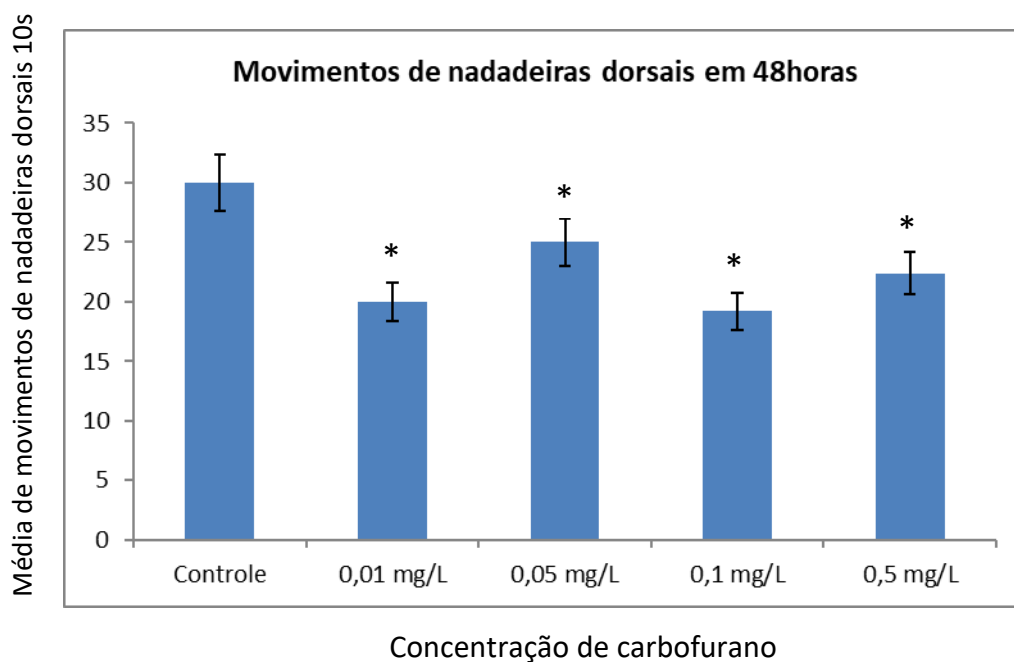


Figura 16: Médias de movimentos das nadadeiras dorsais para peixes submetidos a várias concentrações. As barras são os respectivos desvios padrões e os asteriscos representam as concentrações nas quais houve diferença estatística em relação ao controle.

2.5. Comportamento: velocidade da natação.

Os dados de velocidade da natação dos peixes, apresentaram significativa alteração nas médias e também diferenças estatísticas. É possível observar a mudança da dinâmica natatória ao longo do tempo de exposição.

Os dados demonstraram queda drástica e contínua da velocidade de natação, adicionadas de diferenças estatísticas ao longo dos períodos de 2, 24 e 48 horas das diferentes concentrações de carbofurano frente ao controle (Figura 17).

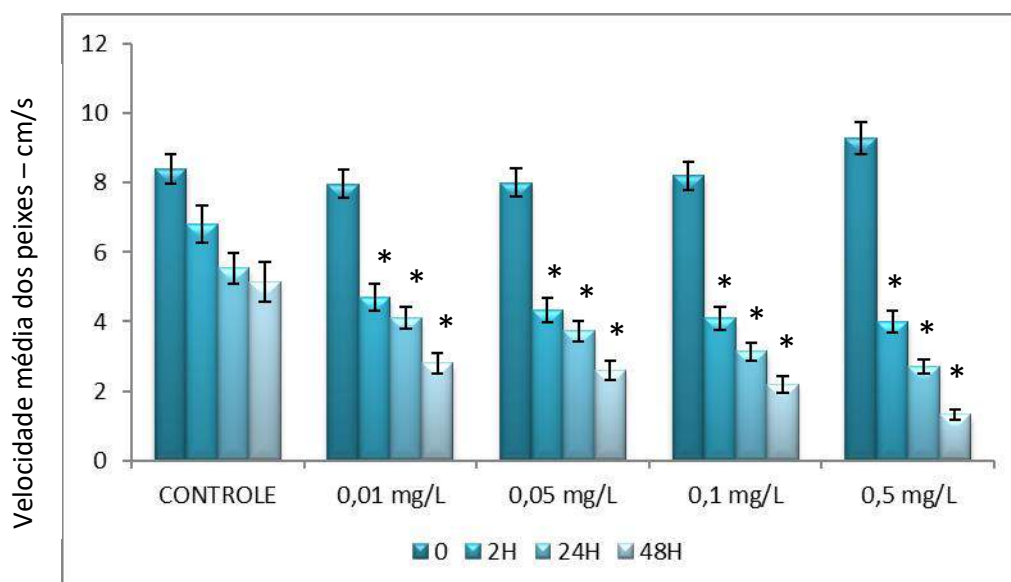


Figura 17: Velocidades médias de cada grupo nos períodos submetidos, observa-se que houve diminuição em relação ao tempo de exposição. Os grupos de exposição demonstraram clara diferença estatística frente ao Grupo Controle. As colunas representam as médias, as barras são os respectivos desvios padrões e os asteriscos são as diferenças estatísticas frente ao controle.

2.6. Metabolismo: Consumo específico de oxigênio

As médias do consumo específico de oxigênio dos indivíduos demonstraram aumento inicial frente as concentrações utilizadas, porém apresentou uma tendência de estabilização (Figura 18). Nas maiores concentrações (0,1mg/L, 0,25mg/L e 0,5mg/L) observou-se equilíbrio de consumo de oxigênio, pois apresentaram dados bem semelhantes nos números. Na concentração de 0,5mg/L, apesar de ser a maior concentração, demonstrou tendência de diminuição de consumo entre as maiores médias. As diferenças estatísticas foram constatadas nas concentrações de 0,1, 0,25 e 0,5mg/L ao serem comparadas ao controle.

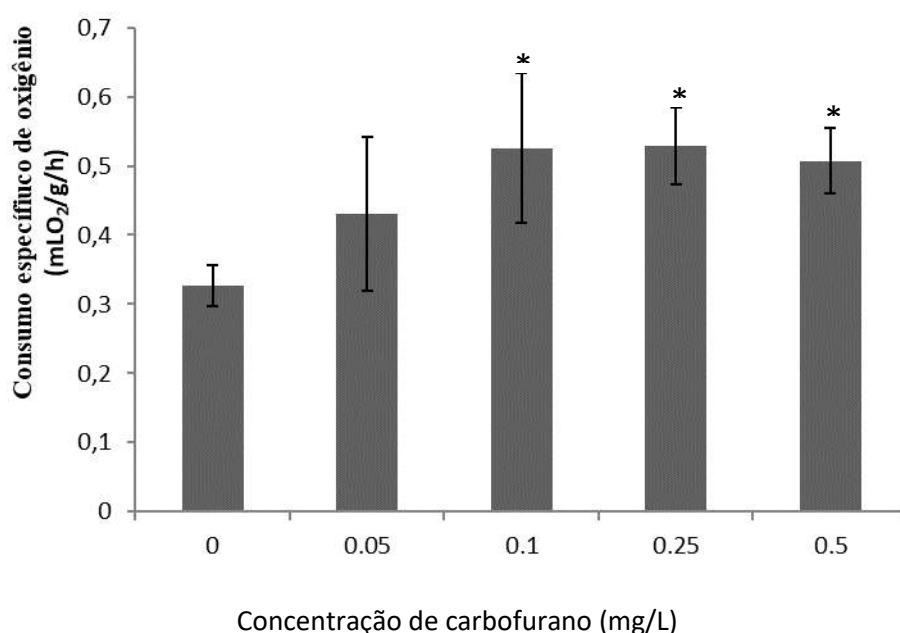


Figura 18: Médias do Consumo específico de oxigênio de *D. iguape* as barras são os respectivos desvios padrões e os asteriscos as diferenças estatísticas em relação ao controle.

2.7. Metabolismo: Excreção específica de amônia

Os resultados para a excreção específica de amônia indicam um aumento gradativo de excreção a medida em que se aumentam as concentrações de carbofurano, porém, após teste estatístico ANOVA, foi constatada uma diferença estatística em 0,5mg/L frente ao controle (Figura 19).

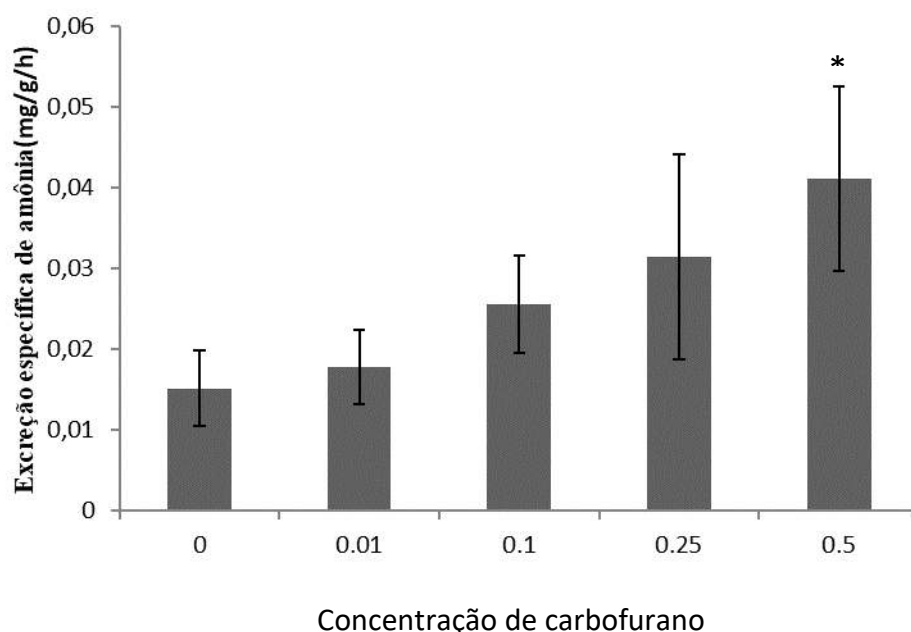


Figura 19: Médias do Consumo específico de oxigênio de *D. iguape*, as barras são os respectivos desvios padrões e o asterisco as médias que foram significativamente diferentes em relação ao controle.

3. DISCUSSÃO

Comportamento

Estudos com carbofurano, como os de CAMPOS-GARCIA *et al.* (2015) e BARBIERI *et al.* (2016), confirmam sua eficiência tóxica no ambiente, baseado nos efeitos gerados até a possível letalidade aos organismos expostos, efeitos que foram observados neste estudo sobre os peixes utilizados ao apresentarem alterações de comportamento e metabolismo.

Os parâmetros de comportamento utilizados neste trabalho, se fazem adequados, uma vez que estudos de longa data, como o de RAND (1984), descrevem e classificam o conjunto do comportamento de peixes, os quais incluem natação e respiração como parâmetros de biomarcação.

Segundo MARTINEZ & CÓLUS (2002) e GARCIA *et al* (2015) o grau de toxicidade ambiental varia quanto a quantidade e disponibilidade do poluente no

ambiente, correlacionados ainda a duração da exposição organismo x poluente, o que subsidia a utilização das diferentes concentrações de carbofurano e os períodos de exposição neste trabalho, pois foram importantes para avaliar os efeitos do poluente utilizado em *D. iguape*.

No estudo foi possível constatar as alterações nas médias dos dados de comportamento dos grupos, tanto no aquário de exposição quanto durante a permanência no aquário para registro de filmagens. Este tipo de resultado foi muito semelhante ao que aconteceu nos trabalhos de GALHARDO & OLIVEIRA, (2006), PEREIRA et al (2012) e DINIZ & HONORATO (2012) quando os organismos teste apresentaram diferenças nos experimentos.

Conforme IWAMA *et al* (2004) e BARRETO & VOLPATO (2006) as alterações sofridas por peixes nos parâmetros cardíacos e respiratórios são as que manifestam alterações mais perceptíveis. Logo, todo o processo de respiração é comprometido. Conforme este dado sugere-se que, no estudo em tela, a medida em que o tempo de exposição de *D. iguape* se estendia nos períodos, os movimentos operculares e de nadadeiras dorsais apresentavam alterações nos dados.

Conforme estudos de MOMMSEN (1999) as alterações no ambiente aquático, devido a presença de poluentes, ocasionam principalmente disfunções branquiais e mudanças na capacidade de trocas gasosas, afetando diretamente a respiração e provocando disfunção dos movimentos operculares e outras funções relacionadas, as quais de mesmo modo foram observadas neste estudo.

LITTLE & FINGER (1990) e BARBIERI (2007a,b) durante seus estudos, destacaram o comportamento da natação como um dos parâmetros importantes, o que se confirma neste trabalho, haja vista que a perda de velocidade de natação dos peixes, atingiu 56,6% ($\pm 1,41$) na concentração mais elevada (0,5) no período final de 48 horas.

No presente estudo foi observado que os efeitos da exposição ao carbofurano foram mais pontuais quando os peixes estiveram submetidos as maiores concentrações e em períodos mais extensos (24 horas e 48 horas), o que corrobora com FABREGHAT *et al* (2015), que observaram as reações mais expressivas em um período mais prolongado com maiores concentrações.

MAZEAUD *et al* (1977) e SILVA *et al* (2006) afirmaram, em seus estudos, que a presença de poluentes obrigou os organismos a reagirem, inicialmente, no aumento velocidade de natação, e posteriormente se comportaram se adaptando ao meio, diminuindo a dinâmica. Durante o estudo, após os primeiros instantes de exposição ao carbofurano, houve diminuição da velocidade de natação entorno de 50% frente ao controle.

Foi observado no estudo, que as concentrações de carbofurano utilizadas nos grupos de exposição, resultaram em desaceleração perceptível de velocidade da natação, e por consequência nos demais parâmetros de comportamento. Tal constatação concorda com os resultados de BARBIERI & FERREIRA (2011), onde se observou que a capacidade de natação, relacionada ao movimento opercular e de nadadeiras, diminui ao passo em que se aumenta a concentração do poluente e seu tempo de exposição. O que corrobora com este estudo quando utilizou-se do carbofurano expondo lambaris em suas concentrações.

Metabolismo

Conforme BOSISIO *et al.* (2017) as alterações no consumo específico de oxigênio estão relacionadas com as disfunções metabólicas de forma geral, o que pode causar alterações em peixes.

No presente estudo foi possível constatar o aumento imediato dos dados do consumo específico de oxigênio, concordando com o que foi verificado por VARGAS *et al.* (1991 a,b) e GARCIA *et al.* (2015), pois constataram em seus estudos que os poluentes utilizados provocaram alterações na respiração e aumento no referido parâmetro.

Estudos realizados por BARBIERI & FERREIRA (2011) e GARCIA *et al.* (2015), observou um aumento no consumo de oxigênio em indivíduos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), expostos ao carbofurano, em diferentes concentrações. Já para este trabalho o consumo de oxigênio apresentou um aumento inicial, porém, demonstrou tendência a estabilização nas concentrações mais altas utilizadas (0,5259 mL_{O₂}/g/h em 0,1 mg/L; 0,5282 mL_{O₂}/g/h em 0,25 mg/L e 0,5071 mL_{O₂}/g/h em 0,5 mg/L frente a 0,3264 mL_{O₂}/g/h do controle).

Conforme BAYNE *et al.* (1985), existindo o estresse ambiental, pela presença de um poluente tóxico, ocorre o desencadeamento do consumo demasiado de oxigênio, a fim de suprir necessidades vitais do indivíduo exposto, esta necessidade exige que os intervalos de movimentos operculares se tornem mais curtos, aumentam assim a quantidade de movimentos operculares. Este fato foi observado neste estudo em primeiro instante principalmente no período de 2 horas para todas as concentrações.

DE-BOECK (1995) explica que o catabolismo protéico, para a produção de energia do peixe, acaba gerando amônia como produto final, o que indica um constante aumento da excreção de amônia. Do mesmo modo DHAMAGAYE *et al* (2005) constatou aumento significativo na quantidade de excreção de amônia no estudo com *Pangasius hypophthalmus*. Tais relatos podem ser colocados diante dos resultados deste trabalho uma vez que a tendência de aumento gradativo da excreção de amônia foi nítida nos resultados.

Em um estudo com *Oreochromis niloticus* BARBIERI *et al.* (2011) constatou alterações na excreção de amônia, alcançando mais 200% em relação ao controle, semelhantemente ao que ocorreu neste trabalho quando o aumento de excreção de amônia atingiu 172,8% (em 0,5 mg/L).

O estudo demonstrou que o poluente em suas diferentes concentrações pode provocar alterações de metabolismo em *D. iguape*, gerando resultados que contribuem para estudos e aplicação de técnicas adequadas a fim de mitigar os danos causados. Tem-se então que *D.iguape* se faz um eficiente bioindicador para o monitoramento uma vez que são peixes comuns e presentes nos diversos corpos d'água (RIVERO, 2007).

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que as concentrações do carbofurano utilizadas foram capazes de resultar alterações no comportamento dos peixes submetidos, os quais se fizeram nítidos nos três parâmetros, movimentos operculares, movimentos de nadadeiras dorsais e velocidade da natação.

O estudo demonstrou que muitos indivíduos apresentaram sensibilidade as concentrações do carbofurano, o que resultou em alterações de metabolismo.

No estudo pôde ser observado que, o aumento das concentrações de carbofurano provocaram um aumento estatístico do consumo específico de oxigênio de *D.iguape*, indicando a influência dos efeitos do carbofurano no metabolismo da espécie.

O que foi observado quanto aos resultados, que para os movimentos operculares e para os de nadadeiras as diferenças estatísticas em 24 e 48 horas apresentaram mais diferenças principalmente nas maiores concentrações, sendo que os peixes nas coletas sob estresse manifestaram maiores diferenças. Em se tratando das alterações de velocidade da natação, observou-se que em todas as concentrações e em todos os períodos os indivíduos apresentaram diferenças estatísticas frente ao controle.

Referente aos consumos específicos de oxigênio e amônia as diferenças estatísticas foram, apresentadas nas maiores concentrações no período de 24 horas aplicado.

As alterações nas médias da excreção de amônia foram possíveis observar, no entanto, apenas em 0,5mg/L houve diferenças estatística.

Conforme os estudos já citados e o experimento aqui desenvolvido, é possível concluir que *D.iguape* se faz adequado para estudos toxicológicos, pois correspondeu frente as concentrações submetidas.

O estudo demonstrou que as concentrações utilizadas possuem potencial suficiente capaz de alterar o comportamento dos peixes, bem como, que a resposta destes indivíduos frente ao poluente, além de útil se faz uma preocupação ambiental, principalmente em áreas que a utilização do carbofurano é mais intensa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, S.M.; SHEPARD, K.L.; GREELEY JR, M.S.; JIMENEZ, B.D.; RYON, M.G.; 124 SHUGART, L.R.; MCCARTHY, J.F.; HINTON, D.E. 1989 The use of bioindicators for 125 assessing the effects of pollutant stress on fish. Marine Environmental Reserach, nº 28, 126 p. 459-464, 1989.

ADAMS, S.M, 1990. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. Am. Fish. Soc. Symposium 8: 1-8.

ARIAS, A.R.L; BUSS, D.F; ALBUQUERQUE, C; INÁCIO, A.F, FREIRE, M.M; EGLER, M. *et al*, 2007. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. Ciên Saúde Colet. 12(1):61-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-81232007000100011>

BARBIERI, E; SERRALHEIRO, P.C; ROCHA, I. O. 2002 The use of metabolism to evaluate the toxicity of dodecil benzen sodium sulfonate (LAS-C12) on the Mugil platanus (mullet) according to the temperature and salinity. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 277: 109-127.

BARBIERI, E. 2005 Efeito do LAS-C12 (dodecil benzeno sulfonato de sódio) sobre alguns parâmetros do comportamento da tainha (Mugil platanus). Atlântica, Rio Grande, 27, 1, 49-57.

BARBIERI, E. 2007a The use of active metabolism and swimming activity to evaluate the toxicity of Dodecyl Benzene Sodium Sulfonate (LAS-C12) on the Mugil platanus (Mullet) according to temperature and salinity. Water Environment Research. 79, 707-719.

BARBIERI, E. 2007b Use of metabolism and swimming activity to evaluate the sublethal toxicity of surfactant (LAS-C12) on Mugil platanus. Brazilian Archives of Biology and Technology. 50, 101-112.

BARBIERI, E. 2007 Use of Oxygen Consumption and Ammonium Excretion to Evaluate the Sublethal Toxicity of Cadmium and Zinc on Litopenaeus schmitti (Burkenroad, 1936, Crustacea). Water Environment Research 79 (1): 324-330.

BARBIERI, E.; FERREIRA, L.A.A. 2011 Effects of the Organophosphate Pesticide Folidol 600 on the Freshwater Fish, Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 99, p. 209-214.

BARBIERI, E.; PAES, E.T. 2011 The use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the toxicity of cadmium on *Farfantepenaeus paulensis* with respect to salinity. *Chemosphere* (Oxford). 84:9-16.

BARBIERI, E.; MOREIRA, P.; LUCHINI, L.A.; HIDALGO, K.R.; MUÑOZ, A. 2013 Assessment of acute toxicity of carbofuran in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) at diferente temperature levels. *Toxicology and Industrial health* 29: 1 – 8.

BARBIERI, E.; MOREIRA, P.; LUCHINI, L.A.; HIDALGO, K.R.; MUNOZ, A. 2016. Assessment of acute toxicity of carbofuran in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) at different temperature levels. *Toxicology and Industrial Health*, 32(1): 7-14.

BARRETO, R.E. & VOLPATO, G.L. 2006 Ventilatory frequency of Nile tilapia subjected to different stressors. *Journal of Experimental Animal Science*. 43(3): 198-196.

BAYNE, B.L; BROWN, D.A; BURNS, K; DIXON, D.R; IVANOVICI, A; LOWE, D.M, *et al*, 1985 *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*. New York: Praeger Scientific; p. 65-89.

BEITINGER, T.L., McCAULEY, R.W.,1990. Whole animal physiological processes for 623 the assessment of stress in fishes. *J. Great Lakes Res*. 6, 542-575.

BOSISIO, F.; REZENDE, K.F.O.; BARBIERI, E. 2017 Alterations in the hematological parameters of Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted to different salinities. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 12(2):146-154.

BULL, D. e HATHAWAY, D. 1986 *Pragas e venenos: agrotóxicos no Brasil e no terceiro mundo*. Vozes, Petrópolis, 236.

CAMPOS-GARCIA, J.C.; MARTINEZ, D.S.T.; ALVES, O.L.; BARBIERI, E. 2015 Ecotoxicological effects of carbofuran and oxidised multiwalled carbon anotubes on the freshwater sh Nile tilapia: Nanotubes enhance pesticide ecotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111: 131-137.

CARVALHO, P.M.S. 1992 Bioenergética do camarão sete-barbas. Dissertação de mestrado. Instituto Oceanográfico-Universidade de São Paulo. 206p.

CHRISTIANSEN, P.D.; BROZEK, M.; HANSEN, B.W. 1998 Energetic and behavioral responses by the common goby, *Pomatoschistus microps* (Kroyer), exposed to linear alkybenzene sulfonate. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17, 2051-2057.

DEPLEDGE, M.H.; AAGAARD, A.; GYORKOS, P. 1995. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioural biomarkers. *Marine Pollution Bulletin*, nº 31, p.19-27, 1995.

DE BOECK, G.; DE SMET, H. RONNY, B. 1995. The effect of sublethal levels of copper on oxygen consumption and ammonia excretion in the common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquatic toxicology*, nº 32, p.127-141, 1995.

DINIZ, N. M.; HONORATO, C.A. 2012 Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo – Revisão. *Arq. Cienc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v.15, n.2, p.149-154.

DHAMAGAYE H.B., GOWDA G.C., SHRUTHISREE C., NAYAKA H. and MESHAN S.J. 2015. Alteration in oxygen consumption and ammonia excretion of iridescent shark, *Pangasinodon hypophthalmus* exposed to cypermethrin. *Journal of Experimental Zoology, India* 18: 381-385.

FABREGHAT, T.E.H.P.; PEREIRA, M.M.; ASSAHINA, T.B.; BROGGI, J.A. 2015 Uso do eugenol em Bettas: Estudo de diferentes concentrações e administrações sucessivas. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo 2015.

FREITAS, J.C. 1990. Biomedical Importance of Marine Natural Products. *Ciência e Cultura*, 42 (1): 20-24.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. 2006 Bem-estar Animal: Um Conceito Legítimo para Peixes? *Revista de Etologia*, v.8, n.1, p.51-61,2006.

GARCIA, J. C.; MARTINEZ, D. S. T.; ALVES, O.L.; BARBIERI, E. 2015 Ecotoxicological effects of carbofuran and oxidised multiwalled carbon nanotubes on the freshwater fish Nile tilapia: Nanotubes enhance pesticide ecotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 111: 131-137.

GOULART M.E., Callisto M., 2003. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Rev. FAPAM*. 2(1), 153 - 164.

GUIVANT, J.S. 1992. O uso de agrotóxicos e os problemas de sua legitimação. Um estudo de sociologia ambiental no município de Santo Amaro da Imperatriz, SC. Campinas – SP. Tese (Doutorado em Ciências Sociais) - Departamento de Sociologia, Instituto de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

HERNÁNDEZ-MORENO, D.; PÉREZ-LÓPEZ, M.; SOLER, F.; GRAVATO, C.; GUILHERMINO, L. 2011. Effects of carbofuran on the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Study of biomarkers and behaviour alterations. *Ecotox. and Environ. Safety* 74: 1905 – 1912.

HIDALGO I.H., et al. 2016. Characterization of aggregate load and pattern in living yeast cells by flow cytometry. *Biotechniques* 61(3):137-48

HOCHACHKA, P.W. 1980 Living without oxugen: closed and open systems in hypoxia tolerance. Harvard University press. Cambridge, 181p, 1980.

IWAMA G.K.; PICKERING A.D.; SUMPTER J.P.; SCHECK C.B. 1997. Fish stress and health in aquaculture. Soc. Exp. Biol. Sem. Ser. 62. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K.

IWAMA, G.K.; AFONSO, L.; TODGHAM, A.; ACKERMAN, P.; NAKANO, K. 2004. Are hsps suitable for indicating stressed states in fish? The Journal of Experimental Biology, 204: 15-19.

JASH, N.B.; BHATTACHARAYA, S. 1983 Delayed toxicity of carbofuran in fresh water teleost *Channa punctatus*. Indian J. Exp. Biol. 17: 693 – 697.

LEITE, E.M.T; AMORIM, L.C.A. 2006. Noções Básicas de Toxicologia. Faculdade de Famácias, Departamento de Análises clínicas e Toxicológicas, UFMG.

LITTLE, E.E.; FINGER, S.E. 1990 Swimming behavior as an indicator of sublethal toxicity in fish. Environm. Toxicol. And Chemistry 9: 13 – 19.

MARTINEZ C.B.R.; CÓLUS I.M.S. 2002. Biomarcadores em peixes neotropicais para monitoramento da poluição aquática na bacia do Rio Tibagi. In: Moacyr, E., Bianchini, E., Shibatta, A, O., Pimenta, J, A. (Eds), A Bacia do Rio Tibagi. MC. Gráf., Londrina. 49. pp. 551 – 577.

MARTINEZ, D.S.T; ALVES, O.L; BARBIERI, E. 2013. Carbon nanotubes enhanced the lead toxicity on the freshwater fish. Journal of Physics: Conference Series 429: 1 – 8.

MARTINEZ, D.S.T; ALVES, O.L. 2013. Interação de nanomateriais com biosistemas e a nanotoxicologia: na direção de uma regulamentação: Ciência e Cultura, vol.65 no.3 São Paulo July 2013.

MAZEAUD, M.M; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. 1997 Primary and Secondary Effects os strees in fish: Some new data with a General Review. Transactions of the American Fisheries Society. V106. P.201-212, 1977.

MOMMSEN, T.; VIJAYAN, M; MOON, T. 1999 Cortisol in teleosts: dynamics, machinisms of action, and metabolic regulation. Rewiw in Fish Biology an fisheres, v9, p 211-168.

MONTANHA, F. P., ASTRAUSKAS, J. P., KIRNEW, M. D., NAGASHIMA, J. C., PIMPÃO, C. T. 2011. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano IX – N 17 – Julho de 2011.

MOREIRA, M.R.S.; MUCCI, J.L.N.; ABAKERLI, R.B. 2004 Monitoramento dos resíduos de carbofurano em área de produção de arroz irrigado – Taubaté, São Paulo. Arquivo Instituto Biológico 71(2): 221 – 226.

PEREIRA, V.M. et al. 2012. Endosulfan exposure inhibits brain AChE activity and impairs swimming performance in adult zebrafish (*Danio rerio*). Neurotoxicology, v.33, n.3, p.469-75, 2012. doi: 10.1016/j. neuro.2012.03.005.

RAND, G.M. 1984 The use of behavioral measurements to assess toxicant induced stress in marine organisms. In G. Persoone, E. Jaspers and C. Claus, (Eds.), Ecotoxicological testing for the marine environment, vol.2. Institute for Marine Scientific Research, Bredene, Belgium, pp.431-456.

RAND, G. M; PETROCEL, I S. R. 1984. Fundamentals of Aquatic Toxicology. 335 – 373.

RAND G.M.; WELLS P.G. e MC CARTY L.S. 1995. Introduction to aquatic toxicology. In: GM Rand (Ed) Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment, Taylor and Francis, Washington, DC. 2, 3–67.

RIVERO, C. 2007. Perfil da frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil [dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília; 113 p.

SILVA, A.L.F.; CHAGAS, E.C.; GOMES, L.C.; ARAUJO, L.D.; SILVA, C.R.; BRANDÃO, F.R. 2006 Toxicity and sublethal effects of potassium permanganate in Tambaqui (*Colossoma macropomum*). Journal of the World Aquaculture Society, v. 37, p. 318-321, 2006.

SOKOLOVA, I.M. & LANNING, G. 2008. Interactive effects of metal pollution and temperature on metabolism in aquatic ectotherms: implications of global climate change. Climate Res. 37: 181-201. <http://dx.doi.org/10.3354/cr00764>.

VAN DYK, J.C. 2005 Fish histopathology as a monitoring tool for aquatic health: a preliminar investigation. Tese Mestrado – University of Johannesburg, Johannesburg.

VARGAS, V. M. F; GUIDOBONO, R.R; HENRIQUES, J.A.P. 1991a Genotoxicity of plant extracts. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 86: 67 – 70.

VARGAS, M; CORREA, M; CHUNG, K.S. 1991b. Indicadores fisiologicos en la evaluacion de la toxicidad de hidrocarburos aromaticos. Bol Inst Oceanog Venez Univ Oriente: 30(1-2):57-64.

VIJAYAVEL, K. e BALASUBRAMANIAN, M.P. 2006. Changes in oxygen consumption 269 and respiratory enzymes as stress indicators in an estuarine edible crab *Scylla serrata* 270 exposed to naphthalene. Chemosphere, nº 63, p.1523-1531, 2006.

WINKLER, L. 1888. Methods for measurement of dissolved oxygen. Ber Deutsch Chem Ges 21:2843-54.

Anexo 01:

Sistema para análise - Experimento



Processos de exposição ao poluente e análises: a) Grupos de Exposição; b) sistema de filmagens; c) respirômetros; e d) aquários para exposição.

Anexo 02:

Análise estatística – Movimentos operculares

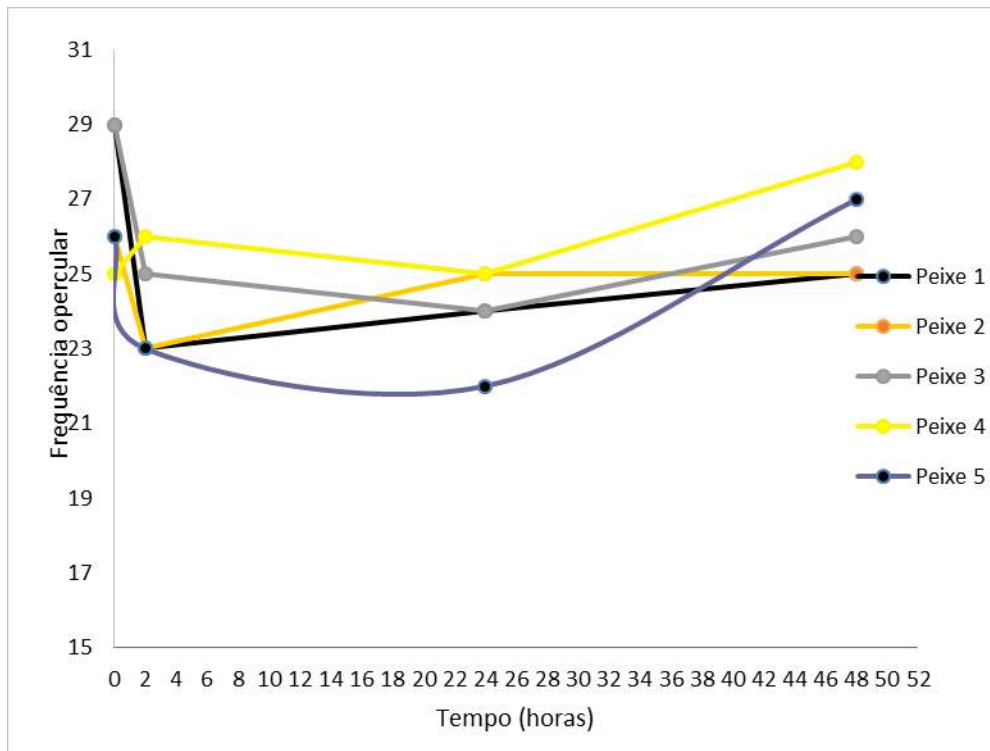


Figura 18 - Padrão de movimentos operculares apresentado devido as variáveis do período da exposição.

O Padrão observado apresenta queda da variável entre os períodos de 0 e 2h, com tendência de estabilização, leve queda e aumento, de movimentos operculares entre 2h e 24h, bem como um incremento de 24h para e 48h.

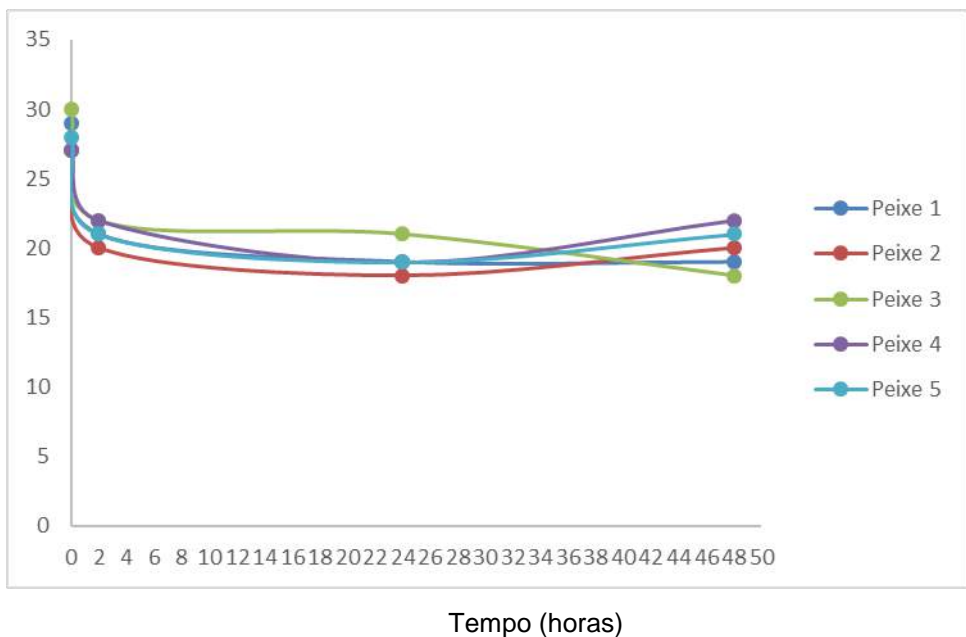


Figura 19 - Padrão de movimentos de nadadeiras dorsais apresentado devido as variáveis do período da exposição.

Movimentos operculares

Teste ANOVA para movimentos operculares					
	Soma	DF	MQ	F	Valor-P
Entre grupos	132,46	4	33,115	4,624	0,001869
Dentro dos grupos	680,3	95	7,16105		
Total	812,76	99			

Normalidade e homocedasticidade não atendidas, em movimentos operculares.

Kruskal-Wallis test for equal medians	
H (chi2):	30,82
Hc (tie corrected):	31,17
p (same):	2,82E-06

Grupo Controle	GE1	GE2	GE3	GE4
Grupo Controle	2,39E-07	3,69E-05	0,000361	4,32E-05
GE1	2,39E-07	0,3006	0,1673	0,8803
GE2	3,69E-05	0,3006	0,6442	0,8919
GE3	0,000361	0,1673	0,6442	0,3755
GE4	4,32E-05	0,8803	0,8919	0,3755

Verificou-se diferença de todos os grupos com o Controle, porém não houve diferenças entre os grupos.

Nadadeiras dorsais

Teste ANOVA movimentos de nadadeiras dorsais					
	<i>Soma</i>	<i>DF</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	5,3	4	1,325	0,072736	0,989375
Dentro dos grupos	273,25	15	18,21667		
Total	278,55	19			

Normalidade não atendida e homocedasticidade não existente.

Kruskal-Wallis test for equal medians	
H (chi2):	6,868
Hc (tie corrected):	6,977
p (same):	0,1371

	Grupo Controle	GE1	GE2	GE3	GE4
Grupo Controle		0,03379	0,3412	0,06765	0,008491
GE1	0,03379		0,1079	0,633	0,6236
GE2	0,3412	0,1079		0,1823	0,007347
GE3	0,06765	0,633	0,1823		0,3246
GE4	0,008491	0,6236	0,007347	0,3246	

Observa-se que os grupos apresentam diferenças nos movimentos de nadadeiras dorsais com o Controle. Verificou-se também diferenças entre as concentrações de 0,05mg/L e 0,5mg/L.