

Anais da I Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental



Documentos 35

Anais da I Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

Levy de Carvalho Gomes
José Jackson Bacelar Nunes Xavier
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Eduardo Lleras Pérez
Luadir Gasparotto
Adônis Moreira

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 621-0300

Fax: (92) 3621-0320 / 3621-0317

www.cpa.embrapa.br

sac@cpaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: José Jackson Bacelar Nunes Xavier

Membros: Adauto Maurício Tavares

Cíntia Rodrigues de Souza

Edsandra Campos Chagas

Francisco Célio Maia Chaves

Gleise Maria Teles de Oliveira

José Clério Rezende Pereira

Maria Augusta Abtibol Brito

Maria Perpétua Beleza Pereira

Paula Cristina da Silva Ângelo

Raimundo Nonato Vieira da Cunha

Sebastião Eudes Lopes da Silva

Revisor de texto: Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica: Maria Augusta Abtibol Brito

Diagramação e arte: Gleise Maria Teles de Oliveira

Capa: Doralice Campos Castro

1ª edição

Todos os direitos reservados.

**A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).**

**Cip-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Amazônia Ocidental.**

Gomes, Levy de Carvalho et al.

Anais da I Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia
Occidental / (editado por) Levy de Carvalho Gomes et al.

- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2004.

137 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 35).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Toxicidade da formalina para o tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Lucelle Dantas de Araújo⁽¹⁾, Edsandra Campos Chagas⁽²⁾ e José Celso de Oliveira Malta⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista do PIBIC/CNPq. E-mail: lucelle@cpaa.embrapa.br; ⁽²⁾Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM 010, km 29, Zona Rural, Caixa Postal 319, 69010-970. Manaus - AM. E-mail: edsandra@cpaa.embrapa.br; ⁽³⁾Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coordenação de Pesquisas em Biologia Aquática, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, Caixa Postal 478, CEP 69083-000, Manaus, AM. E-mail: jcmalta@inpa.gov.br

Resumo - O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade da formalina para o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e sua efetividade no controle de monogenóides. Para isso, foram efetuados testes de toxicidade (CL₅₀-96h) em tanques de polietileno de 50 L e também avaliada a efetividade da formalina, em tempos de exposição de 15, 30, 45 e 60 minutos, no combate a monogenóides por meio de testes in vitro. A taxa de mortalidade nos testes de toxicidade foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de formalina e a CL₅₀-96 horas foi calculada em 106,96 mg/L para o tambaqui. Os testes in vitro conduzidos com formalina na concentração de 250 mg/L mostraram maior efetividade para o controle de monogêneas nas brânquias de tambaqui após 60 minutos de exposição (84,04%). Os resultados indicam baixa toxicidade de formalina para o tambaqui e boa efetividade na redução de parasitas monogenóides.

Termos para indexação: CL₅₀, monogenóides, sanidade.

Toxicity of formalin to tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Abstract - The objective of this study was to determine the toxicity of formalin to tambaqui (*Colossoma macropomum*) and their efficacy in the monogeneans control. Toxicity trials (CL₅₀-96h) were carried out in 50 L-tanks and the efficacy of formalin was evaluated, in exposures of 15, 30, 45 and 60 minutes, in the control of monogeneans by in vitro tests. The mortality rate in the toxicity tests was directly proportional to increase in the formalin concentration and the CL₅₀-96 hour was calculated in 106, 96 mg/L for tambaqui. in vitro trials with 250 mg/L of formalin showed the higher efficacy to monogeneans control in the tambaqui gills after 60 minutes of exposure (84, 04%). The results indicate a low toxicity of formalin to tambaqui and a good efficacy in the reduction of monogeneans.

Introdução

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é um peixe teleósteo de água doce pertencente à ordem Characiformes, família Serrasalminae (Gery, 1977), nativo das bacias do Amazonas, Orinoco e afluentes. Atinge a maturidade sexual entre o terceiro e o quarto ano de vida, apresenta desova total, alta fecundidade e ovos semipelágicos (Araújo-Lima & Goulding, 1998). Sua dieta natural inclui zooplâncton, frutos e sementes, sendo considerado um onívoro com tendência a frugívoro (Honda, 1974). É uma espécie com excelente potencial para cultivo por apresentar bom crescimento, hábito gregário, resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido e excelente utilização de alimentos

(Saint-Paul, 1986; Val et al., 1998). O cultivo do tambaqui já vem sendo realizado em tanques-rede (Merola & Cantelmo, 1987; Merola & Souza, 1988; Andrade et al., 1993; Chellapa et al., 1995; Chagas et al., 2003) e essa espécie vem se mostrando adequada para esta tecnologia de criação.

No sistema de criação de peixes em tanques-rede, classificado como um sistema intensivo de renovação de água (Beveridge, 1996), muito pouco se sabe sobre os problemas relativos ao manejo inadequado, às questões nutricionais e às enfermidades infecciosas e parasitárias, devendo-se enfatizar os estudos relativos ao levantamento, caracterização e tratamento de doenças.

A fauna parasitológica do tambaqui cultivado em sistema de tanques-rede foi recentemente avaliada, cujos parasitas identificados foram: *Henneguya* sp. e *Myxobolus* (Myxozoa); *Anacanthorus spathulatus* e *Linguadactyloides brinkmanni* (Monogenoidea); *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala); *Gamidactylus jaraquensis* e *Ergasilus* sp. (Copepoda), sendo a maior intensidade média relatada para os monogenóides (Varella et al., 2003).

Dentre os tratamentos utilizados para o controle de monogenóides em peixes, estão os banhos terapêuticos com formalina, cuja solução deve possuir 37% de formaldeído dissolvido em água e 10% a 15% de metanol (Kabata, 1985; Pironet & Jones, 2000; Fajer-Ávila et al., 2003), sendo o uso deste produto liberado como parasiticida para aquicultura pelas agências de saúde dos Estados Unidos (Fajer-Ávila et al., 2003), porém no Brasil ainda não existe legislação específica liberando o uso deste químico para o tratamento de doenças em peixes tropicais. A concentração de formalina, ou de qualquer outro químico, a ser utilizada em tratamentos terapêuticos é determinada pelo período de tempo em que o peixe estará em contato com o químico, pela temperatura da água e pela condição de saúde dos peixes (Kabata, 1985; Fajer-Ávila et al., 2003). Neste caso, os testes de toxicidade são essenciais por simularem a situação ambiental (características físico-químicas da água) na qual os organismos são expostos a determinada substância tóxica, no caso a formalina, durante curto espaço de tempo (24 a 96 horas) (Bertoletti, 1990).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade da formalina para o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e sua efetividade no controle de monogenóides.

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui pesando aproximadamente 45 g foram adquiridos na fazenda Santo Antônio, Rio Preto da Eva, AM, e transportados para o campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no km 29 da estrada Manaus-Itacoatiara, onde foram aclimatados em tanques escavados de 200 m² durante todo o período

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, e as medidas de temperatura e oxigênio dissolvido foram realizadas com o auxílio de um monitor YSI 55. Os valores desses parâmetros registrados durante o período experimental foram $7,40 \pm 0,07$ unidades, $26,92 \pm 0,15$ °C e $7,25 \pm 0,04$ mg/L, respectivamente.

Determinação da concentração média letal (CL₅₀ - 96h) de formalina

A CL₅₀ - 96 horas é a concentração de 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 CL₅₀ de formalina os exemplares de tambaqui, com peso de $45,23 \pm 0,43$ g (média $\pm$ erro padrão) e comprimento padrão $11,91 \pm 0,08$ cm, foram transferidos para tanques de polietileno com o volume fixo de 50 litros. Após um período de aclimação de 24 horas, foram expostos a diferentes concentrações de formalina por um período de 96 horas. A primeira concentração testada de formalina foi referenciada pelo nível máximo utilizado para o tratamento de doenças em peixes. A partir desse resultado foram estabelecidas as demais concentrações.

Os tanques experimentais foram dotados de sistemas semi-estáticos, com aeração constante. Os testes foram efetuados em triplicatas com grupos de oito animais, sendo a alimentação dos animais suspensa 24 horas antes do início dos testes e durante estes. Os animais mortos durante os ensaios da CL₅₀ foram contados e retirados a cada 24 horas.

As taxas de mortalidade foram plotadas em função da concentração de formalina, e foi, então, aplicado o programa JSpearman Test baseado no método Trimmed Spearman Karber, sendo determinada a CL₅₀.

Teste in vitro contra monogenóides

Uma amostra inicial de 25 peixes foi retirada para análise parasitológica com o objetivo de verificar a presença de monogenóides nas brânquias de tambaqui antes da realização dos testes in vitro.

Na realização dos testes in vitro foi utilizado um total de 24 peixes (comprimento padrão de $9,22 \pm 0,13$ cm e peso de $27,12 \pm 1,25$ g). A concentração de formalina testada foi a de 250 mg/L, que é o nível máximo de formalina utilizada para o tratamento de doenças em peixes.

O experimento consistiu em avaliar a eficácia da formalina no controle de monogenóides em diferentes tempos de exposição: 15, 30, 45 e 60 minutos, com seis repetições. Para isso, os peixes foram sacrificados por comoção cerebral, as brânquias retiradas e então os oito filamentos branquiais foram individualmente imersos em placas de Petri contendo 20 ml da solução de formalina (250 mg/L), sendo este procedimento repetido para cada tempo de exposição. Após o período de exposição, os filamentos branquiais foram transferidos para placas de Petri contendo água destilada por

30 minutos e procedeu-se à contagem das monogêneas mortas em cada filamento branquial com o auxílio de um estereomicroscópio, sendo a monogênea considerada morta quando estava imobilizada e opaca.

As taxas de mortalidade dos diferentes tempos de exposição foram comparadas por análise de variância (one way ANOVA) e teste de Tukey, com 5% de probabilidade (Zar, 1999).

Resultados e Discussão

Concentração média letal (CL_{50} - 96 h) de formalina

No controle e nas concentrações de 90 e 95 mg de formalina/L não foram registradas mortalidades durante o período de exposição de 96 horas. Por outro lado, nenhum peixe sobreviveu na concentração de 120 mg/L (Figura 1). A taxa de mortalidade foi diretamente proporcional ao aumento na concentração de formalina adicionada na água dos tanques experimentais, demonstrando boa relação dose-resposta

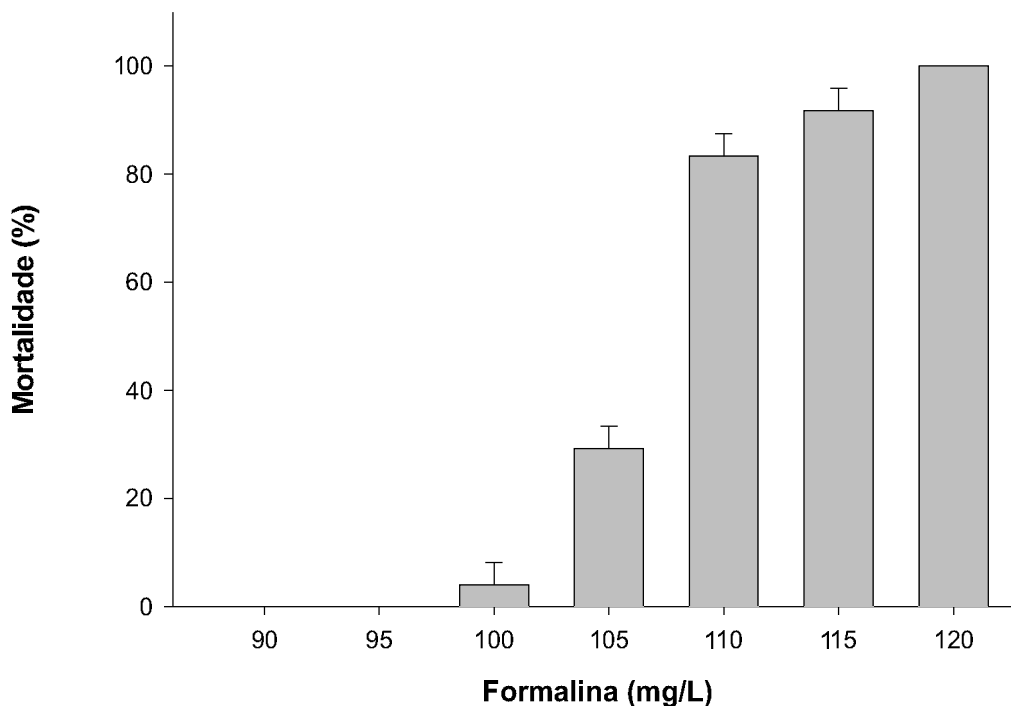


Figura 1. Mortalidade percentual de tambaquis expostos a crescentes concentrações de formalina na água.

A CL_{50} -96 horas de formalina para o tambaqui foi calculada em 106,96 mg/L. Em geral, os testes de toxicidade com formalina indicam uma toxicidade relativamente baixa para peixes tropicais (Wellens, 1982; Fajer-Ávila et al., 2003). Para a espécie *Sphoeroides annulatus*, a CL_{50} -72 h de formalina é 79 mg/L (Fajer-Ávila et al., 2003), próxima a CL_{50} -96 h (81 mg/L) encontrada para *Anguilla americana* (Hinton & Eversole, 1978). O tambaqui, comparado a outras espécies, apresentou boa tolerância à formalina (Tabela 1).

Tabela 1. Valores comparativos de CL_{50} -96 horas de formalina para *Colossoma macropomum* e outras

Espécie	CL_{50} -96 horas (mg/L)	Referências
<i>Ictalurus punctatus</i>	19,8 28,2	Bills et al. (1977)
<i>Pimephales promelas</i>	24,1	Geiger et al. (1990)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	58,7	Bills et al. (1977)
<i>Salmo salar</i>	69,8	Bills et al. (1977)
<i>Anguilla americana</i>	81,0	Hinton & Eversole (1978)
<i>Colossoma macropomum</i>	106,96	Presente estudo

A determinação da CL_{50} - 96 horas de formalina para o tambaqui é importante para estabelecer os limites de tolerância para o uso deste químico em tratamentos de doenças parasitárias. Em tratamentos de longa duração, as concentrações geralmente recomendadas para os banhos terapêuticos são de 15 a 25 mg/L (Kabata, 1985), concentração muito abaixo da tolerada pelo tambaqui em 96 horas de exposição, portanto incapaz de causar mortalidade dos animais durante o período de tratamento.

De uma forma geral, tambaquis expostos a concentrações de formalina acima de 100 mg/L apresentavam-se agitados, com aumento na frequência do batimento opercular e intensa liberação de muco após 24 horas de exposição. Perda de equilíbrio, olhos saltados e narinas hemorrágicas foram observados em tambaquis nas concentrações acima de 105 mg/L, após o período de 48 horas. Para a espécie *Sphoeroides annulatus* foi observado, nas concentrações de 75 e 103 mg/L, hemorragia após 20 horas de exposição (Fajer-Ávila et al., 2003). Em concentrações de 200 mg/L em 6 horas foi observada necrose e hipertrofia nas brânquias em *Oncorhynchus tshawytscha* e *Salmo*

Teste in vitro contra monogenóides

Quando expostos à concentração de 250 mg de formalina/L, os exemplares de tambaqui reduziram significativamente o número de monogêneas em suas brânquias com o aumento do tempo de exposição (Tabela 2). Em 60 minutos, a taxa de mortalidade de monogêneas foi de 84,04%, mostrando a eficácia da aplicação deste produto para o controle de monogenóides (Tabela 2).

Tabela 2. Testes in vitro para o controle de monogenóides, expostas a concentração de 250 mg/L em diferentes tempos de exposição⁽¹⁾.

Tempo de exposição (minutos)	Número de parasitas	Mortalidade (%)
15	175,83 ± 58,92 a	38,43 ± 6,36 a
30	168,17 ± 37,34 a	76,62 ± 4,28 b
45	171,67 ± 40,67 a	78,03 ± 13,51 b
60	297,33 ± 52,60 a	84,04 ± 9,30 b

⁽¹⁾ Na coluna, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O uso de formalina na concentração de 250 mg/L, neste estudo, mostrou boa efetividade para o controle de monogêneas nas brânquias de tambaqui, porém é preciso dar continuidade a estes estudos para a determinação da concentração média efetiva (EC_{50}) que permite cruzar esses dados com a CL_{50} -96 h obtida para o tambaqui e encontrar o índice terapêutico para o uso de formalina no tratamento de doenças causadas por monogenóides. Em testes semelhantes com *Sphoeroides annulatus*, 225 mg de formalina/L em 30 minutos de exposição e 87 mg/L em 60 minutos, reduziram significativamente o número do parasita monogenóide *Heterobothrium ecuadori* nas brânquias da espécie *Sphoeroides annulatus* (Fajer-Ávila, 2003).

Apesar de apresentar boa efetividade no controle de monogenóides, a concentração de 250 mg de formalina/L em 60 minutos de exposição promove alteração na homeostase orgânica do tambaqui, conforme relatado por Araújo et al. (2004), embora os autores tenham relatado que os animais apresentam boa recuperação após o período de 24 horas. Esses resultados reforçam mais uma vez a importância da realização desses estudos visando contribuir para a determinação de um

índice terapêutico para o uso de formalina, bem como de outros químicos terapêuticos, sem ocasionar estresse fisiológico e que apresente boa efetividade no controle de parasitas monogenóides.

Conclusão

A CL_{50} -96 horas de formalina para o tambaqui foi calculada em 106,96 mg/L.

Em testes in vitro, 250 mg de formalina/L apresentaram boa efetividade no controle de monogenóides, em 60 minutos de exposição.

Agradecimentos

Ao Sr. José Pereira (Cubio), pelo auxílio nos experimentos em campo; à equipe do laboratório de piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental e aos membros do laboratório de parasitologia e patologia de peixes do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - Inpa.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, P. C. M.; TOLENTINO, A. S.; FREITAS, C. E. C. Desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) em gaiolas. **Revista da Universidade do Amazonas: Série Ciências Agrárias**, v. 2, p. 21-30, 1993.
- ARAÚJO, L. D. et al. Efeito de banhos terapêuticos com formalina sobre indicadores de estresse em tambaqui. **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: 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.
- BEVERIDGE, M. C. M. **Cage aquaculture**. Oxford: Fishing News Books, 1996. 346 p.
- BILLS, T. D.; MARKING, L. L.; CHANDLER, J. H. Formalin: its toxicity to Nontarget Aquatic Organisms, Persistence, and Counteraction. U.S. Fish Wildl. Serv. Invest. Fish Control. 73:1-7 p. 1977.
- CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- CHAGAS, E. C. et al. Desempenho e estado de saúde de tambaquis cultivados em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. In: URBINATI, E. C.; CYRINO, J. E. P. (Ed.). **Anais do XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura**. Jaboticabal, AQUABIO. v. 2, p. 83-93, 2003.
- CHELLAPA, S. et al. Growth and production of the Amazonian tambaqui in fixed cages under different feeding regimes. **Aquaculture International**, n. 3, p. 11-21, 1995.
- FAJER-ÁVILA, E. J. et al. Toxicity of formalin to bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites. **Aquaculture**, v. 223, p. 41-50, 2003.
- GEIGER, D. L.; BROOKE, L. T.; CALL, D. J. **Acute toxicities of Organic Chemicals to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*)**. Wisconsin: University of Wisconsin-Superior, 1990. v. 5, 332 p.
- GÉRY, J. **Characoids of the world**. Neptun City, NY: Tropical Fish Hobbyist, 1977. 672 p.
- HINTON, M. J.; EVERSOLE, A. G. Toxicity of ten commonly used chemicals to American eels. **Proceedings Annual Conference Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies**, v. 32, p. 599-604, 1978.
- HONDA, E. M. S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas II: alimentação de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 4, p. 47-53, 1974.
- KABATA, Z. **Parasites and diseases of fish cultured in the tropics**. London: Taylor & Francis, 1985. 318 p.

MEROLA, N.; CANTELMO, O. A. Growth, conversion and mortality of cage-reared tambaqui, *Colossoma macropomum*, fed various dietary feeding regime and protein levels. **Aquaculture**. v. 66, p. 223-233. 1987.

MEROLA, N.; SOUZA, J.H. Cage culture of the Amazon fish tambaqui, *Colossoma macropomum*, at two stocking densities. **Aquaculture**. v. 11, p. 15-21, 1988.

PIRONET, F. N.; JONES, J. B. Treatments for ectoparasites and diseases in captive Western Australian dhufish. **Aquaculture International**. n. 81, p. 349-361, 2000.

PORTELA, J. M. Efeito do pH, cálcio e temperatura sobre a homeostase iônico de alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Characiformes, Serrasalminidae). 1998. 41 f. Dissertação (Mestrado) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus.

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American fresh water fishes: a review. **Aquaculture**, Baton Rouge, v. 54, p. 205-240, 1986.

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

VAL, A. L.; SILVA, M. N. P.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. Hypoxia adaptation in fish of the Amazon: a never-ending task. **South African Journal of Zoology**, Pretoria, v. 33, p. 107-114, 1998.

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: URBINATI, E. C.; CYRINO, J. E. P. (Ed.). **Anais do XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura**. Jaboticabal, AQUABIO. v. 2, p. 95-106, 2003.

YI, Y.; LIN, C.K. Effects of biomass of caged Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and aeration on the growth and yields in an integrated cage-cum-pond system. **Aquaculture**, v. 195, p. 253-267, 2001.

WEDEMEYER, G. A.; YASUTAKE, W. T. Stress of formalin treatment in juvenile spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) e steelhead trout *salmo gairdneri*. **Fish Research Board. Canadá**, v. 3, p. 179-184, 1974.

WELLENS, H. Comparison of the sensitivity of the *Brachydanio rerio* and *Leuciscus idus* by testing the fish toxicity of chemicals and waste waters. **Z. Wasser-Abwasser-Forsch**, v. 15, p. 49, 1982.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663 p.