

## TOXICIDADE CRÔNICA E ALTERAÇÕES NO LEUCOGRAMA DE TILÁPIAS EXPOSTAS AO INSETICIDA NEONICOTINÓIDE IMIDACLOPRID

Juliana Heloisa Pinê Américo-Pinheiro<sup>1</sup>

Angela Aparecida Machado<sup>2</sup>

Claudinei da Cruz<sup>3</sup>

Joaquim Gonçalves Machado Neto<sup>4</sup>

Saúde, Segurança e Meio Ambiente

### Resumo

A contaminação das águas por agrotóxicos pode resultar em exposição e intoxicação dos peixes de cultivo como a tilápia. Objetivou-se avaliar a toxicidade crônica e possíveis alterações no leucograma de tilápias (*Oreochromis niloticus*) expostas a concentrações subletais do inseticida imidacloprid. Peixes com peso entre 65 e 70 g foram aclimatados por dez dias em sala de bioensaio, com fotoperíodo, à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , com aeração contínua e alimentados uma vez ao dia. Os peixes foram expostos durante 7 dias às seguintes concentrações do inseticida: 1,405; 2,810; 14,050; 28,100  $\text{mg L}^{-1}$  e um controle. Foram coletadas amostras de sangue por meio de venopunção caudal com seringas heparinizadas. Duas lâminas de extensão sanguínea para cada peixe foram confeccionadas e coradas com *May Grünwald-Giemsa-Wright*. Foram realizadas as contagens total e diferencial de leucócitos em monócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilo e linfócitos. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Nas tilápias expostas a todas as concentrações subletais testadas de imidacloprid ocorreu aumento significativo no número de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos em relação ao grupo controle. O número de monócitos aumentou significativamente apenas nos peixes expostos a 28,100  $\text{mg L}^{-1}$  em relação aos peixes do controle. A exposição crônica de tilápias (*O. niloticus*) por sete dias a concentrações subletais de imidacloprid provoca alterações no leucograma dos peixes. Essas alterações nas células de defesa podem comprometer a saúde dos peixes

Palavras-chave: Agrotóxico; Leucócito; Linfócito; Peixe; *Oreochromis niloticus*

<sup>1</sup>Profa. Dra. Universidade Brasil, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, [americo.ju@gmail.com](mailto:americo.ju@gmail.com)

<sup>2</sup>Dra. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Jaboticabal, [angela\\_machado8@hotmail.com](mailto:angela_machado8@hotmail.com)

<sup>3</sup>Prof. Dr. Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, [claudineicruz@gmail.com](mailto:claudineicruz@gmail.com)

<sup>4</sup>Prof. Dr. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Jaboticabal, [joaquim@fcav.unesp.br](mailto:joaquim@fcav.unesp.br)

## INTRODUÇÃO

O uso frequente, e muitas vezes incorreto, de agrotóxicos na produção agrícola pode provocar a contaminação das águas superficiais e subterrâneas (SPADOTTO, 2006). A contaminação das águas superficiais ocorre especialmente pela movimentação das águas da chuva e de irrigação. Com isso, os agrotóxicos dissolvidos nas águas são lixiviados com as águas de drenagem que escoam das plantações e dos solos e atingem a rede hidrográfica (CEREJEIRA et al., 2003).

Com a expansão da aquicultura brasileira, a rede hidrográfica de muitas regiões é utilizada para o cultivo de peixes. As águas contaminadas podem resultar em exposição e intoxicação dos peixes de cultivo, da fauna e flora aquáticas, dos animais domésticos e da população (CEREJEIRA et al., 2003). As intoxicações dos organismos aquáticos com os agrotóxicos podem ser agudas ou crônicas. As intoxicações crônicas, muitas vezes, são difíceis de serem relacionadas à exposição em baixas concentrações (COOPER; GOLDMAN; STOKER, 1999). Para constatar tais alterações nos organismos cronicamente expostos destacam-se o uso de biomarcadores como parâmetros de avaliação da exposição aos compostos tóxicos, por meio de alterações histológicas, fisiológicas e hematológicas.

Assim, objetivou-se avaliar a toxicidade crônica e as possíveis alterações no leucograma de tilápias (*Oreochromis niloticus*) expostas a concentrações subletais do inseticida imidacloprid.

## METODOLOGIA

A realização desse estudo foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal – SP (Protocolo n° 021534/14). O ensaio de toxicidade crônica foi executado conforme os procedimentos da ABNT NBR 15499:2007. No ensaio foi utilizado o inseticida neonicotinóide imidacloprid (CAS n° 138261-41-3) na formulação comercial Provado SC® (200 g L<sup>-1</sup>).

Exemplares de tilápia (*Oreochromis niloticus*) com peso entre 65 e 70 g foram previamente aclimatados por dez dias em sala de bioensaio em caixas d’água com capacidade de 250 L, fotoperíodo de 12 horas luz, à temperatura de 25± 2°C, com aeração

contínua promovida por bombas de ar e alimentados uma vez ao dia *ad libitum* com ração comercial com teor de 40% de proteína.

As concentrações utilizadas no ensaio de toxicidade crônica com duração de 7 dias foram baseadas no valor estimado da CL<sub>50</sub>;48h de 140,50 mg L<sup>-1</sup> para imidacloprid, determinada em ensaio de toxicidade aguda. Os peixes foram expostos a concentrações subletais do inseticida de acordo com os seguintes quocientes: CL<sub>50</sub>/100 (1,406 mg L<sup>-1</sup>), CL<sub>50</sub>/50 (2,810 mg L<sup>-1</sup>), CL<sub>50</sub>/10 (14,050 mg L<sup>-1</sup>), CL<sub>50</sub>/5 (28,100 mg L<sup>-1</sup>) e um controle (0,0 mg L<sup>-1</sup>). Para cada tratamento utilizou-se nove aquários com um peixe por aquário, totalizando nove peixes para cada concentração e para o grupo controle.

Ao final do período experimental foram coletadas amostras de sangue por meio de venopunção caudal dos nove peixes de cada tratamento, por meio de seringas heparinizadas para avaliação dos parâmetros que constituem o leucograma.

Duas lâminas de extensão sanguínea para cada peixe foram confeccionadas e coradas com *May Grünwald-Giemsa-Wright* (MGGW) pelo método de Rosenfeld (1947). Nessas lâminas foram realizadas as contagens total e diferencial de leucócitos em monócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilo e linfócitos que compõem o leucograma. Os dados do leucograma foram submetidos à análise de variância utilizando o procedimento estatístico *Statistical Analysis* (SAS, 2002). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que exposições crônicas de tilápias ao inseticida imidacloprid causam aumento no número de células de defesa dos peixes. Nas tilápias expostas a todas as concentrações subletais testadas de imidacloprid ocorreu aumento significativo no número de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos em relação ao grupo controle. O número de monócitos aumentou significativamente apenas nos peixes expostos a 28,100 mg L<sup>-1</sup> do inseticida em relação aos peixes do controle (Tabela 1).

Quando a qualidade da água é alterada por substâncias tóxicas, ocorre a leucocitose, uma reação fisiológica normal do peixe contra substâncias estranhas

(NUSSEY; VAN VUREN; DU PREEZ, 1995). O aumento no número de leucócitos também auxilia na remoção de detritos celulares, tecidos necrosados e estimulam os parâmetros imunológicos de defesa (JOHN, 2007).

**Tabela 1.** Valores médios e erro padrão do leucograma de tilápias, *O. niloticus*, expostas a concentrações subletais do inseticida imidacloprid durante sete dias.

| Concentrações<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | Células<br>(células μL <sup>-1</sup> ) |                         |                        |                          |
|--|--|-------------------------|------------------------|--------------------------|
|  | Leucócitos                             | Monócitos               | Neutrófilos            | Linfócitos               |
| <b>Controle</b>                        | 24036,27 B<br>(±2539,25)               | 2274,92 B<br>(±298,04)  | 5048,07 B<br>(±555,38) | 16058,43 B<br>(±1612,66) |
| <b>1,405</b>                           | 48423,41 A<br>(±3496,92)               | 3697,81 AB<br>(±651,00) | 7594,77 A<br>(±746,87) | 37026,34 A<br>(±2621,88) |
| <b>2,810</b>                           | 53263,09 A<br>(±3550,87)               | 3543,46 AB<br>(±395,49) | 7171,22 A<br>(±750,31) | 43103,08 A<br>(±2780,04) |
| <b>14,050</b>                          | 50369,11 A<br>(±3791,08)               | 3110,51AB<br>(±136,58)  | 7438,26 A<br>(±468,37) | 38747,28 A<br>(±2852,36) |
| <b>28,100</b>                          | 56337,32 A<br>(±3495,92)               | 4229,10 A<br>(±244,61)  | 6369,09 A<br>(±364,99) | 45939,51 A<br>(±2672,89) |
| <b>F</b>                               | 12,48***                               | 5,12**                  | 14,75***               | 14,42***                 |
| <b>CV (%)</b>                          | 25,65                                  | 22,35                   | 29,68                  | 25,73                    |
| <b>DMS</b>                             | 1771,52                                | 1578,64                 | 1421,02                | 1253,31                  |

\*\* : Significativo a 0,01%. \*\*\* : Significativo a 0,001%

A,B: letras distintas na mesma coluna diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05). Controle: peixes não expostos ao inseticida. CV: coeficiente de variação. DMS: diferença mínima significativa.

Não foram observadas a presença de eosinófilos e basófilos no sangue dos peixes de todos os tratamentos inclusive do grupo controle. De acordo com Thrall (2007), raramente há relatos de eosinófilos e basófilos em extensões sanguíneas de osteócitos.

## CONCLUSÕES

A exposição crônica de tilápias (*O. niloticus*) por sete dias a concentrações subletais de imidacloprid provoca alterações no leucograma dos peixes. Essas alterações nas células de defesa podem comprometer a saúde dos peixes.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15499. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes**. Primeira edição, 21 p. 2007.
- CEREJEIRA, M. J. et al. Pesticides in Portuguese surface and ground waters. **Water Research**, v.37, n.5, p. 1055-1063, 2003.
- COOPER, R. L.; GOLDMAN, J. M.; STOKER, T. E. Neuroendocrine and reproductive effects of contemporary-use pesticides. **Toxicology and Industrial Health**, v. 15, n. 1/2, p. 26-36, 1999.
- JOHN, P. J. Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.33, p.15–20, 2007.
- NUSSEY, G.; VAN VUREN, J. H. J.; DU PREEZ, H. H. Effects of copper on the differential white cell counts of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 111, n. 3, p.381-388, 1995.
- ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. **Memórias do Instituto Butantã**, v.20, p. 315-328, 1947.
- SPADOTTO, C. A. **Avaliação de riscos ambientais de agrotóxicos em condições brasileiras**. Documentos 58. EMBRAPA:CNPMA, Jaguariúna, 20p., 2006.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). **User's guide**. Cary: SAS Institute, 2002. 525p.
- THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 582 p. 2007.