

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS (UFSCar/UNESP)**

**TOXICIDADE DA DELTAMETRINA (FORMULAÇÃO BUTOX[®] CE25)
NAS RESPOSTAS CARDIO-RESPIRATÓRIAS DA TILÁPIA-DO-
NILO (*Oreochromis niloticus*)**

ALINE CALLEGARI SILVA

**SÃO CARLOS – SP
2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS (UFSCar/UNESP)**

**TOXICIDADE DA DELTAMETRINA (FORMULAÇÃO BUTOX[®] CE25)
NAS RESPOSTAS CARDIO-RESPIRATÓRIAS DA TILÁPIA-DO-
NILO (*Oreochromis niloticus*)**

ALINE CALLEGARI SILVA

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas (UFSCar/UNESP Campus de Araraquara) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin

**SÃO CARLOS - SP
2011**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S586td

Silva, Aline Callegari.

Toxicidade da deltametrina (formulação Butox[®] CE25) nas respostas cardio-respiratórias da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Aline Callegari Silva. -- São Carlos : UFSCar, 2012.

71 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Fisiologia. 2. Inseticida piretróide. 3. Frequência cardíaca. I. Título.

CDD: 612 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Aline Callegari Silva

Dia 18/11/2011

Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin.....

Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo.....

Profª. Drª. Fernanda Garcia Sampaio.....



AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin, pelos ensinamentos, confiança, orientação e exemplo de conduta profissional.

Ao Programa de Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (PIPGCF – UFSCar/UNESP – Campus de Araraquara) da Universidade pela oportunidade de crescimento intelectual e profissional.

Ao Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa (LZBC) do Departamento de Ciências Fisiológicas (DC/UFSCar),

Aos técnicos do Laboratório José Roberto Sanches e Angelo Camelosi pelo auxílio na execução dos trabalhos.

Aos outros docentes do DCF, Dra. Ana Lucia Kalinin e Dra. Marisa Narciso Fernandes, pela colaboração e conhecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa durante a realização deste estudo.

Ao Thiago Belão pela amizade, paciência, auxílio e dedicação em me ensinar técnicas cirúrgicas, e pelos conhecimentos teóricos que foram de grande valia para meu trabalho.

Aos meus amigos Henrique, Priscila, Alice, Cazumbá, Jeniffer, Fernando, Cynthia, Eduardo e Lothar que me deram tanto apoio.

Aos colegas do Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparada André, Nathan, Rafael, Rafael Z, Vivian, Samuel e Eliton, pela amizade e convívio e incentivo.

E a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

*“A Deus, a minha mãe e irmãs queridas, pelo apoio de todos os dias,
A minha família pelo alicerce,
Aos meus amigos, em especial ao Henrique pelo carinho,
conselho e companheirismo ”...
...Dedico este trabalho ”.*

RESUMO

Deltametrina é um pesticida piretróide sintético do tipo II, considerado de baixa persistência no ambiente, amplamente utilizado na aquicultura e na agricultura no combate a parasitas aquáticos e no controle de pragas respectivamente. Apesar de sua baixa toxicidade em mamíferos, este piretróide pode ser extremamente tóxico para peixes. No presente estudo avaliou-se os efeitos da exposição da deltametrina (na formulação BUTOX[®]CE25), em uma concentração subletal ($7,3 \mu\text{g L}^{-1}$, 50% da CL50-96 h), sobre a função cardio-respiratória *in vivo* de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, espécie de grande importância para a piscicultura e pesca esportiva. Os parâmetros cardio-respiratórios (tomada de O_2 - $\dot{V}\text{O}_2$, frequência respiratória - f_R , ventilação branquial - \dot{V}_G , volume ventilatório - V_T , extração de O_2 pela corrente ventilatória - EO_2 , frequência cardíaca - f_H) foram medidos, em condições normóxicas, em um grupo de peixes intactos (grupo GC). Em seguida os peixes foram expostos à deltametrina e mantidos nessas condições por um período de 24 h (grupo GE). Durante esses períodos experimentais as variáveis cardio-respiratórias foram constantemente monitoradas e medidas. Em outra série de experimentos, um grupo controle de peixes (GCH) foi submetido a normóxia ($Pw\text{O}_2 \sim 140 \text{ mmHg}$) e posteriormente submetidos à hipóxia gradual ($Pw\text{O}_2 = 100, 70, 50, 30$ and 20 mmHg). Outro grupo (GEH) foi exposto à mesma concentração subletal de deltametrina e submetido às mesmas tensões hipóxicas acima descritas. Observou-se, no decorrer de 24 h em normóxia, que a deltametrina reduziu imediatamente a $\dot{V}\text{O}_2$ ($\text{mLO}_2.\text{kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$), sendo que esta variável retornou a seus valores iniciais (controle) após 18 h de contaminação. Não foi observada nenhuma alteração na f_R ($\text{resp}.\text{min}^{-1}$) durante todo o período experimental. Entretanto, a \dot{V}_G ($\text{mLH}_2\text{O}.\text{Kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) aumentou significativamente nas primeiras 6 h de exposição, retornando aos valores iniciais após 9 h. Esse aumento na \dot{V}_G deveu-se a um equivalente aumento no V_T ($\text{mLH}_2\text{O}.\text{kg}^{-1}.\text{resp}^{-1}$). Imediatamente após a administração da deltametrina, a f_H (bpm) sofreu uma significativa redução (bradicardia) que se manteve por um período de 12 h, após o qual a f_H retornou aos valores controle. Durante a hipóxia gradual a $\dot{V}\text{O}_2$ reduziu-se significativamente e progressivamente e a tensão crítica de O_2 ($Pc\text{O}_2$) dos animais intoxicados aumentou, o que significa uma diminuição na capacidade de manutenção da $\dot{V}\text{O}_2$ em hipóxia em comparação com os animais controle. Também, durante a hipóxia, a \dot{V}_G e o V_T dos peixes intoxicados com deltametrina aumentaram progressivamente enquanto que a f_R não se alterou. Da mesma forma a f_H manteve-se significativamente mais baixa em todas as $P\text{O}_2$ experimentais. Concluiu-se que a deltametrina na formulação BUTOX[®]CE25 é tóxica para tilápia-do-Nilo. Ainda quando essa espécie é submetida a uma concentração subletal desse inseticida por um curto período de tempo (24 h) os parâmetros cardio-respiratórios se restabelecem ao longo desse período. Isto indica que há uma possível recuperação da espécie em resposta à toxicidade da deltametrina. A hipóxia ambiental pode agravar os efeitos deste pesticida na função cardio-respiratória da tilápia-do-Nilo, mostrando que a manutenção de um metabolismo aeróbico é importante na detoxificação deste pesticida.

Palavras-Chave: Deltametrina; Butox[®]CE25; Cardio-respiratório; Parâmetros ventilatórios; Frequência cardíaca, *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

Deltamethrin is a synthetic pyrethroid pesticide, type II, considered of low persistence in the environment and widely utilized in agriculture and aquaculture to control plagues and aquatic parasites respectively. In spite of its low toxicity in mammals, this pesticide can be extremely toxic for fish. In this study, we evaluate the effects of a sub-lethal concentration ($7.3 \mu\text{g L}^{-1}$, 50% of LC50-96h) of deltamethrin (formulation BUTOX[®]CE25) on the *in vivo* cardio-respiratory function of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), a species of high economic potential. The cardio-respiratory parameters (O_2 uptake - $\dot{V}\text{O}_2$, respiratory frequency - f_R , gill ventilation - \dot{V}_G , ventilatory tidal volume - V_T , O_2 extraction from the ventilatory current - EO_2 , and heart frequency - f_H) were measured in a group of intact fish (GC), under normoxic conditions, during 24 h. After this period, another group of fish (GE) was exposed to deltamethrin and kept under these conditions for another 24 h period. During these periods the cardio-respiratory variables were continuously monitored. In another series of experiments, a group of non-intoxicated fish (GCH) was exposed to normoxia ($Pw\text{O}_2 \sim 140 \text{ mmHg}$) and subsequently submitted to graded hypoxia ($Pw\text{O}_2 = 100, 70, 50, 30$ and 20 mmHg), while the above cardio-respiratory variables were continuously measured. A fourth group (GEH) was exposed to deltamethrin and submitted to the same hypoxic levels. Just after the exposure to deltamethrin fish presented a reduction in $\dot{V}\text{O}_2$ ($\text{mLO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) which recovered gradually and reached initial (control) values after 18 h. Meanwhile f_R ($\text{breaths} \cdot \text{min}^{-1}$) remained unchanged in response to the toxicant. The \dot{V}_G ($\text{mLH}_2\text{O} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), however, increased significantly in the first 6 h of exposure to deltamethrin, returning to the initial values after 9 h. The \dot{V}_G increased as a consequence of a proportional enhancement in V_T ($\text{mLH}_2\text{O} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{resp}^{-1}$). Immediately after the toxicant administration, fish presented a significant reduction in f_H (bpm) and this bradycardia remained for a period of 12 h, after which this variable returned to the control values. Fish exposed to deltamethrin and submitted to graded hypoxia presented a significant reduction in $\dot{V}\text{O}_2$, while their critical oxygen tension ($Pc\text{O}_2$) increased in relation to the control group. This indicates impairment in the capacity of oxyregulation of intoxicated fish. Also during graded hypoxia \dot{V}_G and V_T of fish exposed to deltamethrin increased progressively, while f_R did not change. The f_H was significantly lower (bradycardia) in all hypoxic tensions. In conclusion, when Nile tilapia is exposed to sub-lethal concentrations of deltamethrin (formulation BUTOX[®]CE25), the cardio-respiratory variables of this species stabilize after about 24 h, indicating a fast recovery to the toxicity of this pesticide. The cardio-respiratory responses to hypoxia, however, are impaired by deltamethrine exposure, suggesting that an adequate aerobic metabolism is important in the detoxification of this pesticide.

Palavras-Chave: Deltamethrin; Butox[®]CE25; Cardio-respiratory; Ventilatory parameters; Heart rate, *Oreochromis niloticus*.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Estrutura química da deltametrina.....4
- FIGURA 2.** Efeitos de piretróides sobre a excitabilidade neuronal. Este esquema mostra os efeitos de piretróides em canais individuais, as correntes de sódio de células inteiras e potenciais de ação.....7
- FIGURA 3.** Exemplar de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).....13
- FIGURA 4.** A-Visão ventral de exemplar de *Oreochromis niloticus*. 1-cânula opercular; 2 eletrodo de ECG. B- Visão dorsal de exemplar de *Oreochromis niloticus*. 1-cânula opercular, 2- cânula bucal17
- FIGURA 5.** Esquema do sistema experimental utilizado nos experimentos envolvendo medidas das variáveis cardio-respiratórias de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, em resposta à exposição à deltametrina em condições normóxicas e durante a hipóxia gradual..19
- FIGURA 6.** Taxa metabólica ($\dot{V}O_2$ - mL O_2 .Kg⁻¹.h⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.....23
- FIGURA 7.** Ventilação branquial (\dot{V}_G - mLH₂O.kg⁻¹.min⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.....25
- FIGURA 8.** Volume ventilatório (V_T - mLH₂O.kg⁻¹.resp⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.....26
- FIGURA 9.** Frequência respiratória (f_R - resp.min⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os pontos são médias ± E.P.M27
- FIGURA 10.** Extração de O₂ da corrente ventilatória (EO_2 - %) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os *

indicam diferença significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....28

FIGURA 11. Frequência cardíaca (f_H - bpm) do grupo controle (GC, $n = 10$) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, $n = 10$ - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....30

FIGURA 12. Valores médios da taxa metabólica ($\dot{V}O_2$ - $mLO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH ($n = 10$ - ●) e GEH ($n = 10$ - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....32

FIGURA 13. Efeito da hipóxia gradual sobre a $\dot{V}O_2$ - $mLO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$) dos grupos GCH e GEH *O. niloticus*. As setas representam as P_{CO_2} (23,5 mmHg para o GCH e 31,0 mmHg para o GEH).....33

FIGURA 14. Valores médios da ventilação branquial (\dot{V}_G - $mLH_2O.kg^{-1}.min^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH ($n = 10$ - ●) e GEH ($n = 10$ - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....34

FIGURA 15. Valores médios do volume ventilatório (V_T - $mLH_2O.Kg^{-1}.min^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH ($n = 10$ - ●) e GEH ($n = 10$ - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....35

FIGURA 16. Valores médios da frequência respiratória (f_R - $resp.min^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH ($n = 10$ - ●) e GEH ($n = 10$ - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.37

FIGURA 17. Valores médios de necessidade ventilatória ($\dot{V}_G/\dot{V}O_2$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH ($n = 10$ - ●) e GEH ($n = 10$ - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....39

FIGURA 18. Valores médios de extração de O_2 da corrente ventilatória (EO2 %) de *O. niloticus*, dos grupos GCH ($n = 10$ - ●) e GEH ($n = 10$ - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.....41

FIGURA 19. Valores médios de frequência cardíaca (f_H - bpm) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH (P < 0,05). Os pontos são médias \pm E.P.M.....43

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.** Características físicas e químicas da deltametrina5
- TABELA 2.** Valores médios da taxa metabólica $\dot{V}O_2$ ($\text{mLO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) dos grupo controle (GC, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos experimentais, durante 24h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. Os * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.....23
- TABELA 3.** Valores médios da ventilação branquial (\dot{V}_G - $\text{mLH}_2\text{O} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.....25
- TABELA 4.** Valores médios da volume ventilatório (V_T - $\text{mLH}_2\text{O} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{resp}^{-1}$) dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.....26
- TABELA 5.** Valores médios da frequência respiratória (f_R - $\text{resp} \cdot \text{min}^{-1}$), dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Os valores são médias \pm E.P.M.....27
- TABELA 6.** Valores médios de extração de O_2 da corrente ventilatória (EO_2 - %) dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.....28
- TABELA 7.** Valores médios frequência cardíaca (f_H - bpm) dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.....30
- TABELA 8.** Valores médios da taxa metabólica ($\dot{V}O_2$ - $\text{mLO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{\text{insp}}O_2$ (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas ($P < 0,05$) entre os dois grupos. Os valores são médias \pm E.P.M.....32

TABELA 9. Valores médios da ventilação branquial (\dot{V}_G - mLH₂O.kg⁻¹.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.....34

TABELA 10. Valores médios do volume ventilatório (V_T - mLH₂O.kg⁻¹.resp⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.....35

TABELA 11. Valores médios de volume respiratória (f_R - resp.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.....37

TABELA 12. Valores médios da necessidade ventilatória ($\dot{V}_G/\dot{V}O_2$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.....39

TABELA 13. Valores médios de extração de O₂ da corrente ventilatória (EO_2 - %) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.....41

TABELA 14. Valores médios de extração de frequência cardíaca (f_H - bpm) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.....43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Contaminação ambiental.....	01
1.2. Piretróides.....	01
1.2.1 Estrutura dos piretróides.....	03
1.3. Deltametrina.....	04
1.3.1. Mecanismos de ação.....	06
1.3.2. Efeito da deltametrina nos teleósteos.....	09
1.4. Hipóxia	11
1.5 Espécie estudada	13
1.5.1. Posição sistemática da espécie.....	13
2. OBJETIVOS	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Coleta e manutenção em Laboratório.....	15
3.2 Procedimentos cirurgicos.....	15
3.3 Protocolo experimental 1- Avaliação do efeito da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios em normóxia	17
3.4 Protocolo experimental 2- Avaliação do efeito da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios durante hipóxia gradual.....	18
3.5. Variáveis cardio-respiratórias.....	19
3.5.1 Tomada de O_2 (taxa metabólica) - $\dot{V}O_2$	19
3.5.2 Frequência respiratória - f_R	20
3.5.3 Ventilação branquial - \dot{V}_G	20
3.5.4 Volume ventilatório - V_T	20
3.5.5 Extração de O_2 pela corrente ventilatória (EO_2).....	21
3.5.6 Frequência cardíaca - f_H	21
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
5. RESULTADOS	22
5.1 Efeitos da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios da <i>O.niloticus</i> em normóxia.....	22
5.1.1 Consumo de Oxigênio ($\dot{V}O_2$).....	22
5.1.2. Ventilação branquial (\dot{V}_G), volume ventilatório (V_T) e frequência respiratória (f_R).....	24
5.1.3 Extração de oxigênio da corrente ventilatória (EO_2).....	27
5.1.4 Frequência cardíaca (f_H).....	29
5.2. Efeito da deltametrina nos parâmetros cardi-respiratórios durante hipóxia gradual.....	31
5.2.1 Tomada de O_2 ($\dot{V}O_2$) e tensão crítica de oxigênio (PcO_2).....	31
5.2.2 Ventilação branquial (\dot{V}_G), volume ventilatório(V_T) frequência respiratória (f_R).....	33
5.2.3 Necessidade ventilatór $\dot{V}_G / \dot{V}O_2$ ($mLH_2O.mLO_2^{-1}$).....	38
5.2.4 Extração de O_2 da corrente ventilatória (EO_2).....	40
5.2.5 Frequência cardíaca (f_H).....	42

6. DISCUSSÃO	44
6.1 Efeitos da deltametrina no consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) e tensão crítica de O_2 (PcO_2).....	44
6.2 Ventilação branquial (\dot{V}_G), volume ventilatório (V_T) e frequência respiratória (f_R).....	47
6.3 Extração de oxigênio - EO_2	50
6.4 Frequência cardíaca - f_H	51
7. CONCLUSÕES	53
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1. INTRODUÇÃO

1.1. Contaminação ambiental

O crescimento da população humana, associado ao aumento da expectativa de vida e outros fatores, levaram a um acréscimo exagerado no consumo de produtos agrícolas e industriais, intensificando suas produções (MADUENHO, 2007). Com isso, houve também um elevado aumento no consumo de agrotóxicos, sendo que o Brasil é o maior consumidor mundial de defensivos agrícolas (ANVISA, 2009). Em razão disso, os piretróides surgiram como uma alternativa àqueles pesticidas de maior potencial tóxico, pois além de apresentarem alta eficácia, possuem toxicidade relativamente baixa, em comparação com outros pesticidas tais como os organoclorados, organofosforados e carbamatos (DATTA & KAVIRAJ, 2003).

Todavia, atualmente ocorre o uso indiscriminado de pesticidas, muitas vezes associados com outros compostos tóxicos, que acabam por contaminar os corpos d'água e, conseqüentemente, causando problemas aos organismos aquáticos. Práticas de manejo inadequadas levam constantemente xenobióticos para os leitos dos rios, sendo posteriormente acumulados na forma de sedimento. Há inúmeros relatos de contaminação do ambiente aquático por pesticidas como o que foi constatado em 2004 por meio de análises de água e sedimentos dos principais tributários da Bacia do Rio Paraguai antes da entrada no Pantanal (CALHEIROS et al., 2006). Portanto, estudos sobre essas contaminações e sobre as ações desses pesticidas nos organismos são de grande importância para a preservação dos ambientes aquáticos.

1.2. Piretróides

Os piretróides são inseticidas sintéticos derivados da piretro que é um composto natural proveniente das flores do *Chrysanthemum cinerariaefolium* (atualmente classificado como *Tanacetum cinerariaefolium*), pertencente à família das Compostas (BRADBERRY et al., 2005). Conhecido como pó da Pérsia, o piretro foi usado na região do Cáucaso e no norte do Irã ainda no século XVII no controle de inúmeras espécies de insetos (COOKE et al., 2004; BRADBERRY et al., 2005).

O extrato de piretro, uma vez livre de pigmentos, forma ésteres isolados de ação inseticida denominado piretrinas. Todavia, a ação efetiva da piretrina como inseticida é prejudicada por sua instabilidade à luz e ao ar (REIGART & ROBERTS, 1999;

BRADBERRY et al., 2005). Para contornar este problema, desenvolveu-se uma derivação sintética deste composto a partir de alterações na estrutura das piretrinas naturais (REIGART & ROBERTS, 1999; BRADBERRY et al., 2005), por meio da inclusão de átomos de nitrogênio, enxofre e átomos de halogênios às piretrinas. Assim, solucionou-se o problema da instabilidade do piretro à luz e ao ar, aumentando suas propriedades inseticidas, gerando um inseticida de ação rápida, amplo espectro, eficiência em baixas doses e, de acordo com seus fabricantes, de baixo poder residual. Esse melhoramento na estrutura do piretro gerou o piretróide sintético e possibilitou sua melhor comercialização por volta de 1976 (ELLIOTT et al., 1974; FERREIRA, 1999).

Além disso, os inseticidas piretróides, por serem considerados menos tóxicos para mamíferos que os inseticidas organoclorados e organofosforado, são considerados mais seguros para o uso na agricultura, tanto no cultivo de algodão, como no de grãos como o café, milho, trigo e soja, na produção de cereais, frutas, vegetais e na conservação de produtos estocados. Eles também são amplamente utilizados no controle de ectoparasitas de animais domésticos, no controle de pestes domésticas e no controle de vetores, como da Malária na população humana (RAY & FORSHAW, 2000; WISEMAN et al., 2003).

Os piretróides podem atingir o meio aquático por diversas formas, como a lixiviação, diretamente por pulverização próximo a corpos d'água, por ação intencional no combate de artrópodes aquáticos e crustáceos e pela contaminação de lençóis freáticos após contaminação do solo (TOMITA & BEYRUTH, 2002). Segundo Who (1990) quando os inseticidas piretróides atingem corpos d'água, podem causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos em doses mil vezes menores.

Por serem pouco solúveis em água, os piretróides geralmente não são muito persistentes no meio aquático (AGNIHOTRI, 1986). Contudo, a persistência de agrotóxicos no meio aquático depende de diversos fatores como o pH, temperatura, capacidade de troca de cátion e composição química do agrotóxico (RAND & PETROCELLI, 1985; RISSATO et al., 2004). Por exemplo, a cipermetrina, a permetrina, a deltametrina, o esfenvalerato e a lambda-cialotrina, por serem menos instáveis, apresentam vida média que varia entre 17 e 110 dias. Em pH neutro, os piretróides são mais estáveis, enquanto que em pH básico são mais susceptíveis à hidrólise. (LASKOWSKI, 2002).

Na União Européia, a Diretiva Européia nº 98/83 (EUROPEAN COUNCIL, 1998), contém o Decreto-Lei nº 243 que estabelece um limite de $0,1 \mu\text{g. L}^{-1}$ como concentração máxima de qualquer agrotóxico individualmente, de $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o total de agrotóxicos presentes em água para consumo humano e de 1 a $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ em mananciais superficiais. A

World Health Organization (WHO, 1995) limita as concentrações de piretróide na água em $20\mu\text{gL}^{-1}$.

Na legislação nacional, a Resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), estabelece limite para alguns agrotóxicos, dando maior ênfase para os organoclorados, não havendo limitações específicas para a maioria dos piretróides, apenas para a permetrina (valor máximo $20\mu\text{gL}^{-1}$ de permetrina na água). Faltam, portanto, estudos conclusivos sobre os níveis aceitáveis desses piretróides e os seus efeitos sobre os organismos aquáticos, particularmente sobre os peixes.

1.2.1. Estrutura dos piretróides

Os piretróides são compostos de duas metades de base estrutural, um ácido, uma ligação de éster central e um álcool. A molécula de ácido contém dois carbonos quirais, o que significa que os piretróides geralmente existem como compostos de estereoisômeros. Para os piretróides de primeira geração, a porção ácida é baseada no ácido crisantêmico, um anel ciclopropano ligado à uma molécula de ácido carboxílico e uma variedade de substituintes halogenados e não-halogenados. Os piretróides desenvolvidos mais tarde, tais como fenvalerato, não possuem um anel ciclopropano. A porção álcool é ainda um álcool primário ou um álcool secundário, que é ligado a uma variedade de estruturas heterocíclicas. Muitos piretróides possuem um substituinte ligado ao α -metileno do álcool, o que resulta em maior toxicidade do composto. Piretróides sem os substituinte α -ciano são denominados de Tipo I e os compostos piretróides com o substituinte α -ciano como a deltametrina são denominados de tipo II (SODERLUND et al., 2002).

A estereoquímica desses compostos tem um efeito sobre a eficácia. Vários piretróides tem formas isométricas, aos quais mostram graus diferentes de toxicidade e inseticida. Geralmente os isômeros-cis são mais tóxicos que isômeros-trans (NARAHASHI, 1985).

Piretróides podem ser formulados como misturas racêmicas ou como isômeros simples (deltametrina). Os nomes comerciais podem ser comuns para diferentes isômeros como: resmetrina (isômeros: bioresmetrina e cisresmetrina), aletrina (isômero: d-aletrina, bioaletrina, esbiotrina e s-bioalletrina) fenvalerato (isômero: esfenvalerato), cialotrina (isômero: k-cialotrina), fenotrina (isômero: d-fenotrina) e cipermetrina (isômero: a-cipermetrina) (ALDRIDGE et al., 1978).

1.3. Deltametrina

A deltametrina é um dos piretróides utilizados de forma mais generalizada. Quimicamente conhecida como (S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzil(1R,3R)3(2,2-dibromovinil) 2,2-dimetilciclopropanocarboxilato, um isômero de oito estereoisômeros ésteres do análogo dibromo do ácido crisantêmico (Fig. 1). Ou seja, deltametrina é originada da inclusão do agrupamento substituinte α -ciano-3-fenoxibenzil que lhe atribui maior potencial inseticida que o composto anterior sintetizado, a permetrina (SODERLUND et al., 2002).

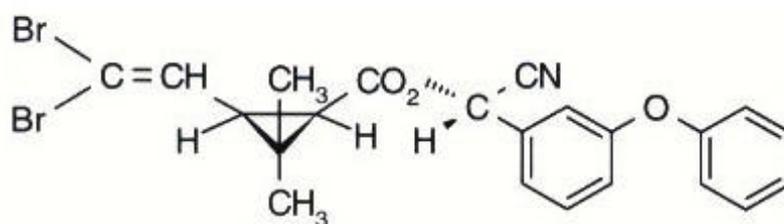


Figura 1. Estrutura química da deltametrina. Fonte: Soderlund et al. (2002).

A deltametrina pertence à classe de inseticidas do grupo químico éster do ácido crisantêmico ou piretróide sintético do Tipo II, sendo estável à luz, umidade e ar, mas instável em meio alcalino (WHO, 1990). Suas características físicas e químicas estão demonstradas na Tabela 1.

A deltametrina ativa é encontrada em uma variedade de inseticidas comerciais como: Butoflin[®], Butox[®], Cresus[®], Decis[®], Decis-Prime[®], K-Othrin[®], apresentam alta eficiência em doses baixas, considerada três vezes mais ativa do que outros piretróides (BRADBURY & COATS, 1989)

A classificação toxicológica desse piretróide, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003) é: "Produto Técnico Classe III ou medianamente tóxico". Esta classificação da deltametrina é baseada nas quatro categorias estabelecidas pela ANVISA para classificar os praguicidas: Classe I ou altamente tóxico; Classe II ou tóxico; Classe III ou medianamente tóxico e Classe IV ou pouco tóxico.

Tabela 1. Características físicas e químicas da deltametrina de acordo com a World Health Organization. Environmental Health- WHO. Criteria 97 – Deltamethrin. Geneva: International Programme on Chemical Safety – IPCS, 1990.

Estado Físico	pó cristalino
Cor	sem cor
Odor	sem odor
Densidade (20 °C)	0,5 g/cm ³
Massa Molecular Relativa	505,24
Ponto de fusão	98 – 101 °C
Ponto de ebulição	acima de 300 °C
Solubilidade em água (20 °C)	< 0,002 mg.L ⁻¹
Solubilidade em solventes orgânicos	solúvel
Acetona	500 g.L ⁻¹

A toxicidade dos piretróides é altamente dependente de sua estrutura estereoquímica (MILAM et al., 2000). A deltametrina é um pesticida piretróide sintético da 4^a geração (DATTA & KARIVAJ, 2003) de baixa toxicidade para mamíferos e aves, mas pode ser de alta toxicidade para peixes, comunidades zooplancônicas, artrópodes aquáticos e insetos, (CHEN & WANG, 1996; DATTA & KAVIRAJ, 2003; KÖPRÜCÜ & AYDIN, 2004; BURRIDGE et al. 2010).

A utilização dos inseticidas contendo deltametrina é relativamente ampla, sendo utilizados em ambientes domésticos, no cultivo de várias culturas, conforme já mencionado anteriormente no controle do mosquito transmissor da malária (KUMAR et al., 1999, WEI & DU, 2004; RAFINEJAD, 2008) como larvicida e parasiticida aquático em cultivo de peixes como *Lepeophtheirus salmonis* (DENHOLM et al., 2002; BURRIDGE et al., 2010) e no controle de ectoparasitas de animais doméstico (SMITH & STRATTON,1986).

Dessa forma, o meio aquático está constantemente sujeito à contaminação por esse piretróide. Estudo realizado por Moraes et al. (2003), no Vale do Ribeira, constatou a presença de resíduo de vários inseticidas na água, incluindo piretróides como a deltametrina, em alguns pontos dessa bacia, sendo que em um dos pontos de coleta de amostra de água a concentração de deltametrina estava acima do valor da CL50 para trutas arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. Bálint et al. (1995) relataram casos de morte massiva de enguias no

lago Balaton, Hungria, no período de 1991 a 1995, e verificou presença de deltametrina em amostra de outras espécies de peixes e também no sedimento do lago.

O documento da EXTTOXNET, National Agricultural Pesticide Impact Assessment Program (USDA), afirmou que a toxicidade aguda para peixe em testes laboratoriais variam em média, para CL50 – 96 h, entre 1 e 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Enquanto que a WHO (1990) considera a toxicidade aguda da deltametrina, CL50 – 96 h, para peixes, entre 0,4 e 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Por outro lado, a legislação brasileira não apresenta nenhuma limitação para esse inseticida.

1.3.1. Mecanismo de ação

O principal alvo dos piretróides em invertebrados e vertebrados são, principalmente, os canais de Na^+ voltagem-dependente (NARAHASHI 1996; RAY & FRY, 2006). Eles provocam alterações nas funções desses canais, interferindo na abertura e fechamento deles e, portanto, prolongando o tempo de entrada dos íons Na^+ para o interior da célula (Fig. 2). As principais células-alvo alteradas pelos piretróides são células excitáveis, como a célula nervosa e a muscular (NARAHASHI, 1985; SODERLUND BLOOMQUIST, 1989; BRADBERRY et al., 2005). Além disso, os piretróides tipo II interferem nos receptores do ácido γ -aminobutírico (GABA), causando supressão dos canais de cloro. A deltametrina, a exemplo de outros piretróides do tipo II, promove um prolongamento extensivo da abertura dos canais de sódio, levando à despolarização da membrana e bloqueio do potencial de ação, sem causar disparos repetitivos (WHO, 1990; BARLOW *et al.*, 2001) e difere dos piretróides tipo I, que agem moderadamente no prolongamento da abertura dos canais. A inibição do receptor GABA representa um mecanismo de ação adicional proposto para os piretróides do tipo II. O complexo receptor do ácido γ -aminobutírico (GABA), ou seja, receptor GABA, é um importante mediador da neurotransmissão inibitória no sistema nervoso. A liberação de GABA pelas terminações nervosas pré-sinápticas ativa um canal de cloro na membrana pós-sináptica, levando à hiperpolarização da terminação pós sináptica. A deltametrina age inibindo essa ação do GABA nas terminações nervosas levando a um quadro de hiperexcitabilidade no sistema nervoso central (MACDONALD & OLSEN, 1994; NARAHASHI, 1996).

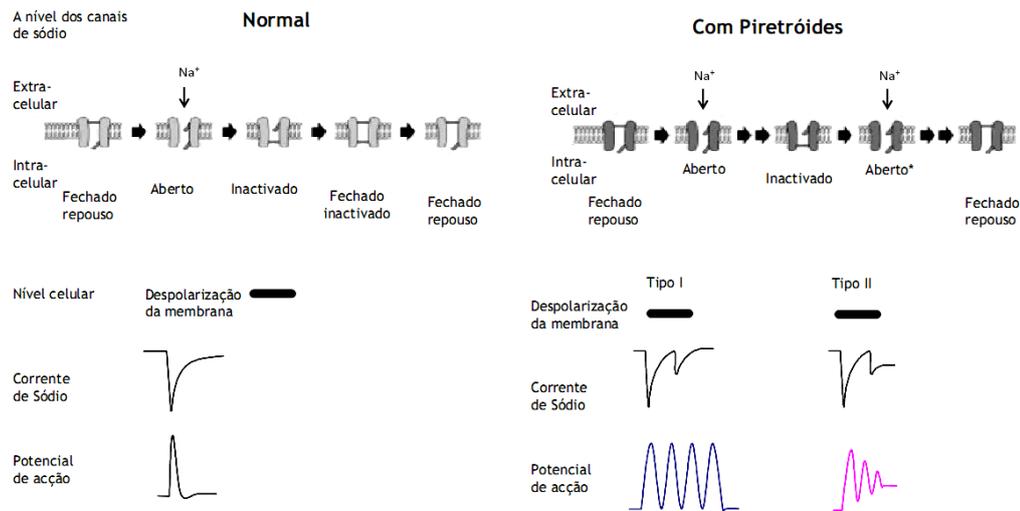


Figura 2. Efeitos de piretróides sobre a excitabilidade neuronal. Este esquema mostra os efeitos de piretróides em canais individuais, as correntes de sódio de células inteiras e potenciais de ação. Fonte : modificado de Shafer et al., (2005)

Outros mecanismos de ação dos piretróides incluem também os efeitos inibitórios nas enzimas $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPases, nos canais de Ca^{2+} voltagem-dependente e nos receptores nicotínicos da acetilcolina (ACh), mas provavelmente esses efeitos representem apenas mecanismos secundários da ação dos piretróides (EELLS et al., 1992). Trabalhos relatam que inseticidas piretróides são capazes de inibir uma variedade de sistemas que utilizam a ATPase, incluindo Ca^{2+} ATPase e $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPase (JONES & LEE, 1986), Mg^{2+} -ATPase mitocondrial e Na^+/K^+ -ATPase. (SUVETHA et al., 2010). Ação da deltametrina nas Na^+/K^+ -ATPases foram verificadas por Assis et al. (2009) ao expor *Ancistrus multispinis* a doses subletais de deltametrina de $0,3 \text{ mg.Kg}^{-1}$ e $0,4 \text{ mg.Kg}^{-1}$ durante 96 h. Esses autores observaram uma redução significativa na atividade das Na^+/K^+ -ATPases do coração e, após exposição a maior dose subletal ($0,4 \text{ mg.Kg}^{-1}$), houve redução das Na^+/K^+ -ATPases nas brânquias. É importante ressaltar que as ATPases estão envolvidas na manutenção do equilíbrio osmótico nas brânquias e que a inibição dessas enzimas pode perturbar o balanço hidroeletrólítico dos peixes (ASSIS et al., 2009; SUVETHA et al., 2010).

Em geral, apesar dos piretróides serem pouco absorvidos pela pele, eles são rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal após a administração oral e pelo trato respiratório através da inalação de pó ou spray (SODERLUND, 2002). Após absorção, esse inseticida age nos insetos com rapidez causando paralisia imediata e mortalidade, efeito de choque denominado “knock down” (HERVÉ, 1983). Isso ocorre devido à ação efetiva contra um largo espectro de insetos em baixa dosagem (RYPLEY, 2001).

Em peixes, os piretróides são facilmente absorvidos nas brânquias devido à sua lipofilidade. Este fator contribui para a alta sensibilidade dos peixes aos piretróides dissolvidos na água (DEMOUTE, 1989). A interação sinérgica entre ingredientes ativos e outros compostos da formulação dos inseticidas, à base de piretróides, devem ser também levados em consideração quanto ao seu grau de toxicidade (DATTA & KARIVAJ, 2003).

Após sua absorção, a deltametrina também parece ser degradada por hidrólise da ligação éster central, e reações de conjugação para produzir metabólitos primários e secundários solúveis em água que serão excretados através do sistema urinário e biliar (CASIDA et al., 1983). Contudo, estudos demonstram que existe uma deficiência da enzima carboxiesterases nos peixes, responsáveis pela hidrólise de piretróides, e que provavelmente torna a deltametrina mais tóxica para os peixes (HAYA, 1989).

O composto do tipo I, onde falta um grupo α -ciano sobre a fração fenoxibenzil, em altas doses parece agir principalmente nos nervos periféricos causando a Síndrome do Envenenamento tipo I ou “Síndrome T”. Essa “Síndrome T” é caracterizada por induzir, em ratos, tremores por todo corpo, comportamento agressivo, aumento da sensibilidade aos estímulos externos, hiperexcitabilidade, ataxia e convulsões. Já em mamíferos não roedores, os piretróides do tipo I podem causar paralisia progressiva. Os principais representantes desse grupo tipo I são permetrina, alletrina, tetrametrina, remetrina e D-fenotrina (LAWRENCE & CASIDA, 1982; SPENCER et al., 2001; NASUTI, et al., 2003).

Os compostos do tipo II, que contêm o grupo α -ciano na fração fenoxibenzil, agem preferencialmente no sistema nervoso central induzindo a Síndrome da Coreoatetose tipo II ou “Síndrome CS”. Os sintomas de intoxicação dessa síndrome em ratos são: hipersensibilidade, salivação profusa, agitação das mãos ou patas anteriores, movimentos de escavar e tremores periódicos que podem evoluir à coreoatetose e, em alguns casos, a movimentos crônicos repetitivos. Os piretróides tipo II são geralmente mais tóxicos que o tipo I e são representados pela deltametrina, fenvalerato, cipermetrina, ciflurina, flucitrinate, cialotrina. (VERSCOYLE & ALDRIDGE, 1980).

Em mamíferos, os piretróides são biotransformados rapidamente e principalmente no fígado (KALE et al., 1999), onde as principais vias do seu metabolismo se dão através da ação de esterases e citocromo P450. A reação inicial de destoxificação é a hidrólise da ligação éster seguida por reações de hidroxilação através do sistema enzimático citocromo P450 e reações de conjugação (HIEDER et al., 2001). O P450 é uma importante enzima que participa no processo de detoxificação de piretróides (JOHNSON et al., 2006), aumentando sua

solubilidade em água, e forma compostos mais polares, facilitando sua excreção pela urina. (CASIDA & QUISTAD, 1995).

Estudos demonstram que as alterações dos níveis de indução do P450 em peixes refletem muitas vezes os níveis de contaminantes no ambiente. (STEGEMAN & LECH, 1991; LEITÃO et al., 2000; PIMPÃO et al 2007; ASSIS et al., 2009). Nesses animais, os níveis de P450 são menores e influenciados por fatores endógenos: como desenvolvimento e maturação sexual, e fatores exógenos: temperatura, fotoperíodo, mudanças sazonais, dieta, o que interfere na magnitude da resposta da P450 e, conseqüentemente, altera a capacidade de metabolização deste piretróide (BUHLER & RASMUSSEN, 1968, RIVIERE & CABANNE, 1987, STEGEMAN, 1989, BUHLER & WANG-BUHLER, 1998, GOKYER & HUSY, 1998, QUABIUS et al., 1998). Em mamíferos, essa regulação é influenciada primordialmente por fatores endógenos (HALPERT, 1995).

1.3.2. Efeito da deltametrina nos teleósteos

Nos peixes, a própria característica morfológica de suas brânquias, com apenas alguns micrômetros de separação de ambiente externo e interno provavelmente torna os teleósteos mais sensíveis a deltametrina (CENGIZ, 2006; YILDIRIN et al.2006).

Ural & Sağlam (2005) expuseram trutas *Oncorhynchus mykiss* a deltametrina e obtiveram uma CL50 96-h de $0,6961\mu\text{g.L}^{-1}$ para essa espécie. Golow e Godzi (1994) encontraram uma CL50 96-h de deltametrina para alevinos de *Oreochromis niloticus* de $14,50\mu\text{g.L}^{-1}$ e concluíram que foi duas vezes mais tóxica para esses peixes do que o Dieldrin (hidrocarboneto clorado). Boateng et al. (2006) e El-sayed et al. (2007) relataram toxicidade parecidas de deltametrina para a *Oreochromis niloticus*, sendo a CL50-96 h = $14,9\mu\text{g.L}^{-1}$ e $14,6\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Mestres & Mestres (1992) concluíram que as CL50-96 h para *Oncorhynchus mykiss*, *Cyprinus carpio*, *Sarotherodon mossambica* foram, respectivamente, $0,39\mu\text{g.L}^{-1}$, $1,84\mu\text{g.L}^{-1}$ e $3,50\mu\text{g.L}^{-1}$. Comparando-se com os mamíferos, a toxicidade aguda para rato albino é de 135mg.Kg^{-1} e para cães é maior que 300mg.Kg^{-1} (TOMLIN, 1995).

Yildirin et al. (2006) relataram efeitos tóxicos de dose subletal ($2\mu\text{g.L}^{-1}$) de deltametrina nas brânquias de *Carassius auratus gibelio*, após 48 h de exposição. Tais efeitos incluíram fusão de lâmelas secundárias e ruptura lamelar. Costin et al. (2007) expuseram tilápia-do-Nilo a $5\mu\text{g.L}^{-1}$ de deltametrina por 96 h e também observaram fusão das lamelas secundárias, hiperemia e telangiectasia (dilatação de vasos). Alguns efeitos tóxicos repercutem na diminuição da superfície respiratória vulnerável e aumentam a distância de

difusão de troca-gasosa, através do qual o tóxico tem que percorrer para alcançar a corrente sanguínea (TILAK & SATYAVARDHAN, 2002; YILDIRIN et al. 2006; COSTIN et al., 2007; SUSAN et al., 2010). Entretanto, algumas respostas branquiais que servem para retardar a entrada de tóxicos, podem causar efeitos secundários, tais como o sufocamento dos peixes por demasiado aumento da distância de difusão do O₂ pelo aumento da espessura da barreira água-sangue nas lamelas secundárias (SKIDMORE, 1964, BURTON et al., 1972).

Os piretróides e, conseqüentemente, a deltametrina, também podem exercer um efeito nefrotóxico em peixes considerando-se que o rim recebe uma larga proporção de sangue pós-branquial. Cengiz (2006) observou alterações histológicas renais em carpa, *Cyprinus carpio*, expostas a doses sub-letais de deltametrina (0,024 mg.L⁻¹ e 0,041 mg.L⁻¹ de deltametrina por 96 h). Tais alterações incluíram degeneração das células epiteliais dos túbulos renais, núcleos picnóticos em células do tecido hematopoiético, dilatação dos capilares glomerulares, degeneração dos glomérulos, vacúolos intracitoplasmáticos nas células epiteliais dos túbulos renais com células hipertrofiadas e estreitamento do lúmen tubular. Além disso, Yildirin et al. (2006) relataram hepatotoxicidade da deltametrina como degeneração hidrópica e picnose, cariorrexe e cariólise do núcleo.

A deltametrina também pode causar danos hematológicos e imunológicos. El-Sayed et al. (2007) expuseram *Oreochromis niloticus* a uma concentração aguda de deltametrina (15 µ.L⁻¹) por 96 h e constataram um aumento significativo na porcentagem de linfócitos e leucócitos totais, na contagem total de eritrócitos, na porcentagem de hemoglobina e no valor do volume globular. Esses autores afirmam que a neurotoxicidade da deltametrina induziu mudanças imunológicas indiretas e talvez agiu no mecanismo de reativação de eritropoieses do baço e fígado para compensar a hipoxia cerebral causada pela deltametrina. Por outro lado, El Sayed e Saad (2007), submeteram exemplares da mesma espécie a doses sub-letais (1,46 µ.L⁻¹) de deltametrina por 28 dias e observaram uma redução de todos os parâmetros imunológicos e hematológicos citados anteriormente. Esses autores concluíram que a ação irritante e inflamatória que a deltametrina causou no organismo dessa espécie provavelmente gerou distúrbios não específicos do sistema imune, levando a uma diminuição na produção de leucócitos, causando declínio na hematopoiese.

Dentre os efeitos estressores causados pela deltametrina está sua ação no metabolismo celular já relatada por vários autores como Velisek et al. (2006) que, ao exporem *Cyprinus carpio* a uma concentração aguda de deltametrina (3,25 µg.L⁻¹) por 96 h, observaram um aumento nas atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina transaminase

(ALT). El Sayed et al. (2007) corroboraram esses resultados ao exporem juvenis de tilápia-do-Nilo a doses agudas de deltametrina ($15 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Costin et al. (2007), por sua vez, verificaram que *Carassius auratus* expostos a doses sub-letais de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de deltametrina apresentaram um aumento de glutatona tranferase (GST) após um dia de intoxicação. Cortella (2010) expôs matrinxãs (*Brycon amazonicus*) por 96 h a concentração de $0.26 \mu\text{g L}^{-1}$ de deltametrina, na formulação Keshet[®], e verificou aumento da atividade enzimática da GST hepática em 47% e 22%. Ambos os trabalhos sugerem a participação desta enzima na detoxificação da deltametrina.

Quanto a manifestações clínicas comportamentais em peixes, a deltametrina pode levar a incoordenação, alteração nos movimentos branquiais, natação circular próximo à superfície da água, convulsões e hiperatividade, chegando até a morte. Estes sintomas possivelmente ocorrem devido à ação desse piretróide no cérebro (VIRAN et al., 2003; SAYED, 2007) resultando em hiperexcitabilidade do sistema nervoso e hipóxia cerebral (GOLOW & GODZI, 1994).

1.4 Hipóxia

Os peixes teleósteos podem desenvolver um quadro de hipoxemia devido a frequentes flutuações na concentração de oxigênio dissolvido no ambiente aquático e/ou pela ação de xenobióticos nesses animais. Ou seja, fatores como altas temperaturas, águas próximas ao sedimento do fundo, regiões de brejos ou pântanos e com alto teor de matéria orgânica, ou a poluição por produtos industriais e por pesticidas podem causar graves alterações na fisiologia cardio-respiratórias dos teleósteos (FARREL & JONES, 1992).

Estudos sobre exposições de organismos aquáticos às condições hipóxicas mostram que frequentemente ocorrem adaptações morfológicas e/ou fisiológicas visando manter o gradiente de transporte de O_2 da superfície funcional respiratória até o meio celular, mais especificamente à mitocôndria, conservando o fator de transferência de oxigênio do meio para os tecidos (RANTIN & MARINS, 1984; RANTIN et al., 1998, SUNDIN et al., 2000; IVERSEN et al., 2010).

A primeira resposta fisiológica que os teleósteos apresentam, quando expostas a hipóxia, é o aumento da ventilação branquial (\dot{V}_G) com elevações na frequência respiratória (f_R) e/ou no volume ventilatório (V_T) (LOMHOLT & JOHANSEN, 1979). Contudo, em teleósteos mais tolerantes à hipóxia, o aumento na \dot{V}_G é frequentemente decorrente de um

maior incremento no V_T , o que, segundo Rantin et al. (1992), requer um menor custo metabólico para o ajuste dessa função.

Associado a estas alterações respiratórias, a maioria dos teleósteos desenvolve um quadro de bradicardia reflexa que pode resultar na manutenção ou aumento do volume sistólico (RANTIN et al., 1992; FERNANDES & RANTIN, 1994; MILSON et al., 1999). Conseqüentemente ocorre um aumento no tempo de passagem do sangue pelas lamelas secundárias permitindo uma maximização na captação do O_2 .

O comportamento ventilatório tem sido utilizado com sucesso como uma ferramenta para a indicação de estresse ambiental (DIAMOND et al., 1990). Assim, a análise da função cardio-respiratória vem se mostrando um método eficaz para avaliar o efeito de produtos tóxicos na água, evidenciando que diferentes respostas são encontradas para uma mesma espécie quando submetidos a diferentes condições (DALZELL et al., 2002).

Estudo realizado por Olle, et al. (2007) observaram que, exemplares de *Brycon cephalus* expostos a doses subletais de metil paration (organofosforado), apresentaram redução na capacidade de manter o consumo de O_2 ($\dot{V}O_2$) constante em condições de hipóxia, associado com um aumento na \dot{V}_G . Paralelamente, esses exemplares de *Brycon cephalus* expostos a metil paration apresentaram bradicardia. De acordo com Heath (1995), reduções na frequência cardíaca (f_H) com concomitantes aumentos na \dot{V}_G são comuns quando os peixes são expostos a uma variedade de xenobióticos. Respostas semelhantes foram descritas por Anelli (2010) como resultado da exposição de exemplares de *Brycon amazonicus* a doses subletais de 2 tipos de formulações comerciais do herbicida Roundup[®], formulações WG e Transorb. Diferindo desse resultado, exemplares da mesma espécie exposta a formulação Original do herbicida Roundup[®], apresentaram taquicardia.

Adicionalmente Thomaz et al. (2009) avaliou efeito de dose subletal triclorfon, após 96h de exposição, na fisiologia cardio-respiratória de tilápia e também observou redução na capacidade de manutenção do consumo de O_2 constante associado a bradicardia, todavia tilápias exposta ao triclorfon apresentaram redução na capacidade de aumentar a \dot{V}_G em condições de hipóxia ambiental.

1.5. Espécie estudada

1.5.1. Posição sistemática da espécie

Classe: OSTEICHTHYES

Subclasse: ACTINOPTERYGII

Subordem: TELEOSTEI

Ordem : PERCIFORMES

Família : CICHLIDAE

Gênero : *Oreochromis*

Espécie: *Oreochromis niloticus* (TREWAVAS,
1983)



Figura 3: Exemplar de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Fig. 3), pertence a família dos ciclídeos, originária da bacia do rio Nilo, no Leste da África, mas encontra-se amplamente disseminada em regiões tropicais e subtropicais, como em Israel, no Sudeste Asiático (Indonésia, Filipinas e Formosa) e no Continente Americano (Estados Unidos, México, Panamá e toda a América do Sul) (CARVALHO, 2006).

No Brasil, a tilápia-do-Nilo, foi introduzida, em 1971, por intermédio do Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS), nos açudes do Nordeste, e difundiu-se para todo o país (CASTAGNOLLI, 1996; PROENÇA & BITTENCOURT, 1994).

As tilápias são animais de hábitos diurnos e fitoplanctófago, alimentando-se principalmente de clorofíceas, mas aceitam facilmente outros tipos de alimento. São animais rústicos de amplo potencial zootécnico, e caracterizam-se por se adaptarem a diversos tipos de

ambientes, tolerância a grandes variações de temperatura e baixos níveis de oxigênio dissolvido. Além disso, reproduzem-se facilmente em cativeiro, o que possibilita realizar vários tipos de sistema de criação com essa espécie (GALLI & TORLONI, 1999).

Além disso, as características associadas ao sabor agradável de sua carne e o seu uso costumeiro na pesca esportiva contribuíram para o crescimento de seu cultivo no Brasil. Assim, a tilápia-do-Nilo é, atualmente, a espécie mais cultivada no Brasil (22 estados) e têm uma produção anual entre 30 e 40 mil toneladas (JORY et al., 2000; ARRUDA, 2004). Desta forma, o cultivo de peixes e, particularmente da tilápia-do-Nilo, tem recebido grande atenção dos setores públicos e privados, como um novo agronegócio capaz de diversificar a economia agrícola e pesqueira dos países.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar os efeitos da deltametrina (50% da CL_{50} - 96 h - da deltametrina = $7,4 \mu\text{g.L}^{-1}$, na formulação comercial BUTOX[®]CE25), nas variáveis cardio-respiratórias de tilápia-do-Nilo em condições normóxicas ($PwO_2 \sim 140$ mmHg) e durante a hipóxia gradual ($PwO_2 = 100, 70, 50, 30, 20$ mmHg).

Para atingir esses objetivos as variáveis cardio-respiratórias avaliadas foram as seguintes: a tomada de O_2 ou taxa metabólica ($\dot{V}O_2$), a extração de O_2 da corrente ventilatória (EO_2), a frequência respiratória (f_R), ventilação branquial (\dot{V}_G), o volume ventilatório (V_T) e a frequência cardíaca (f_H) de *Oreochromis niloticus* frente à exposição à deltametrina.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta e manutenção em laboratório

Para este projeto foram utilizados exemplares de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) obtidos na piscicultura de Águas Claras, no município de Mococa, SP. Os exemplares foram mantidos por um mês no Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF) da UFSCar, em tanques de 1.000 L, com fluxo contínuo de água normóxica ($PwO_2 \sim 140$ mmHg) não clorada, e aclimatados à 25 ± 1 °C. Os animais foram alimentados *ad libitum* com ração contendo 22% de proteína. Antes do desenvolvimento dos protocolos experimentais, os peixes foram mantidos em jejum por 48 h para se evitar a eliminação de produtos de excreção dentro dos sistemas experimentais.

3.2. Procedimentos cirúrgicos

Os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (1 g diluída em dez litros de água) até seus movimentos ventilatórios cessarem. Em seguida, foram transferidos para uma mesa cirúrgica e suas brânquias ventiladas artificialmente com uma solução mais fraca de benzocaína (0,5 g diluída em dez litros de água). Foi introduzida uma cânula de polietileno (PE 100) dentro da cavidade bucal através de uma perfuração na região dorsal no palato e outras duas nas bordas dos opérculos. A cânula bucal foi utilizada para medir a frequência

respiratória (f_R) e coletar amostras de água antes de passar pelas brânquias (água inspirada). As cânulas operculares serviram para coletar amostras da água que já passaram pelas brânquias (água expirada) (Fig. 4).

As medidas da frequência cardíaca foram determinadas por eletrocardiografia, através do implante e sutura de eletrodos de ECG na seguinte sequência: O eletrodo principal foi inserido ventralmente entre as brânquias e o coração, enquanto que o de referência foi inserido em uma posição ventrocaudal, próximo às nadadeiras pélvicas (GLASS et al., 1991; RANTIN et al., 1993). Esta preparação resultou em um eletrocardiograma com as características da derivação D1 da eletrocardiografia padrão (Fig. 4).

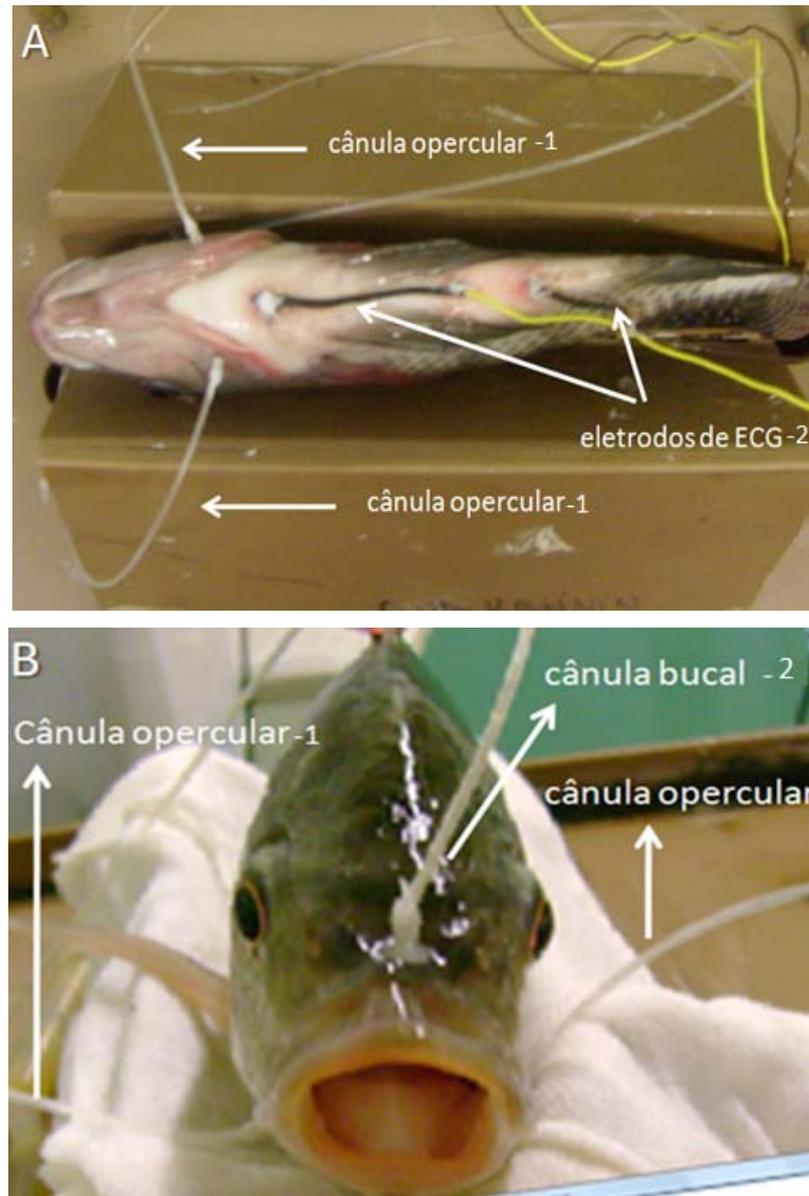


Figura 4. A-Visão ventral de exemplar de *Oreochromis niloticus*. 1-cânula opercular; 2- eletrodo de ECG. B- Visão dorsal de exemplar de *Oreochromis niloticus*. 1-cânula opercular, 2- cânula bucal

3.3. Protocolo Experimental 1 - Avaliação do efeito da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios em normóxia

Juvenis de *O. niloticus* ($n = 10$ e $Wt = 164 \pm 23$ g) foram mantidos sob condições físico-químicas ideais e constantes durante todo o experimento. Após a cirurgia, para implantação de cânulas de polietileno (descrição acima), cada peixe foi colocado em um respirômetro de fluxo constante e este dentro de um câmara experimental (80 L), com água

normóxica ($PO_2 \sim 140$ mmHg), aerada e com temperatura controlado por termostato à 25 ± 1 °C). A caixa experimental era escura, para evitar distúrbios externos que pudessem estressar os animais e coberta com tampa escura para prevenir uma possível volatilização da deltametrina (Fig. 5).

Para se iniciar o experimento, o sistema de circulação de água era fechado e o fluxo de água através do respirômetro reajustado. Assim, as medidas das variáveis cardio-respiratórias foram feitas num período de 24 horas nos seguintes intervalos: 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 24 h. Essas medidas foram consideradas como medidas do Grupo Controle (GC). Após esse procedimento, o mesmo animal foi exposto a uma concentração sub-letal (50 % da CL50 – 96 h-concentração de $7,4\mu\text{g.L}^{-1}$) de deltametrina (formulação BUTOX[®]CE25). O grupo de peixes expostos à deltametrina foi considerado como sendo o grupo exposto à deltametrina (GE). O valor da CL50 - 96 h para *O. niloticus* foi previamente determinada por EL-SAYED et al. (2007), cuja formulação comercial de deltametrina utilizada também foi o BUTOX[®]. As variáveis cardio-respiratórias foram novamente medidas após 15 min e, posteriormente, nos mesmos intervalos de tempo sob a mesma PO_2 (140 mmHg).

3.4 Protocolo Experimental 2 - Avaliação do efeito da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios durante hipóxia gradual.

Outro grupo de tilápias ($n = 10$, $W_t = 178 \pm 21$ g) foi utilizado para a determinação dos efeitos da deltametrina, na formulação BUTOX[®]CE25, nos parâmetros cardio-respiratórios, primeiramente em normóxia ($PwO_2 \sim 140$ mmHg) seguida de redução gradual da tensão de O_2 (100,70, 50, 30 e 20 mmHg). Os experimentos também foram conduzidos utilizando um animal de cada vez. As reduções nas tensões de O_2 foram obtidas pelo borbulhamento de N_2 e ar comprimido no interior da câmara experimental através de um dispersor (pedra de aeração).

Os peixes foram colocados no mesmo respirômetro de fluxo constante e dentro da mesma câmara experimental acima descrita, com sistema de circulação fechado e temperatura constante de 25 ± 1 °C. Após a estabilização das tensões experimentais de O_2 , as tilápias eram mantidas por 40 min. em cada tensão. Em seguida, eram efetuadas as medidas e registros dos parâmetros cardio-respiratórios. Esse grupo foi considerado como grupo controle em hipóxia (GCH).

Após as medidas dos parâmetros cardio-respiratórios nas tensões de O_2 citadas, retornava-se a água da câmara experimental para normóxia ($PwO_2 \sim 140$ mmHg) e deixava-se o peixe restabelecer seus parâmetros cardio-respiratórios iniciais, durante um período de

“overnight” (12 h). Após esse período o animal era exposto a deltametrina à concentração sub-letal 50% CL50-96h ($7,4 \mu\text{g.L}^{-1}$), passando a ser chamado de Grupo exposto à deltametrina e em hipóxia gradual (GEH), e o mesmo protocolo de redução gradual de oxigênio foi realizado.

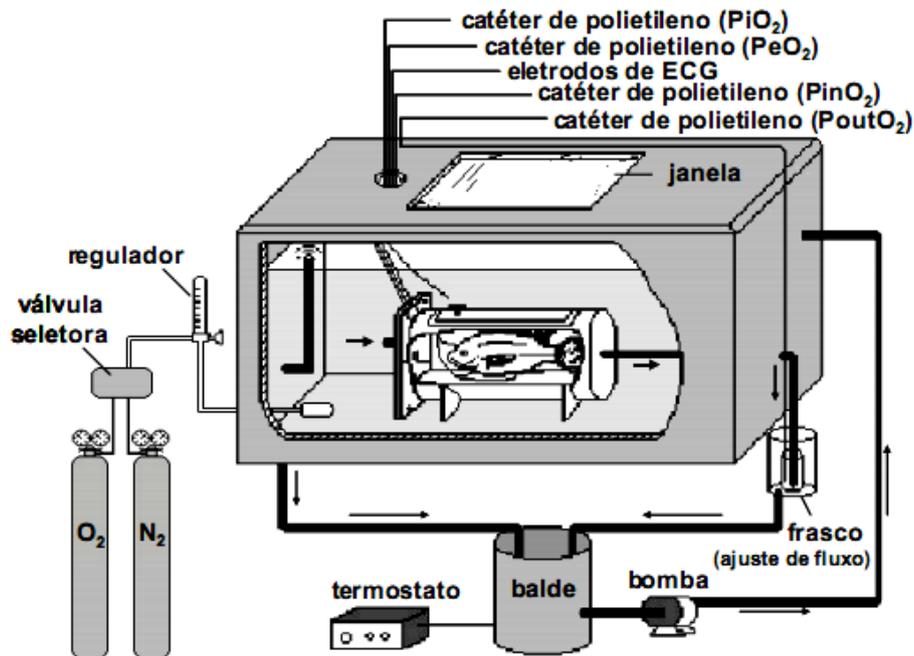


Figura 5. Esquema do sistema experimental utilizado nos experimentos envolvendo medidas das variáveis cardio-respiratórias de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, em resposta à exposição à deltametrina em condições normóxicas e durante a hipóxia gradual (modificado de OLLE, 2007).

3.5 Variáveis cardio-respiratórias

3.5.1. Tomada de O_2 (taxa metabólica) - $\dot{V}\text{O}_2$

Após os procedimentos cirúrgicos os peixes foram deixados no respirômetro e no tanque experimental, por pelo menos 12 h para recuperação da anestesia. As medidas da PO_2 da água de entrada do respirômetro (PeO_2 – mmHg), e da saída do respirômetro (PsO_2 – mmHg) foram realizadas com um analisador de O_2 FAC-204A (FAC, São Carlos, SP), que tinha seu eletrodo calibrado com solução de Borax e sulfito de sódio (solução com 0 mmHg de O_2) e com água saturada de O_2 (~ 140 mmHg). O fluxo constante de água através do

respirômetro foi regulado em função da manutenção adequada de uma diferença de aproximadamente 30% entre a PeO_2 e PsO_2 . A taxa metabólica foi calculada como:

$$\dot{V}O_2 = (PeO_2 - PsO_2) \cdot \alpha \cdot V_R / Wt$$

onde: α = coeficiente de solubilidade do O_2 na temperatura experimental e pressão barométrica local; V_R = fluxo através do respirômetro e Wt = peso dos animais. Os valores de $\dot{V}O_2$ estão expressos em $mLO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$.

3.5.2. Freqüência respiratória - f_R

A f_R foi medida pelos registros da variação da pressão intra-bucal (cânula bucal conectada a um transdutor de pressão e este ao sistema de aquisição de dados - WinDaq - WinDaq/Lite Waveform Recording Software[®] - Dataq DI-194 Serial Port Data Acquisition Module), contando-se os picos de pressão positiva durante o ciclo respiratório. A f_R está expressa em $resp \cdot min^{-1}$.

3.5.3. Ventilação branquial - \dot{V}_G

A \dot{V}_G foi calculada utilizando-se a seguinte equação:

$$\dot{V}_G = \frac{(PeO_2 - PsO_2) \cdot V_R}{(P_{insp}O_2 - P_{exp}O_2) \cdot Wt}$$

onde: $P_{insp}O_2 = PO_2$ (mmHg) da água inspirada (cânula bucal conectada ao eletrodo de O_2 do analisador de O_2 acima mencionado) e $P_{exp}O_2 = PO_2$ (mmHg) da água expirada (cânula opercular conectada ao eletrodo de O_2 do analisador de O_2 acima mencionado). Os valores de \dot{V}_G estão expressos em $mLH_2O \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$.

3.5.4. Volume ventilatório - V_T

O volume ventilatório - V_T foi calculado dividindo-se a \dot{V}_G pela f_R e está expresso por $mLH_2O \cdot kg^{-1} \cdot resp^{-1}$.

3.5.5. Extração de O₂ pela corrente ventilatória (EO₂)

A EO₂ foi calculada utilizando-se a seguinte equação (DEJOURS, 1981):

$$EO_2 = 100.(P_{inspO_2} - P_{expO_2})/P_{inspO_2}$$

Os valores de EO₂ estão expressos em %.

3.5.6. Freqüência cardíaca – f_H

A f_H foi registrada conectando-se dois os eletrodos de ECG implantados nos peixes a um acoplador universal de um fisiógrafo Narco Narcotrace-40 (Narco Biosystems, Houston TX, USA) e seus sinais transferidos para um outro canal do sistema de aquisição de dados acima citado. Os valores de f_H foram obtidos pela contagem dos complexos QRS do ECG e expressos em bpm (batimentos por minuto).

4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos a seguintes análises estatísticas:

- Teste *t* pareado entre os grupos controle e o intoxicado por deltametrina.
- Teste Dunnett para comparar os valores iniciais com os diferentes tempos (protocolo 1) e com as diferentes tensões de O₂ (protocolo 2) para um mesmo grupo experimental.
- A determinação da normalidade, análise de variância, e os seguintes testes estatísticos foram executados usando o software GraphPad InStat. O nível de significância máxima foi 5% (P < 0,05);

5. RESULTADOS

5.1. Efeito da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios de *O.niloticus* em normóxia.

5.1.1. Tomada de O₂ (taxa metabólica) - $\dot{V}O_2$

Os valores médios da $\dot{V}O_2$ do grupo controle e exposto à deltametrina na tensão de O₂ de 140 mmHg em diferentes intervalos de tempo durante 24 h, estão apresentados na tabela 2 e representados graficamente na figura 6.

Analisando-se os resultados observou-se que no GC a $\dot{V}O_2$ manteve-se constante em todos os intervalos de tempos monitorados com valor médio de $97,4 \pm 4,3 \text{ mL O}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, não havendo alteração significativa durante as 24 h de experimento.

No GE as tilápias mostraram uma redução significativa da $\dot{V}O_2$ imediatamente após exposição ao inseticida seguido de uma recuperação progressiva dessa variável a partir da segunda hora até atingir valores padrões nas duas últimas horas de experimentação.

Concomitantemente, observou-se imediatamente após exposição à deltametrina desencadeamento de tosses sucessivas que reduzindo ao final das 24h de exposição. Associado as tosses, houve um aumento na produção de muco durante a exposição.

Tabela 2. Valores médios da taxa metabólica $\dot{V}O_2$ ($\text{mLO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) dos grupo controle (GC, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos experimentais, durante 24h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. Os * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.

Tempo (h)	$\dot{V}O_2$ ($\text{mLO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	
	GC	GE
0	89,6 \pm 3,3	94,3 \pm 2,7
0:15	-	*53,2 \pm 6,4
1	91,1 \pm 3,8	*49,1 \pm 9,6
2	94,3 \pm 4,5	*53,1 \pm 8,4
3	93,8 \pm 4,5	*65,5 \pm 11,2
6	101,8 \pm 4,3	*76,5 \pm 9,2
9	106,0 \pm 4,5	*79,1 \pm 8,8
12	104,7 \pm 4,8	*80,6 \pm 6,0
15	99,5 \pm 4,6	*82,1 \pm 6,8
18	99,4 \pm 5,7	82,6 \pm 7,4
24	94,3 \pm 2,7	83,7 \pm 6,0

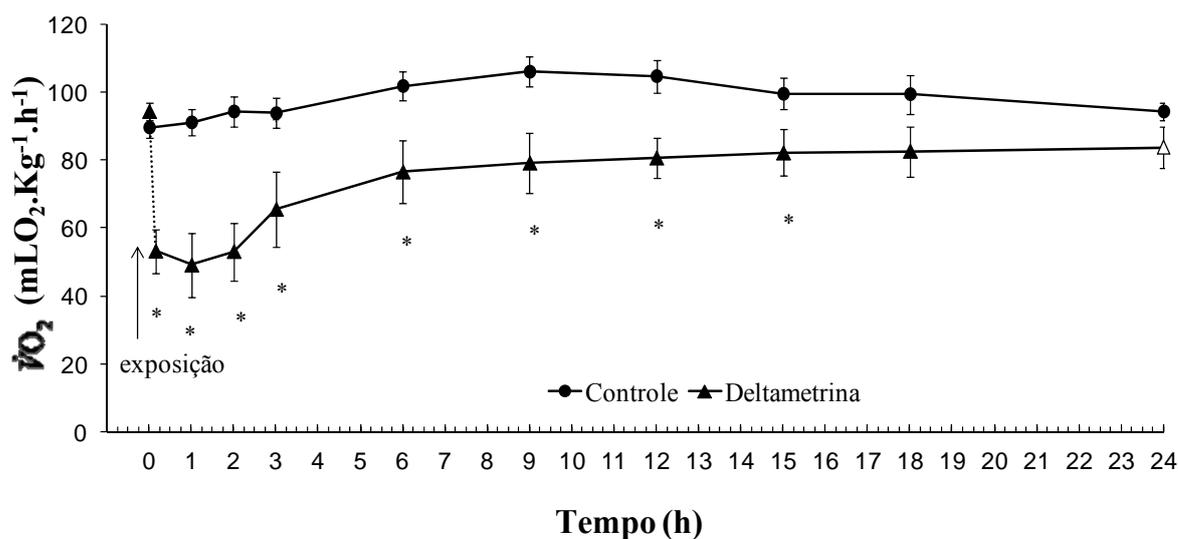


Figura 6: Taxa metabólica ($\dot{V}O_2$ - $\text{mLO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

5.1.2 Ventilação branquial (\dot{V}_G), volume ventilatório (V_T) e frequência respiratória (f_R).

Os valores médios de \dot{V}_G , V_T e f_R dos grupos GC e GE em normóxia e em diferentes intervalos de tempo durante as 24 h de exposição estão expressos nas tabelas 3, 4 e 5 e representados graficamente nas figuras 7, 8 e 9, respectivamente.

Os peixes do GC mantiveram os valores de \dot{V}_G , V_T e f_R constantes durante todo período experimental, com as médias de $386,3 \pm 21,9 \text{ mLH}_2\text{O.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$; $4,9 \pm 0,4 \text{ mLH}_2\text{O.Kg}^{-1}.\text{resp}^{-1}$ e $75,0 \text{ resp.min}^{-1}$, respectivamente.

Nos peixes do GE a \dot{V}_G aumentou imediatamente após a exposição do animal a deltametrina e manteve esse aumento durante as 6 primeiras horas de experimento. Este aumento foi significativo nos tempos 2 h e 3 h em relação ao início da exposição (tempo 0h), atingindo valores máximos após 3 h de exposição ($764,4 \pm 57,2 \text{ mLH}_2\text{O.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), retornando a valores padrões após 9h de exposição.

Semelhantemente, o V_T aumentou significativamente em relação ao GC nas 6 primeiras horas. Este aumento foi significativo, em relação ao início da exposição, após 3 h de exposição. A seguir, tanto a \dot{V}_G quanto a V_T começaram a declinar, atingindo valores semelhantes ao GC no final do experimento.

Comparando-se os grupos GC e GE observaram-se diferenças significativas na \dot{V}_G e no V_T após 1, 2, 3 e 6 h de exposição, após esse período estas variáveis retornaram aos seus valores iniciais.

Analisando-se os resultados obtidos com o grupo GE, observou-se que não houve alteração significativa da f_R durante todo período experimental. O mesmo aconteceu quando comparamos os grupos GC e GE em todos os intervalos de tempo experimentais.

Tabela 3: Valores médios da ventilação branquial (\dot{V}_G - mLH₂O.kg⁻¹.min⁻¹), dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos (P < 0,05). Os valores são médias ± E.P.M.

Tempo(h)	\dot{V}_G (mLH ₂ O.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	
	GC	GE
0	354,4 ± 15,5	388,2 ± 18,3
0:15	-	454,3 ± 51,7
1	365,6 ± 23,4	*556,3 ± 44,8
2	377,8 ± 21,3	* 626,8 ± 42,7
3	380,8 ± 15,5	* 764,4 ± 57,2
6	399,2 ± 19,8	*574,1 ± 28,5
9	410,2 ± 30,3	447,2 ± 25,1
12	400,1 ± 25,6	470,6 ± 37,3
15	390,7 ± 25,2	426,8 ± 40,2
18	396,2 ± 24,1	454,9 ± 34,4
24	388,2 ± 18,3	471,5 ± 34,1

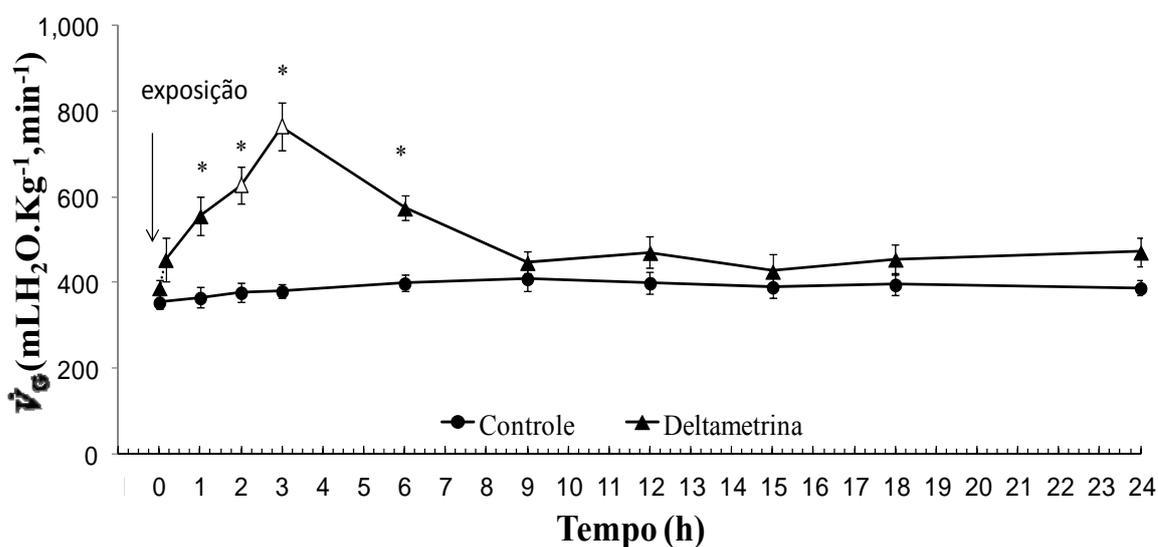


Figura 7: Ventilação branquial (\dot{V}_G - mLH₂O.kg⁻¹.min⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.

Tabela 4: Valores médios da volume ventilatório (V_T - mLH₂O.kg⁻¹.resp⁻¹) dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.

Tempo(h)	V_T (mLH ₂ O.Kg ⁻¹ .resp ⁻¹)	
	GC	GE
0	4,7 \pm 0,4	4,8 \pm 0,4
0:15	-	5,7 \pm 0,6
1	4,6 \pm 0,5	*6,1 \pm 0,4
2	4,4 \pm 0,4	*8,0 \pm 0,9
3	4,5 \pm 0,5	* 8,6 \pm 1,0
6	5,2 \pm 0,4	*7,2 \pm 0,7
9	5,3 \pm 0,4	6,2 \pm 0,3
12	5,3 \pm 0,5	5,7 \pm 0,6
15	5,2 \pm 0,5	5,4 \pm 0,7
18	4,9 \pm 0,5	5,4 \pm 0,7
24	4,8 \pm 0,4	5,5 \pm 0,7

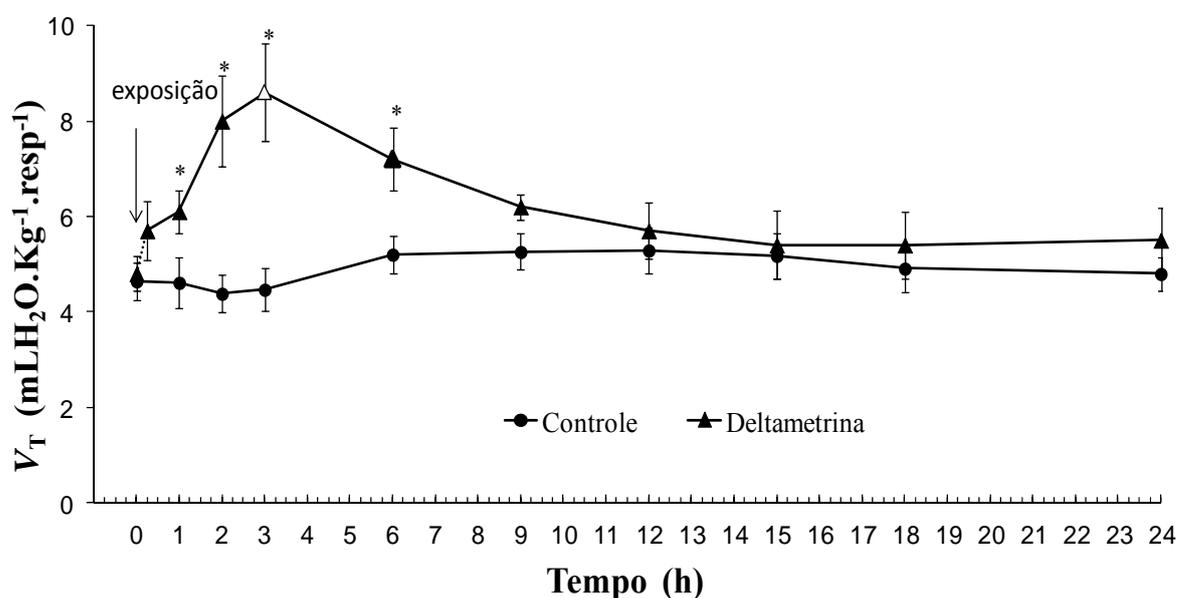


Figura 8: Volume ventilatório (V_T - mLH₂O.kg⁻¹.resp⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

Tabela 5: Valores médios da frequência respiratória (f_R - resp.min⁻¹), dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Os valores são médias \pm E.P.M.

Tempo (h)	f_R (resp.min ⁻¹)	
	GC	GE
0	74,0 \pm 5,2	76,2 \pm 4,1
0:15	-	77,5 \pm 3,0
1	74,3 \pm 4,6	76,8 \pm 4,2
2	73,7 \pm 2,2	75,1 \pm 4,4
3	75,8 \pm 4,7	74,9 \pm 4,2
6	75,8 \pm 4,5	72,5 \pm 3,7
9	75,0 \pm 4,3	72,3 \pm 3,3
12	74,2 \pm 4,1	74,3 \pm 3,8
15	75,5 \pm 5,5	72,3 \pm 5,1
18	75,3 \pm 4,9	69,3 \pm 6,4
24	76,2 \pm 4,1	72,8 \pm 4,0

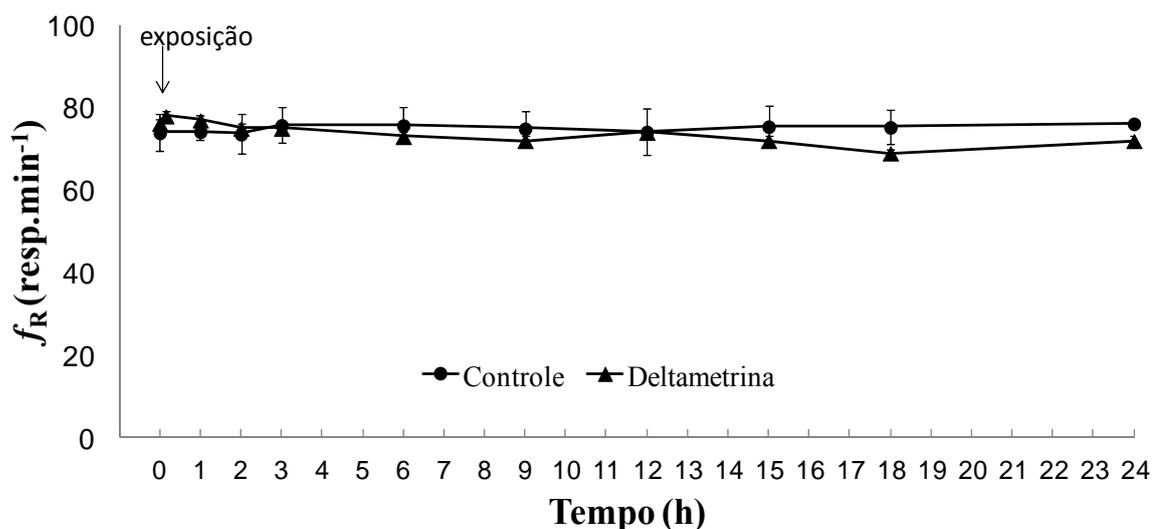


Figura 9: Frequência respiratória (f_R - resp.min⁻¹) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os pontos são médias \pm E.P.M.

5.1.3. Extração de oxigênio da corrente ventilatória (EO_2)

Os valores médios de EO_2 do GC e do GE nos diferentes intervalos de tempo durante 24 h, estão apresentados na tabela 6 e representados graficamente na figura 10.

Tabela 6: Valores médios de extração de O₂ da corrente ventilatória (EO_2 - %) dos grupos controle (CG, n = 10) e exposto à deltametrina (GE, n = 10) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.

Tempo(h)	EO_2 (%)	
	GC	GE
0	78,0 \pm 2,2	78,8 \pm 2,2
0:15	-	*45,3 \pm 5,9
1	78,7 \pm 2,3	*35,9 \pm 4,5
2	79,2 \pm 2,7	*42,0 \pm 3,9
3	78,4 \pm 2,5	*42,8 \pm 3,7
6	78,7 \pm 2,1	*51,3 \pm 4,3
9	77,2 \pm 2,8	*58,4 \pm 5,1
12	80,7 \pm 2,3	*59,6 \pm 5,7
15	80,9 \pm 1,8	* 66,3 \pm 6,3
18	79,3 \pm 2,3	67,9 \pm 6,2
24	78,8 \pm 2,2	69,6 \pm 4,5

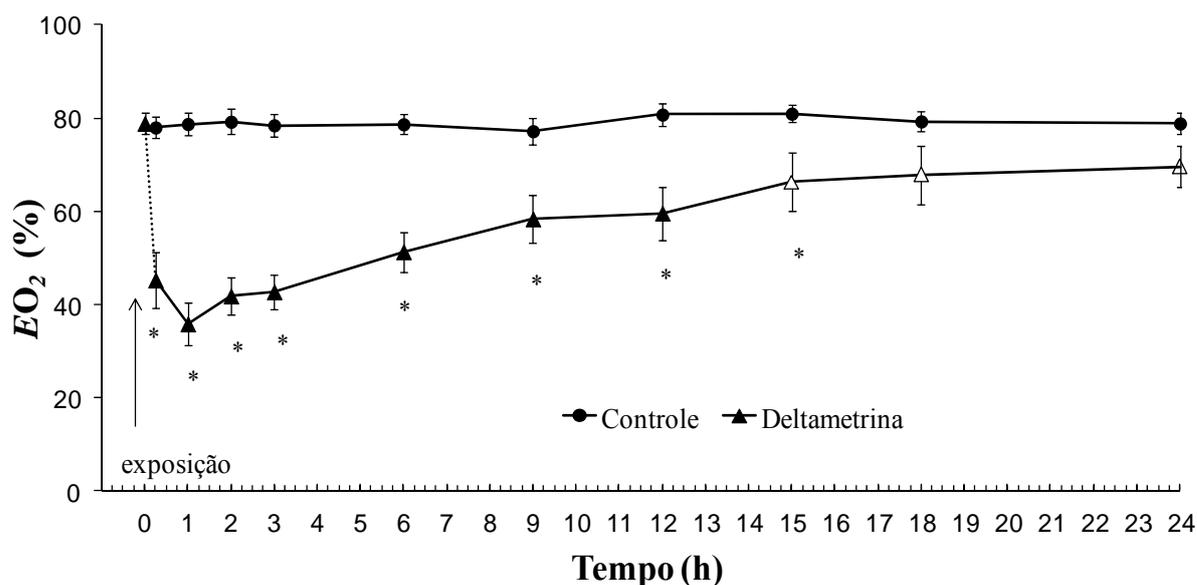


Figura 10: Extração de O₂ da corrente ventilatória (EO_2 - %) do grupo controle (GC, n = 10) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, n = 10 - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

O GC manteve a EO_2 constante em torno de 80% durante todo período experimental de 24h. O GE apresentou redução significativa na EO_2 imediatamente após a exposição à deltametrina. Essa redução da EO_2 ocorreu durante as 12 primeiras horas de exposição sendo

que, a partir da segunda hora extração aumentou progressivamente chegando valores médios próximos aos padrões nas últimas 3 horas de experimento.

5.1.4. Frequência cardíaca (f_H)

Os valores médios da frequência cardíaca (f_H -bpm) do grupo controle e exposto à deltametrina em condições normóxicas ($PwO_2 \sim 140$ mmHg) nos diferentes intervalos de tempo durante 24 h, estão apresentados na tabela 7 e representados graficamente na figura 11.

No GC a f_H manteve-se aproximadamente constantes (em torno de $63,4 \pm 4,8$ bpm) durante todo o período experimental. O GE, entretanto, apresentou uma significativa redução na f_H imediatamente após a exposição à deltametrina. Esta bradicardia persistiu por 12 h e após este período a f_H retornou gradualmente aos valores controle.≡

Tabela 7: Valores médios frequência cardíaca (f_H - bpm) dos grupos controle (CG, $n= 10$) e exposto à deltametrina (GE, $n = 10$) de *O. niloticus*, em diferentes intervalos de tempos, durante 24 h. Valores em negrito indicam diferença significativa dentro do mesmo grupo experimental. * representam diferenças significativas entre os dois grupos ($P < 0,05$). Os valores são médias \pm E.P.M.

Tempo(h)	f_H (bpm)	
	GC	GE
0	62,0 \pm 5,4	62,9 \pm 3,4
0:15	-	34,8 \pm 2,8
1	64,5 \pm 4,9	*35,4 \pm 1,8
2	65,1 \pm 7,3	*35,4 \pm 2,3
3	63,5 \pm 5,8	*36,2 \pm 2,3
6	64,9 \pm 5,4	*38,0 \pm 1,9
9	62,7 \pm 4,1	*42,8 \pm 1,6
12	64,6 \pm 3,7	*48,3 \pm 1,6
15	60,9 \pm 3,8	51,9 \pm 2,3
18	63,0 \pm 3,8	53,7 \pm 2,9
24	62,9 \pm 3,4	55,8 \pm 3,8

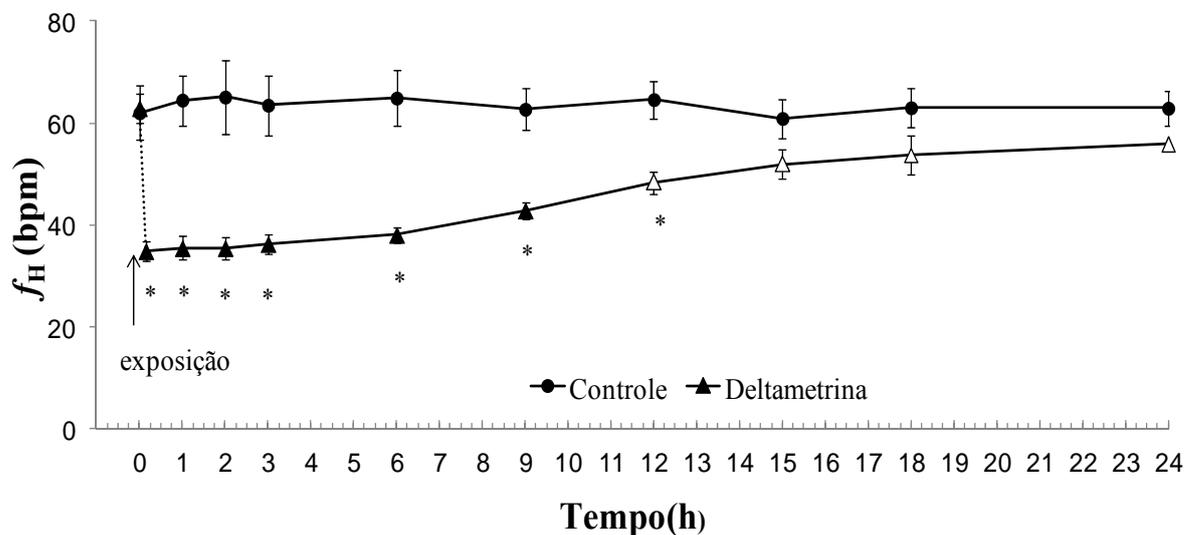


Figura 11: Frequência cardíaca (f_H - bpm) do grupo controle (GC, $n = 10$) de *O. niloticus* (●) e do grupo exposto à deltametrina (GE, $n = 10$ - ▲) nos diferentes intervalos de tempo, durante o período experimental de 24 h. Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos no intervalo de tempo 0 h. Os * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

5.2. Efeito da deltametrina nos parâmetros cardio-respiratórios durante hipóxia gradual.

Nestes experimentos, a P_{eO_2} foi gradualmente reduzida de 140 mmHg para 100, 70, 50, 30 e 20 mmHg e os peixes foram mantidos por 40 min em cada tensão de O_2 . Os dados estão apresentados nas tabelas 8 a 14 e nas figuras de 12 a 19 em função das diferentes P_{inspO_2} .

5.2.1. Tomada de O_2 ($\dot{V}O_2$) e tensão crítica de oxigênio (P_{cO_2})

Os valores da $\dot{V}O_2$ dos grupos controle (GCH) e exposto à deltametrina e submetidos à hipóxia gradual (GEH) estão apresentados na tabela 8 e representados graficamente na figura 12.

Os peixes do GCH mantiveram a $\dot{V}O_2$ constante até a P_{inspO_2} de 38 mmHg. Abaixo dessa tensão de O_2 inspirada a $\dot{V}O_2$ reduziu significativamente (de $110,2 \pm 6,2 \text{ mL}O_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, para $56,6 \pm 3,3 \text{ mmHg}$).

No GEH a $\dot{V}O_2$ também se manteve constante até a P_{inspO_2} de 38 mmHg ($51,9 \pm 4,7 \text{ mL}O_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Todavia, seu valor médio foi significativamente menor, com uma redução de aproximadamente 47% em comparação ao GCH. Abaixo dessa tensão a $\dot{V}O_2$ reduziu-se ainda mais, chegando a um valor de $37,3 \pm 3,3 \text{ mL}O_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ na P_{inspO_2} de 13 mmHg.

Comparando o GCH com o GEH observou-se uma redução significativa na $\dot{V}O_2$ em todas as tensões de O_2 .

Tabela 8: Valores médios da taxa metabólica ($\dot{V}O_2$ - $mLO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{insp}O_2$ (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas ($P < 0,05$) entre os dois grupos. Os valores são médias \pm E.P.M.

$P_{insp}O_2$ (mmHg)	$\dot{V}O_2$ - $mLO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$	
	GCH	GEH
125	105,8 \pm 3,7	*71,1 \pm 7,0
89	110,1 \pm 7,7	*58,3 \pm 7,3
59	109,1 \pm 7,7	*58,3 \pm 6,6
38	110,2 \pm 6,2	*51,9 \pm 4,7
21	79,9 \pm 4,0	* 45,2 \pm 5,6
13	56,6 \pm 3,3	* 37,3 \pm 3,3

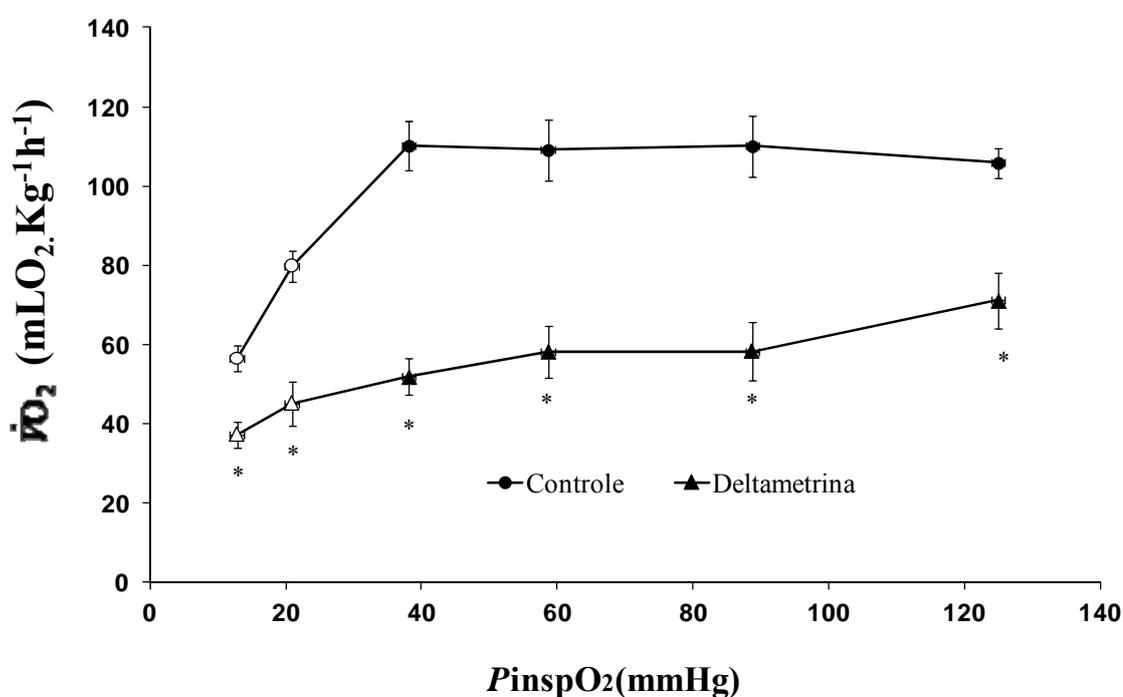


Figura 12: Valores médios da taxa metabólica ($\dot{V}O_2$ - $mLO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{insp}O_2$ (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

As tensões críticas de O_2 (P_{cO_2}) do GCH e do GEH foram 23,5 e 31,0 mmHg respectivamente (Fig. 13), ou seja, a deltametrina aumentou em 24% a P_{cO_2} para *O. niloticus*. As P_{cO_2} foram obtidas pela interseção entre a reta paralela ao eixo X, passando pelos valores

médios de $\dot{V}O_2$, e a regressão linear, obtida pela equação $y = a + bx$ (método dos mínimos quadrados), entre os pontos significativamente mais baixos do que os valores médios (RANTIN et al., 1992). A PcO_2 determina o valor de $P_{insp}O_2$ abaixo do qual o peixe passa a ser dependente do O_2 ambiental, ou seja, perde sua capacidade de acionar adequadamente os mecanismos homeostáticos cardio-respiratórios.

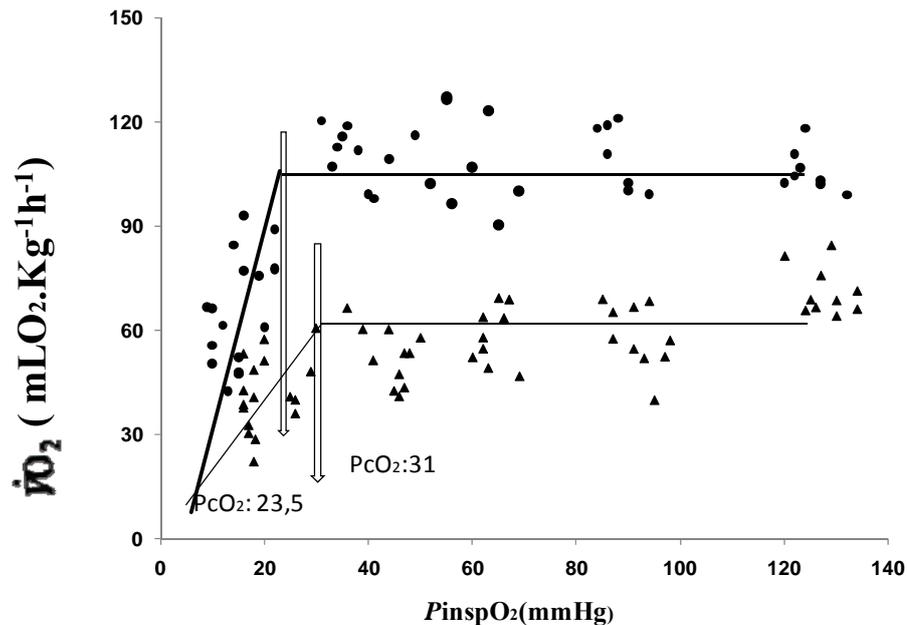


Figura 13: Efeito da hipóxia gradual sobre a $\dot{V}O_2$ - $mLO_2.Kg^{-1}.h^{-1}$) dos grupos GCH e GEH *O. niloticus*. As setas representam as PcO_2 (23,5 mmHg para o GCH e 31,0 mmHg para o GEH).

5.2.2. Ventilação branquial (\dot{V}_G), volume ventilatório (V_T) e frequência respiratória (f_R)

Os valores médios da \dot{V}_G , do V_T e da f_R dos grupos GCH e GEH estão expressos nas tabelas 9,10 e 11 e representados graficamente nas figuras 14, 15 e 16.

A \dot{V}_G e o V_T do GCH aumentaram de $404,0 \pm 20,5 mLH_2O.kg^{-1}.min^{-1}$ e $5,4 \pm 0,3 mLH_2O.kg^{-1}.resp^{-1}$, respectivamente, nas condições normóxicas, para $2.401,4 \pm 219,2 mLH_2O.kg^{-1}.min^{-1}$ e $25,9 \pm 1,5 mLH_2O.Kg^{-1}.resp^{-1}$, respectivamente, na $P_{insp}O_2$ de 13 mmHg. Nesse intervalo de $P_{insp}O_2$ o aumento na \dot{V}_G do GCH foi de cerca de 5,9 vezes enquanto que no V_T foi de aproximadamente 4,4. No GEH, nesse mesmo intervalo de $P_{insp}O_2$ a \dot{V}_G aumentou 2,1 vezes enquanto que o V_T aumentou 2,3 vezes.

Comparando-se os valores de \dot{V}_G e V_T de ambos os grupos (GCH e GEH), os peixes do GEH apresentaram valores significativamente mais elevados na $P_{insp}O_2$ de 125 mmHg.

Nas demais tensões de O₂ os valores de \dot{V}_G do GEH foram significativamente inferiores aos do GCH, enquanto que os valores V_T do GEH foram significativamente inferior na P_{inspO_2} 13mmHg em relação ao GCH.

Tabela 9: Valores médios da ventilação branquial (\dot{V}_G - mLH₂O.kg⁻¹.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.

P_{inspO_2} (mmHg)	\dot{V}_G - mLH ₂ O.kg ⁻¹ .min ⁻¹	
	GCH	GEH
125	404,0 ± 20,5	*676,6 ± 124,3
89	775,6 ± 73,4	556,5 ± 105,1
59	127,3 ± 12,1	*741,3 ± 85,2
38	1562,4 ± 174,6	*885,9 ± 106,8
21	1991,2 ± 142,3	* 1410,9 ± 197,0
13	2401,4 ± 219,2	* 1426,9 ± 238,8

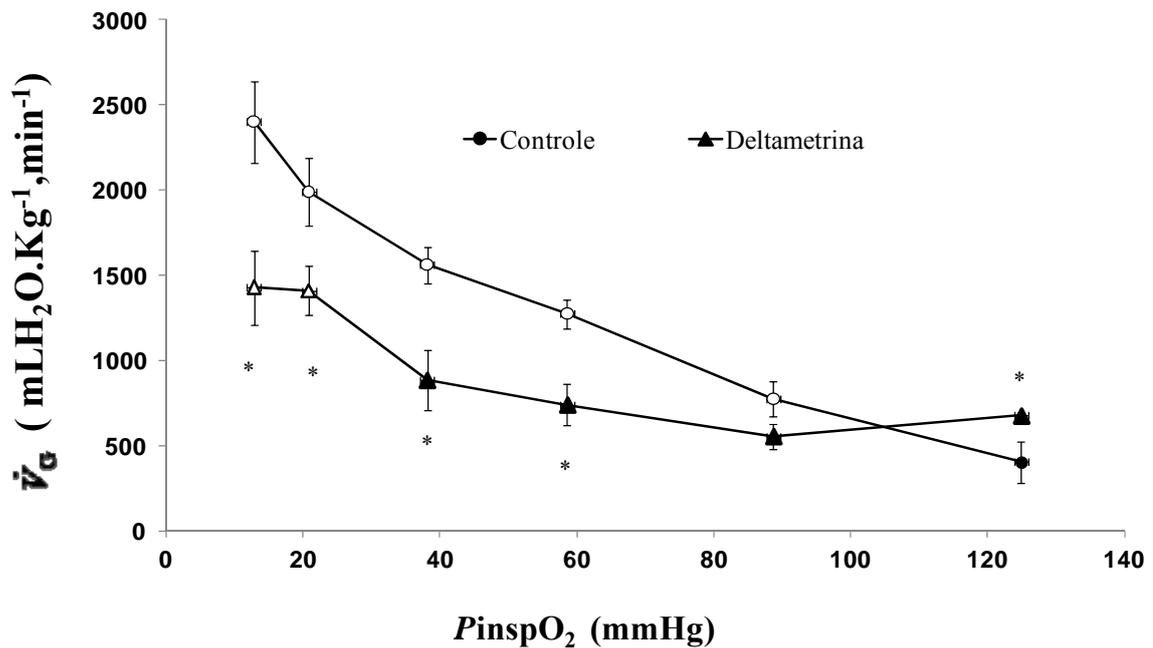


Figura 14: Valores médios da ventilação branquial (\dot{V}_G - mLH₂O.kg⁻¹.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.

Tabela 10: Valores médios do volume ventilatório (V_T - mLH₂O.kg⁻¹.resp⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas ($P < 0,05$) entre os dois grupos. Os valores são médias \pm E.P.M.

P_{inspO_2} (mmHg)	V_T - mLH ₂ O.Kg ⁻¹ .resp ⁻¹	
	GCH	GEH
125	5,4 \pm 0,3	8,6 \pm 1,6
89	9,5 \pm 0,7	8,3 \pm 1,5
59	15,5 \pm 1,5	13,2 \pm 2,4
38	18,1 \pm 2,0	13,6 \pm 1,7
21	21,3 \pm 2,1	17,6 \pm 3,3
13	25,9 \pm 1,5	*19,4 \pm 2,0

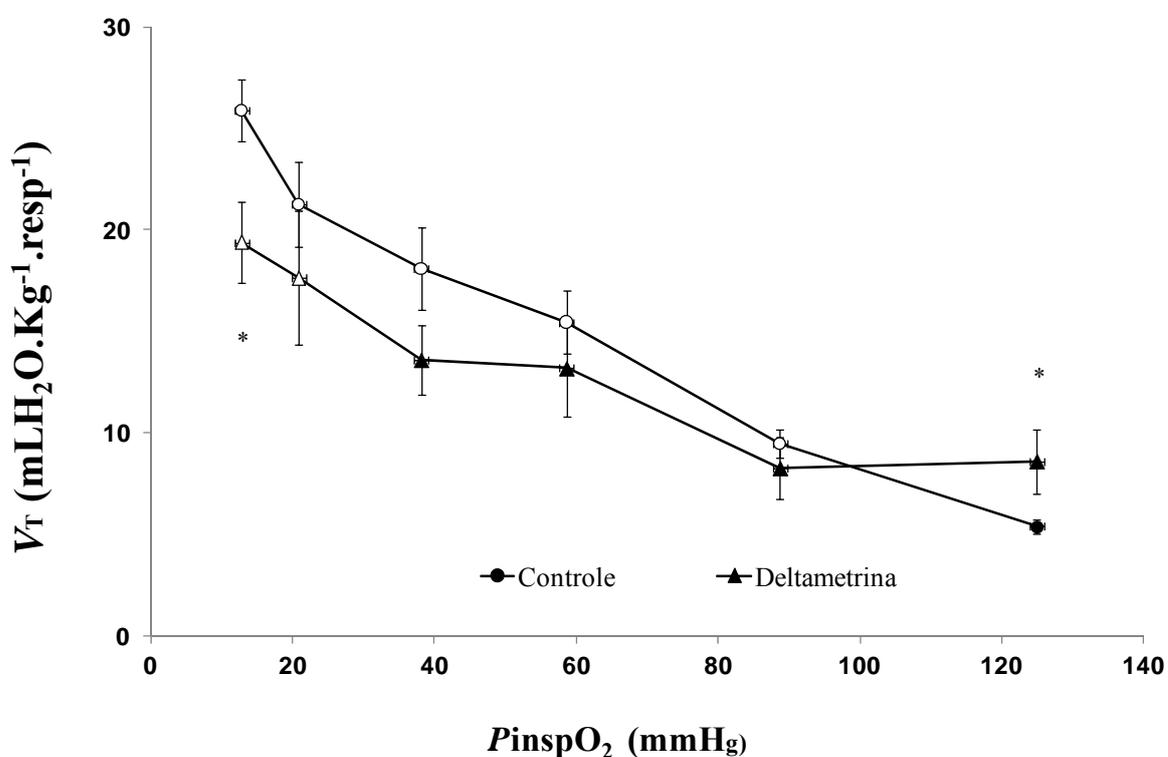


Figura 15: Valores médios do volume ventilatório (V_T - mLH₂O.Kg⁻¹.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

No GCH a f_R manteve-se constante até a P_{inspO_2} de 59 mmHg ($80,4 \pm 3,1 \text{ resp.min}^{-1}$). Abaixo dessa tensão a f_R apresentou um aumento significativo e progressivo comparando com tensão de O_2 inicial, atingindo, na P_{inspO_2} de 13 mmHg o valor máximo de $96,8 \pm 4,4 \text{ resp.min}^{-1}$. O GEH, por sua vez, apresentou uma f_R de $71,1 \pm 4,1 \text{ resp.min}^{-1}$, a qual manteve-se constante em todas as demais P_{inspO_2} . A f_R de ambos os grupos foi significativamente diferente nas P_{inspO_2} de 59, 38, 21, 13 mmHg, sendo que no GCH a f_H foi sempre mais elevada nessas tensões.

Tabela 11: Valores médios de volume respiratória (f_R – resp.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupo GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.

P_{inspO_2} (mmHg)	f_R (resp.min ⁻¹)	
	GCH	GEH
125	73,1 ± 1,8	71,1 ± 4,1
89	78,2 ± 2,1	69,9 ± 4,1
59	80,4 ± 3,7	*68,2 ± 4,2
38	87,6 ± 3,1	*66,0 ± 4,3
21	97,0 ± 5,5	*66,0 ± 4,1
13	96,8 ± 4,4	*66,9 ± 3,9

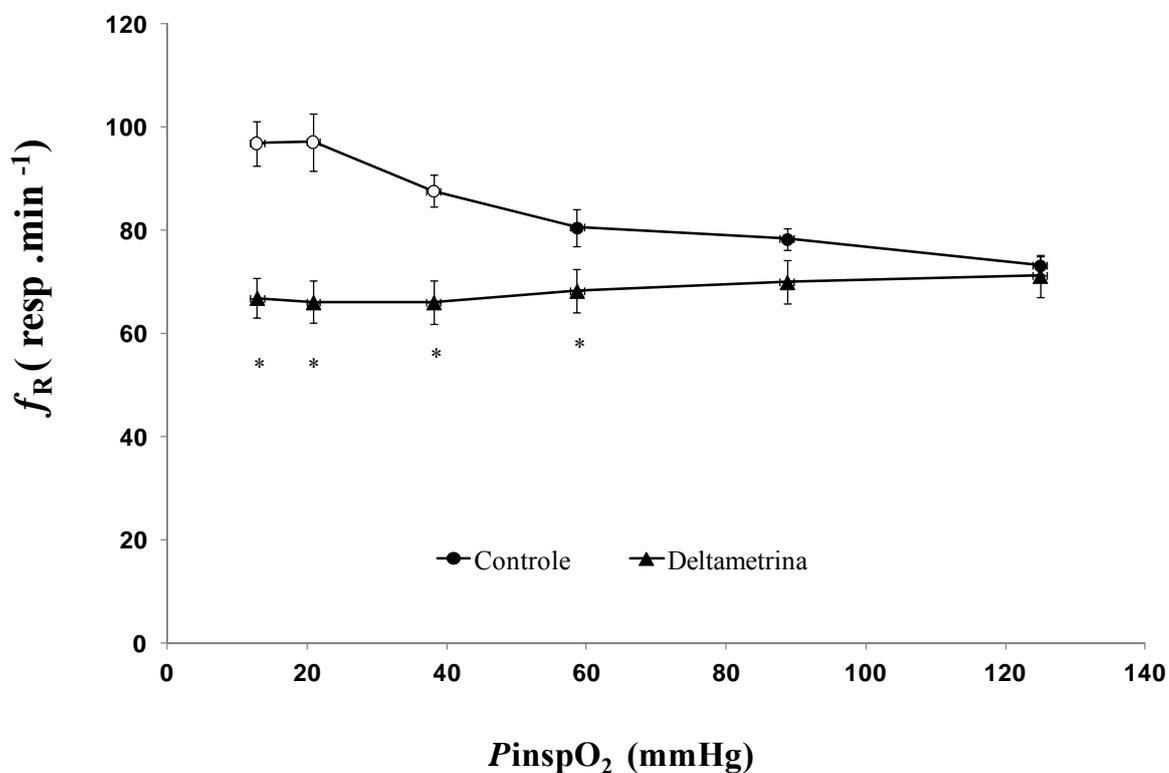


Figura 16: Valores médios da frequência respiratória (f_R – resp.min⁻¹) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{inspO_2} (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.

5.2.3. Necessidade Ventilatória - $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ (mLH₂O.mLO₂⁻¹)

Os valores médios da $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ (mLH₂O.mLO₂⁻¹) dos exemplares de *O. niloticus* dos grupos GCH e GEH, submetidos à hipóxia gradual, estão apresentados na tabela 12 e representados graficamente na figura 17.

Houve um aumento significativo da $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ no GCH a partir da $P_{insp}O_2$ de 21 mmHg ($1.335,0 \pm 252,3$ mLH₂O.mLO₂⁻¹) chegando a um valor máximo ($1801,9 \pm 406,8$ mLH₂O.mLO₂⁻¹) na $P_{insp}O_2$ de 13 mmHg, o que equivale a um aumento de 7,5 vezes em relação aos valores obtidos em normóxia ($240,0 \pm 8,8$ mLH₂O.mLO₂⁻¹).

No GEH o aumento da $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ seguiu aproximadamente a mesma tendência observada no GCH. Comparando-se a $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ de ambos os grupos em resposta à hipóxia gradual, observa-se que apenas $P_{insp}O_2$ de 125 mmHg (normóxia) a $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ do GEH foi significativamente mais alta.

Tabela 12: Valores médios da necessidade ventilatória ($\dot{V}_G / \dot{V}O_2$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{insp}O_2$ (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas ($P < 0,05$) entre os dois grupos. Os valores são médias \pm E.P.M.

$P_{insp}O_2$ (mmHg)	$\dot{V}_G / \dot{V}O_2$ (mLH ₂ O.mLO ₂ ⁻¹)	
	GCH	GEH
125	240,0 \pm 8,8	*557,7 \pm 124,7
89	383,6 \pm 30,6	535,8 \pm 131,7
59	649,7 \pm 68,4	557,7 \pm 130,1
38	601,0 \pm 136,3	531,7 \pm 185,1
21	1335,0 \pm 252,3	1081,0 \pm 321,9
13	1801,9 \pm 406,8	1963,3 \pm 422,7

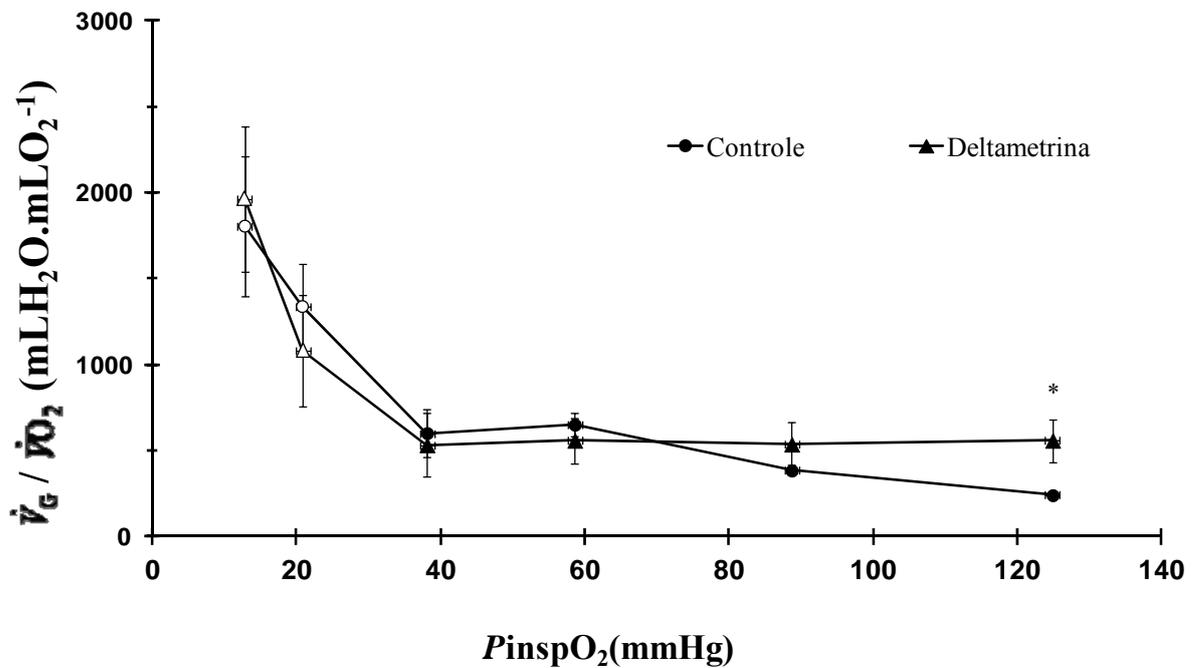


Figura 17: Valores médios de necessidade ventilatória ($\dot{V}_G / \dot{V}O_2$) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{insp}O_2$ (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

5.2.4 Extração de O₂ da corrente ventilatória (EO₂)

Os valores médios de EO₂ dos grupos GCH e GEH de *O. niloticus* estão apresentados na tabela 13 e representados graficamente na figura 18.

O GCH apresentou, em normóxia, uma EO₂ média de $77,7 \pm 2,1$ % a qual manteve-se constante até a P_{inspO₂} de 38 mmHg. Abaixo desta tensão a EO₂ sofreu uma significativa redução, chegando a $60,9 \pm 3,9$ % na P_{inspO₂} de 13 mmHg. GEH, por sua vez, apresentou uma EO₂ média de $35,6 \pm 5,3$ % e manteve esses valores constantes até a P_{inspO₂} de 21 mmHg. Na P_{inspO₂} de 13 mmHg a EO₂ aumentou significativamente para $57,2 \pm 3,9$ %.

Comparando-se os valores da EO₂ de ambos os grupos experimentais, o GEH apresentou uma redução significativa na maioria das tensões de O₂, exceto nas P_{inspO₂} de 21 e 13 mmHg.

Tabela 13: Valores médios de extração de O₂ da corrente ventilatória (EO₂ - %) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{insp}O₂ (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas (P < 0,05) entre os dois grupos. Os valores são médias ± E.P.M.

P _{insp} O ₂ (mmHg)	EO ₂ %	
	GCH	GEH
125	77,7 ± 2,1	*35,6 ± 5,3
89	71,7 ± 3,5	*40,0 ± 5,7
59	66,0 ± 3,8	*39,4 ± 5,3
38	65,6 ± 2,7	*44,1 ± 5,4
21	59,7 ± 5,4	48,6 ± 3,7
13	60,9 ± 3,9	57,2 ± 3,9

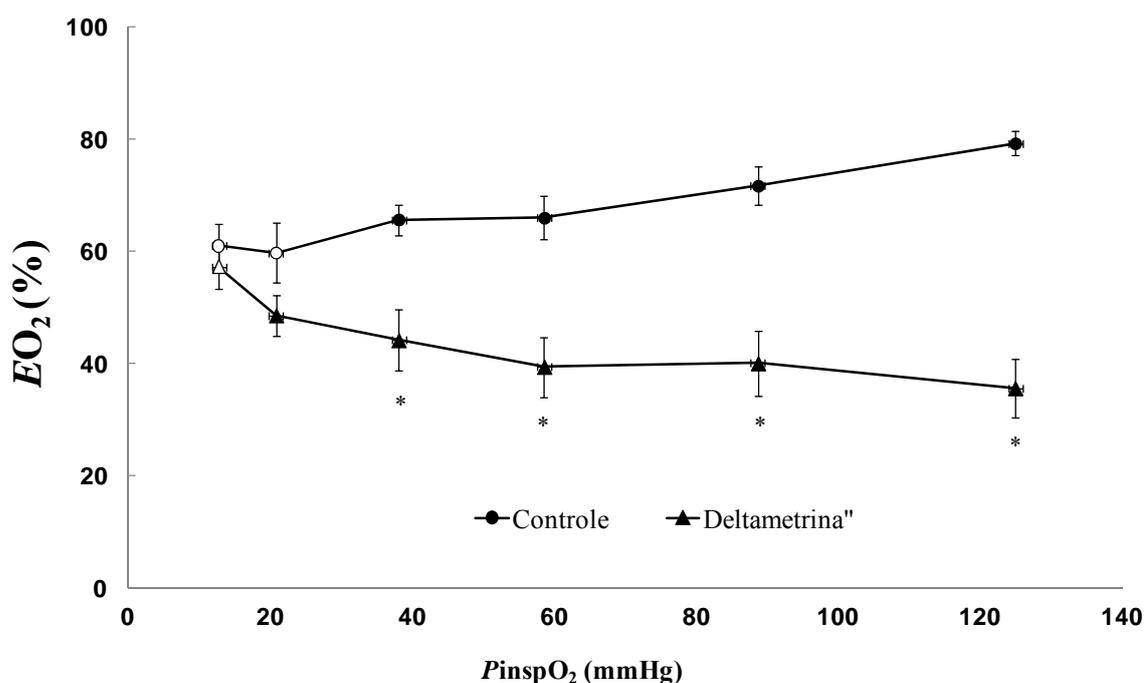


Figura 18: Valores médios de extração de O₂ da corrente ventilatória (EO₂ %) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da P_{insp}O₂ (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH (P < 0,05). Os pontos são médias ± E.P.M.

5.2.5. Frequência cardíaca (f_H)

Os valores médios da frequência cardíaca (f_H - bpm) dos exemplares de *O. niloticus* dos grupos GCH e GEH são mostrados na tabela 14 e representados graficamente na figura 19.

No GCH o valor médio obtido em normóxia foi de $60,5 \pm 4,2$ bpm, o qual manteve-se aproximadamente constante até a P_{inspO_2} de 21 mmHg. Na P_{inspO_2} de 13 mmHg houve uma redução significativa da f_H para $35,0 \pm 3,2$ bpm, uma redução de 1,74 vezes em relação valores normóxicos.

O GEH apresentou, em normóxia, uma f_H de $32,8 \pm 3,4$ bpm, e manteve essa bradicardia constante em todas as demais tensões experimentais de O_2 .

Comparando-se ambos os grupos experimentais constatou-se que os valores de f_H do GEH foram significativamente mais baixos do que os valores obtidos para o GCH em todas as tensões de O_2 experimentais.

Tabela 14: Valores médios de extração de frequência cardíaca (f_H – bpm) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10) e GEH (n = 10), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{insp}O_2$ (mmHg). Os valores em negrito indicam diferença significativa no mesmo grupo experimental. * representam diferença significativas ($P < 0,05$) entre os dois grupos. Os valores são médias \pm E.P.M.

$P_{insp}O_2$ (mmHg)	f_H (bpm)	
	GCH	GEH
125	60,5 \pm 4,2	*32,8 \pm 3,4
89	60,0 \pm 4,3	*32,2 \pm 2,9
59	58,0 \pm 4,1	*31,2 \pm 2,7
38	52,9 \pm 4,8	*30,9 \pm 2,6
21	46,4 \pm 4,6	*28,0 \pm 2,6
13	34,9 \pm 3,2	*26,9 \pm 3,4

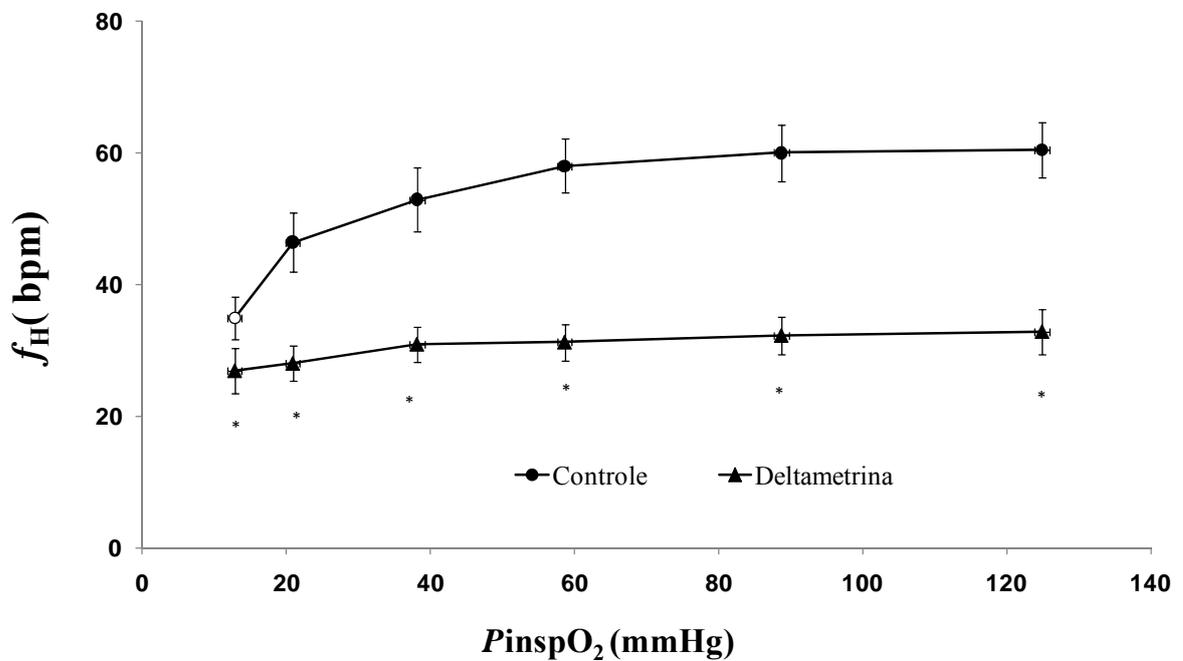


Figura 19: Valores médios de frequência cardíaca (f_H - bpm) de *O. niloticus*, dos grupos GCH (n = 10 - ●) e GEH (n = 10 - ▲), submetidos à hipóxia gradual, expressos em função da $P_{insp}O_2$ (mmHg). Os símbolos abertos indicam diferença significativa em relação aos valores obtidos em normóxia. Os * indicam diferença significativa em relação ao CGH ($P < 0,05$). Os pontos são médias \pm E.P.M.

6. DISCUSSÃO

6.1. Efeitos da deltametrina no consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) e pressão crítica de O_2 (PcO_2)

Alguns fatores como a ampla superfície de contato das brânquias com o meio externo, associado à alta lipofilidade da deltametrina, contribuem para a sensibilidade dos peixes às soluções aquosas deste composto (KAMALAVENI et al., 2003; MISHRA et al. 2005). Esses fatores permitem que a deltametrina permeie facilmente e rapidamente as brânquias. Conseqüentemente, isto gera várias alterações fisiológicas, bioquímicas, hematológicas e histológicas nesses animais (CENGIZ 2006; EL-SAYED & SAAD, 2007; PIMPÃO et al., 2007; TILAK & KUMARI, 2009)

A atividade respiratória dos peixes é, muitas vezes, a primeira função a ser afetada pela presença de contaminantes no ambiente aquático. As medições do consumo de oxigênio, portanto, fornecem importantes informações sobre o estresse causado por esses contaminantes (MCDONALD, 1983; DUBE & HOSETTI., 2010). Além disso também indicam as alterações no gasto de energia durante os processos de intoxicação e detoxificação (PROSER & BROWN, 1973; SORNARAJ et al. 2005; LOGASWAMY & REMIA, 2009)

No presente trabalho, os valores médios de $\dot{V}O_2$ obtidos para os peixes dos grupos GC (Fig. 6) e GCH até atingir a PcO_2 (Fig. 12) corroboram os dados obtidos por Thomaz et al. (2009) e Martins (2011) que encontraram valores de $\dot{V}O_2$ na ordem de $99,4 \pm 7,4 \text{ mL}O_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ e $98,0 \pm 10,8 \text{ mL}O_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, respectivamente, para a tilápia-do-Nilo em condições normóxicas. A metodologia empregada no presente trabalho foi semelhante à utilizada por estes mesmos autores, justificando a semelhança de resultados.

Nos experimentos em normóxia e hipóxia gradual, os animais expostos (GE e GEH) a dose subletal de deltametrina rapidamente apresentaram redução na $\dot{V}O_2$ (Figs. 6 e 12). Essa redução esteve associada a um expressivo aumento na produção de muco sobre as brânquias com o desencadeamento de tosses sucessivas. Nos experimentos em normóxia (grupo GC), apesar da redução imediata da $\dot{V}O_2$, ao final do período experimental esses valores foram restabelecidos a valores próximos aos iniciais (Fig. 6). Semelhante resultado foi observado por Susan et al. (2010) ao exporem *Cirrhinus mrigala* a uma concentração subletal de fenvalerato (um piretroide tipo II) a EC 20% de ingrediente ativo por 12 h. Inicialmente, Susan et al. (2010) observou uma redução no $\dot{V}O_2$ das *Cirrhinus mrigala* seguido de um

aumento ao final do experimento, mais especificamente após 8 h de exposição. Segundo Ultsch et al. (1980), essa redução na taxa metabólica não necessariamente indica uma hipóxia nos tecidos, mas possivelmente ambas devem estar relacionadas.

Distúrbios no metabolismo oxidativo levaram a alterações na $\dot{V}O_2$ em várias espécies de peixes expostas a pesticidas (SHIVAKUMAR & DAVID, 2004; LOGASWAMY & REMIA, 2009). Similares reduções na $\dot{V}O_2$ foram relatadas no ciprinídeo, *Labeo rohita*, devido intoxicação por malation (PATIL & DAVID, 2008), em tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, exposta a concentração subletal de abamectrina (AL-KAHTANI, 2011) e na carpa capim, *Ctenopharyngodon idella*, intoxicada pelo Nuvan[®], um organofosforado com atividade inseticida (TILAK & KUMARI, 2009). Ponepal et al. (2010) propuseram que os problemas respiratórios podem ser causados por secreção e deposição de muco no epitélio branquial em resposta a esses compostos. Além disso, pode haver uma redução do O_2 difundido através das brânquias, iniciando o reflexo de tosse, que é uma tentativa de limpar a superfície funcional respiratória. Adicionalmente, essa redução na $\dot{V}O_2$ também pode estar associada à irritação e danos histológicos nas brânquias causados pelo poluente (MICKIM, 1987; CENGIZ, 2006).

Segundo Suvetha et al. (2010) as brânquias dos peixes de água doce apresentam mecanismos tanto para a difusão dos gases respiratórios quanto para a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico. Provavelmente a deltametrina pode ter causado danos ao tecido branquial e, deste modo, interferido no equilíbrio eletrolítico e levado à redução na $\dot{V}O_2$ nos grupos GE e GEH. Tais alterações também foram verificadas por Cengiz (2006) com carpas comun, *Cyprinus carpio*. Este autor constatou lesões nas brânquias (descamações, necrose e aneurisma) após 24 h de exposição a doses subletais de deltametrina. Sugerindo, assim, que a deltametrina causa efeitos diretos nas brânquias, prejudicando a difusão do O_2 da corrente ventilatória para o sangue lamelar, o que pode ter causado a diminuição na $\dot{V}O_2$ dos peixes dos grupos GE e GEH no presente trabalho. Tal redução também pode estar relacionada a uma depressão metabólica, que tem por objetivo reduzir o gasto total de energia e, conseqüentemente, as necessidades de O_2 (VAN WAARDE et al., 1990; VAN GINNEKEN et al., 1995). A depressão metabólica também foi observada por Heath (1995) em peixes expostos ao Cu.

Os teleósteos também estão constantemente sujeitos a variações no O_2 dissolvido no meio aquático, o que muitas vezes pode levar a uma hipóxia ambiental. As espécies tropicais estão ainda mais sujeitas a essas oscilações e muitos trabalhos já demonstraram como a tilápia-do-Nilo responde à hipóxia ambiental (FERNANDES & RANTIN, 1989; KALININ et

al., 1999; THOMAZ et al., 2009; MARTINS et al., 2010). Segundo Fernandes e Rantin (1989), a tilápia-do-Nilo mantém uma $\dot{V}O_2$ constante até uma pressão crítica de O_2 (PcO_2) de aproximadamente 20 mmHg, abaixo da qual a $\dot{V}O_2$ torna-se dependente da PO_2 ambiental. Nesta situação, a eficiência dos mecanismos homeostáticos envolvidos na tomada de O_2 pelas brânquias e na difusão deste gás para os tecidos torna-se ineficiente (DAVIS, 1975 & STEFFENSEN, 2006).

A PcO_2 de uma espécie é determinada pelo somatório de características fisiológicas, as quais inclui a capacidade do peixe em aumentar a ventilação branquial em resposta à hipóxia ambiental (STEFFERSEN et al., 1982). Atingir a PcO_2 significa que o animal perdeu a capacidade de acionar eficientemente os ajustes fisiológicos compensatórios e passou a depender da ação de mecanismos anaeróbicos (BRIGDES, 1988; RANTIN et al., 1992).

No presente trabalho, a PcO_2 calculada para *O. niloticus* no grupo GC foi de 23,5 mmHg (Fig. 13). Semelhantes resultados foram obtidos por Delavechia (1994), que encontrou uma PcO_2 de 20 mmHg para *O. niloticus*, valor este similar ao encontrado por OTT (1980) para *Cyprinus carpio*. Comparando-se as tilápias do GCH com espécies neotropicais verifica-se similaridades entre os valores de PcO_2 . O tambaqui, *Colossoma macropomum*, apresenta uma $PcO_2 = 24$ mmHg e o curimatá, *Prochilodus lineatus*, uma $PcO_2 = 22$ mmHg (GUERRA, 1992; CORRÊA, 1996), demonstrando que todas essas espécies são bastante tolerantes à hipóxia ambiental.

Por outro lado, os peixes do GEH não apenas tiveram redução nos valores médios de $\dot{V}O_2$ em condições hipóxicas, como também aumentaram significativamente a PcO_2 de 23,5 para 31 mmHg (Fig.13), caracterizando-se, assim, que o grupo exposto à deltametrina apresentou uma redução em 24% na capacidade de manter uma $\dot{V}O_2$ constante em situações hipóxicas como podem ocorrer naturalmente no ambiente. Tal aumento na PcO_2 também foi verificado por outros autores que expuseram peixes a diversos tipos de pesticidas e/ou outros tipos de xenobióticos. Olle (2007), por exemplo, observou aumento da PcO_2 ao expôr *Brycon cephalus* a dose subletal (2 mg.L⁻¹) de metilparation, Thomaz et al., (2009) ao expôr *O.niloticus* a dose subletal (0,5mg.L⁻¹) de triclorfon e Martins et al., (2011) ao expôr *O. niloticus* a doses subletal (100µg.Kg⁻¹ de peso metabólico) de microcistina-LR.

Assim, ao considerar que o próprio xenobiótico pode levar a um quadro de hipoxemia por causar danos nas brânquias e, conseqüentemente, na difusão do O_2 para o sangue (HEATH, 1995), verificou-se no presente trabalho que a associação deltametrina/hipóxia

agravou ainda mais esse quadro. O déficit de O_2 associado aos efeitos dos xenobióticos nas brânquias acarretam num deslocamento da “cascata de O_2 ” para baixo e, como consequência, um débito no suprimento de O_2 para as mitocôndrias, causando uma situação de anaerobiose, inviabilizando o bom funcionamento dos mecanismos cardio-respiratórios compensatórios. O retorno dos peixes às condições normóxicas, contudo, aumenta a chance de reverter esse efeito (RANTIN et al., 1992), conforme observado no presente trabalhos (Fig. 6).

6.2. Ventilação branquial (\dot{V}_G), volume ventilatório (V_T), frequência respiratória (f_R).

A fim de manter a homeostasia respiratória, ou seja, gradiente de O_2 constante e adequado entre a água e o sangue, os peixes lançam mão de mecanismos compensatórios que os permitem enfrentar o déficit de O_2 imposto pela hipóxia ambiental e/ou pelo ambiente contaminado (WILSON & TAYLOR, 1993; BEAUMONT et al., 2002)

No presente trabalho, em ambas as séries de experimentos, os valores médios de \dot{V}_G em normóxia foram semelhantes aos obtidos por Thomaz et al. (2009) e Martins et al. (2011), que encontraram valores da ordem de $369,6 \pm 24,9 \text{ mLH}_2\text{O.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e $522,5 \pm 177,0 \text{ mLH}_2\text{O.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, respectivamente, para a mesma espécie.

No GC os valores médios da \dot{V}_G , do V_T e da f_R mantiveram-se constantes, não havendo alterações significativas durante todo o período experimental (Figs. 7, 8 e 9). Todavia, após exposição à deltametrina, o GE apresentou aumento significativo na \dot{V}_G , seguido de uma redução a níveis próximos ao controle somente após 9 h de exposição. O V_T , por sua vez, sofreu um aumento concomitantemente com o aumento da \dot{V}_G , enquanto que a f_R manteve-se inalterada em relação ao controle (Figs. 7, 8 e 9).

Nos experimentos em hipóxia gradual, a \dot{V}_G do grupo GCH aumentou 5,9 vezes de normóxia para a menor $P_{\text{insp}} O_2$ (13 mmHg – Fig. 14). Esse aumento da \dot{V}_G deveu-se inicialmente a um aumento de 4,4 vezes no V_T (Fig. 15), enquanto que a f_R aumentou apenas 1,3 vezes (Fig. 16). Semelhante estratégia foi utilizada pelos animais do GEH, todavia de forma mais atenuada, pois o aumento da \dot{V}_G de 2,1 vezes deveu-se a um aumento de 2,3 vezes da V_T , sem nenhuma alteração significativa da f_R . Essa diminuição na capacidade de compensação respiratória foi verificada também por Anelli et al. (2010) ao contaminar *Brycon amazonicus* com diferentes formulações comerciais de Roundup[®]. Os valores

menores de \dot{V}_G , f_R e V_T apresentados pelo grupo GEH refletem a redução na $\dot{V}O_2$ induzida pela deltametrina (Figs. 6, 12 e 13).

A hiperventilação é um dos primeiros mecanismos a serem ativados em resposta à hipóxia. Entretanto, dependendo do modo de vida do animal, morfologia bucal, câmara opercular e o próprio desempenho dos músculos ventilatórios, diferentes espécies podem responder de maneiras distintas (SPITZER et al., 1969; BALLINTIJJN, 1972).

Os teleósteos lançam mão de distintas estratégias para aumentar a \dot{V}_G , seja pelo aumento da V_T e/ou pelo da f_R . A maioria dos teleósteos submetidos à hipóxia gradual, apresentam um maior aumento do V_T do que da f_R (FERNANDES & RANTIN, 1989; SOUZA, 2001). Entretanto pode haver exceções. O trairão, *Hoplias lacerdae*, por exemplo, aumenta a \dot{V}_G com aumentos proporcionais na f_R e no V_T (RANTIN et al., 1992). No presente trabalho a tilápia-do-Nilo apresentou o mesmo padrão da maioria dos teleósteos, aumentando a \dot{V}_G com um maior aumento do V_T do que da f_R .

A maioria dos peixes apresenta um enorme potencial para aumentar a f_R . Entretanto, a V_T é a forma mais eficaz de aumentar a \dot{V}_G (JOHANSEN et al., 1967; LOMHOLT e JOHANSEN, 1979). A utilização dessa estratégia baseia-se no baixo custo para a manutenção da velocidade e constância da contração muscular, enquanto que a alta f_R é limitada pelo trabalho muscular contra a alta viscosidade da água ventilada e da própria musculatura (RANTIN et al., 1992). Mckim et al. (1987) avaliaram o efeito de várias substâncias químicas industriais em truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, e observou um significativo, rápido e contínuo aumento da V_T , com conseqüente aumento na \dot{V}_G . Esse aumento não incluiu um proporcional aumento na f_R . Resultados similares foram observados por Susan et al. (2010) ao exporem a carpa *Cirrhinus mrigala* a uma concentração subletal de fenvalerato a EC 20% de ingrediente ativo por 12 h.

Aumentos na ventilação branquial atrelados a alterações histológicas do tecido branquial foram também observado por Bradbury et al. (1986) ao avaliar o efeito agudo do fenvalerato em truta arco íris, *Oncorhynchus mykiss*. Segundo Heath (1995), quando um peixe é exposto a níveis subletais de algum xenobiótico podem ocorrer aumentos ou reduções nos parâmetros cardio-respiratórios por períodos de horas ou dias. Isto pode ser seguido por um retorno aos valores normais (controle) mesmo com uma exposição contínua, conforme observado no presente trabalho nos peixes do grupo GE.

Deér et al. (1996) expuseram carpa (*Cyprinus carpio*) a doses subletais de $0,2 \mu\text{L}^{-1}$ de deltametrina e observaram a formação de monooxigenases CYT P450-dependentes. De acordo com estes autores, estes compostos podem levar a uma rápida metabolização do inseticida. Isto poderia explicar o retorno aos níveis padrões dos parâmetros cardio-respiratórios do grupo GE ao final do período experimental. Entretanto, apesar de sua lipofilidade, a deltametrina não se bioacumula em tecidos ricos em lipídeos. A metabolização da deltametrina no fígado resulta em compostos menos tóxicos que são facilmente excretados (KALE, *et al.* 1999). Provavelmente esse processo ocorra após algumas horas, o que poderia explicar a recuperação da $\dot{V}O_2$, \dot{V}_G e V_T do grupo GE após aproximadamente 9 h de exposição à deltametrina (Figs. 6, 7 e 8).

Quando tilápia-do-Nilo foi exposta a deltametrina e hipóxia gradual (grupo GEH), o quadro de toxicidade se agravou, corroborando os dados de Lloyd (1961) que verificou que a toxicidade de vários produtos tóxicos para truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, aumentaram proporcionalmente à redução da PO_2 da água. Heath (1995) afirma que como os peixes respondem à hipóxia ambiental com uma hiperventilação, há um substancial aumento na entrada das substâncias tóxicas pelas brânquias. Hattink et al. (2005) compararam os efeitos do cádmio sob condições normóxicas e hipóxicas em carpa comum, *Cyprinus carpio*, e constataram um aumento na toxicidade deste metal em peixes em condições de hipóxia. Estes autores também relacionaram esta resposta a possíveis efeitos diretos deste metal pesado nas brânquias, causando danos no epitélio branquial e gerando um quadro de hipoxemia.

A necessidade ventilatória ($\dot{V}_G/\dot{V}O_2$) é utilizada para avaliar a eficiência das brânquias como órgão trocador de O_2 , ou seja, quantifica o volume de água que é necessário passar pelas brânquias (corrente ventilatória) para manter uma determinada $\dot{V}O_2$ (DEJOURS, 1981). Aumentos na $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ em função da redução na disponibilidade de O_2 do meio são indicativos da redução EO_2 e, conseqüentemente, uma maior quantidade de água deve passar pela superfície funcional respiratória para que a mesma quantidade de O_2 seja obtida.

A $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ do grupo GEH foi maior na $P_{\text{insp}}O_2$ de 125 mmHg (Fig. 17), mostrando uma diminuição significativa da eficiência das brânquias nas trocas gasosas de O_2 após exposição à deltametrina. Desta forma, os peixes expostos à deltametrina necessitaram ventilar uma quantidade muito maior de água para obter uma mesma quantidade de O_2 do que os peixes do grupo GCH. Isto, além de ser um indicativo de maior gasto energético para as trocas gasosas também sugere uma maior barreira à difusão do O_2 da água da corrente

ventilatória para a corrente sanguínea, ou devido à já mencionada formação de camada de muco sobre as brânquias, ou devido a danos no epitélio branquial, ou ambos os fatores. Entretanto, nas demais tensões hipóxicas as $\dot{V}_G/\dot{V}O_2$ de ambos os grupos não apresentaram diferenças significativas, o que mais uma vez reflete a diminuição na $\dot{V}O_2$ induzida pela deltametrina e, como consequência, uma redução na \dot{V}_G .

6.3. Extração de O₂ da Corrente Ventilatória (EO₂)

A EO₂ varia conforme a espécie estudada. *Oreochromis niloticus* caracteriza-se por apresentar elevados valores de EO₂, da ordem de 75 a 80% (FERNANDES & RANTIN, 1989; DELAVECHIA, 1994; KALININ, 1996). Valores semelhantes foram obtidos com tilápias-do-Nilo do grupo GC, durante todo o período experimental de 24 h, e do grupo GE na P_{inspO₂} de 125 mmHg.

Conforme a “equação fundamental da fisiologia respiratória” de Dejours (1981):

$$(\dot{V}_G/\dot{V}O_2) P_{inspO_2} \cdot EO_2 = 1$$

a ventilação branquial e/ou a extração de O₂ da corrente ventilatória (EO₂) são as responsáveis pela manutenção da tomada de O₂ constante, ou seja, quando a PO₂ do meio declina a \dot{V}_G e/ou a EO₂ devem aumentar para manter constante a $\dot{V}O_2$. Todavia, como a EO₂ é muito limitada em peixes, o aumento na \dot{V}_G é necessário para a manutenção da $\dot{V}O_2$ (KALININ, 1996).

Nos experimentos em normóxia e hipóxia, a EO₂ inicial dos peixes (GC e GCH) foram de $79,9 \pm 2,2\%$ e $77,7 \pm 2,1\%$, respectivamente. Estes valores reduziram-se significativamente após exposição à deltametrina (GE e GEH). Ao final, de ambos os protocolos experimentais esses valores retornaram aos níveis iniciais.

Reduções na EO₂ também foram observadas por Susan et al (2010) ao avaliar os efeitos de fenvalerato em três espécies de carpas (*Labeo rohita*, *Catla catla*, *Cirrhinus mriglala*). Este autor observou que esse piretróide interferiu nos movimentos branquiais afetando significativamente a EO₂ de todas as espécies estudadas.

Segundo Junk et al. (1983) e Wootton (1990), muitas espécies de peixes tropicais têm evoluído sem mecanismos especiais para lidar com condições adversas, tais como hipóxia/anóxia e apenas migram para áreas mais favoráveis, com maior fluxo de água e, conseqüentemente, de O₂ dissolvido. Outras espécies não deixam seu habitat durante períodos

de hipóxia. Simplesmente aumentam a EO_2 e/ou reduzem a demanda oxigênio através de mecanismos fisiológico e bioquímicos. Estes mecanismos incluem regulação das frações de hemoglobina, níveis intraeritrocitários, e supressão (ou depressão) metabólica, quase tudo sob controle catecolaminérgico (VAN DEN THILLART & VAN WAARDE, 1985; MILLIGAN e WOOD, 1987; PERRY & KINKEAD, 1989; NIKINMA, 1990; RANDALL, 1990; VAL et al., 1992; ALMEIDA-VAL & VAL, 1993).

6.4. Frequência cardíaca

Quando submetido à hipóxia gradual, ou apresentando um quadro de hipoxemia, a resposta cardíaca mais características dos teleósteos é o desenvolvimento de uma bradicardia reflexa que se torna mais acentuada à medida que os níveis de O_2 são reduzidos (RANTIN *et al.*, 1993). No presente trabalho, os peixes do grupo GC mantiveram um valor médio constante de f_H em torno de $62 \pm 5,4$ bpm durante as 24 h de experimentação. São similares aos obtidos por Martins et al (2011) para a mesma espécie. Os peixes do grupo GE, entretanto, mostraram uma acentuada bradicardia logo após a exposição à deltametrina (Fig. 11). Tudo indica que essa bradicardia se deu em resposta ao quadro hipoxêmico induzido pela exposição à deltametrina que desencadeou uma abundante secreção de muco sobre as brânquias e, provavelmente, danos histológicos, prejudicando a difusão do O_2 da corrente ventilatória para o sangue lamelar. A f_H deste grupo, contudo, aumentou gradativamente até atingir os valores padrões após 24 h de experimentação.

Embora o grupo GCH tenha apresentado uma bradicardia significativa abaixo da PcO_2 , o grupo GEH apresentou uma f_H constante ao longo de todas as $P_{insp}O_2$, exceto na tensão mais hipóxica. Contudo, o GEH apresentou valores de f_H significativamente mais baixos do que os do GCH, com exceção das duas $P_{insp}O_2$ mais baixas, quando os valores desta variável igualou-se nos dois grupos.

Diversos autores observaram que a hipoxemia causada por contaminantes induziram bradicardia (NEDER et al, 2005; THOMAZ, et al., 2009; SUSAN et al., 2010; MARTINS et al., 2011). Farrell (1984) sugeriu que o reflexo bradicárdico produzido pela hipóxia/hipoxemia pode ser valioso para assegurar o desempenho do coração durante a isquemia do miocárdio. De acordo com Reid et al. (2005), a bradicardia reduz a taxa de passagem do sangue através das brânquias, permitindo, deste modo, um longo período de tempo para a absorção de O_2 da água para o sangue, reduzindo o trabalho muscular. Todavia quando a tensão de O_2 na água é muito baixa, os mecanismos homeostáticos e fisiológicos dos

peixes não são capazes de manter a tensão de oxigênio no sangue aferente e o metabolismo começa a cair, o que, provavelmente, foi o que ocorreu com a tilápia-do-Nilo exposta a deltametrina no presente trabalho.

7. CONCLUSÕES

1. A tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, responde à exposição a deltametrina com uma acentuada redução na $\dot{V}O_2$ em condições de normóxia e hipóxia.

2. A redução da $\dot{V}O_2$ é sugestiva de uma deficiência na difusão de O_2 da corrente ventilatória para o sangue lamelar devido à camada de muco secretada na superfície funcional respiratória em resposta à exposição a esse piretróide. Danos morfológicos no tecido branquial, influenciando esse processo, também não são descartados.

3. Como consequência, no GE a extração de O_2 da corrente ventilatória (EO_2) também seguiu a mesma tendência da $\dot{V}O_2$ do GE, indicando um quadro de hipoxemia.

4. A hipoxemia induzida pela exposição à deltametrina é corroborada pelas respostas reflexas compensatórias cardio-respiratórias típicas desse quadro, ou seja, aumento da \dot{V}_G (hiperventilação), devido a um proporcional aumento do V_T enquanto a f_R permaneceu praticamente constante, e redução da f_H (bradicardia).

5. Os dados indicam que no GE os efeitos tóxicos iniciais da deltametrina são eliminados ao final de 24 h de exposição, quando as variáveis cardio-respiratórias retornam aos seus níveis padrões.

6. A exposição à deltametrina reduz a capacidade de oxirregulação da tilápia-do-Nilo, reduzindo a $\dot{V}O_2$ e elevando a PcO_2 dessa espécie em resposta à hipóxia gradual.

7. Como consequência, todos os parâmetros cardio-respiratórios (\dot{V}_G , V_T , f_R , EO_2 , e f_H) foram reduzidos nos peixes expostos à deltametrina e submetidos à hipóxia, indicando que a hipoxemia induzida por esse piretróide dificulta ainda mais a resposta da espécie às reduções de O_2 do meio.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNIHOTRI, N.P. Persistence of some synthetic pyrethroid insecticides in soil, water and sediment. Part I. **J. Entomol. Res.**, v. 10, p. 147-51, 1986.

ALDRIDGE, W.N. et al. The effect of DDT and the pyrethroid cismethrin and decamethrin on the acetyl choline and cyclic nucleotide content of rat brain. **Biochem. Pharmacol.**, v. 27, p. 1703-6, 1978.

AL-KAHTANI, M. Effect of an insecticide Abamectin on some biochemical characteristics of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). **Am. J. Agric. Biol. Sci.**, v. 6, n. 1, p. 62-68, 2011.

ALMEIDA-VAL, V.M.F.; VAL, A.L.; HOCHACHKA, P.W. **Hypoxia tolerance in Amazon fishes of an under-explored biological “goldmine”**. In: HOCHACHKA, P.W.; UTZ, P. L.; SICK, T.; ROSENTHAL, M.; VAN DEN THILLART, (Ed.). Surviving hypoxia: mechanisms of control and adaptation. Boca Ration, EUA: CRC Press Inc., 1993. p. 435-445.

ANELLI-JR, L.C. **Efeitos de diferentes formulações comerciais do herbicida Roundap® sobre a função cardiorespiratório de matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae)**. 2010. 92 p. Doutorado (tese) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Universidade Federal de São Carlos, 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 25 de março de 2009. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/251109.htm>>. Acesso em: 27/08/2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 61**, 17 de março de 2003. Disponível em:< http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/61_03re_3.htm > Acesso em: 27 /06/ 2009.

ARRUDA, L.F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 2004. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba-SP 2004.

ASSIS, H.C.S. et al. Biochemical Biomarkers of Exposure to Deltamethrin in Freshwater Fish, *Ancistrus multispinis*. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 52, n. 6, p. 1401-1407, 2009.

BALINT, T. et al. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorous metidation and the pyrethroid deltamethrin. **Aquat. Toxicol.** v. 33, p. 279-295, 1995.

BALLINTIJN, C.M. Efficiency, mechanics and motor control of fish respiration. **Respir. Physiol.**, v. 14, p. 125-141, 1972.

BARLOW, S.M; SULLIVAN, F.M.; LINES, J. Risk assessment of the use of deltamethrin on bednets for the prevention of malaria. **Food Chem. Toxicol.**, v. 39, p. 407-422, 2001

BEAUMONT, W.R.C. et al. A simple activity monitoring tag for fish. **Hydrobiologia**, v. 483, p. 219-224, 2002.

BOATENG, J.O. et al. Acute toxic effects of deltamethrin on tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). **WAJAE**, v. 9, p. 1–8. 2006.

BRADBURY, S.P.; COAST, J.R. Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides. **Environ. Contam. Toxicol.**, v. 108, p. 1341–1377, 1989.

BRADBURY, S.P.; COATS, J.R.; MCKIM, J.M. Toxicokinetics of fenvalerate in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 5, p. 567–576, 1986.

BRADBERRY, S.M. et al. Poisoning due to pyrethroids, **Toxicol. Rev.**, v. 24, n. 2, p. 93–106, 2005.

BRIDGES, C.R. Respiratory adaptation in intertidal fish. **Am. Zool.**, v. 28, p. 79-96, 1988.

BURTON, D.T.; JONES, A.H.; CAIRNS, J. Acute zinc toxicity to rainbow trout (*Salmo gairdneri*): confirmation of the hypothesis that death is related to tissue hypoxia. **J. Fish Res. Board Can.**, v. 29, p. 1463-1466, 1972.

BUHLER, D.R.; RASMUSSEN, M.E. The oxidation of drugs by fishes. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.25, p.223-239, 1968

BUHLER, D.R.; WANG-BUHLER, J.L. Rainbow trout cytochrome P450s: purification, molecular aspects, metabolic activity, induction and role in environmental monitoring. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 121C, p. 107-137, 1998.

BURRIDGE, L. et al. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306, n. 1-4, p. 7-23, 2008.

CALHEIROS, D.F.; OLIVEIRA, M.D.; DOLORES, E.F.G. **Poluição por pesticidas, nutrientes e material em suspensão nos rios formadores do Pantanal Mato-grossense**. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2006. 4p. (ADM – Artigo de Divulgação na Mídia, n. 096).

CARVALHO, E.D. Avaliação dos impactos da piscicultura em tanques-rede nas represas dos grandes tributários do alto Paraná (Tietê e Paranapanema): o pescado, a ictiofauna agregada e as condições limnológicas. **Relatório Científico (FAPESP)**, p. 46, 2006.

CASIDA, J.E. et al. Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 23, p. 413-438, 1983.

CASIDA, J.E.; QUISTAD G. B. **Pyrethrum flowers**: production, chemistry, toxicology and uses. New York: **Oxford University Press**, 1995. 356 p.

CASTAGNOLLI, N. **Aquicultura para o ano 2000**. Brasília: CNPq, p. 95, 1996.

CENGIZ, E.I. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 21, p. 1093-1096, 2006.

CHEN, Z.; WANG, Y. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples. **J. Chromatogr. A.**, v. 754, p. 367-395, 1996

COOKE, C.M. et al. Determination of solid-liquid partition coefficients (K-d) for diazinon, propetamphos and cis-permethrin: implications for sheep dip disposal. **Sci. Total Environ.**, v. 329, p. 197-213, 2004.

CORTELLA, L.R.X. **Estresse oxidativo em Matrinxã, Brycon amazonicus (SPIX & AGASSIZ, 1929, CHARACIDAE), exposto ao inseticida piretróide Keshet®**. Dissertação de mestrado- Programa de pós graduação em genética e evolução/UFScar, 101 p. São Carlos, SP. 2010.

CORRÊA, C.F. **Efeitos das reduções graduais do oxigênio ambiental sobre a função cardíaco-respiratória de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) (Teleostei, Serrasalminidae)**. 1996, 109 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1996.

COSTIN, D. et al.. Effect biochimice si histologice ale expunerii la deltametrin asupra branhiilor de carassius auratus gibelio. Lucrări științifice. **Zootehnie și Biotehnologii**, v. 40, n. 1, p. 65-72, 2007.

DALZELL, D.J.B. et al. Comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. **Chemosphere**, v. 47, p. 535-545, 2002.

DATTA M.; KAVIRA, J.A. Acute toxicity of the synthetic pyrethroid deltamethrin to freshwater catfish *Clarias gariepinus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 70, p. 296-299, 2003.

DAVIS, J.C. Minimal dissolved oxygen requirements of aquatic life with emphasis on Canadian species: a review. **J. Fish Res. Board. Can.**, v. 32, n. 12, p. 2295-2332, 1975.

DEÉR, K.A et al. Effects of deltamethrin on hepatic microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenases in carp. **J. Environ. Sci Health B**, v. 31, p. 637-644, 1996.

DEJOURS, P. **Principles of comparative respiratory physiology**. New York: Elsevier, 1981. 265 p.

DELAVECHA, M.L. **Respostas cardio-respiratórias da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (SCHWARTZ, 1983) as variações de oxigênio no ambiente e durante a recuperação subsequente.** 1994. 324 p. Dissertação (Doutorado em Ecologia e Recursos naturais), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1994

DEMOUTE, J.P. A brief review of the environmental fate and metabolism of pyrethroids. **Pestic Sci.**, v. 27, p. 375–385, 1989

DENHOLM, I. et al. Analisis and management of resistance to chemotherapeutants in salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda Caligidae). **Pest Manag. Sci.**, v. 58, p. 528-536, 2002.

DIAMOND, J.M.; PARSON, M.J.; GRUBER, D. Rapid detection of sublethal toxicity using fish ventilatory behavior. **Environ Toxicol Chem.**, v. 9, p. 3–11, 1990.

DUBE, P.N.; HOSETTI, B.B. Behavior surveillance and oxygen consumption in the freshwater fish *labeo rohita* (HAMILTON) exposed to sodium cyanide. **Biotechnol. Anim. Husbandry**, v. 26, p. 91-103, 2010.

EELLS, J.T. et al. Pyrethroid insecticide-induced alterations in mammalian synaptic membrane-potential. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 262, p. 1173-1181, 1992.

ELLIOTT, M.; et al. Insecticidally active conformations of pyrethroids. In: KOHN, G.K. (Ed.). Mechanism of pesticide action. American Chemical Society, Washington, DC, 1974. p. 80–91, (ACS Symposium Series, n. 2).

EL-SAYED Y.S.; SAAD T.T. Subacute Intoxication of a Deltamethrin-Based Preparation (Butox[®] 5% EC) in Monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **J. Compilat. Nordic Pharmacol. Soc. Basic & Clin. Pharmacol. & Toxicol.**, v. 102, p. 293–299, 2007.

EL SAYED, Y.D.; SAAD, T.T.; EL BAHR, S.M. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 24, p. 212–217, 2007.

EUROPEAN COUNCIL. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality intended for human consumption. **Off. J. Eur. Commun.**, L 330, 32-54, 1998.

EXTOXNET (Extension Toxicology Network). **Extension Toxicology Network Pesticide Information Profiles (PIP) for deltamethrin (1995)**. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/deltamet.htm>>. Acesso em: 20 de mai. 2009.

FARRELL, A.P. A review of cardiac performance in the teleost heart: intrinsic and humoral regulation. **Can. J. Zool.**, n. 62, p. 523-536, 1984.

FARRELL, A.P.; JONES, D. R. The heart. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; FARRELL, A.P. **Fish Physiology**, v. XII, pt A: **The Cardiovascular System**, 1992. p. 1-88.

FERREIRA, W.L.B. Inseticidas de uso domiciliar e controle de vetores de doenças. In: MARICONI, F. A. M. (Ed.). **Insetos e outros invasores de residências**. Piracicaba: FEALQ, v. 6, 1999. p. 403-452.

FERNANDES, M.N.; RANTIN, F.T. Relationships between oxygen availability and metabolic cost of breathing in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): aquacultural consequences. **Aquaculture**, v. 127, p. 339-346, 1994.

FERNANDES, M.N.; RANTIN, F.T. Respiratory responses of *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) to environmental hypoxia under different thermal conditions, **J. Fish. Biol.**, v. 35, p. 509-519. 1989.

GALLI, L. F.; TORLONI, C.E.C. **Criação de peixes**. São Paulo: Livraria Nobel, 1999.

GLASS, M.L. et al. Cardio-respiratory synchronization and myocardial function in hypoxic carp, *Cyprinus carpio*. L. **J. Fish. Biol.**, v. 39, p. 142-149, 1991.

GOKÇAY, A.; HUSÇAY, A.M. Immunochemical approaches to studies of CYP1A localization and induction by xenobiotics in fish. In, **Fish Ecotoxicology**: Norway: Ed. T. BRAUNBECK; D, 1998, p. 165-202.

GOLOW, A.A.; GODZI, T.A. Acute toxicity of deltamethrin and dieldrin to *Oreochromis niloticus* (LIN). **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 52, p. 351-354, 1994.

GUERRA, C.D.R. Respostas cardio-respiratórias de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), às variações de oxigênio e durante a recuperação subsequente. 1992. 114 p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós- Graduação em Ecologia e Recursos naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1992.

HALPERT, J.R. Structural basis of selective cytochrome P450 inhibition. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 35, p. 29-53, 1995.

HATTINK, J.; DE BOECK, G.; BLUST, R. The toxicokinetics of cadmium in carp under normoxic and hypoxic conditions. **Aquatic. toxicol.**, v. 75, n. 1, p. 1-15, 2005.

HAYA, K. Toxicity of Pyrethroid insecticides to fish. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 8, p. 381-391, 1989.

HEATH, A.G. **Water Pollution and Fish Physiology**. 2. ed. Florida: Boca Raton, 1995. 359p

HERVÉ J.J. **El modo de acción de los piretroides y el problema dela resistencia a estos compuestos**. Paris: Nominé G (ed). Deltametrin Monografía. Roussel-Uclaf, 1983. p.67-107.

HIEDER, A.F. et al. Introduction of cytochrome P450 2B1 by pyrethroids in primary rat hepatocyte cultures. **Biochem. Pharmacol.** v. 62, p. 71-79, 2001

IVERSEN, K.I.; MCKENZIE, D. J.; MALTE, H.; WANG T. Reflex bradycardia does not influence oxygen consumption during hypoxia in the European eel (*Anguilla anguilla*). **J. Comp. Physiol. B**, v. 180, p. 495–502, 2010.

JOHANSEN, K.; LENFANT, C.; GRIGG, G.C. Respiratory control in lungfish. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 20A, p. 835-854, 1967

JOHNSON, R.M. et al. Mediation of Pyrethroid Insecticide Toxicity to Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) by Cytochrome P450 Monooxygenases. **J. Econom. Entomol.**, v. 99, n. 4, p. 1046-1050. 2006.

JONES O.T. & LEE A.G. Effects of pyrethroids on the activity of a purified (Ca^{2+} - Mg^{2+}) – ATPase. *Pest. Bioch. Phys.*, v. 25, n.3, p. 420-430. 1986.

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T. R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de norteamérica. **Panorama Acuícola**, v. 5, n. 5, p. 50-53, 2000

JUNK, W.J.; SOARES, G.M.; CARVALHO, F.M. Distribution of fish in lake of the Amazon river floodplain near Manaus (Lago Camaleão), with special reference to extreme oxygen conditions. **Amazoniana**, v. 4, p. 397-431, 1983.

KALE, M. et al. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rats erythrocytes as possible involvement of reactive oxygen species. **Toxicol.**, v. 105, p. 197- 205, 1999.

KALININ, A.L. **Função respiratória de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em diferente condições de O₂ ambiental: tomada de O₂ branquial e cutânea, medidas diretas e determinações indiretas dos parâmetros ventilatórios.** 1996. 101p. Tese de doutorado – Programa de Pós – Graduação em Ecologia e Recursos Naturais/UFSCar, São Carlos, SP. 1996.

KALININ, A.L.; GLASS, M.L.; RANTIN, F.T. A comparison of directly measured and estimated gill ventilation in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 122A, p. 207-211, 1999.

KAMALAVENI, K; et al. Recycling and utilization of metabolic wastes for energy production is an index of biochemical adaptation of fish under environmental pollution stress. **Environ. Monit. Assess.**, v. 86, p. 255–264, 2003.

KÖPRÜCÜ, K.; AYDIN, R. The toxic effects of pyrethroid deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio L.*) embryos and larvae. **Pest. Biochem. Physiol.**, v. 80 p. 47-53, 2004.

KUMAR, S.; LATA, S.; GOPAL, K. Deltamethrin induced physiological changes in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v.62, p.254–258, 1999.

LASKOWSKI, D.A. Physical and chemical properties of pyrethroids. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v.174, p.49-170, 2002.

LAWRENCE, L.J.; CASIDA, J.E. Pyrethroid toxicology: mouse intracerebral structure–toxicity relationships. **Pestic. Biochem. Physiol.** v.18, p. 9–14, 1982.

LEITÃO, M.E.S. et al. The liver monooxygenase system of Brazilian freshwater fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.121C, p.29-38, 2000.

LLOYD, R. Effect of dissolved oxygen concentration on the toxicity of several poisons to Rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson), **J. Exp. Biol.**, v.38, p. 447–455, 1961.

LOMHOLT J.P.; JOHANSEN, K. Hypoxia acclimation in carp: how it affects oxygen uptake, ventilation and oxygen extraction from water. **Physiol. Zool.**, v.52, p.38-49, 1979.

LOGASWAMY, S. e K.M. REMIA. Impact of Cypermethrin and Ekalux on respiratory and some biochemical activities of a fresh water fish, *Tilapia Mossambica*. **Current Biotica**, v.3, p.65-73, 2009

MACDONALD, R.L; OLSEN, R.W. Gaba_A receptor channels. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 17, p.569-602, 1994.

MADUENHO, L.P. **Parâmetros morfo-funcionais de *Prochilodus lineatus* após exposição aguda ao inseticida Dimilin®**. 2007. 68p. Dissertação de mestrado-Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/ UEL, Londrina, 2007.

MARTINS, N.D. et al. Microcystin-LR: How it affects the cardio-respiratory responses to hypoxia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**. v. 84, p. 154-159, 2011.

MCDONALD, D.G. The effects of H⁺ on the gills of freshwater fish. **Can. J. Zool.**, v.61, p. 691–702, 1983.

MCKIM, J.M., BRADBURY, S.P., NIEMI, G.J. Fish acute toxicity syndromes and their use in the QSAR approach to hazard assessment. **Environ. Health Perspect.**, v.71, p.171–186, 1987.

MILLIGAN, C.L; WOOD, C.M. Regulation of blood oxygen transport and red cell pH after exhaustive activity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and starry flounder (*Platichthys stellatus*). **J. Exp. Biol.**, 133: 263–282, 1987.

MILAM, C.D.; FARRIS, J.L.; WILHIDE, J.D. Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** n.39, p.324–328, 2000.

MILSOM, W.K. et al. Chemoreceptor control of cardiovascular reflexes. **In: Biology of tropical fishes**. Manaus: Ed: L. Val, V.M.F; ALMEIDA – Val, editor do INPA, 1999, p. 363-374.

MISHRA D.; SRIVASTAV, S.K.; SRIVASTAV, A.K. The effects of a synthetic pyrethroid pesticide cypermethrin on plasma calcium and ultimobranchial gland of a teleost, *Heteropneustes fossilis*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.60, n. 2, p.193-197, 2005.

MESTRES, R.; MESTRES, G. Deltamethrin: uses and environmental safety. **Rev. Environ. Contamin. Toxicol.**, v. 124, p. 1-18, 1992.

MORAES, R. et al Pesticide residues in rivers of a Brazilian rain forest reserve: assessing potential concern for effects on aquatic life and human health. **AMBIO.**, v.32, n. 4, p.258-263, Jun 2003.

NARAHASHI, T. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. **Neurot.**, v.6, p.3 –22, 1985.

NARAHASHI, T. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. **Pharmacol. Toxicol.**, v.78, p.1–14, 1996.

NASUTI, C. et al. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. **Toxicology**, v.191, n. 2, p.233-244, 2003.

NEDER, L.Z.; et al. Parâmetros hematológicos e cardio-respiratórios de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) frente à exposição ao sulfato de cobre. In: REUNIÃO ANUAL DA FESBE, 20., CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA, 15., 2005. **Resumos...** São Paulo: FeSBE, 2005. v. 43. p. 32-32.

NIKINMA, M. **Vertebrate red blood cells**: adaptations of function to respiratory requirements. Berlin: Springer-Verlag, 1990. 262 p.

OLLE, C.D. **Efeito do inseticida organofosforado metilparation (Folisuper 600 BR[®]) sobre a função cardio-respiratória do peixe teleósteio matrinxã, *Brycon cephalus***. 2007. 130 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos, 2007.

OTT, M.E.; HEISLER, N.; ULTSCH, G.R. Re-evaluation of the relationship between temperature and the critical oxygen tension in freshwater fishes. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 67A, p. 337-340, 1980.

PATIL, VK e DAVID, M. Behaviour and Respiratory dysfunction as an index of Malathion Toxicity in the freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton). **Turk. J. Fish. Aquatic Sci.**, v.8, p.233-237, 2008.

PERRY, S.F e KINKEAD, R. The role of catecholamines in regulating arterial oxygen content during acute hypercarbic acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Resp. Physiol.**, v.77, p.365-378, 1989.

PIMPÃO, C.T.; ZAMPRONIO, A.R.; SILVA DE ASSIS H.C. Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). **Pestic. Biochem. Physiol.**, v. 88, p. 122-127, 2007.

PONEPAL, M.C. et al. Research on the changes of some physiological parameters in several fish species under the action of the talstar insecticide. **Analele Univ. Oradea – Fasc. Biol.**, v.17, n.1, p. 175-179, 2010.

PROENÇA, C.E.M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994. 196p

PROSER, C.L. BROWN, F.A. **Comparative animal**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunder Company, 1973. p. 966.

QUABIUS, E.S. et al. The influence of polychlorinated biphenyl 126 on tilapia (*Oreochromis mossambicus*) liver. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 120A, p. 57-63, 1998.

RAFINEJAD, J., et al. Effect of washing on the bioefficacy of insecticide-treated nets (ITNs) and long-lasting insecticidal nets (LLINs) against main malaria vector *Anopheles stephensi* by three bioassay methods. **J. Vector Borne Dis** **45**, p. 143–150, 2008

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. Introduction. In: RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R., (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**, New York: Hemisphere, 1985. p.1-28.

RANDALL, D.J. Control and coordination of gas exchange in water breathers. **Adv. Comp. Environ. Physiol.**, v. 6, p.253–278, 1990.

RANTIN, F.T.; MARINS, M.A. Como os teleósteos respondem à hipóxia ambiental - uma revisão. **An. Simp. Bras. Aquicul.**, v. 3, p.673-692, 1984.

RANTIN, F.T. et al. Respiratory responses to hypoxia in relation to mode of life of two erythrinid species (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*). **J. Fish. Biol.**, v. 41, p. 805-812, 1992.

RANTIN, F.T. Effects of environment oxygen changes on cardio-respiratory function in fish. In: BICUDO, J. E. P. W. (Ed.). **The vertebrate gas transport cascade: adaptations to environment and mode life**. Florida: Boca Rato, 1993. 376 p.

RANTIN, F.T. et al. Cardio-respiratory responses in two ecologically distinct erythrinids (*Hoplias malabaricus* e *Hoplias lacerdae*) exposed to graded environmental hypoxia. **Environ. Biol. Fish.**, v. 36, p.93-97, 1993.

RANTIN, F.T. et al. The influence of aquatic surface respiration (ASR) on cardio-respiratory function of the serrasalmid fish *Piaractus mesopotamicus*. **Comp.Biochem. Physiol., A**, v. 119, p.991– 997, 1998.

RAY D.E.; FRY J.R. A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. **Pharmacol. & Ther.**, v. 111, n. 1, p.174-193, July 2006

RAY, D.E.; FORSHAW, P.J. Pyrethroi insecticides: poisoning syndromes, synergies and therapy. **J. Clin. Toxicol.**, v. 38, p.95-101,2000.

REID, S.G.; SUNDIN, L.; MILSOM, W.K. The Cardiorespiratory System in Tropical Fishes: Structure, function, and Control. **Fish Physiology**, v. 21, p.225-275, 2005

REIGART, J.R.; ROBERTS, J.R. **Recognition and Management of Pesticide Poisonings**, 5.ed. Washington: EPA (Environmental Protection Agency), 1999. 236 p.

RIPLEY, B.D. et al. Pyrethroid insecticide residues on vegetable crops. **Pest. Manag. Sci.**, v. 57, n.8, p.683- 687, 2001.

RISSATO, S.R. et al. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). **Química Nova**, v. 27, p. 739-743, 2004.

RIVIERE, J. L. e CABANNE, F. Animal and plant cytochrome P450 systems. **Biochimie**, v. 69, p. 743-752, 1987.

SHAFER, T.J.; MEYER, D.A.; CROFTON, K.M. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: critical review and future research needs. **Environ. Health Perspec.**, v.113, p. 123–136, 2005.

SHIVAKUMAR, R.; DAVID, M. Toxicity of endosulfan to the freshwater fish, *Cyprinus carpio*. **Ind. J. Ecol.**, v. 31, p. 27-29, 2004.

SKIDMORE, J.F. Toxicity of zinc compounds to aquatic animals with special reference to fish, **Q. Rev. Biol.**, v. 39, p. 227-248, 1964.

SMITH T.M.; TRATTON G.W. Effects of synthetic pyrethroid insecticides on nontarget organisms. **Res. Rev.**, v.97, p.93-119, 1986.

SODERLUND D.M. et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v.171, p.3-59, 2002.

SODERLUND D.M. e BLOOMQUIST, J.R. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 34, p. 77–96, 1989.

SORNARAJ, R. et al. Pesticidal stress influenced respiratory alterations in the fresh water fish, *Mystus vittatus*. Indian. **J. Environ. Ecoplan.**, v.10, p. 803-806, 2005

SOUZA, R.H.S. et al. Ventilation , gill perfusion and blood gases in dourado, *salminus maxillosus* Valenciennes (teleostei, Characidae, exposed to graded hypoxia. **J. Comp. Physiol. B**, v. 171, n.6, 483- 489, 2001.

SPENCER C.I. et al. Actions of Pyrethroid Insecticides on Sodium Currents, Action Potentials, and Contractile Rhythm in Isolated Mammalian ventricular myocytes and perfused hearts. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.298, n.3, p.1067–1082, 2001

SPITZER, K.W.; MARVIN, D.E.; HEATH, A.G. The effect of temperature on the respiratory and cardiac responses of bluegill sunfish to hypoxia. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.30, p.83-90, 1969.

STEFFENSEN, J.F. Oxygen consumption of fish exposed to hypoxia. Are they all oxyregulators or are any oxyconformers? **Fish Physiology, toxicology, and Water Quality**. U.S. Environmental Protection Agency. INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 9., 2006. Capri Italy, 2005. p 239-250.

STEFFENSEN J.F.; LOMHOLT, J.P.; JOHANSEN, K. Gill ventilation and O₂ extraction during graded hypoxia in two ecologically distinct species of flatfish, the flounder (*Platichthys flesus*) and the plaice (*Pleuronectes platessa*). **Env. Biol. Fish.** v. 7. p.157-163, 1982.

STEGEMAN, J.J.; LECH, J.J. Cytochrome P450 monooxygenase system in aquatic species: Carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. **Environ Health Perspec.**, v. 90, p.101-109, 1991.

STEGEMAN, J.J. Cytochrome P450 form in fish: catalytic, immunological and sequence similarities. **Xenobiotica**, v.19, p.1093-1110, 1989.

SUNDIN, L.I. et al. Branchial receptors and cardiorespiratory reflexes in a Neotropical fish, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). **J. Exp. Biol.**, v. 203, p.1235-1239, 2000.

SUSAN, T.A.; SOBHA, K.; TILAK, K.S. A study on acute toxicity , oxygen consumption and behavioural changes in the three major Carps, *Labeo rohita* (ham), *Catla catla* (ham) and *Cirrhinus mrigala* (ham) exposed to Fenvalerate. **Biores. Bull.**, v.1, p.33-40, 2010.

SUVETHA, L.; RAMESH, M.; SARAVANAN. M. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v.29, p 44–49, 2010.

THOMAZ, J.M et al. Cardio-respiratory function and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia exposed to the organophosphate insecticide trichlorfon (NEGUVON[®]). **Ecotoxicol. Env. Saf.**, v.72, p. 1413-1424, 2009.

TILAK K.S; SATYAVARDHAN K. Effect of fenvalerate on oxygen consumption and haematological parameters in the fish, *Channa punctatus* (Bloch). **J. Aquatic Biol.**, v.17, p. 81-86, 2002.

TILAK S.; KUMARI, R.S. Atoxicity of Nuvan[®], an Organophosphate to idella and its effect on oxygen consumption. **J. Env. Biol.**, v.30, n.6, p. 1031- 1033, 2009.

TOMITA, R.Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **O Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.135-142, jul./dez., 2002

TOMLIN, C. **World the pesticide manual: incorporating the agrochemicals handbook**. 10.ed. Cambridge: Bristsh crop Protection Council ; Royal Society of Chemmistry, 1995. 1341p

ULTSCH, G.R.; OTT, M.E.; HEISLER, N. Standard metabolic rate, critical oxygen tension, and aerobic scope for spontaneous activity for trout (*Salmo gairdneri*) and carp (*Cyprinus carpio*) in acidified water. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v.67, p.329–335, 1980.

URAL, M.S e SAĞLAM. A study on the acute toxicity of pyrethroid deltamethrin on the fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). **Pest. Biochem. Physiol.**, v. 83, p.124–131, 2005.

VAL, A.L.; AFFONSO, E.G.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. Adaptative features of Amazon fishes. Blood characteristics of curimata (*Prochilodus cf. nigricans*, Osteichthyes). **Physiol. Zool.**, v.65, n. 832–843,1992

VAN GINNEKEN, V. et al. Fish muscle energy metabolism measured during hypoxia and recovery: an in vivo P-NMR study. **Am. J. Physiol.**, v. 268, n.5, p. 1178– 1187, 1995.

VAN DEN THILLART, G. e VAN WAARDE, A. Teleosts in hypoxia: aspects of anaerobic metabolism, **Mol. Physiol.**, v. 8, p. 393–409, 1985.

VAN WAARDE, A. et al. Functional coupling of glycolysis and phosphocreatine utilization in anoxic fish muscle. An in vivo P-NMR study. **J. Biol. Chem.**, v.265, p.914– 923, 1990.

VELISEK, J. et al. Effect of deltamethrin on the biochemical profile of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Bull. Environ. Contamin. Toxicol.**, v.76, p.992-998, 2006.

VERSCOYLE, R.D.; ALDRIDGE, W.N. Structureactivity relationships of some pyrethroids in rats. **Arch. Toxicol.**, v.45, p.325-329, 1980.

VIRAN, R.L. et al. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies(*poecilia reticulata*). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.55, p.82-85, 2003.

WEI, Y.; DU, J.W. Sublethal effects of larval treatment with deltamethrin on moth sex pheromone communication system of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*, **Pest Biochem. Physiol.**, v. 80, n. 1, p. 12-20, September 2004.

WILSON, R.W.; TAYLOR, E.W. The physiology responses of freshwater rainbow trout, *oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure. **J. Comp. Physiol. b**, v.163, p. 38-47, 1993.

WISEMAN, W.A. et al. The cost-effectiveness of permethrin-treated bed nets in an area of intense malaria transmission in Western Kenya. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, n. 68, p. 161–167, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Deltamethrin, Environmental Health Criteria 97**. Geneva: World Health Organization, Geneva, 1990. p. 133.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) – Guías para La calidad del agua potable. V.1 Recomendaciones. 2.ed., Geneva, 1995.

WOOTTON, R.J. “Ecology of Teleost Fishes.” Chapman & Hall, New York. Perry, S. F. and Kinkead, R. (1989). The role of catecholamines in regulating arterial oxygen content during hypercapnic acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Respir. Physiol.**, v.77, p.365–378, 1990.

YILDIRIM, M.Z. et al. Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. **Environ. Toxicol.**, v. 21, p.614–620, 2006.