

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

Parâmetros Hematológicos e Características Histológicas em Brânquia, Fígado e
Rim de tilápia *Oreochromis niloticus* expostos a Lambda-Cialotrina

André Luiz do Nascimento Silva

Campo Grande – MS

2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

Parâmetros Hematológicos e Características Histológicas em Brânquia, Fígado e Rim de tilápia *Oreochromis niloticus* expostos a Lambda-Cialotrina

André Luiz do Nascimento Silva

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2022



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

ANDRÉ LUIZ DO NASCIMENTO SILVA

**Parâmetros hematológicos e características histológicas em brânquia, fígado e rim
de tilápia**

***Oreochromis niloticus* expostos a lambda-cialotrina**

**Hematological and histological features in gills, liver and kidney in Nile tilapia
(*Oreochromis niloticus*) exposed to Lambda-Cyhalothrin**

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 27-01-2022

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes

(UFMS) – (Presidente)

Dra. Cristiane Fatima Meldau de Campos Amaral

(UEMS)

Dr. Gilberto Gonçalves Facco

(UNIDERP)

Dr. Klaus Casaro Saturnino

(UFJ)

Dr. Robson Andrade Rodrigues

(UFSC)



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Eurico dos Santos Fernandes, Professor do Magistério Superior**, em 27/01/2022, às 13:34, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Robson Andrade Rodrigues, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 14:14, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Gilberto Gonçalves Facco, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 15:41, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Fátima Meldau de Campos Amaral, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 18:49, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Klaus Casaro Saturnino, Usuário Externo**, em 01/02/2022, às 20:12, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3057333** e o código CRC **66C3A3DA**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº – Cidade Universitária

CEP 79070-900 – Campo Grande – MS

AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo.

Aos meus pais, Nelson Seles Silva e Maria Eronita do Nascimento, pelo amor, presença, confiança e dedicação.

Ao meu irmão, Bruno do Nascimento Medeiros, que sempre me apoiou a cada decisão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes, pela orientação na elaboração desta tese, amizade, confiança e pela oportunidade recebida.

A equipe do Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX) pelo auxílio durante as atividades experimentais.

Ao grupo de pesquisa AquiMS (UFMS) pelo auxílio e fornecimento dos animais para estudo.

A UFMS, pela disponibilidade de ensinamentos e lições de vida, que vou levar por toda minha formação profissional.

A banca avaliadora, pelos ensinamentos transmitidos e disponibilidade para avaliação e correção deste trabalho.

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT/CAPES nº 03/2017 - Protocolo: 37930.564.21066.11082017) pelo suporte financeiro para a realização do estudo.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana” (Jung)

Resumo

SILVA, A. L. N. Parâmetros hematológicos e características histológicas em brânquia, fígado e rim de tilápia *Oreochromis niloticus* expostos a lambda-cialotrina. Ano 2022. 82f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

A piscicultura vem crescendo a passos largos no país, e atrelado a esse desenvolvimento, são inseridos novas alternativas e recursos com objetivo de reduzir custos e melhorar o desempenho zootécnico dos animais. Um dos manejos comuns em sistemas intensivos é aplicação de pesticidas como tratamento quimioterápico para o controle de ectoparasitos de peixes, porém são escassos o conhecimento sobre os efeitos tóxicos no meio aquático e, principalmente, os efeitos em peixes destinados ao consumo. Nesse contexto, o presente estudo avaliou as respostas osmorregulatórias, o perfil enzimático e alterações histológicas em brânquias, fígado e rim de *Oreochromis niloticus* expostas ao inseticida Lambda-cialotrina (LCT), na concentração de 1, 24 $\mu\text{g L}^{-1}$, em períodos agudo e crônico. Foram avaliados os valores séricos de Na^{2+} , K^{+} , Cl^{-} , Ca^{2+} , pH, lactato, H^{+} , HCO_3 e glicose junto aos níveis de alterações teciduais (NAT) em 24, 96, 168 e 240 h pós-exposição (hpe). A lambda-cialotrina afetou a função motora neural em 24 hpe, seguida pelo aumento dos níveis de K^{+} , Ca^{2+} , H^{+} e glicose nos grupos expostos, em comparação aos controles. Os níveis de lactato e H^{+} nos grupos expostos foram superiores aos respectivos grupos controle em 168 e 240 hpe. Os níveis de HCO_3 e Cl^{-} aumentaram em 240 hpe, embora não tenha havido alteração nos valores do pH. O NAT foi maior em peixes tratados do que em peixes controle, mas não houve diferenças significativas em comparação aos tempos de exposição, no primeiro artigo. E, posteriormente, novas tilápias (n=30) foram sujeitas a três períodos de exposição: 72, 168 e 336 hpe e 30 espécimes expostos ao inseticida, foram separados para recuperação, com objetivo de verificar o efeito subletal do produto em cada tratamento e a capacidade de recuperação. Para avaliação do perfil enzimático analisados as enzimas aspartato transferase (AST), alanina transferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT), e os achados histológicos foram classificados conforme a gravidade e a intensidade das lesões através do NAT (níveis de alteração tecidual). Houve redução nos níveis séricos de AST, em contrapartida, os valores de ALT aumentaram conforme o tempo de exposição às 72h. A GGT apesar de aumentar no período de 168 hpe, não houve diferença significativa entre os grupos controle, expostos e recuperação ($P < 0,05$). Após os ensaios os peixes apresentaram diversas alterações teciduais. No fígado, observaram-se degenerações difusas dos hepatócitos, acúmulo lipofuscina e necrose. Nas brânquias, fusão lamelar completa, ruptura epitelial e necrose das células epiteliais; no rim, foram elencados processos degenerativos tubular, inclusões hialinas e hipertrofia nas células tubulares nas amostras dos rins. A análise histológica revelou alterações em todos os tecidos estudados, indicando efeitos tóxicos em tilápias expostas a concentrações subletais de LCT. Os achados demonstraram correlação direta entre a exposição a cialotrina e distúrbios observados no sangue e em muitos tecidos.

Palavras-chave: Biomarcadores enzimáticos, toxicologia, piretróides.

Abstract

SILVA, A. L. N. Hematological parameters and histological characteristics in gill, liver and kidney of tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to lambda-cyhalothrin. Ano 2022. 82f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

Fish farming has been growing at great strides in the country, and linked to this development, new alternatives and resources are introduced with the objective of reducing costs and improving the zootechnical performance of the animals. One of the common managements in intensive systems is the application of pesticides as chemotherapy treatment for the control of fish ectoparasites, however, there is little knowledge about the toxic effects in the aquatic environment and mainly in fish destined for consumption. In this context, the present study evaluated the osmoregulatory responses, the enzymatic profile and histological alterations in the gill, liver and kidney of *Oreochromis niloticus* exposed to the insecticide Lambda-cyhalothrin (LCT), at a concentration of $1.24 \mu\text{g L}^{-1}$, in acute and chronic periods. The mean serum values for Na^{2+} , K^{+} , Cl^{-} , Ca^{2+} , pH, lactate, H^{+} , HCO_3 , and glucose along to degree of tissue change (DTC) at 24, 96, 168, and 240 h post-exposure (hpe) were evaluated. Lambda-cyhalothrin affected the neuronal motor function at 24 hpe, followed by the increase of the K^{+} , Ca^{2+} , H^{+} , and glucose levels in the exposed group, compared to the control group. Lactate and H^{+} levels in the exposed group were higher than those in the control group at 168 and 240 hpe respectively. HCO_3 and Cl^{-} levels increased at 240 hpe, although there was no change in the pH values. DTC was higher in treated fish than in control fish, but there were no significant differences among time-exposure, in the first article. And later, new tilapias (n=30) were subjected to three exposure periods: 72, 168 and 336 hpe (post-exposure hours) and 30 specimens exposed were separated for recovery, in order to verify the sublethal effect of the product on each treatment and the recovery capacity. For evaluation of the enzymatic profile, was analyzed the enzymes aspartate transferase (AST), alanine transferase (ALT) and gamma glutamyl transferase (GGT), and histological findings were classified according to the severity and intensity of lesions through DTC (degree of tissue change). There was a reduction in serum AST levels, on the other hand, ALT values increased with the exposure time at 72h. The GGT, despite increasing in the period of 168 hpe, there was no significant difference between the control, exposed and recovery groups ($P < 0.05$). After the assays, the fishes presented important severe tissue. In the liver, changes were observed diffuse degeneration in hepatocytes, lipofuscin accumulation and necrosis; in the gills, complete lamellar fusion, epithelial rupture and epithelial cell necrosis; in the kidney, were enlisted tubular degenerative processes, hyaline inclusions and tubular hypertrophy in cells of kidney samples. Histological analysis revealed alterations in all tissues studied, indicating toxic effects on tilapia exposed to sub-lethal concentrations of LCT. The findings demonstrated a direct correlation between exposure to cyhalothrin and observed disturbances in blood and tissues.

Keywords: Enzymatic biomarkers, toxicology, pyrethroids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Registro de tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) durante a biometria	15
Figura 2. A) Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) com quadro de bacteriose. B) Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) com saprolegniose. C) Ergasilus em brânquias. D) Infestação de <i>Argulus</i>	17
Figura 3. Coleta de tecidos em tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>). 1) Rim; 2) Baço; 3) Vesícula biliar; 4) Fígado; 5) Brânquias; 6) Coração; 7) Estômago; 8) Gônadas; 9) Intestino.....	17
Figura 4. Estrutura molecular do composto cialotrina (C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃).....	21
Figura 5. Sugestão de diagnóstico para peixes com aumento na atividade da ALT sérica/plasmática	22
Figura 6. Amostra de fígado de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) demonstrando a distribuição cordonal dos hepatócitos. Coloração: HE, escala: 100µm.....	23
Figura 7. Amostra de tecido branquial de tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> . A) Tecido normal de um espécime em ambiente livre de contaminantes. Escala: 100 µm. B) Espaços entre as lamelas secundárias bem definidas (LS); Eritrócitos (E). Escala: 50 µm.....	24
Figura 8. Ilustração do mecanismo de osmorregulação em tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	25
Figura 9. A) Localização anatômica do rim na tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>). B) Tecido renal da tilápia apresentando formato em Y	25

Artigo I. Perfil osmorregulatório e alterações histológicas em brânquias de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas à lambda-cialotrina.

Figura 1. Taxa de mortalidade em *Oreochromis niloticus* expostos a diferentes concentrações de lambda-cialotrina e respectiva curva para o cálculo da CL50 96h (IC 95% 7,3 – 15,1 µg L⁻¹)

Figura 2. Perfil sérico do sódio, potássio, cloreto e cálcio em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina (0,86 µg L⁻¹) em diferentes períodos. *, P<0.05 entre controle (caixas

brancas) e expostos (caixas cinzas); letras distintas entre expostos representam diferença significativa ($P < 0.05$)..... 52

Figura 3. Índices de pH e perfil sérico do lactato, hidrogênio, bicarbonato e glicose em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. *, $P < 0,05$ entre controle (caixas brancas) e expostos (caixas cinzas); letras distintas entre expostos representam diferença significativa 53

Figura 4. Perfil da Acetilcolinesterase em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. C, Controle. *, $P < 0,05$ entre controle (caixas brancas) e exposto (caixas cinzas) 54

Figura 5. Níveis de alterações histológicas (NAT) branquiais em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. *, $P < 0,05$ entre controle (caixas brancas) e exposto (caixas cinzas)..... 54

Figura 6. Diagrama de ordenação mostrando os resultados do escalonamento dimensional não métrico realizado com uma matriz de distância de Gower calculada a partir do escore de importância histopatológica (w1: facilmente reversível; w2: alterações moderadas com provável recuperação após o término da exposição e w3: alterações irreversíveis) em *Oreochromis niloticus* exposto a lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) após diferentes períodos de tempo..... 55

Figura 7. Cortes histológicos de brânquia corados com HE de *Oreochromis niloticus* expostos a $0,86 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina. (A) tecido normal de uma amostra controle 24 h após-exposição (hpe); camada de células epiteliais estratificadas constitui a lamela primária (ec), vasos sanguíneos (bv), tecido cartilaginoso (ct), célula muco (mc), células pilares (pc), célula de cloreto (cc), eritrócito (e) dentro do capilar vaso da lamela secundária. Escala de barra = $50 \mu\text{m}$. (B) proliferação focal lamelar do epitélio com fusão da lamela secundária (ponta de seta) observada em 24 hpe. Escala de barra = $100 \mu\text{m}$. (C) infiltração intensa de células granulocíticas eosinofílicas (EGC) entre o epitélio lamelar, lamelas secundárias abaixo do seio venoso central (cvs) da lamela primária estão intactas, apesar da gravidade da proliferação lamelar epitelial em 96 hpe. (D) fusão lamelar severa com dissociação focal de células epiteliais (asterisco), processo proliferativo inicial de células muco (ponta de seta) associado a leve formação de tecido fibroso (seta branca) em 96 hpe. Escala de barra = $50 \mu\text{m}$. (E) (F) e (G) um aspecto típico de células de muco caracterizadas pela produção de mucinas ácidas (F) e neutras (G). Hiperplasia de células muco (ponta de seta) e hipertrofia

(seta) são observadas em 168 hpe. Amostra corada por HE (E), ácido periódico-Schiff (PAS; F) e método de alcian blue (AB; G). Escala de barra = 50 μm . (H) hipertrofia de células muco (seta branca) em resposta à infiltração de células granulocíticas eosinofílicas (seta preta); em algumas seções, as células rodlet (ponta de seta) apareceram em uma fileira formando uma camada externa no epitélio da lamela primária; em 168 hpe. Escala de barra = 50 μm . (I) baixa ampliação de um conjunto de lamelas primárias mostrando aneurismas vasculares difusamente distribuídos ao longo da proliferação epitelial lamelar (asterisco). (J) em detalhes, um aneurisma no interior de capilares de lamelas secundárias próximo à necrose de células epiteliais lamelares (ponta de seta), observada em 240 hpe. Escala de barra = 100 μm . (K) ruptura extensa de lamelas secundárias entre a necrose de células epiteliais (asterisco) em uma seção de lamelas primárias em amostra de 240 hpe..... **56**

Artigo II. Análise bioquímica e histopatológica de brânquia, fígado e rim de tilápias-do-Nilo *Oreochromis niloticus* expostas a lambda-cialotrina.

Figura 1. Efeitos da lambda-cialotrina ($1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$) nas enzimas Aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT) e Gama glutamil transpeptidase (GGT) em *Oreochromis niloticus* em diferentes períodos de exposição (72h, 168h e 336h) e 15 dias em ambiente livre de contaminantes (Recuperados). Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$)..... **66**

Figura 2. Secções histológica da brânquia corada em HE, de *Oreochromis niloticus* expostos a $1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina (LCT). (A) Grupo controle. Tecido normal de um espécime sem exposição à contaminantes. Escala: 100 μm . (B) Grupo controle. Notar os espaços entre as lamelas secundárias bem definidas (LS); Eritrócitos (E); epitélio estratificados presente na lamela primária (setas); vaso sanguíneo (VS); epitélio respiratório justaposto (*). Escala: 50 μm . (C) 168h pós-exposição (hpe). Espessamento das lamelas secundárias (x), indicando dilatação de capilares; descamação do tecido epitelial (DE). Escala: 100 μm . (D) Amostra em 336 hpe. Proliferação celular epitelial seguido de fusão total das lamelas secundárias (FL); hipertrofia e hiperplasia de células de muco (cabeça de seta). Escala: 50 μm **67**

Figura 3. Nível de alteração tecidual (NAT) de brânquias em *Oreochromis niloticus* exposto à lambda-cialotrina ($1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos em testes agudo e crônico. Medianas

das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$). Grupos controle (caixas brancas), grupos expostos (caixas cinza) e grupos recuperados (caixas laranja)..... **68**

Figura 4. Nível de alteração tecidual (NAT) de fígado em *Oreochromis niloticus* exposto à lambda-cialotrina ($1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos em testes agudo e crônico. Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$). Grupos controle (caixas brancas), grupos expostos (caixas cinza) e grupos recuperados (caixas laranja)..... **69**

Figura 5. Secções histológica do fígado em *Oreochromis niloticus* expostos a $1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina (LCT). (A) Grupo controle. Tecido normal de um espécime sem exposição à contaminantes; parênquima hepático homogêneo com células intactas; sinusóides definidos (S); núcleos dos hepatócitos centralizados (NC) e disposição cordonal. Coloração: HE. Escala: $50 \mu\text{m}$. (B) 72h pós-exposição (hpe). Desarranjo dos cordões hepáticos (DC); aspectos típicos de degeneração hidrópica (DH); notar grânulos eosinofílicos no citoplasma (seta). Coloração: HE. Escala: $50 \mu\text{m}$. (C) 168h pós-exposição (hpe). Nota-se grânulos no interior dos hepatócitos pigmentados pelo método de AFIP, característico do acúmulo de lipofuscina (cabeça de seta). Escala: $50 \mu\text{m}$. (D) Amostra em 336 hpe. Núcleos deslocados para periferia; redução do espaço sinusoidal; picnose; células hipertróficas vacuolizadas progredidos por necrose (seta dupla). Coloração: Perls. Escala: $50 \mu\text{m}$ **69**

Figura 6. Secções histológica do rim em *Oreochromis niloticus* expostos a $1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina (LCT). (A) Grupo controle. Tecido normal de um espécime sem exposição à contaminantes; túbulos proximais (TP); túbulos distais (TD); histoarquitetura renal preservada. Coloração: HE. Escala: $50 \mu\text{m}$. (B) 336h pós-exposição (hpe). Túbulos em processo degenerativos; nota-se inclusões hialinas nas células epiteliais; espaçamento intercelulares nos túbulos proximais (*). Coloração: HE. Escala: $50 \mu\text{m}$ **70**

Figura 7. Nível de alteração tecidual (NAT) de rim em *Oreochromis niloticus* exposto à lambda-cialotrina ($1, 24 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos em testes agudo e crônico. Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$). Grupos controle (caixas brancas), grupos expostos (caixas cinza) e grupos recuperados (caixas laranja)..... **71**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados de estudos com piretróides **20**

Artigo I. Perfil osmorregulatório e alterações histológicas em brânquias de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas à lambda-cialotrina.

Tabela 1. Classificação* das alterações histológicas da brânquia, quanto ao tipo de lesões e dos estágios em que se inserem nos respectivos órgãos **51**

Artigo II. Análise bioquímica e histopatológica de brânquia, fígado e rim de tilápias-do-Nilo *Oreochromis niloticus* expostas a lambda-cialotrina.

Tabela 1. Nível de Alteração Tecidual (NAT)* de acordo com os estágios de lesão observada nos órgãos **63**

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	14
INTRODUÇÃO.....	14
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	14
Piretróides	18
Lambda-cialotrina	20
Biomarcadores	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO II.....	33
ARTIGO I. Perfil osmorregulatório e alterações histológica branquial em tilápias-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) expostas à lambda-cialotrina.....	34
Resumo	34
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	36
Resultados.....	40
Discussão	41
Conclusão	44
Referências Bibliográficas.....	45
Anexos	51
CAPÍTULO III	57
ARTIGO II. Análises bioquímica e histopatológicas de brânquia, fígado e rim de tilápias-do-Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> expostas a lambda-cialotrina	58
Resumo	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	61
Resultados.....	65

Discussão	71
Conclusão	75
Agradecimentos	76
Referências Bibliográficas.....	76

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Tilápia (*Oreochromis niloticus*)

A tilapicultura tem se desenvolvido em todas as regiões do país, o que tem levado a popularização da espécie por parte dos produtores devido ao seu desempenho zootécnico e aos consumidores atraídos pela praticidade e preço do pescado (PEDROZA-FILHO et al., 2020). A tilápia foi a espécie mais produzida em 2020 com 486 mil toneladas, equivalente a aproximadamente 42% do total pescado criados na piscicultura continental brasileira, com o estado de Mato Grosso do Sul representado como maior exportador da espécie no país (PEIXE BR, 2021). Além disso, segundo os dados mais recentes, a tilapicultura registrou aumento de 17% em relação à produção anual de 2013 (IBGE, 2014).

Por conta do aumento nas exportações, demanda internacional de alimentos associados ao câmbio favorável e aumento do consumo de pescado, a tilápia se consolidou como uma das principais espécies para o desenvolvimento e expansão do mercado de pescado mundial. (SCHULTER & VIEIRA-FILHO, 2017).

Uma espécie tropical, com hábito alimentar onívoro, conversão alimentar entre 1,0 e 1,8, boa adaptabilidade em variações das condições ambientais, rusticidade e apresenta boa tolerância a baixos níveis de oxigênio (MOREIRA et al., 2001). Ela pode ser considerada uma espécie comercial precoce, com ciclo produtivo de aproximadamente 210 dias, com variações conforme as características climáticas da região (SCHULTER & VIEIRA-FILHO, 2017). Sua alimentação baseia-se em fitoplâncton, pequenos invertebrados, detritos, frutos e plantas aquáticas dependendo da disponibilidade dos alimentos; apresenta maturidade sexual por volta de 6 meses e fácil aceitação de rações comerciais (FAO, 2010; FISHBASE, 2017).

A tilápia (Figura 1) é uma das espécies mais importantes economicamente para a piscicultura. Hoje existem ampla distribuição e demandas comerciais por tilápias melhoradas geneticamente, devido ao desempenho aliado a adaptação e a taxa de sobrevivência das linhagens em ambientes de cultivo (WAGNER et al., 2004; FULBER et al., 2010). Dentre essas linhagens destacam-se a GIFT e a SUPREME, com os programas de melhoramento genético continuado até hoje (MASSAGO et al., 2010).



Figura 1. Registro de tilápias (*Oreochromis niloticus*) durante a biometria. Fonte: Fernanda Queiróz e Silva (2022)

São criadas em sistemas semi-intensivos e intensivos, porém a produção em tanques-rede é responsável pelo crescimento exponencial da tilapicultura nos últimos anos (KUBITZA, 2015). Entretanto, as elevadas densidades de estocagens requerem aumento de manejos como realização frequentes de biometrias para o ajuste do consumo de ração, monitoramento da água, despescas e abates em curtos períodos devido ao ciclo produtivo da espécie, que por sua vez, favorecem o desenvolvimento de patógenos e parasitos nesses sistemas (MAXIMIANO et al., 2005). Esses são manejos essenciais para garantir maximização da produção, redução da mortalidade, desempenho dos animais e maior lucratividade no seu cultivo (BRITO et al., 2017).

Segundo Albinati et al. (2009), os peixes são relativamente sensíveis a mudanças no ambiente aquático, e a intensificação dos sistemas de criação característica da tilapicultura contribuem para o surgimento de diversos fatores estressantes que tornam o meio aquático susceptíveis a doenças (Figura 2). As enfermidades observadas nas pisciculturas são causadas por parasitas oportunistas que proliferam após variações na temperatura, manejos frequentes e inadequados, baixa qualidade de água, biomassa alta e deficiência nutricional (MORAES & MARTINS, 2004).

No cultivo de tilápias existem vacinas desenvolvidas com sucesso para prevenir bacterioses durante o ciclo produtivo, principalmente em sistemas intensivos (KUBITZA,

2005; LEIRA et al., 2017), porém em viveiros escavados, o controle de parasitas é realizado com o método de vazão sanitário após a despesca dos peixes ou por meio de pesticidas agrícolas.

Segundo Shiosi et al. (2017), banhos terapêuticos com piretróides podem ser utilizados para tratamento de doenças na piscicultura. As principais enfermidades em tilápias são Ictiofitiríase, Tricodina, Mixosporídios, Monogenéticos, Lerneose, *Ergasilus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* e Saprolegniose, que se manifestam pelo desequilíbrio causado pelo uso de densidades de estocagem excessivas, manejos inadequados dos peixes, no controle da qualidade de água e nutricional (KUBITZA, 2000).

O Brasil se destaca no cenário mundial de consumo de agrotóxico, onde, em 2008 o mercado de agrotóxico movimentou mais do dobro em relação ao ano de 2003, representando 86% do consumo total na América Latina (IBGE, 2010). Hoje o país se tornou o maior consumidor de agrotóxico no mundo, com expansão em torno de 190% do mercado interno (LOPES & ALBUQUERQUE, 2018). Os pesticidas ao cumprirem seu papel de proteger as culturas agrícolas das pragas, doenças e plantas daninhas, podem gerar também respostas adversas a organismos não alvos. O uso frequente e de forma inadequada oferecem riscos de contaminação em solos agrícolas, corpos d'água e alimentos (SPADOTTO et al., 2004).

Os piretróides são os inseticidas mais utilizados no Brasil, intensamente difundido por sua baixa toxicidade em mamíferos e fácil dissipação no meio ambiente (SANTOS et al., 2007; MONTANHA & PIMPÃO, 2012). No Brasil não existe regulamentação específica para uso de inseticidas no tratamento de peixes cultivados e, segundo Guimarães et al. (2007), o uso de produtos químicos representa uma alternativa para reduzir os prejuízos econômicos associados a epidemias presentes no cultivo. Os agroquímicos quando aplicados na água em tratamentos terapêuticos, são um risco para o homem e ao meio ambiente, extrapolando sua função ao atingir organismos não-alvos (LOPES et al., 2006; MABILIA et al., 2008). Sendo assim, é de fundamental importância avaliar a toxicidade destes produtos de forma frequente no meio rural, pois esses testes permitem reconhecer quais compostos apresentam menores riscos ao ambiente, e identifica aqueles que poderiam ser administrados em peixes destinados ao consumo (RESGALLA-JUNIOR et al., 2002).

Os peixes são considerados excelentes bioindicadores, devido a sua sensibilidade a mudanças físicas e químicas da água (OGA, 2008). Durante a respiração, os animais realizam a troca gasosa por meio do constante fluxo de água nas brânquias. O contato direto com a água, associados ao estresse dos peixes e desequilíbrio do meio aquático, surgem como oportunidades para a proliferação de parasitos, podendo elevar as taxas de mortalidade ou até a perda do total do lote.



Figura 2. Exemplo de doenças que podem acometer tilápias em sistemas de cultivo. A) Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com quadro de bacteriose. B) Tambaqui (*Colossoma macropomum*) com saprolegniose. Fonte A e B: Arquivo pessoal. C) *Ergasilus* sp. em brânquias. Fonte: Andreas R. Thomsen. D) Infestação de *Argulus* sp. Fonte: Aquatic Animal Disease.

A utilização de peixes como bioindicadores (Figura 3) é preconizada durante avaliação da toxicidade de diversos poluentes. Abdel-Khalek et al. (2016), registraram achados importantes como degeneração celular, presença de infiltrados de células sanguíneas no fígado, fusão lamelar, hiperplasia, necrose e congestão de brânquias, além de hiperplasia glomerular, degeneração celular e expansão do espaço de Bowman nos rins de peixes expostos ao ambiente contaminado.

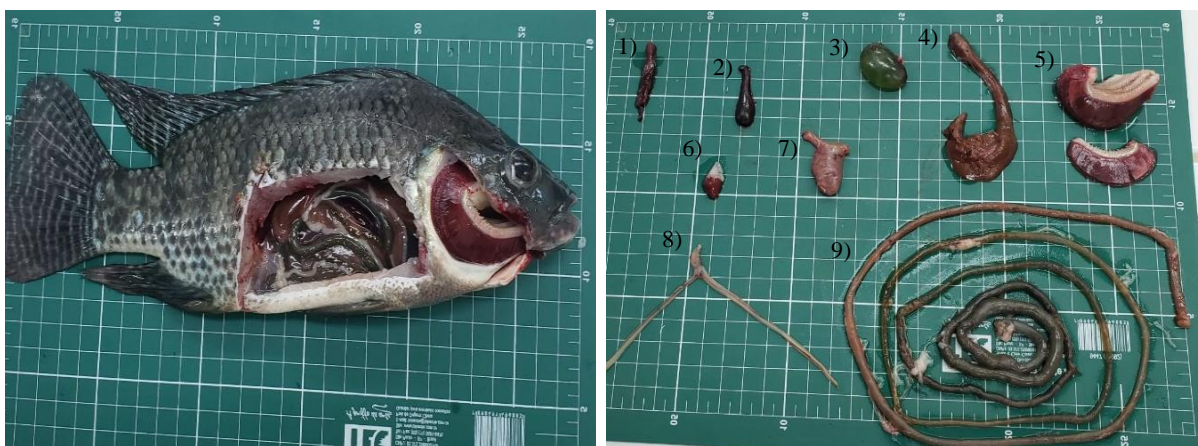


Figura 3. Coleta de tecidos em tilápia (*Oreochromis niloticus*). 1) Rim; 2) Baço; 3) Vesícula biliar; 4) Fígado; 5) Brânquias; 6) Coração; 7) Estômago; 8) Gônadas; 9) Intestino. Fonte: Arquivo pessoal.

Em caso de contaminação dos ambientes aquáticos, os testes de toxicidade da maioria dos produtos químicos são realizados em especial, com invertebrados ou peixes de clima temperado, como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), havendo poucos os registros sobre os efeitos de contaminantes em espécies cultivadas e valorizadas no mercado aquícola nacional (MOURA et al., 2008). Segundo Rodrigues et al. (2010) os peixes no topo da cadeia alimentar são amplamente utilizados como bioindicadores de contaminação ambiental em ecossistemas aquáticos.

Para a padronização e identificação da tilápia como bioindicador ambiental, os exemplares testados devem apresentar respostas bem caracterizadas que levem em conta a toxicodinâmica dos xenobióticos e as propriedades físico-químicas do organismo, assim como sua eficiência e possíveis efeitos negativos que podem ser ocasionados pela alteração do meio ambiente (NASCIMENTO et al., 2006). Logo, dados pertinentes a respeito dos efeitos de exposição associados a biotransformação e o combate a agentes patológicos, se tornam escassos na literatura, devido a carência de recursos e a dificuldade na elaboração de pesquisas a campo. Compreende-se a necessidade de estudos toxicológicos em espécies de interesses comerciais, como a *O. niloticus*, que vivem em contato direto aos xenobióticos ministrados de forma rotineira durante o ciclo produtivo, sejam pela fonte de água, ou em tratamentos convencionais administrados nas pisciculturas.

Neste cenário, a tilápia surge como um bioindicador ideal para estabelecer respostas biológicas da exposição a cialotrina, composto já encontrado na bacia do Pantanal (MIRANDA et al., 2008), e que pode se tornar uma alternativa para tratamentos terapêuticos no futuro assim como outros pesticidas agrícolas, como o triclorfon (GUIMARÃES & CALIL, 2008), diflubenzuron (SCHALCH et al., 2009) e paration metílico (LUVIZOTTO-SANTOS et al., 2009), principalmente por serem considerados não persistentes, que por sua vez, não se espera que sejam biomagnificados ao longo da cadeia alimentar (OSTI et al., 2007). O mesmo autor destaca a importância de examinar a toxicidade aguda, crônica, fisiológica e comportamental em peixes expostos a produtos comerciais contendo piretróides em sua composição.

Piretróides

Os inseticidas podem ser agrupados em quatro categorias distintas, quimicamente diferenciados como organoclorados, piretróides, organofosforados e carbamatos (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001). Os piretróides são inseticidas sintéticos derivados estruturalmente das

piretrinas, produtos da extração de flores do crisântemo (*Chrysanthemum*) (CHRISTOFOLETTI & MAMPRIM, 2020). Neste contexto, visando melhorar as propriedades físico-químicas e elevar a atividade biológica dos inseticidas oriundos das piretrinas, um certo número de piretróides sintéticos foi produzido após a modificação das estruturas químicas da piretrina natural (MONTANHA & PIMPÃO, 2012).

As características toxicodinâmicas dos piretróides estão relacionadas à sua estrutura química, e seus principais efeitos estão relacionados a desregulação dos canais de sódio e cloreto (BRADBERRY et al., 2005). Os piretróides tiveram o seu uso difundido como alternativa aos organoclorados e organofosforados, que por sua vez, são compostos persistentes e com elevada toxicidade ao meio ambiente (CENGIZ, 2006; WANG et al., 2007).

Após as modificações, surgiram piretróides do tipo I (aletrina, cismetrina, permetrina e resmetrina) e tipo II (deltametrina, cialotrina e cipermetrina), divididos pela ausência e presença do grupo Ciano, respectivamente (OSTI et al., 2007; CHRISTOFOLETTI & MAMPRIM, 2020). A presença do grupo ciano aumenta a neurotoxicidade em animais e invertebrados e, de modo geral, atuam diretamente nos axônios influenciando os canais de sódio, com hiperexcitação do sistema nervoso central e paralisia progressiva (SANTOS et al., 2007; HOLLAND, 2015).

Segundo Santos et al. (2007) diversas alterações histopatológicas são atribuídas às intoxicações por piretróides, efeitos adversos relacionados ao uso de piretróides podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados de estudos com piretróides.

Concentração	Espécie	Respostas	Autores
1.94 $\mu\text{g L}^{-1}$ (LCT)	<i>Brachydanio rerio</i>	Mortalidade	Wang et al. (2007)
0.3 e 0.6 ppb (LCT)	<i>Cirrhinus mrigala</i>	Alterações branquiais, fígado e rim	Velmurugan et al. (2007)
0.89 a 7.55 $\mu\text{g L}^{-1}$ (LCT)	<i>Brachydanio rerio</i>	Elevada toxicidade	Gu et al. (2007)
1 a 3.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (PMT)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Desempenho e comportamento	Goulding et al. (2013)
0.95 $\mu\text{g L}^{-1}$ (DMT)	<i>Oreochromis niloticus</i>	Alta toxicidade	Osti et al. (2007)
1.46 $\mu\text{g L}^{-1}$ (DMT)	<i>Oreochromis niloticus</i>	Alterações branquiais, fígado e rim	El-Sayed et al. (2007)
0.10 a 0.20 ppm (CMT)	<i>Labeo rohita</i>	Alterações bioquímicas	Das & Mukherjee (2003)
3.14 $\mu\text{g L}^{-1}$ (CMT)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Alterações branquiais	Velisek et al. (2006)

LCT = Lambda-cialotrina; PMT = Permetrina; DMT = Deltametrina; CMT = Cipermetrina.

Alguns piretróides como a bifentrina, cipermetrina, deltametrina e permetrina possuem na literatura concentrações máximas permitidas em água, sedimentos e solos, porém não foram encontrados limites semelhantes aos descritos por Crommentuijn et al. (2000) para a cialotrina (LCT). Os pesticidas são transportados das lavouras para os rios por meio das chuvas, que consequentemente, são fontes de alta toxicidade para os peixes, por abastecerem os setores aquícolas (BORGES et al., 2007). Em pisciculturas de engorda os peixes toleram menos a presença de pesticidas no ambiente, devido sua idade durante o ciclo produtivo, sendo que na fase juvenil os piretróides são metabolizados e eliminados de forma mais lenta (CUNHA et al., 2017).

Existem estudos que relatam a presença de LCT nos rios formadores de bacias que cortam o estado de Mato Grosso do Sul, tendo sido identificadas concentrações de 5.0, 2.3 e 1.0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ nos rios Salobra, Negro e Miranda, respectivamente (MIRANDA et al., 2008). Além disso, resíduos de piretróides também foram encontrados nas águas do rio São Francisco, que abastecem pisciculturas no município de Propriá (CUNHA et al., 2017). As concentrações descritas estão acima da dose subletal ministradas no presente estudo (0,86 $\mu\text{g L}^{-1}$), que corrobora com a descrição de Haya (1989), onde define os piretróides como compostos extremamente tóxicos para organismos não-alvo como peixes, artrópodes aquáticos e crustáceos.

Lambda-cialotrina

A cialotrina ((Z)-(1S,3RS)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de (R)-alfa-ciano-3-fenoxibenzila) é um inseticida piretróide do tipo II, que é utilizado no controle de artrópodes em culturas agrícolas, considerada altamente tóxico para os peixes e organismos aquáticos (FAO, 2006; GU et al., 2007; SANTOS et al. 2007). Neste contexto, sabe-se que os agroquímicos, como os piretróides, podem ser liberados em diversas fontes de água através da pulverização direta nos corpos d'água, escoamento de lavouras e bioacumulação em sedimentos devido sua capacidade de adsorção (WERNER & YOUNG, 2018).

Apenas uma porcentagem do produto comercial é composta pelo princípio ativo administrados nos estudos laboratoriais. Sendo assim, na formulação, são inseridos ingredientes que permitem aumentar a capacidade de permanência do produto no ambiente. Neste contexto, pouco se conhece sobre a toxicidade destes produtos, destinados ao consumo, pois a base de

estudo dos agrotóxicos baseia-se na especificidade dos mesmos na área agrícola, a capacidade de permanência e seus efeitos tóxicos em mamíferos. Logo, são escassos os dados sobre a toxicidade da cialotrina (Figura 4) em animais não alvos, como os peixes.

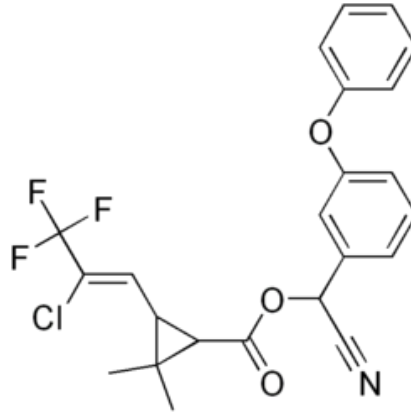


Figura 4. Estrutura molecular do composto cialotrina ($C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$). Fonte: <https://stringfixer.com/pt/Cyhalothrin>

No estudo comparativo da toxicidade de gama cialotrina e lambda cialotrina em zebrafish (*Brachydanio rerio* H. B.), Wang et al. (2007) registraram níveis elevados de toxicidade em ambas formulações, com CL50 com 96h de $1,94 \mu\text{g L}^{-1}$ de LCT. Em estudo histopatológico sobre exposição da carpa indiana (*Cirrhinus mrigala*) ao inseticida lambda cialotrina em concentrações subletais (0,3 e 0,6 ppb), foram observados efeitos deletérios para brânquia, fígado, intestino e rim, com destaque para os graves problemas fisiológicos e mortalidade, observados em alguns peixes após a exposição por 10 dias (VELMURUGAN et al., 2007).

A capacidade de recuperação e a persistência dos efeitos tóxicos dos piretróides surgem como variáveis interessantes a serem pesquisados. Em estudos com a cipermetrina, foram observadas leves alterações histopatológicas permanentes nos indivíduos por mais de três semanas após o período experimental (LATUSZYNSKA et al. 2003). Segundo Gu et al. (2007), a cialotrina apresentou alta toxicidade para os organismos aquáticos presentes em campos semi-inundados utilizados em plantação de arroz. Goulding et al. (2013) observaram mudança no comportamento e desempenho de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostas em concentrações de piretróides (1 a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ de permetrina e 100 a 300 ng L^{-1} de deltametrina) e realçam a importância de novos testes sobre os efeitos de piretróides do tipo II em peixes.

Biomarcadores

Os testes de toxicidade podem ser subdivididos em duas pesquisas distintas dependentes do período experimental, classificados como agudos ou crônicos (SPRADA, 2013; ALBINATI et al., 2016). Ainda assim, é importante identificar marcadores adequados, ou seja, que sejam sensíveis as alterações físicas e químicas do ambiente, permitindo classificações precisas quanto a toxicidade dos compostos. Alguns órgãos são essenciais para analisar as respostas biológicas da contaminação aquática, sendo o fígado o principal órgão com a função de biotransformar xenobióticos; as brânquias são responsáveis pela respiração e osmorregulação dos peixes; e os rins, responsáveis pela excreção logo após receber o sangue com subprodutos da biotransformação hepática (LINS et al., 2010). Os efeitos tóxicos causados pelos inseticidas nos peixes podem ocorrer de forma progressiva, quando expostos por períodos prolongados, e dependendo de sua concentração, xenobióticos, assim como os agrotóxicos podem ser absorvidos pelos peixes através da exposição ou ingestão de alimentos contaminados e assim depositá-los na carcaça, como por exemplo os xenobióticos utilizados como agrotóxicos (MOURA et al., 2008).

Para efeitos de exposições prolongadas ou crônicas, as alterações plasmáticas, como em Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT), refletem de forma direta, a presença de lesões tissulares no fígado e rim (SPARLING et al., 1998). São enzimas marcadoras de dano hepatocelular, utilizadas de forma frequente em estudos histopatológicos. Os dados obtidos pela AST (Figura 5) tendem a ser mais significativos quando comparadas as fontes de ALT, que diferem quanto sua especificidade celular. Danos musculares, cerebrais e hemólises podem causar aumentos consideráveis na atividade da AST, que por sua vez, é considerada um biomarcador menos específico do que ALT (LAWRENCE & STEINER, 2017).

O fígado é um órgão compacto, pode ser dividido em lobos dependendo da espécie. É localizado ventralmente na cavidade celomática, com seu tamanho, forma e volume adaptado ao espaço utilizado pelas vísceras, variando entre as espécies. Por ser um tecido muito vascularizado, o órgão apresenta uma coloração avermelhada podendo variar sua pigmentação conforme seu estoque de gordura. Em sua estrutura é possível observar vasos de grande calibre, sinusóides, ductos biliares, tecido pancreático e em algumas espécies a presença de centro de melanomacrófagos (COSTA et al., 2012).

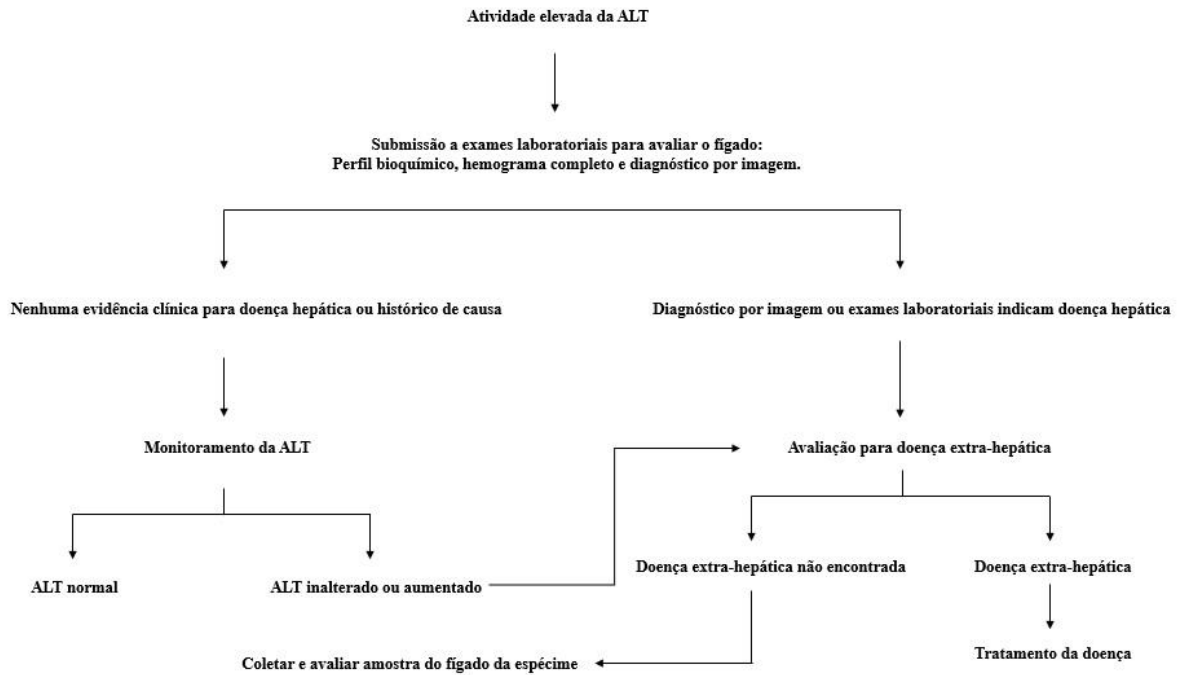


Figura 5. Sugestão de diagnóstico para peixes com aumento na atividade da ALT sérica/plasmática. Adaptado de LAWRENCE & STEINER (2017).

O tecido hepático da tilápia é dividido em dois lobos, com hepatócitos organizados histologicamente em aspecto cordonal (Figura 6), formando um conjunto de células em contato direto com os capilares, veias lobulares e apresenta hepatopâncreas composta por células secretoras. As tilápias apresentam hepatócitos arredondados/poliédricos, com núcleo esférico basófilo centralizado, e citoplasma claro com presença de grânulos (VICENTINI et al., 2005; SALES et al., 2017; AMÉRICO-PINHEIRO et al., 2020). Quando ocorrem mudanças difusas na morfologia dos hepatócitos, assim como no núcleo, estas estão associadas a processos patológicos que podem alterar a função das células do fígado (RAŠKOVIĆ et al., 2011).

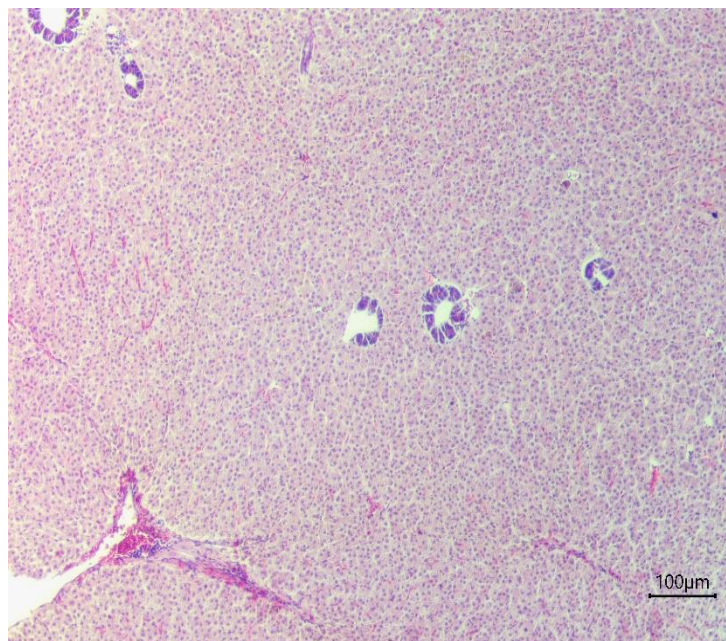


Figura 6. Amostra de fígado de tilápia (*Oreochromis niloticus*) demonstrando a distribuição cordonal dos hepatócitos. Coloração: HE, escala: 100µm. Fonte: Arquivo pessoal

As brânquias são constituídas por lamelas primárias e secundárias, características de peixes teleósteos. As lamelas principais (Figura 7) possuem tecido cartilaginoso distribuídos por todo o órgão com função de proteção e vaso sanguíneo em seu interior (AMÉRICO-PINHEIRO et al., 2020). O filamento branquial é composto por células epiteliais, macrófagos, granulócitos, células de cloreto, células de muco distribuídas por toda lamela e vaso sanguíneo onde se iniciam as lamelas secundárias (AZEVEDO et al., 2015).

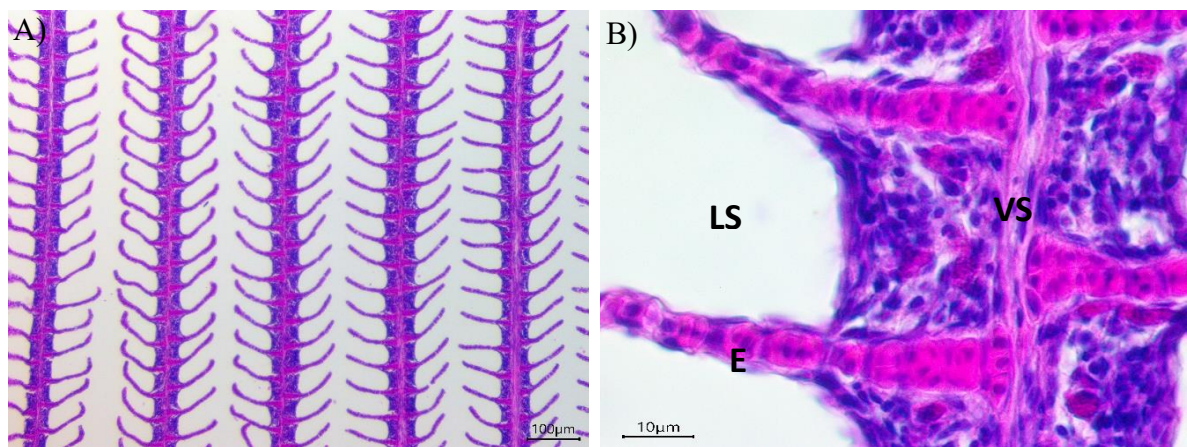


Figura 7. Amostra de tecido branquial de tilápia *Oreochromis niloticus*. A) Tecido normal de um espécime em ambiente livre de contaminantes. Escala: 100 µm. B) Espaços entre as lamelas secundárias bem definidas (LS); Eritrócitos (E). Escala: 50 µm.

O tecido branquial não está envolvido apenas nos processos de respiração. As brânquias assumem a função de biotransformação e, entre os órgãos extra-renais, é o mais importante órgão responsável pela osmorregulação (HWANG et al., 1989). Dependendo das condições ambientais, as brânquias e rins mantêm a homeostase iônica nos peixes (PELIS & MCCORMICK, 2001).

Nas pisciculturas continentais os peixes necessitam, de forma constante, regular a concentração osmótica corporal com a concentração do meio (Figura 8). Como o fluido corporal de peixes teleósteos é hiperosmótico em relação ao meio externo. A tilápia possui a capacidade de manter sua concentração osmótica constante através das trocas de íons, influxo da água dos viveiros e excreção do excesso com aumento no volume de urina (MACHADO, 1999). Nos peixes, o rim desempenha uma importante função relacionada ao equilíbrio eletrolítico e manutenção de um ambiente interno estável (CENGIZ, 2006).

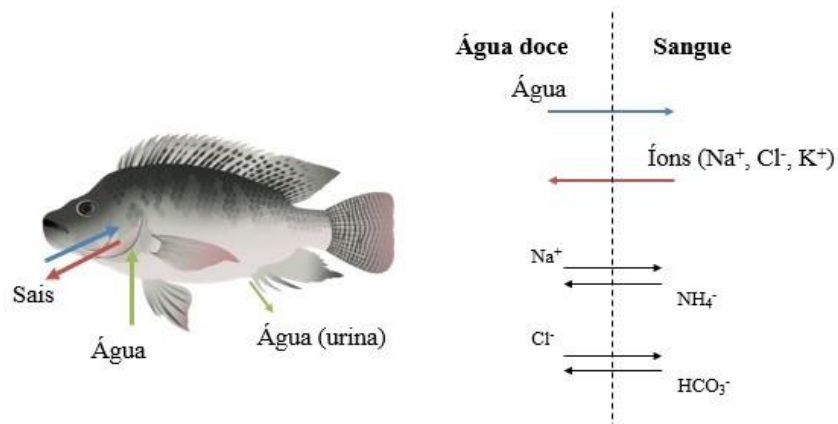


Figura 8. Ilustração do mecanismo de osmorregulação em tilápia (*Oreochromis niloticus*). Editado e adaptado de KUBITZA (2007).

O rim é o órgão excretor que desempenha importante papel nos processos de osmorregulação, filtração e excreção (MUMFORD, 2007). Logo, em conjunto com fígado, são envolvidos de forma direta na desintoxicação e remoção de substâncias tóxicas que circulam na corrente sanguínea (MAHBOOB et al., 2020).

Os rins de peixes apresentam diferentes formatos dependentes da espécie. Em tilápias o tecido renal apresenta a forma de Y (Figura 9), constituído por túbulos distais e proximais, glomérulos e tecido linfóide, semelhantes as características histológicas observadas em peixes perciformes em geral (IBRAHIM, 2013; APRILIANI & LUTHFI, 2017).

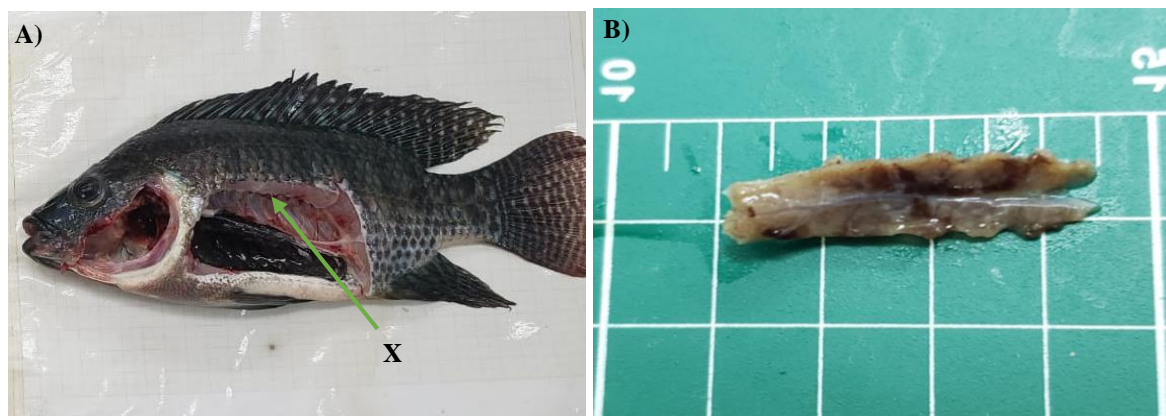


Figura 9. A) Localização anatômica do rim na tilápia (*Oreochromis niloticus*). B) Tecido renal da tilápia apresentando formato em Y. Fonte: Arquivo pessoal.

As respostas deletérias apresentadas após exposição aos xenobióticos podem elevar a mortalidade e por consequência aumentar os custos de produção. Além desse entrave, a presença de agrotóxicos nas pisciculturas pode gerar implicações para a saúde pública conforme o consumo de animais contaminados, bem como potencial impactos nos ecossistemas próximos as áreas agrícolas e das pisciculturas (MALLIN et al., 2011). É necessário avaliar os riscos toxicológicos causados por pesticidas agrícolas, fazendo uso dos dados sobre os efeitos da exposição ao ambiente contaminado verificado em organismos aquáticos não alvo (VELMURUGAN et al., 2007).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ABDEL-KHALEK, A. A.; BADRAN, S. R.; MARIE, M. S. Toxicity evaluation of copper oxide bulk and nanoparticles in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, using hematological, bioaccumulation and histological biomarkers. **Fish Physiology Biochemistry**, v.42, p.1225-1236, 2016.
- AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.; MACHADO, A. A.; CRUZ, C.; AGUIAR, M. M.; FERREIRA, L. F. R.; TORRES, N. H.; MACHADO-NETO, J. G. Histological changes in targeted organs of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentrations of the pesticide carbofuran. **Water Air Soil Pollut**, p. 228-231, 2020.
- APRILIANI, N. S.; LUTHFI, M. J. Comparative Anatomy and Histology of Black Pomfret (*Formio niger*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Kidney. **Biology, Medicine & Natural Product Chemistry**, v. 6, n. 1, 2017.
- AZEVEDO, R. V.; de OLIVEIRA, K. F.; FLORES-LOPES, F.; TEIXEIRA-LANNA, E. A.; TAKISHITA, S. S.; TAVARES-BRAGA, L.G. Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 43, p. 828–835, 2015.
- BORGES, A. Changes in hematological and serum biochemical values in Jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cipermethrin. **Chemosphere**, v. 69, p. 920-926, 2007.
- BRADBERRY, S. M.; CAGE, S. A.; PROUDFOOT, A. T.; VALE, J. A. Poisoning due to Pyrethroids, **Toxicological Reviews**, v. 25, n. 2, 2005.
- BRITO, J. M.; PONTES, T. C.; TSUJII, K. M.; ARAÚJO, F. E.; RICHTER, B. L. Automação na tilapicultura: Desempenho, piscicultura, tecnologia, tilápias. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 14, n. 3, 2017.
- CENGIZ, E. I. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 22, p. 200-204, 2006.
- CHRISTOFOLETTI, T.; MAMPRIM, G. P. R. Síndrome de coreoatetose tipo II e alargamento do intervalo qt em intoxicação por piretróide: relato de caso. **International Journal of Health Management Review**, v. 6, n. 2, 2020.
- COSTA, G. M.; LIMA, A. R.; LIMA, M. G.; KFOURY-JUNIOR, J. R. Histologia e ultraestrutura do rim e rim cefálico do pacu. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n. 5, p.453-458, 2012.
- CROMMENTUIJN, T.; SIJM, D.; BRUIJN, J.; LEEUWEN, K. V.; PLASSCHE, E. V. Maximum permissible and negligible concentrations for some organic substances and pesticides. **Journal of Environmental Management**, v. 58, p. 297-312, 2000.
- CUNHA, F. S.; SOUZA, R. M.; MENESES, J. O.; DIAS, J. A. R.; ABE, H. A.; SOUSA, N. C.; COUTO, M. V. S.; LIMA, B. S.; CARVALHO, Y. M. B. G.; ARAÚJO, A. A. S.; SENA-FILHO, J. G.; DOMPIERI, M. H. G.; MARIA, A. N.; CARNEIRO, P. C. F.; FUJIMOTO, R.

Y. Piretróides em corpos d'água da Região do Baixo São Francisco. Documentos 213 – Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 1678-1953, 2017.

DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, n. 134, p. 109-121, 2003.

EL-SAYED, Y.S.; 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. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 24, p. 212–217, 2007.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Lambda-cyhalothrin (146): Federal Institute for Risk Assessment, Germany, 2006.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Species Fact Sheets: Fisheries and Aquaculture Department, 2010.

FISHBASE. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Disponível em: <http://www.fishbase.org/>. Acesso em: 20 de julho de 2017.

FERNANDES, C. E.; SILVEIRA, A. W.; SILVA, A. L. N.; SOUZA, A. I.; POVH, J. A.; JAQUES, J. A. S.; SANTOS, E. A.; YONEKAWA, M. K. A.; PENTEADOALL, B. B.; FRANCO-BELUSSI, L. Osmoregulatory profiles and gill histological changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to lambda-cyhalothrin. **Aquatic Toxicology**, n. 227, 2020.

FULBER, V. M.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L. D.; BRACCINI, G. L.; MARENGONI, N. G.; GODOY, L. C. Desempenho produtivo de três linhagens de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 32, n. 1, p. 77-83, 2010.

GOULDING, A. T.; SHELLEY, L. K.; ROSS, P. S.; KENNEDY, C. J. Reduction in swimming performance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following sublethal exposure to pyrethroid insecticides. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 157, p. 280-286, 2013.

GOMES, M. A. F.; BARIZON, R. R. M. Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato de origem agrícola no Brasil: Cenário 1992/2011. Documentos – Embrapa Meio Ambiente, n. 98, p. 35, Jaguariúna, 2014.

GU, B. G.; WANG, H. M.; CHEN, W. L.; CAI, D. J.; SHAN, Z. J. Risk assessment of cyhalothrin on aquatic organisms in paddy field in China. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 48, p. 69-74, 2007.

GUIMARÃES, A. T. B.; ASSIS, H. C. S.; BOEGER, W. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.68, p.57-62, 2007.

HAYA, K. Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 8, p. 381–391, 1989.

- HOLLAND, M. G. Insecticides: Organic chlorines, pyrethrins/pyrethroids, and insect repellentes. In: HOFFMAN, R.S. et al. Goldfrank's toxicologic emergencies, p. 1435-1448, 2015.
- HWANG, P. P.; SUN, C. M.; WU, S. M. Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill Na–K-ATPase activity in tilapia *Oreochromis mossambicus* during seawater acclimation. **Marine Biology**, v. 100, p. 295–299, 1989.
- IBRAHIM, S. A. Effect of Water Quality Changes on Gills and Kidney Histology of *Oreochromis niloticus* Fish Inhabiting the Water of Rosetta Branch, River Nile, Egypt. **World Applied Sciences Journal**, v. 26, n. 4, p. 438-448, 2013.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Indicadores de desenvolvimento sustentável. Estudos e Pesquisas – Inf. 7, p.53-60, Rio de Janeiro, 2010.
- KUBITZA, F. Tilápias. **Panorama da Aquicultura**, v. 10, n. 60, 2000.
- KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. **Panorama da Aquicultura**, v. 17, n. 103, 2007.
- KUBITZA, F. Aquicultura no Brasil: Principais espécies, áreas de cultivo, rações, fatores limitantes e desafios. **Panorama da Aquicultura**, v. 25, n. 150, 2015.
- LATUSZYNSKA, J. et al. Neurotoxic effect of dermally applied chlorpyrifos and cypermethrin: Reversibility of changes. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 10, p. 197-201, 2003.
- LAWRENCE, Y. A.; STEINER, J. M. Laboratory Evaluation of the Liver. **Journal of Small Animal Practice**, v. 47, n. 3, p. 539-553, 2017.
- LEIRA, M. H.; LAGO, A. A.; VIANA, J. A.; CUNHA, L. T.; MEDONÇA, F. G.; FREITAS, R. T. F. As principais doenças na criação de tilápias no Brasil. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 14, n. 2, 2017.
- LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CIRIO, S. M. Uso de peixes com biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 8, n. 4, p.469-484, 2010.
- LOPES, R. B.; PARAIBA, L. C.; TORNISIELO, V. L. Bioconcentration of trichlorfon insecticide in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Chemosphere**, p. 56-62, 2006.
- LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, 2018.
- LUVIZOTTO-SANTOS, R.; CORDEIRO, P. J. M.; VIEIRA, E. M. Analysis of methyl parathion in tilapia filets using a simple solid phase extraction clean-up and GC-NPD. **Brazilian Journal of Food Technology**, p. 158-161, 2009.

MABILIA, R. G.; SOUZA, S. M. G.; OBERST, E. R. Efeito do banho de imersão de diflubenzuron no sêmen do jundiá *Rhamdia quelen* parasitado por *Lernaea cyprinacea*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, p. 661-666, 2008.

MACHADO, M. R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 63-76, 1999.

MAHBOOB, S.; AL-GHANIM, K. A.; AL-BALAWI, H. F.; AL-MISNED, F.; AHMED, Z. Toxicological effects of heavy metals on histological alterations in various organs in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from freshwater reservoir. **Journal of King Saud University - Science**, 2019.

MALLIN, M. A.; MCIVER, M. R.; FULTON, M.; WIRTH, E. Elevated levels of metals and organic pollutants in fish and clams in the cape fear river watershed. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.61, p.461-471, 2011.

MARTINS, M. L. Manejo Sanitário na Piscicultura. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. L. A. (Org.). **Sanidade de Organismos Aquáticos**: Varela, v. 1, p. 323-332, 2004.

MASSAGO, H.; CASTAGNOLLI, N.; MALHEIROS, E. B.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; SANTOS, M. A.; RIBEIRO, R. P. Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambiental**, v. 8, n. 4, p. 397-403, 2010.

MAXIMIANO, A. A.; FERNANDES, R. O.; NUNES, F. P.; ASSIS, M. P.; MATOS, R. V.; BARBOSA, C. G. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 10, n. 2, p. 483-491, 2005.

MIRANDA, K. A.; CUNHA, M. L. F.; DORES, E. F. G. C.; CALHEIROS, D. F. Pesticide residues in river sediments from the Pantanal Wetland, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 43, p. 717-722, 2008.

MONTANHA, F. P.; PIMPÃO, C. T. Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes – revisão. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 18, 2012.

MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: Tec-Art, p. 343-383, 2004.

MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. Fundamentos da moderna aquicultura, Editora ULBRA, 2001.

MOURA, M. A. M.; FRANCO, D. A. S.; MATALLO, M. B. Impacto de herbicidas sobre os recursos hídricos. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, v.1, p.142-151, 2008.

MUMFORD, S. Fish Histology and Histopathology Manual [Internet]. Shepherdstown, WA: U.S. Fish & Wildlife Services National Conservation Training Center, 2007. Disponível em <

<https://nctc.fws.gov/resources/course-resources/fish-histology/index.html>>, acesso em 07 janeiro, 2022.

NASCIMENTO, I. A.; PEREIRA, S. A.; LEITE, M. B. N. L. Biomarcadores como instrumentos preventivos de poluição: bases e aplicações. In: ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. (Org.). **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**, v. 1, p. 413-432, 2006.

OGA, S. Toxicocinética. In: OGA, S. (Org.) Fundamentos de Toxicologia. 3 ed. Editora Atheneu, p.11-26, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

OSTI, S. C.; VAROLI, F. M. F.; MATUSHIMA, E. R.; BERNARDI, M. M. Comparative studies of deltamethrin acute toxicity in exotic and brasilian fish. **Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology**, v. 2, n. 2, p. 101-106, 2007.

PEDROZA-FILHO, M. X.; RIBEIRO, V. S.; ROCHA, H. S.; UMMUS, M. E.; VALE, T. M. Caracterização da cadeia produtiva da tilápia nos principais polos de produção do Brasil. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Pesca e Aquicultura, p. 49, 2020.

PEIXE BR. Anuário Peixe BR da piscicultura 2021. São Paulo, SP. Disponível em <<https://www.peixebr.com.br/anoario-2021>>, acesso em 04 out. 2021.

RAŠKOVIĆ, B.S.; STANKOVIĆ, M. B.; MARKOVIĆ Z. Z.; POLEKSIĆ, V. D. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. **J. Agricult. Sci.**, v. 56, n. 1, p. 87-100, 2011.

RESGALLA-JUNIOR, C.; NOLDIN, J. A.; SANTOS, A. L.; SATO, G.; EBERHARDT, D. S. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticidas utilizados na cultura de arroz irrigado sobre juvenis de carpa (*Cyprinus carpio*). **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, n. 1, p. 59-68, 2002.

RODRIGUES, R. A.; SATURNINO, K. C.; FERNANDES, C. E. Liver histology and histomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Pseudoplatystoma corruscans*) reared on intensive fish farming. **Aquaculture Research**, p. 1-11, 2017.

SALES, C. F.; SILVA, R. F.; AMARAL, M. G. C.; DOMINGOS, F. F. T.; RIBEIRO, R. I. M. A.; THOMÉ, R. G.; SANTOS, H. B. Comparative histology in the liver and spleen of three species of freshwater teleost. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, n. 1, 2017.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. **Alimentação e Nutrição - Brazilian Journal Food Nutrion**, v. 18, p. 339-349, 2007.

SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R.; SOARES, V. E. Praziquantel, levamisol e diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) e *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887

(Osteichthyes: Characidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 35-59, 2009.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA-FILHO, J. E. R. Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEA, p. 40, 2017.

SHIOSI, R. K.; TOSIN, J. P.; ANTONUCCI, A. M. Atuação do médico veterinário na piscicultura brasileira – revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 28, 2017.

SPADOTTO, C. A. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Embrapa Meio Ambiente – Jaguariúna, p. 29, 2004.

SPARLING, D. W.; VANN, S.; GROVES, R. A. Blood changes in mallards exposed to white phosphorus. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 2521-2539, 1998.

SPRADA, E. Toxicologia. Instituto Federal do Paraná- e-Tec Brasil, v.1, p.21-139, 2013.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. (Orgs.) Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, p.225-255, 2005.

VELISEK, J. WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; DOBSIKOVA, R.; NOVOTNY, L.; DUDZIK, M. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinarni Medicina**, v. 51, n. 10, p. 469-476, 2006.

VELMURUGAN, B.; SELVANAYAGAM, M.; CENGIZ, E. I. The effects of monocrotophos to different tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.78, p.450-454, 2007.

VICENTINI, C. A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B.; BOMBONATO, M. T. S.; BERTOLUCCI, B.; LIMA, S. G.; SANTOS, A. S. Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v. 23, p. 211-216, 2005.

WAGNER, P. M.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; POVH, J. A. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes fases de criação. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 2, p. 187-196, 2004.

WANG, W. CAI B D.J.; SHAN Z.J.; CHEN W.L.; POLETIKA, N.; GAO, X.W A, Comparison of the acute toxicity for gamma-cyhalothrin and lambda-cyhalothrin to zebra fish and shrimp. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.47, p. 184–188. 2007.

WERNER, I.; YOUNG, T.M. Pyrethroid insecticides exposure and impacts in the aquatic environment. In: Dominick A. DellaSala, Michael I. Goldstein (Eds.), *The Encyclopedia of the Anthropocene*, v. 5, p. 119–126, 2018.

CAPÍTULO II
ARTIGO

Os resultados desta tese são apresentados na forma dois artigos, com a formatação do segundo artigo de acordo com as normas da revista no qual será submetido:

ARTIGO I

**PERFIL OSMORREGULATÓRIO E ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS EM
BRÂNQUIAS DE TILÁPIAS-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) EXPOSTAS À
LAMBDA-CIALOTRINA**

Artigo publicado em:

Aquatic Toxicology, WEBQUALIS - A1 - na área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

PERFIL OSMORREGULATÓRIO E ALTERAÇÕES HISTOLÓGICA BRANQUIAL EM TILÁPIAS-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) EXPOSTAS À LAMBDA-CIALOTRINA

Carlos Eurico Fernandes ^a, Alexandre Welzel da Silveira ^b, André Luiz do Nascimento Silva ^b,
Alda Izabel de Souza ^c, Jayme A. Povh ^c, Jeandre Augusto dos Santos Jaques ^d, Edson dos
Anjos dos Santos ^d, Murilo Koshi A. Yonekawa ^d, Bruna de Barros Penteadoll ^d,
Lilian Franco-Belussi ^a.

^aLaboratório de Patologia Experimental - LAPEX, Instituto de Biociência – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79002-970, Mato Grosso do Sul, Brasil

^bPós-graduando no Programa de Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79002-970, Mato Grosso do Sul, Brasil

^cFaculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79002-970, Mato Grosso do Sul, Brasil

^dSetor de Bioquímica, Instituto de Biociência – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79002-970, Mato Grosso do Sul, Brasil

Resumo: A lambda-cialotrina é um piretróide sintético que mimetiza a estrutura e as propriedades inseticidas da piretrina, um inseticida natural derivado das flores do crisântemo. Nos peixes, atua como um disruptor do sistema nervoso, causando paralisia motora associada a várias outras alterações com níveis variados de mortalidade. O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas osmorregulatórias e alterações histológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* cronicamente expostas a uma dosagem subletal (0,86 µg L⁻¹) de lambda-cialotrina. Foram avaliados os valores séricos para Na²⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, pH, lactato, H⁺, HCO₃ e glicose junto aos níveis de alterações teciduais (NAT) em 24, 96, 168 e 240 h pós-exposição (hpe). A lambda-cialotrina afetou a função motora neural em 24 hpe, seguida pelo aumento dos níveis de K⁺, Ca²⁺, H⁺ e glicose nos grupos expostos, em comparação aos controles. Os níveis de lactato e H⁺ nos grupos expostos foram superiores aos respectivos grupos controle em 168 e 240 hpe. Os níveis de HCO₃⁻ e Cl⁻ aumentaram em 240 hpe, embora não tenha havido alteração nos valores do pH. O NAT foi maior em peixes tratados do que em peixes controle, mas não houve diferenças significativas em comparação aos tempos de exposição. As alterações detectadas nas brânquias variaram de hiperemia, infiltração de células com grânulos eosinofílicos, hiperplasia de células de muco e fusão parcial de lamelas secundárias em 24 hpe à formação de aneurisma vascular, e necrose do epitélio lamelar em 240 hpe. Uma dosagem subletal de lambda-cialotrina a longo prazo é tóxica para tilápias do Nilo, caracterizada por hipocalcemia, hipercalcemia, hiperglicemia e alcalose respiratória, seguida por alterações histológicas tempo-dependente.

Palavras-chave: piretróides, peixes, osmorregulação, histopatologia

Abstract: Lambda-cyhalothrin is a synthetic pyrethroid that mimics the structure and insecticidal properties of pyrethrin, a natural insecticide derived from chrysanthemums. In fish, it disrupts the nervous system, causing motor paralysis and several other alterations associated with varying levels of mortality. This study aimed to evaluate osmoregulatory responses and histological changes in the gills of *Oreochromis niloticus* chronically exposed to a sublethal dosage (0.86 µg/L) of lambda-cyhalothrin. The mean serum values for Na²⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, pH, lactate, H⁺, HCO₃⁻, and glucose along to degree of tissue change (DTC) at 24, 96, 168, and 240 h post-exposure (hpe) were evaluated. Lambda-cyhalothrin affected the neuronal motor function at 24 hpe, followed by the increase of the K⁺, Ca²⁺, H⁺, and glucose levels in the exposed group, compared to the control group. Lactate and H⁺ levels in the exposed group were higher than those in the control group at 168 and 240 hpe respectively. HCO₃⁻, and Cl⁻ levels

increased at 240 hpe, although there was no change in the pH values. DTC was higher in treated fish than in control fish, but there were no significant differences among time-exposure. The changes detected ranged from hyperemia of the branchial vasculature, eosinophilic granulocytic cell infiltration, mucous cell hyperplasia, and partial fusion of secondary lamellae at 24 hpe to vascular aneurysm formation, and necrosis of the lamellar epithelium at 240 hpe. Thus, a sublethal dosage of lambda-cyhalothrin in the long-term is toxic for Nile tilapia, characterized by hypokalemia, hypercalcemia, hyperglycemia, and respiratory alkalosis, followed by time-dependent histological changes.

Key-words: pyrethroids, fish, osmoregulation, histopathology

1. Introdução

O Brasil tem ganhado destaque como um fornecedor proeminente de produtos de aquicultura no mercado global, incluindo os obtidos por meio da piscicultura continental. O surgimento de extensas áreas agrícolas em associação com o manejo minucioso da piscicultura permitiu avanços significativos na produtividade da aquicultura (BARONE et al., 2017). Nesse sentido, as perdas econômicas decorrentes de surtos de doenças representam fatores limitantes à produção de aquicultura, o que levou ao uso de medicamentos, pesticidas e muitos outros compostos químicos para controlar a proliferação de patógenos aquáticos (TAVARES-DIAS & MARTINS, 2017). No entanto, além da redução da conscientização sobre o uso de produtos químicos para práticas de manejo de doenças e alimentação suplementar em algumas espécies, faltam medidas para verificar o uso de produtos químicos em sistemas de piscicultura (SCHALCH et al., 2005; OLSVIK et al., 2019).

Lambda-cialotrina, ou simplesmente cialotrina, é um piretróide sintético que se destaca como um dos principais agroquímicos usados na agricultura e aquicultura. Esses compostos são projetados para ter maiores atividades residuais, fotoestabilidade e rentabilidade que outros agrotóxicos. De acordo com Kilgore e Mingyuli (1975), eles também estão entre os produtos químicos mais prejudiciais ao ambiente aquático, uma vez que os pesticidas piretróides podem ser transportados por longas distâncias na hidrosfera, e assim afetam organismos não-alvos em maior escala. No Brasil, não há legislação específica que determine concentrações seguras de piretróides encontrados no meio ambiente (Resolução CONAMA 357/2005, CETESB, 2009). No entanto, vários piretróides são encontrados em tecidos de organismos não-alvo e variam de 0,02 a 55 µg/g (TANG et al., 2018). A concentração ambiental brasileira de lambda-cialotrina é pouco estudada, embora seja relatada concentração entre 0,11 e 0,14 µg/L em áreas agrícolas dos Estados Unidos (HE et al., 2008). Formulações sintéticas classificadas como piretróides tipo II têm o grupo alfa-ciano em sua estrutura, dando-lhes um coeficiente de partição de água

alta e, portanto, alta hidrofobicidade (LASKOWSKI, 2002). Consequentemente, eles possuem maior solubilidade na matéria orgânica, sofrem sedimentação mais significativa em superfícies aquosas, e são distribuídos em altos níveis nos tecidos ricos em lipídios de organismos aquáticos (HILL, 1989; WERNER & MORAN, 2008). Assim, os peixes são potenciais organismos não-alvo para os efeitos desses compostos.

Em peixes, piretróides têm sido formulados para ter uma ampla gama de efeitos orgânicos, bem como para induzir alterações morfofuncionais em vários tecidos (CENGIZ, 2006; MURANLI & GÜNER, 2011; KAN et al., 2012). Devido sua característica lipofílica, os piretróides têm uma absorção elevada na brânquia, o que contribui para a sensibilidade dos peixes ao produto. Estes, por sua vez, parecem ser deficientes em vias enzimáticas responsáveis por hidrolisar os piretróides (RUKIYE et al., 2003). Por outro lado, a homeostase dos íons de sódio, potássio, cálcio e magnésio é prontamente alterada em peixes expostos a lambda-cialotrina ou outros piretróides (SUVETHA et al., 2010; KUMAR, 2012; VIEIRA & MARTINEZ, 2018). A osmorregulação desses eletrólitos no soro, bem como a troca de gás e o equilíbrio ácido-base, depende da integridade das brânquias (KLEINOW et al., 2008). O epitélio lamelar branquial é permeável ao oxigênio, dióxido de carbono e amônia dissolvida, a transferência depende apenas da difusão passiva (RANDALL & DAXBOECK, 1984). Portanto, as alterações morfológicas das brânquias resultantes da exposição da lambda-cialotrina podem alterar esses mecanismos de troca eletrolítica, levando a efeitos sistêmicos imediatos. No entanto, o perfil de histopatológico das brânquias associado aos efeitos sobre a osmorregulação sérica em peixes submetidos à exposição crônica de cialotrina ainda não foi investigado minuciosamente. Assim, os objetivos deste estudo foram avaliar as respostas resultantes dos níveis de AChE desses peixes, perfis de eletrólitos e alterações histológicas das brânquias após diferentes períodos de exposições em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a uma concentração subletal de lambda-cialotrina.

2. Material e métodos

2.1. Animais e condições experimentais

No estudo foram utilizados espécimes de *Oreochromis niloticus* (n = 130), de ambos os sexos e mesma desova. Todos os indivíduos foram previamente aclimatados a condições laboratoriais por 15 dias em tanques de 1500 L e mantidos em um sistema estático com temperaturas que variam de 23 a 27 °C, aeração artificial e 25 % do volume de água renovado

a cada 48 h. Os espécimes foram divididos entre dois experimentos. No primeiro, foi determinada a concentração letal mediana (CL50) de lambda-cialotrina, e no segundo, os espécimes foram cronicamente expostos à lambda-cialotrina na dosagem subletal obtida no primeiro experimento por diferentes períodos. Ao longo de ambos os experimentos, a qualidade da água foi monitorada duas vezes por dia, medindo parâmetros como o pH ($8,3 \pm 0,1$), o oxigênio dissolvido ($6,7 \pm 0,5$ mg/L), a temperatura ($23,9 \pm 2,02$ °C), condutividade elétrica ($101,6 \pm 7,2$ µS/cm), nitrito ($0,30 \pm 0,1$ mg/L) e nitrato ($2,4 \pm 0,6$ mg/L).

2.2. Teste de toxicidade aguda (concentração letal média, após 96h)

Noventa espécimes ($22,2 \pm 1,5$ g) foram divididos aleatoriamente e alocados em seis aquários de 110 L ($n = 15$ peixes / aquário), correspondendo a ~ 1 g / L de biomassa (ABNT, 2004). Posteriormente, eles foram expostos a uma formulação comercial de lambda-cialotrina (Trinca Caps[®], UPL do Brasil, 25% (m/v) [(S) - α -ciano-3-fenoxibenzil (1R, 3R) -3- [(Z) -2-cloro-3,3,3-trifluoropropenil]-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato]) durante 96 h. Foram empregadas concentrações nominais de 0,0, 4,0, 8,0, 16,0, 32,0 e 64,0 µg / L do composto em aquário sob aeração artificial e protegido da luz solar por 96 h (APHA e AWWA, wef, 1998). Os espécimes mortos, quando presentes, eram removidos de hora em hora. No final do período de teste, realizou uma análise de regressão não linear (método binomial), com os dados de concentração nominal (µg / L) transformados em log CL50 (96 h) de $11,2 \pm 3,9$ µg / L (7,3-15,1 µg / L 95% CI, Fig. 1). Foi utilizado para esta análise o software GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA).

2.3. Teste de toxicidade crônica

Os espécimes juvenis ($n = 80$; $139,8 \pm 24,2$) foram separados aleatoriamente em dois grupos experimentais (exposto e controle) e foram mantidos em jejum por até 240 h em aquários de 110 L, em condições estáticas. Todos os parâmetros de qualidade da água foram medidos e não tiveram diferenças significativas em relação aos valores medidos durante o período de aclimação (ver acima). Uma concentração nominal subletal de $0,86$ µg / L de lambda-cialotrina foi aplicada como um valor de $1/13$ CL50 da mesma formulação comercial usada no teste de toxicidade aguda. Resumidamente, a CL50 ($11,2$ µg / L) foi ajustado de acordo com o peso corporal dos espécimes expostos ($146,3 \pm 22,2$ g, $n = 40$; $13,3$ g / L biomassa). Às 24, 96, 168 e 240 h, dez espécimes foram removidos para análise. As demais amostras não expostas (n

= 40, 133,4 ± 23,4 g) foram avaliadas como grupo controle de acordo com cada tempo de exposição.

2.4. Perfil osmorregulatório

Após anestesia em solução de eugenol (50 mg/L⁻¹), o sangue foi colhido por punção na veia caudal com seringas (3 ml) e agulhas (21G x 1”) previamente banhadas com solução de heparina (1000 UI/mL). As amostras foram refrigeradas a (5 °C) e processadas até 4 horas após a colheita. Uma amostra de sangue total (250 µl) foi obtida para análise dos valores séricos de Na⁺, K⁺, CL⁻, Ca²⁺, HCO₃⁻ e H⁺ (mmol/L), pH (1-14), lactato e glicose (mg/dL). Os valores foram determinados por automação (Cobas TM Auto-Trol Plus B; COBAS 221, Roche®), de acordo com os métodos e procedimentos de controle de qualidade recomendados pelo fabricante (ROCHE, 2014).

2.5. Histologia branquial

Após a colheita do sangue os animais foram eutanasiados em solução de eugenol (450 mg L⁻¹) de acordo com o protocolo descrito por Kildea et al. (2004). Em seguida, fragmentos de brânquias de todos os indivíduos dos respectivos grupos experimentais (expostos e controles), foram fixados em solução tamponada de formol 10% por 24 horas e, posteriormente, transferidos para solução de álcool 70% até processamento histológico para inclusão de Paraplast® (Sigma). Os cortes histológicos (3 µm de espessura) foram corados com hematoxilina e eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS) e Alcian blue (AB, pH 2.5) analisados em microscopia de campo claro (CARSON & HLADIK, 2009). Os níveis de alterações teciduais (NAT) foram estimados de acordo com o método relatado por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994) e Bernet et al. (1999). Resumidamente, o NAT foi baseado nas características das reações iniciais (α), bem como a importância dos achados (ω). A Tabela 1 apresenta as alterações histológicas e seus respectivos graus de importância. A seguinte fórmula foi usada para estimar o NAT:

$$\text{NAT} = \sum_{\text{alt}} (\alpha \times \omega);$$

onde: α , representa o respectivo grau de importância das lesões (1, reversível; 2, reversíveis após neutralização do agente; 3, irreversível) e ω , representa a distribuição e frequência das alterações: (0, ausente; 1, pouca; 2, moderada; 3, acentuada).

2.6. Atividade enzimática da AChE

Fragmentos do encéfalo foram acondicionados em tubos de ensaio com tampão Tris HCl 10 mM [pH 7,2] resfriado, na proporção de 1:10 (massa: volume). Em seguida, foram homogeneizados e centrifugados a 1000 g (2500 rpm) por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi separado em microtubos e congelado à -20 °C (24-48h), para quantificação e inibição da acetilcolinesterase (AChE). Para a análise da atividade enzimática utilizou-se 20 μ L de sobrenadante adicionados a reagente contendo fosfato de potássio 50 mM HEPES, e 20 μ L de Iso-OMPA (inibidor da de butirilcolinesterase), incubados por 30 min. Em seguida, foi adicionado 1 mM do substrato acetiltiocolina (AcSCh) para iniciar a reação, que durou 10 min à 37 °C. A reação foi interrompida pela adição de 3mM de brometo de neostigmina e desenvolvida pela adição de 0,5 mM de ácido 5,5-ditiol bis- (ácido 2-nitrobenzóico). A tiocolina, um produto da hidrólise de AcSCh, reage com o ácido 5,5-ditiol bis- (ácido 2-nitrobenzóico) e gera o ânion 5-tio-2-nitrobenzoato, cuja concentração após a reação foi determinada por espectrofotometria ($\lambda_{max} = 412$ nm) à temperatura ambiente (22–25 °C). A atividade da AChE foi expressa como μ mol de AcSCh, hidrolisado por minuto por mg de proteína. O conteúdo de proteína foi determinado pelo método do azul de Coomassie, usando albumina de soro bovino como padrão (BRADFORD, 1976).

2.7. Análise estatística

Os perfis de eletrolítico e AChE foram avaliados usando um modelo linear generalizado misto para comparar o efeito do tratamento (a diferença entre os grupos de exposição e controle) entre os períodos de exposição, com comparações pareadas realizadas usando o teste de diferença do mínimo significativo. O NAT foi comparado entre os períodos de exposição usando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido por comparações pareadas usando o teste Mann-Whitney U, utilizando o software SPSS 23.0 (IBM®). O gráfico de caixa foi construído usando os valores do NAT. A mediana, 25° e 75° quartis e os intervalos interquartis mínimo e máximo nesses gráficos foram considerados para realizar as comparações entre os grupos. Para comparar os grupos controle e exposto quanto às alterações patológicas, foi

realizada uma análise de escala multidimensional não métrica (nMDS). Primeiro, preparamos uma matriz completa de características de peixes com cada peixe como uma linha e cada alteração como uma coluna e com a incidência de cada alteração multiplicada por seu respectivo escore de importância (ω na fórmula NAT). Uma matriz de distância foi então calculada usando o índice de Gower de similaridade entre peixes. Em seguida, realizamos uma análise de variância multivariada permutacional (ANDERSON, 2001) para testar a influência dos períodos de exposição e suas interações nas pontuações da matriz de distância de Gower. Para calcular o valor p, restringimos as permutações tratando os períodos de exposição como blocos (ou seja, as diferenças entre os grupos de controle e exposto foram testadas apenas para cada período de exposição). Finalmente, foi feita uma comparação multinível de pares entre os períodos de exposição. Os pacotes R (R Core Team, 2018) “RVAideMemoire e “vegan” foram usados para essas análises (OKSANEN et al., 2019).

3. Resultados

3.1. Teste de toxicidade crônica e perfil osmorregulatório

Não houve mortalidade durante o período de exposição no teste de toxicidade crônica. No entanto, o sódio e potássio sofreram alterações e apresentaram perfis distintos. Enquanto os níveis de Na^{+2} diminuíram em 96 horas pós-exposição (hpe) em relação ao controle e superior às 240 hpe em comparação aos demais períodos, os níveis de potássio aumentaram nos animais expostos por 24h e apresentaram queda em outros períodos. Ao contrário, o cloreto não sofreu efeito quanto aos tempos de exposição enquanto que o cálcio foi inferior às 24 hpe e superior nos períodos subsequentes (Figura 2). Os níveis de pH, lactato e o bicarbonato séricos mostraram perfis semelhantes. O pH e o bicarbonato foram superiores às 240 hpe, enquanto o lactato aumentou às 168 e 240 hpe, respectivamente. A concentração de íons H^{+} não variou entre os controles, mas foi inferior às 240 hpe em relação aos demais períodos. Em contraste, a glicose foi superior em relação aos respectivos controles, mas não variou entre os períodos de exposição (Figura 3).

3.2. Atividade enzimática de AChE

Houve redução ($P < 0,05$) dos níveis da Acetilcolinesterase (AChE) apenas em 24 e 240 hpe. Às 96 e 168 hpe os valores foram semelhantes aos respectivos controles e não diferiram entre si (Figura 4).

3.3. Análise histológica das brânquias

A análise de nMDS revelou a composição das alterações em traço representando cada pontuação de importância (ω), resultando em grupos de subconjunto encontrados dentro dos diferentes períodos de exposição. Além disso, as características dos peixes com períodos de exposição crônica a lambda-cialotrina (168 e 240 hpe) tiveram um conjunto distinto de pontuações daqueles com períodos de exposição aguda, que apareceram destruição mais dispersas no diagrama de ordenação do nMDS (Fig. 6). Assim, os períodos de exposição de longa duração foram melhor diferenciados com base nas alterações com valores de w_3 (alterações irreversíveis), que consistiam na presença de necrose, com ou sem fibrose lamelar.

Todos os períodos apresentaram alterações histológicas, mas não houve diferença entre eles quanto ao índice do NAT (Figura 5). Às 24 e 96 hpe os valores foram referentes as alterações de caráter circulatório, tais como hiperemia vascular, aumento da espessura do epitélio das lamelas primárias (proliferação epitelial lamelar – PEL) e edema de lamela secundária, associados ou não a fusões lamelares secundárias focais (Figura 7, b e c). Nos períodos subsequentes, houve aumento no grau de importância das alterações histológicas, especialmente para lesões classificadas no estágio II. PEL associada à necrose com subsequente fibrose focal, infiltrado granulocítico e atrofia lamelar, foram observadas com maior frequência às 168 hpe (Figura 7, c, d, e). A hipertrofia proliferativa das células de muco foi observada em todos os períodos, porém, a frequência foi maior nos dois últimos períodos (Figura 7, g). A necrose lamelar, com fusão completa de lamelas secundárias associadas a presença de aneurismas trombóticos com fibrose ou não, ocorreram exclusivamente às 240 hpe em apenas dois espécimes (Figura 7, f e h). Neste período houve aumento da amplitude do NAT.

4. Discussão

No presente estudo a resposta ao teste de longa duração foi obtida para *O. niloticus* em um sistema estático, onde não há renovação da solução teste (ADAMS & ROWLAND, 2003;

MORAES et al., 2018). Este sistema foi adotado porque a lambda-cialotrina possui alto fator de bioconcentração orgânica (YAMAUCHI, 1985), é estável em pH 7,0 com solubilidade relativamente baixa e tem meia-vida de até 28 dias para degradação em sistemas aquáticos aeróbios (LASKOWSKI, 2002). De acordo com o desenho do nosso estudo, a concentração subletal estimada para os espécimes juvenis, embora tenha sido menor do que em outros estudos (MUTHUKUMARAVEL et al., 2013; GUEDEGBA et al., 2019; ARULRAJ et al., 2019) era capaz de alterar a osmorregulação e morfologia branquial de até 240 hpe.

As respostas de AChE e osmorregulação aqui observadas indicaram que a exposição induziu uma situação estressante nesses peixes, com mudanças marcantes ocorrendo entre os períodos experimentais. A atividade da AChE diminuiu em 24 hpe, sugerindo um efeito imediato da lambda-cialotrina na atividade do nervo sináptico. A supressão desta enzima leva ao acúmulo de acetilcolina nas sinapses do sistema nervoso somático, o que aumenta os processos de contração muscular voluntária, mas é seguido por paralisia, um efeito tipicamente observado em estudos de vários pesticidas (HABIG & DIGIULIO, 1991; KUMAR et al., 2009; PINER & ÜNER, 2014). A redução na atividade enzimática observada durante o período posterior pode ser atribuída ao processo de desintoxicação, sugerindo que pode apresentar bioconcentração em outros tecidos que não o sistema nervoso (HE et al., 2008). Além disso, o aumento dos níveis de glicose circulante observado durante todos os períodos avaliados teria induzido a liberação de adrenalina e a glicogenólise hepática em resposta a maior demanda metabólica (SCHRECK & TORT, 2016). O acúmulo de pesticidas, especialmente no tecido pancreático, compromete seletivamente a produção de insulina, resultando em altos níveis de glicose circulante (DIWAN et al., 1979; VERMA et al., 1983; EL-SAYED et al., 2007). Assim, a concentração empregada teve um efeito mais proeminente no metabolismo energético do que na toxicidade do sistema nervoso.

O estresse induzido em peixes expostos a diferentes compostos químicos afeta seu perfil osmorregulador, cuja função primária é manter a pressão osmótica e a homeostase dos fluidos corporais. No entanto, a resposta iônica dose-dependente é complexa, além de estar envolvida na integridade celular, também é importante para a capacidade adaptativa de uma espécie à estressores químicos (TAKEI & HWANG, 2016). Os níveis séricos de Na^{+2} e Cl^{-} geralmente diminuem por meio da perda urinária imediatamente após um estímulo adrenérgico (MCDONALD & MILLIGAN, 1997). Neste estudo, apenas os níveis de sódio diminuíram a partir de 96 hpe, seguido por aumento a 240 hpe, o que pode ter ocorrido por causa de respostas compensatórias, como aumento da perfusão branquial em resposta ao estresse (MCDONALD et al., 1991). O perfil de potássio foi o parâmetro mais atípico entre os períodos estudados, a

hipercalemia em 24 hpe também foi observada durante a exposição aguda à agentes químicos em outros estudos associados a alterações nos níveis de íons de sódio ou cloreto envolvidos nos mecanismos de co-transporte (KNUDSEN & JENSEN, 1996; VIEIRA & MARTINEZ, 2018). A hipocalemia, ao contrário, se manifesta em situações de estresse crônico, devido ao aumento da diurese renal relacionada à perda de seletividade celular no epitélio branquial, como observado anteriormente em *O. niloticus* exposto à atrazina (FISCHER-SCHERL et al., 1991; MCDONALD e MILLIGAN, 1997).

Em alguns estudos, o equilíbrio ácido-base depende desses processos regulatórios e que varia em função da espécie, ingrediente ativo, concentração do agente tóxico, aspecto osmótico do ambiente aquático e episódios de estresse (MCDONALD & MILLIGAN, 1997; PERRY & WOOD, 1989; HARMON, 2009). Os resultados demonstraram que a exposição prolongada à lambda-cialotrina altera os perfis ácido-base. O aumento nos valores de pH e bicarbonato aumentou a alcalinidade plasmática em 240 hpe. O aumento do pH reduz a concentração de dióxido de carbono nos tecidos, e isso pode ter um efeito protetor sobre o processo osmorregulador (TUFTS & PERRY, 1998). Como a absorção do dióxido de carbono é rápida, o aumento contínuo na ventilação respiratória poderia garantir que os níveis adequados de transferência de oxigênio nos tecidos fossem mantidos (RANDAL & DAXBOECK, 1984; NIKINMAA & SALAMA, 1998). Assim, a perda de hidrogênio pode ter sido compensada por uma maior produção de bicarbonato em peixes expostos. A associação desse processo com a elevação do lactato sérico em 168 e 240 hpe pressupõe o envolvimento do metabolismo energético no aumento do nível de bicarbonato. Em *Oreochromis mossambicus* exposto à cipermetrina, a queda do glicogênio hepático ocorre junto com diminuições na lactato desidrogenase e aumentos nos níveis de lactato circulante, devido à redução da produção de piruvato através do ciclo do ácido tricarboxílico (REDDY & YELLAMMA, 1991). Portanto, os perfis osmorregulatórios e o equilíbrio ácido-básico sugerem que embora procurada a compensação eletrolítica tenha sido procurada, o gasto energético para as respostas contra a toxicidade da lambda-cialotrina foi alto, o que ocorreu ao custo de induzir alterações histológicas nas brânquias.

O conjunto de mudanças observadas nos períodos pós-exposição representa um processo cronologicamente progressivo, cujos impactos estiveram diretamente ligados a exposição à lambda-cialotrina. Além disso, a natureza de algumas alterações teciduais foi dinâmica e dependente do tempo de duração da exposição. Nos processos de intoxicação crônica, as lesões apresentavam alterações de perfil, tanto na origem quanto na intensidade. Nesse sentido, a análise de nMDS foi uma ferramenta útil para demonstrar as interações entre

os escores das lesões e os períodos de exposição, após as análises dos valores de NAT não revelarem diferenças significativas entre eles. Esta análise mostrou que 168 hpe foi um período crítico para o aparecimento de lesão irreversível após a exposição à lambda-cialotrina, coincidindo com altos níveis de lactato, que sugere falhas na troca de oxigênio pelo epitélio lamelar. Neste estudo, a PEL e a hiperplasia de células mucosas foram as alterações mais frequentes observadas imediatamente após a exposição, seguidas por infiltração de células granulocíticas. Particularmente, o distúrbio lamelar epitelial é quimiotático para células granulocíticas geralmente mediadas por fatores pró-inflamatórios em resposta ao aumento da peroxidação lipídica na célula epitelial em resposta à presença de lambda-cialotrina (VIEIRA & MARTINEZ, 2018). Além disso, a hiperplasia de células mucosas foi notavelmente pronunciada a partir de 168 hpe, concordando com altos níveis de lactato. Este achado confirma a característica protetora, bem como um papel regulador iônico e ácido-base, conforme relatado anteriormente (PERRY et al., 1993; SHEPHARD, 1994). Neste cenário, embora em menor extensão, o aneurisma lamelar coincidiu com a necrose focal do epitélio lamelar de 168 hpe em diante, relatado em vários estudos com lambda-cialotrina e outros piretróides (VELISEK et al., 2007; VELMURUGAN et al., 2007; CUNHA et al., 2018). Lesões com essas características foram previamente observadas em *O. niloticus* após exposição à cipermetrina por pelo menos 35 dias (KORDMAZ et al., 2009).

5. Conclusão

Os resultados demonstraram que *O. niloticus* exposto a uma concentração subletal de lambda-cialotrina sofre alterações na osmorregulação sérica associadas a alterações histológicas em suas brânquias. Essas alterações foram caracterizadas por hipocalcemia, hipercalcemia, hiperglicemia e alcalose respiratória, principalmente a partir de 240 horas após a exposição. Considerando as propriedades altamente lipofílicas que caracterizam os piretróides, em particular a lambda-cialotrina, o tempo de exposição dos peixes a baixas concentrações contínuas pode apresentar um conjunto de importantes desordens envolvendo os demais sistemas. As consequências da desregulação podem ser tardias em termos de produtividade na piscicultura ou um custo ambiental considerável. Nesse sentido, esforços devem ser continuados no sentido de integrar as melhores práticas de manejo para prevenir o escoamento de agrotóxicos, e consequentemente reduzir ou prevenir riscos inerentes aos efeitos toxicológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic Toxicology Test Methods. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER B. A.; BURTON JR., G. A.; CAIRNS JR., J. Handbook of Ecotoxicology, 2 ed. Lewis Publishers: Boca Raton, p. 19-38. 2003.
- AHMAD, M. K.; SHARMA, D. K.; ANSARI, S.; ANSARI, B. A. Comparative study of synthetic pyrethroid Lambda-cyhalothrin and Neem based pesticide Neemgold on the fingerlings of Zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 1, c. 6, p.91-94, 2011.
- AHMAD, M. K.; SHARMA, D. K.; ANSARI, S.; ANSARI, B. A. Effect of lambda-cyhalothrin and Neemgold on some biochemical parameters in the gill, liver, and ovary of zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae). **Archives of Polish Fisheries**, v. 20, p. 19-25. 2012.
- ALMEIDA, D.M.; PETESSE, M. L.; TACHIBANA, L.; DIAS, D. C.; MOREIRA, R. G. RANZINA-PAIVA, M. J. T. Monitoring whole blood, plasma and serum variables of Nile Tilapia during 24 hours, after capture stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 4, p.1-9. 2008.
- 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: 18/04/2017.
- 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: 18/04/2017.
- APHA, AWWA, WEF. Standard methods. Ed. CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E.; EATON, A.D. New York: American Public Health Association, American Water Association, Water Environment Federation. 1998. 2671 p.
- APPLEYARD, S.A.; RENWICK, J.M.; MATHER, P.B. Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. **Aquaculture Research**, v.32, p.287-296, 2001.
- BHATNAGAR, A.; DEVI, P. Water quality guidelines for the management of pond fish culture. **International Journal of Environmental Sciences**, v.3, n. 6, p. 1980-2019. 2013.
- BECKER, A. G.; GONÇALVES, J. F.; TOLDEDI, J. A.; BURNS, M. D. M.; GARCIAN, L. O., VIEIRA, J. P.; BALDISSEROTO, B. Plasma ion levels of freshwater and marine/estuarine teleosts from Southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.9, n.4, p. 895-900. 2011.
- BONGA, S. E. W. The Stress Response in Fish. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 591-625. 1997.
- BORGES, A., et al. Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. **Chemosphere**, v.69, n. 6, p. 920-926, 2007.

CARLSON, E.; ZELIKOFF, J. T. The Immune System of Fish: A Target Organ of Toxicity. In.: Di Giulio, R. T.; Hinton, D. E. **The Toxicology of Fishes**. Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL, USA, p. 489-529. 2008.

CATALDI, E.; MANDICH, A.; OZZIMO, A.; CATAUDELLA, S. The interrelationships between stress and osmoregulation in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. **Journal Applied Ichthyology**, v. 21, p. 229–231. 2015.

CENGIZ, E. I. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n.22, p. 200-204, 2006.

CLAIBORNE, J.B.; EDWARDS, S. L.; MORRISON-SHETLAR, A. I. Acid-Base Regulation in Fishes: Cellular and Molecular Mechanisms. **Journal of Experimental Zoology**, v. 293, p. 302-319. 2002.

CUNHA; F. S.; SOUSA; N.C.S.; SANTOS, R. F.B.; MENESES, J.O.; DO COUTO, M.V.S.; FABRÍCIO TAVARES CUNHA DE ALMEIDA, F.T.C.; FILHO, J.G.S.; CARNEIRO, P.C.F.; MARIA; A. N.; FUJIMOTO, R. Y. Deltamethrin-induced nuclear erythrocyte alteration and damage to the gills and liver of *Colossoma macropomum*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p.15102–15110. 2018.

DEY, M.M.; GUPTA, M.V. Socioeconomics of disseminating enetically improved Nile tilapia in Asia: an introduction. **Aquaculture Economic and Management**, v.4, p.5-12, 2000.

DINGOVA. D.; LEROY, J.; CHECK, A.; GARAJ, V.; KREJCI, E.; HRABOVSKA, A. Optimal detection of cholinesterase activity in biological samples: Modifications to the standard Ellman's assay. **Analytical Biochemistry**, v. 462, p. 67-75, 2014.

DIWAN, A.D.; HINGORANI, H.G.; CHANDRASEKHARAM, N. N. Levels of blood glucose and tissue glycogen in two live fish exposed to industrial effluents. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 21, p.269-272. 1979.

EKREM MUTLU, E.; AYDIN1, S.; KUTLU, B. Alterations of Growth Performance and Blood Chemistry in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Affected by Copper Sulfate in Long-Term Exposure. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.15. p.481-488, 2015.

ELLMAN, G.L., et al. A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

EL-SAYED, Y.S.; 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. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 24, p. 212–217. 2007.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Species Fact Sheets: Fisheries and Aquaculture Department, 2018.

FERGUSON, H. W. Systemic Pathology of Fish. A Text Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease. Scotian Press, UK. 366 p. 2006.

FISCHER-SCHERL, T.; VEESER, A.; HOFFMANN, R.W.; KÜHNHAUSER, C.; NEGELE, R.D.; EWRINGMANN, T. Morphological effects of acute and chronic atrazine exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Archives of Environmental Contamination Toxicology**, v. 20: p. 454-461. 1991.

HABIG, C.; DiGIULIO, R. Biochemical characteristics of cholinesterases in aquatic organisms. In: Cholinesterase-inhibiting Insecticides: Their Impact On Wild life and the Environment. **Elsevier Science Publishers**, NY. pp. 19–33. 1991.

HARMON, T.S. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. **Reviews in Aquaculture**, v.1, p.58-66. 2009.

HE, L. M.; TROIANO, J.; GOH, K.S.; WANG, A. Environmental Chemistry Ecotoxicity and Fate of Lambda-Cyhalotrin. In: WHITACRE, D. M. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. Springer, USA, p.71-91. 2008.

HILSDORF, A.W.S. Genética e cultivo de tilápias-vermelhas: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, p.73-84, 1995.

HWANG, P-P.; LIN, L-Y. Gill Ionic Transport, Acid-Base Regulation, and Nitrogen Excretion. In: EVANS, D. H.; CLAIBORNE, J. B.; CURRIE, S. **The Physiology of Fishes**. 4^a ed. CRC Press, p. 205- 233. 2014.

KILDEA, M. A.; ALLAN, G. L.; HEARNEY, R. E. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUI-S from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture**, v.232, p.265-277, 2004.

KLEINOW, K. M.; NICHOLS, J. W.; HAYTON, W. E.; McKIM, J. M.; BARRON, M. G. Toxicokinetics in Fishes. In.: The Toxicology of Fishes. Taylor & Francis Group, LLC, Boca. Raton, FL, US, p. 55-152. 2008.

KORDMAZ, N.; CENGIZ, E.I.; UNLU, E.; UYSAL, E.; YANAR, M. Cypermethrin-induced histopathological and biochemical changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and the protective and recuperative effect of ascorbic acid. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 28, p. 198- 205. 2009.

KUBITZA, F. Aquicultura no Brasil: Principais espécies, áreas de cultivo, rações, fatores limitantes e desafios, Panorama da Aquicultura, v. 25, n. 150, 2015.

KUMAR, A., SHARMA, B. & PANDEY, R.S. Preliminary evaluation of the toxicity of cypermethrin and lambda- cyhalothrin to *Channa punctatus*. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 79: 613-616. 2007.

KUMAR, A., SHARMA, B. & PANDEY, R.S. Cyhalothrin and cypermethrin induce stress in the freshwater muddy fish, *Clarias batrachus*. **Toxicological & Environmental chemistry**, v. 96, n. 1, p. 136-149. 2014.

KUMARAGURU A. K. & BEAMISH E W. H. Bioenergetics of acclimation to permethrin (NRDC-143) by rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.15, p. 247-252. 1983.

KUTLUYER, F.; ERISIR, M.; BENZER, F.; OGRET MEN, F.; INANAN, B. E. The in vitro effect of Lambda-cyhalothrin on quality and antioxidant responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spermatozoa. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, 373 p. 855-860, 2015.

LASKOWSKI, D. A. Physical and Chemical Properties of Pyrethroids. **Review Environmental Toxicology**, v. 174, p. 49-170. 2002.

LIEBEL, L.; TOMOTAKE, M.E.M.; OLIVEIRA RIBEIRO, C.A. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. **Ecotoxicology Environmental Contamination**, v. 8, n. 2, p. 09-15. 2013

MALLAT, J. Fish Gill Structural Changes Induced by Toxicantes and Other Irritants: A Statistical Review. **Canadian Journal Fisheries Aquatic Science**, v. 42, p. 630-648. 1985.

MAUND, S.J.; HAMER, M. J.; WARINTON, J.S.; KEDWARDS, T.J. Aquatic Ecotoxicology of the Pyrethroid Insecticide Lambda-cyhalothrin: Considerations for Higher-Tier Aquatic Risk Assessment. *Pesticides Science*, 54, p. 408-417. 1998.

Mc DONALD, D.G.; CAVDEK, V.; ELLIS, R. Gill design in freshwater fishes: interrelationships amongst gas exchange, ion regulation & acid-base regulation. **Physiological Zoology**, v. 64, p.102- 123. 1991.

Mc DONALD, D.G. & MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWANA, G.K. PICKERING, A.D. SUMPTER, J.P. SCHRECK, C.B. Fish Stress and Health in Aquiculture. **Society for Experimental Biology Seminar Series**, 62. Cambridge University Press, p. 119-144. 1997.

MISHRA, D.; SRIVASTAV, S. K.; SRIVASTAV, A. K. Effects of the insecticide cypermethrin on plasma calcium and ultimobranchial gland of a teleost, *Heteropneustes fossilis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p.193–197. 2005.

MORAES, F.D.; VENTURINI, F.P.; ROSSI, P.A.; AVILEZ, I.M.; SOUZA, N.E.S.; MORAES, G. Assesment of biomarkers in the neotropical fish *Brycon amazonicus* exposed to cypermethrin-based insecticide. **Ecotoxicology**, v.27, p.288-197. 2018.

NIKINMAA, M.; SALAMA, A. Oxygen Transport in Fish. In: PERRY, S.F.; TUFTS, B.L. **Fish Respiration**. Academic Press, USA, p141-184. 1998.

PERRY, S. F.; WOOD, C. M. Control and coordination of gas transfer in fishes. **Canadian Journal of Zoology**, v. 67, p. 2961-2970. 1989.

PINER, P.; ÜNER, N. Neurotoxic effects of lambda-cyhalothrin modulated by piperonil butoxide in the brain of *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology*, v. 29, n. 11, p. 1275-1282, 2014.

POLAT, H.; ERKOÇ, F. U.; VIRAN, R.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 49, p. 39-44, 2002.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. Sublethal and Chronic Effects of pollutants on Freshwater fish. Oxford: Fishing News Books, 1994. p. 30, 339–352, 1994.

PRUSTY, A. K.; MEENA, D. K.; MOHAPATRA. P.; PANIKKAR. P.; GUPTA, S. K.; BEHERA, B.K. Synthetic pyrethroids (Type II) and freshwater fish culture: Perils and mitigations. **International Aquatic Research**, v.7, p.163–191. 2015.

RANDALL, D.; DAXBOECK, C. Oxygen and Carbon Dioxide Transfer Across Fish Gills. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. **Fish Physiology**. Academic Press, INC, USA, p. 263-313. 1984.

RANDALL, D. J. TSUI, T. K. N. Tribute to R. G. Boutilier: Acid-base transfer across fish gills. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 1179-1184. 2006.

REDDY, A.T.; YELLAMMA, K. Perturbations in carbohydrate metabolism during cypermethrin toxicity in fish, *Tilapia massambica*. **Biochemical International**, v. 23, n. 4, p. 663-668. 1991.

SCHRECK, C. B.; TORT, L. The Concept of Stress in Fish. In: Biology of Stress in Fish. Acad. Press Elsevier, p. 1-34. 2016.

SLANINOVA, A.; SMUTNA, M.; MODRA, H.; SVOBODOVA, Z. A review: oxidative stress in fish induced by pesticides, **Neuroendocrinology Letters**, v.30, s.1, p. 2-12. 2009.

SINHORIN, V.D.G., et al. Effects of the acute exposition to glyphosate-based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma* sp). **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.106, p. 181-187, 2014.

STOSKOPF, M. K. Fish Medicine. W.B. Saunders Company, USA. 882 p. 1993.

TAKEI, Y.; HWANG, P-P. Homeostatic Responses to Osmotic Stress. In: SCHERCK, C. B.; TORT, L.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. **Biology of Fish Stress**. Acad. Press Elsevier, p. 2008-237. 2016.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An Atlas of Fish Histology. **Normal and Pathological Features**. Second Edition. Kondansha Ltd. Tokyo. 195 p. 1995.

TAKEY, Y.; HWANG, P.P. Homeostatic Response to Osmotic Stress. In: SCHERCK, C.B.; TORT, L.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. **BIOLOGY OF STRESS IN FISH**. Elsevier, Academic Press, USA, p. 208-237. 2016.

TUFTS, B.; PERRY, S.F. Carbon Dioxide Transport and Excretion. In: PERRY, S.F.; TUFTS, B.L. **Fish Respiration**. Academic Press, USA, p. 229-281. 1998.

VASSILOU, G. Factors affecting risk assessment of pesticides in water bodies: a review. **MOJ Toxicology**, v. 2.n. 1, p. 26-32. 2016.

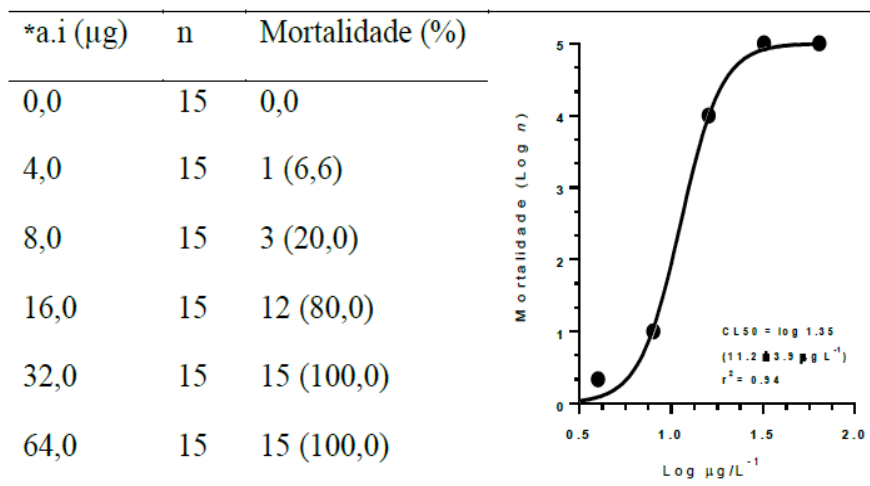
- VELISEK, J., et al. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinary Medical**, v.51, n.10, p. 469-476, 2006.
- VELMURUGAN, B.; SELVANAYAGAM, M.; CENGIZ, E.I.; UNLU, E. Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 24, p. 286-291. 2007.
- VERMA, S.R.; SARITA RANI, S.; TONK, I.P.; DALELA, R.C. Pesticide-Induced Dysfunction in Carbohydrate Metabolism in Three Freshwater Fishes. **Environmental Research**, v. 32, p.127-133. 1983.
- WANG, W. CAI B D.J.; SHAN Z.J.; CHEN W.L.; POLETIKA, N.; GAO, X.W A, Comparison of the acute toxicity for gamma-cyhalothrin and lambda-cyhalothrin to zebra fish and shrimp. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.47, p. 184–188. 2007.
- WERNER, I. AND MORAN, K. Effects of pyrethroid insecticides on aquatic organisms. In: Spurlock, G.F; Hendley, P.; Weston, D. Synthetic Pyrethroids: Occurrence and Behavior in Aquatic Environments, Washington, DC: **American Chemical Society**., p. 310-334. 2008.
- WOLF, J.C.; BAUMGARTNER, W.A.; BLAZER, V.S. et al. Nonlesions, misdiagnosis, missed diagnoses and other interpretative challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers. **Toxicology Pathology**, v. 43, p. 297-325. 2015.
- WOOD, C.M. Toxic responses of the gill. In: SCHLENK, D.; BENSON, W. H. Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts. Vol 1 – Organs. Taylor & Francis, USA, p. 1-101. 2001.
- YAMAUCHI, F. Cyhalothrin: accumulation in fish (carp) in a flow-through water system. **Zeneca report**, PP-563, MITES, p. 58-367. 1985.
- YANCHEVA, V.; VELCHEVA, V.; STOYANOVA, S; GEORGIEVA, 2. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. **Applied Ecology and Environmental Research**, v 14, n.1, p. 47-75. 2015.
- YILDIRIM, M.Z.; BENLI, A.C.; SELVI, M.; OZKUL, A.; ERKOÇ, F. KOÇAK, O. 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. **Environmental Toxicology**, v.21, n. 6, p. 614-620, 2006.

ANEXOS

Tabela 1. Classificação* das alterações histológicas da brânquia, quanto ao tipo de lesões e dos estágios em que se inserem nos respectivos órgãos.

Órgãos	Alterações histológicas	Grau de alteração
Brânquias	Hipertrofia e hiperplasia epitelial	1
	Descamação epitelial	1
	Infiltrado inflamatório epitelial	1
	Espessamento epitelial	1
	Proliferação celular epitelial	1
	Atrofia lamelar	1
	Hiperplasia de células de muco	1
	Hipertrofia e hiperplasia de células cloreto	1
	Hipertrofia de células de muco	1
	Hemorragia	1
	Edema lamelas secundárias	1
	Aneurisma	1
	Hiperemia	1
	Ruptura do epitélio lamelar	2
	Fusão de lamelas secundárias	2
	Fusão completa de lamelas secundárias	2
	Rodlet + Hiperemia + Infiltrado	2
	Aneurisma com fibrose	3
	Fibrose epitelial	3
	Necrose	3

* De acordo com Poleksic & Mitrovic-Tutundzic (1994); Bernet et al. (1999); 1, alterações reversíveis; 2, alterações reversíveis após neutralização do agente; 3, alterações irreversíveis.



* concentração ativa do ingrediente de acordo com a formulação comercial (Trinca Caps[®])

Figura 1. Taxa de mortalidade em *Oreochromis niloticus* expostos a diferentes concentrações de lambda-cialotrina e respectiva curva para o cálculo da CL₅₀ 96h (IC 95% 7,3 – 15,1 µg L⁻¹).

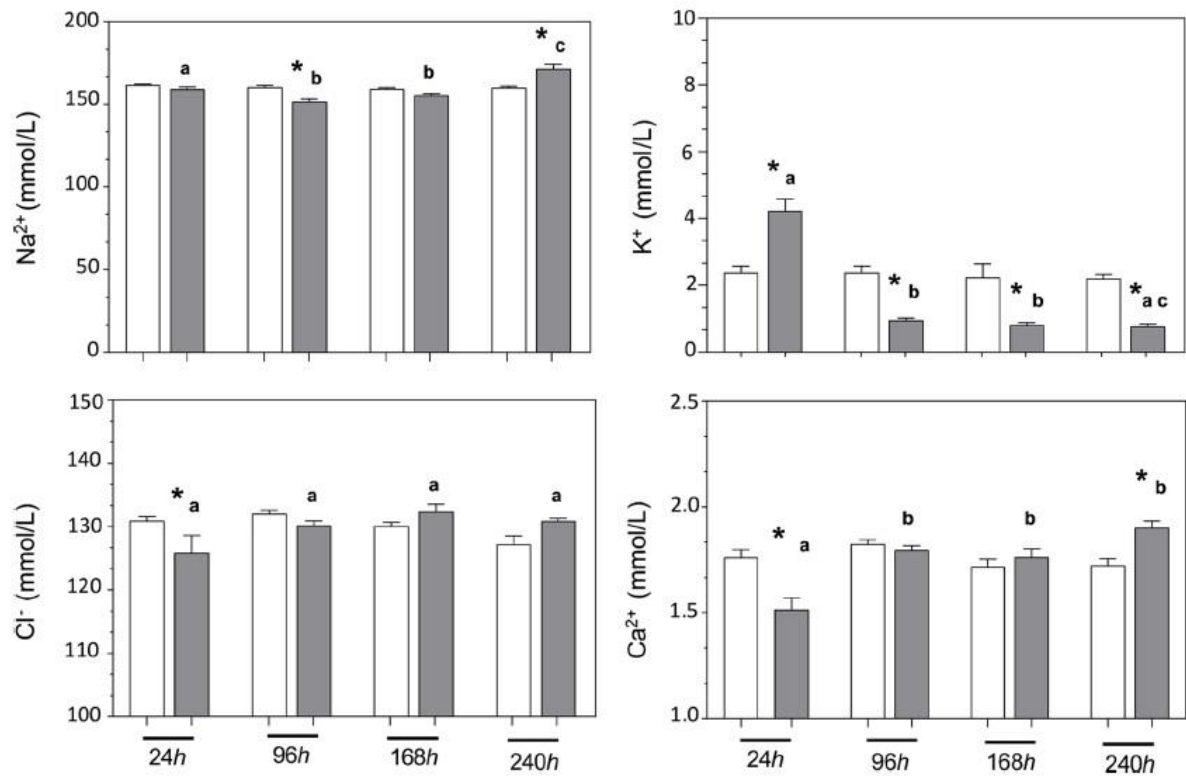


Figura 2. Perfil sérico do sódio, potássio, cloreto e cálcio em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. *, $P < 0.05$ entre controle (caixas brancas) e expostos (caixas cinzas); letras distintas entre expostos representam diferença significativa ($P < 0.05$).

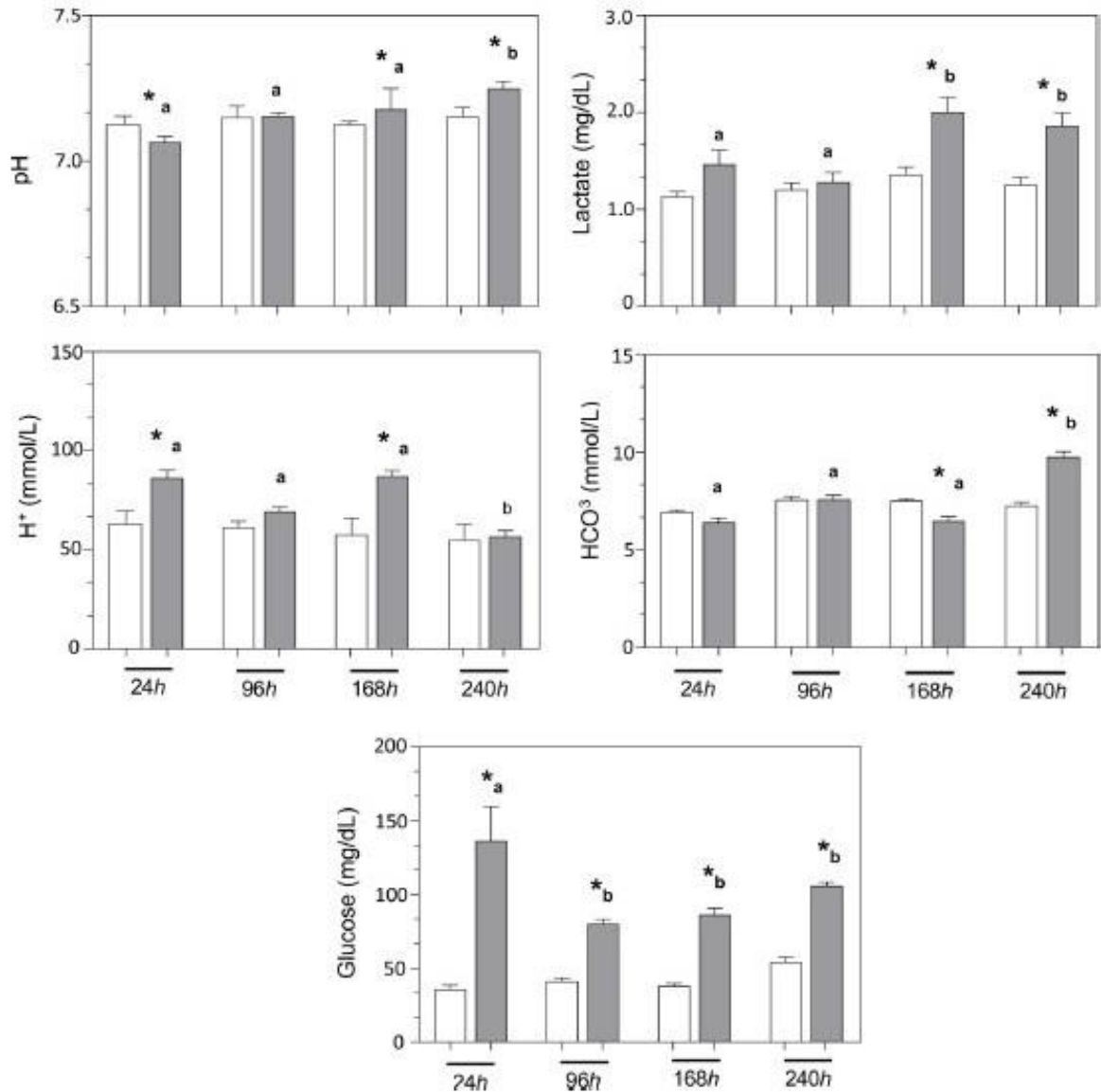


Figura 3. Índices de pH e perfil sérico do lactato, hidrogênio, bicarbonato e glicose em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. *, $P < 0,05$ entre controle (caixas brancas) e expostos (caixas cinzas); letras distintas entre expostos representam diferença significativa.

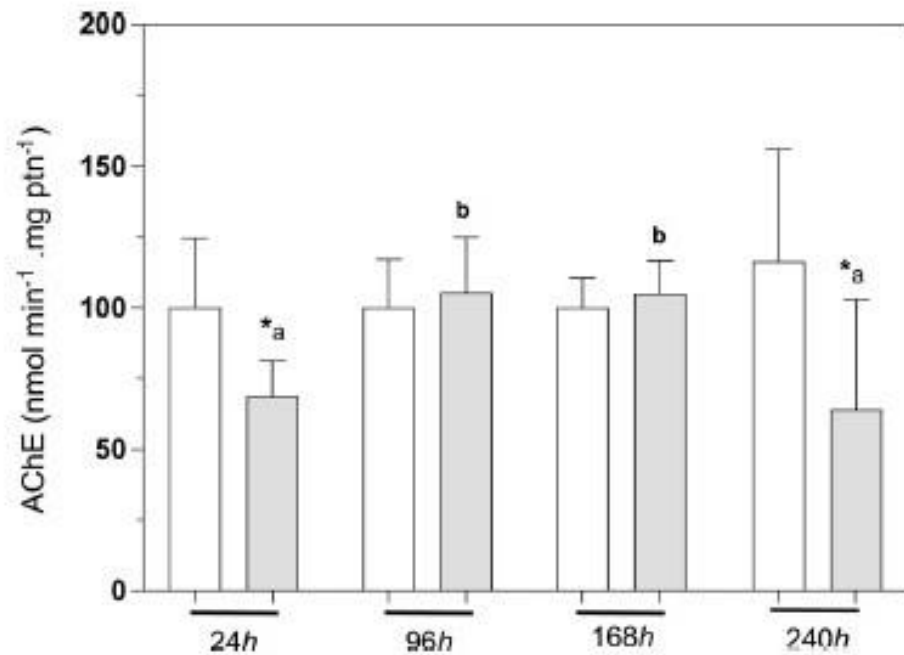


Figura 4. Perfil da Acetilcolinesterase em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. C, Controle. *, $P < 0,05$ entre controle (caixas brancas) e exposto (caixas cinzas).

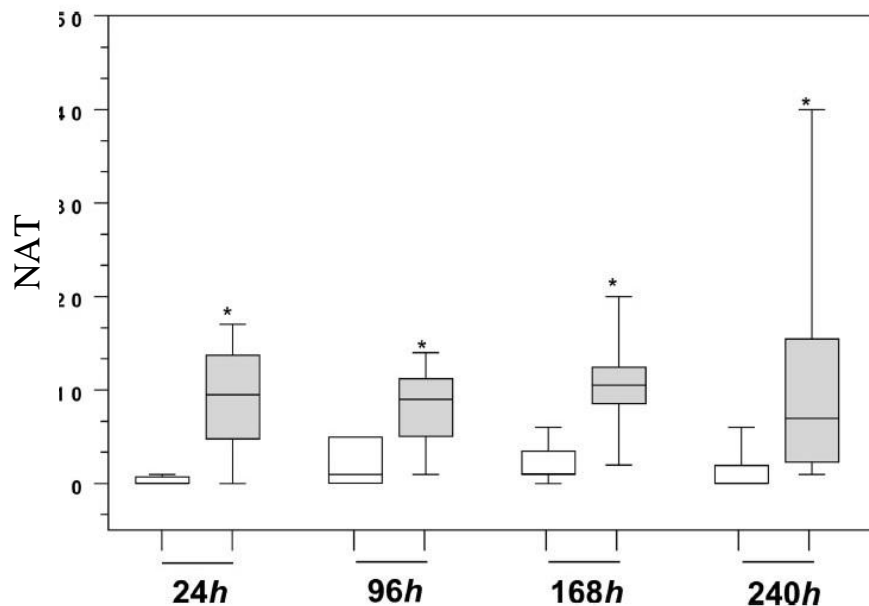


Figura 5. Níveis de alterações histológicas (NAT) branquiais em *Oreochromis niloticus* expostos à lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos. *, $P < 0,05$ entre controle (caixas brancas) e exposto (caixas cinzas).

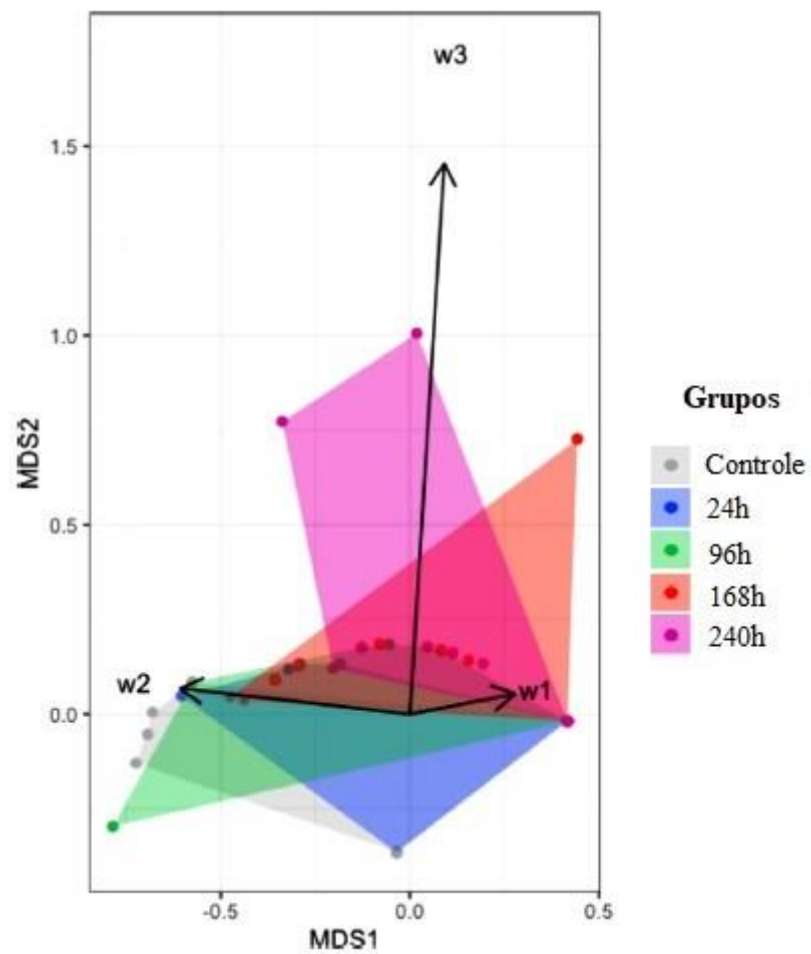


Figura 6. Diagrama de ordenação mostrando os resultados do escalonamento dimensional não métrico realizado com uma matriz de distância de Gower calculada a partir do escore de importância histopatológica (w1: facilmente reversível; w2: alterações moderadas com provável recuperação após o término da exposição e w3: alterações irreversíveis) em *Oreochromis niloticus* exposto a lambda-cialotrina ($0,86 \mu\text{g L}^{-1}$) após diferentes períodos de tempo.

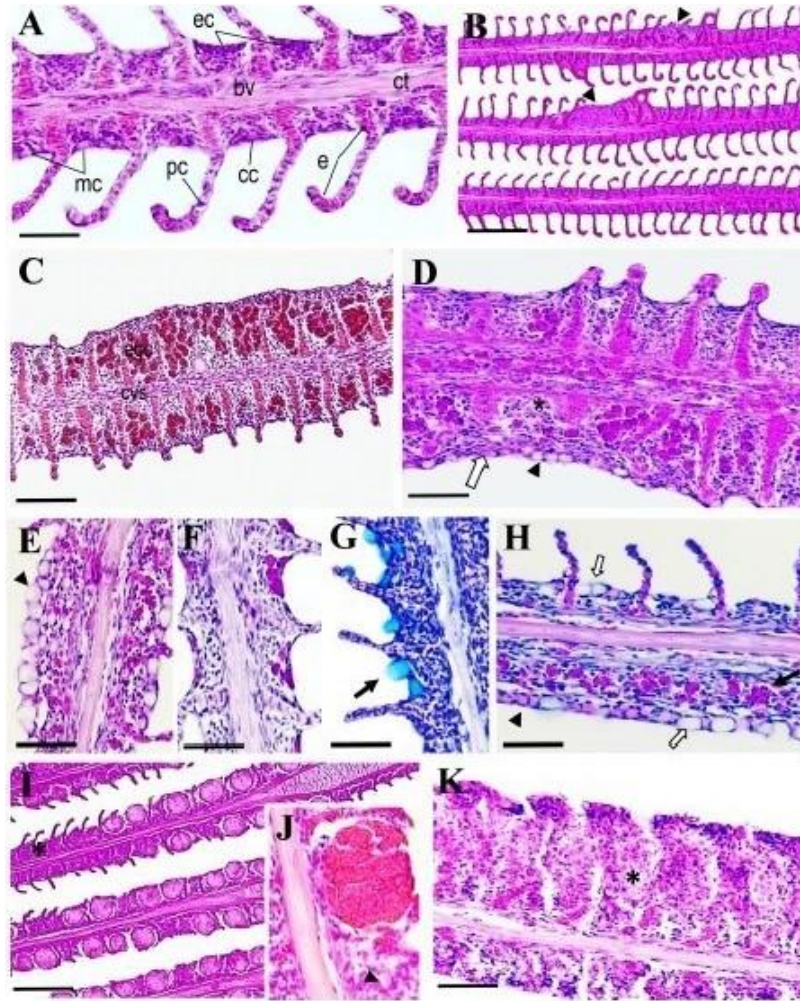


Figura 7. Cortes histológicos de brânquia corados com HE de *Oreochromis niloticus* expostos a $0,86 \mu\text{g} / \text{L}$ de lambda-cialotrina. (A) tecido normal de uma amostra controle 24 h após-exposição (hpe); camada de células epiteliais estratificadas constitui a lamela primária (ec), vasos sanguíneos (bv), tecido cartilaginoso (ct), célula muco (mc), células pilares (pc), célula de cloreto (cc), eritrócito (e) dentro do capilar vaso da lamela secundária. Escala de barra = $50 \mu\text{m}$. (B) proliferação focal lamelar do epitélio com fusão da lamela secundária (ponta de seta) observada em 24 hpe. Escala de barra = $100 \mu\text{m}$. (C) infiltração intensa de células granulocíticas eosinofílicas (EGC) entre o epitélio lamelar, lamelas secundárias abaixo do seio venoso central (cvs) da lamela primária estão intactas, apesar da gravidade da proliferação lamelar epitelial em 96 hpe. (D) fusão lamelar severa com dissociação focal de células epiteliais (asterisco), processo proliferativo inicial de células muco (ponta de seta) associado a leve formação de tecido fibroso (seta branca) em 96 hpe. Escala de barra = $50 \mu\text{m}$. (E) (F) e (G) um aspecto típico de células de muco caracterizadas pela produção de mucinas ácidas (F) e neutras (G). Hiperplasia de células muco (ponta de seta) e hipertrofia (seta) são observadas em 168 hpe. Amostra corada por HE (E), ácido periódico-Schiff (PAS; F) e método de alcian blue (AB; G). Escala de barra = $50 \mu\text{m}$. (H) hipertrofia de células muco (seta branca) em resposta à infiltração de células granulocíticas eosinofílicas (seta preta); em algumas seções, as células rodlet (ponta de seta) apareceram em uma fileira formando uma camada externa no epitélio da lamela primária; em 168 hpe. Escala de barra = $50 \mu\text{m}$. (I) baixa ampliação de um conjunto de lamelas primárias mostrando aneurismas vasculares difusamente distribuídos ao longo da proliferação epitelial lamelar (asterisco). (J) em detalhes, um aneurisma no interior de capilares de lamelas secundárias próximo à necrose de células epiteliais lamelares (ponta de seta), observada em 240 hpe. Escala de barra = $100 \mu\text{m}$. (K) ruptura extensa de lamelas secundárias entre a necrose de células epiteliais (asterisco) em uma seção de lamelas primárias em amostra de 240 hpe.

CAPÍTULO III

ARTIGO II

**ANÁLISE BIOQUÍMICA E HISTOPATOLÓGICA DE BRÂNQUIA, FÍGADO E RIM
DE TILÁPIAS-DO-NILO *Oreochromis niloticus* EXPOSTAS A LAMBDA-
CIALOTRINA**

As normas seguem as exigências para a publicação em:

Aquatic Toxicology, WEBQUALIS - A1 - na área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

1 **ANÁLISE BIOQUÍMICA E HISTOPATOLÓGICA DE BRÂNQUIA, FÍGADO E RIM**
 2 **DE TILÁPIAS-DO-NILO *Oreochromis niloticus* EXPOSTAS A LAMBDA-**
 3 **CIALOTRINA**

4
 5 André Luiz do Nascimento Silva¹, Carlos Eurico dos Santos Fernandes², Karine Nathiele Nogueira Farias¹,
 6 Tiago Venâncio da Silva², Brenda de Oliveira Martins², Maria Eduarda Corona Garcia², Lilian Franco Belussi²,
 7 Alexandre Welzel da Silveira², Jayme Aparecido Povh³, Alda Izabel de Souza³.

8
 9 ¹ Doutorando no Programa de Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de
 10 Mato Grosso do Sul

11 ² Laboratório de Patologia Experimental - LAPEX, Instituto de Biociência - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

12 ³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79002-970,
 13 Mato Grosso do Sul, Brasil

14
 15 **Resumo:** No presente estudo avaliou o perfil enzimático e alterações histológicas na brânquia,
 16 fígado e rim de *Oreochromis niloticus* expostos ao inseticida Lambda-cialotrina (LCT), na
 17 concentração de 1, 24 µg L⁻¹, em períodos agudo e crônico. As tilápias (n=60; 108,8g ± 36,22)
 18 foram submetidas a três períodos de exposição: 72, 168 e 336 hpe (horas pós-exposição) e, 30
 19 espécimes após a exposição, foram transferidos para um ambiente livre de contaminantes (15
 20 dias) para identificar possível recuperação. Nesse contexto, objetivou-se verificar o efeito
 21 subletal do produto em diferentes períodos de exposição e a capacidade de recuperação da
 22 espécie. Para avaliação do perfil enzimático analisados as enzimas aspartato transferase (AST),
 23 alanina transferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT), e os achados histológicos foram
 24 classificados conforme a gravidade e a intensidade das lesões através do NAT (níveis de
 25 alteração tecidual). Os exemplares expostos em 72 hpe apresentaram redução nos níveis séricos
 26 de AST, em contrapartida, os valores de ALT aumentaram conforme o tempo de exposição.
 27 Após os ensaios os peixes apresentaram diversas alterações teciduais importantes, como
 28 predomínio de degenerações difusas dos hepatócitos, acúmulo de lipofuscina e necrose no
 29 fígado; nas brânquias a presença de fusão lamelar completa frequente, ruptura e necrose das
 30 células epiteliais; e no rim, processos degenerativos tubular focal, inclusões hialinas e
 31 hipertrofia nas células tubulares. A análise histológica revelou alterações em todos os tecidos
 32 estudados, indicando efeitos tóxicos em tilápias expostas a concentrações subletais de LCT.

33
 34 **Palavras-chave:** Biomarcadores enzimáticos, toxicologia, piretróides.

35
 36 **BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF GILL, LIVER AND**
 37 **KIDNEY OF TILAPIA *Oreochromis niloticus* EXPOSED TO LAMBDA-CYHALOTHRIN**

38
 39 **Abstract:** The present study evaluated the enzymatic profile and histological alterations in the
 40 gill, liver and kidney of *Oreochromis niloticus* exposed to the insecticide Lambda-cyhalothrin
 41 (LCT), at a concentration of 1.24 µg L⁻¹, in acute and chronic periods. Tilapias (n=60; 108,8g
 42 ± 36,22) were subjected to three exposure periods: 72, 168 and 336 hpe (hours post-exposure)
 43 and, 30 specimens after exposure, were transferred to a contaminant-free environment (15 days)
 44 to identify possible recovery. In this context, the objective was to verify the sublethal effect of
 45 the product in different periods of exposure and the ability to recover of the species. For
 46 evaluation of the enzymatic profile, was analyzed the enzymes aspartate transferase (AST),
 47 alanine transferase (ALT) and gamma glutamyl transferase (GGT), and histological findings
 48 were classified according to the severity and intensity of lesions through DTC (degree of tissue
 49 change). The specimens exposed in 72 hpe showed a reduction in serum AST levels, on the
 50 other hand, the ALT values increased according to exposure time. After the tests, the fish
 51 showed several important tissue alterations such as a predominance of diffuse degenerations of
 52 hepatocytes, lipofuscin accumulation and liver necrosis; in the gills, the frequent presence of

53 complete lamellar fusion, rupture and necrosis of epithelial cells; and in the kidney, focal
54 tubular degenerative processes, hyaline inclusions and tubular cell hypertrophy. Histological
55 analysis revealed alterations in all tissues studied, indicating toxic effects on tilapia exposed to
56 sub-lethal concentrations of LCT.

57

58 Keywords: Enzymatic biomarkers, toxicology, pyrethroids.

59

60 **INTRODUÇÃO**

61

62 A piscicultura é o setor que mais expande suas atividades no Brasil, onde a produção de
63 pescado aumentou de forma acentuada nas últimas décadas enquanto o extrativismo de
64 organismos aquáticos está estabilizado desde 1990 (CAMARGO & AMORIM, 2020). Esse
65 crescimento está diretamente ligado à demanda por alimentos altamente nutritivos e a
66 disponibilidade de recursos naturais favoráveis a cadeia produtiva do peixe.

67 Nesse cenário, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) se tornou a espécie mais produzida no
68 Brasil em 2020, representando cerca de 40% da produção total de pescado em território nacional
69 (PEIXE BR, 2021). É uma espécie tropical, com hábito alimentar onívoro, conversão alimentar
70 entre 1 a 1,8, boa adaptabilidade a condições ambientais variáveis, rusticidade e tolerância a
71 baixos níveis de oxigênio (MOREIRA et al., 2001). Sua alimentação baseia-se em
72 fitoplanctons, pequenos invertebrados, detritos, frutos e plantas aquáticas, com maturidade
73 sexual por volta de 6 meses e fácil adaptação a rações comerciais (FAO, 2010; FISHBASE,
74 2021).

75 A espécie é criada predominantemente no sistema intensivo em tanques-rede, fator que
76 influencia de maneira negativa nos aspectos sanitários da produção, levando em consideração
77 a necessidade da utilização de manejos que induzem estresse nos peixes de cultivo (SILVEIRA
78 et al., 2009; KUBITZA, 2015; CAMARGO & AMORIM, 2020). A intensificação dos sistemas
79 é um processo imprescindível para uma produção eficiente, com redução de custos e da
80 manutenção na qualidade do produto (KATO & FREITAS, 2015). Um dos manejos mais
81 comuns presentes na piscicultura continental intensiva é a utilização de produtos químicos no
82 combate a ectoparasitos, que mesmo em exposição moderada aos agentes tóxicos, são
83 produzidas respostas adaptativas para os organismos aquáticos. Embora a piscicultura seja uma
84 atividade altamente rentável, tem causado diversos problemas ambientais, como o crescimento
85 de populações bacterianas específicas na microbiota aquática natural, o acúmulo de resíduos
86 derivados da ração e possível proliferação de microrganismos resistentes a antibióticos devido
87 ao uso indiscriminado (MAXIMIANO et al., 2005; SOARES & BARROS, 2020).

88 A lambda-cialotrina (LCT) se destaca como um dos principais compostos químicos
89 utilizados em culturas, destacando-se por possuir maior atividade residual, estabilidade e
90 retorno financeiro em comparação aos outros agrotóxicos disponíveis. A cialotrina ((Z)-
91 (1S,3RS)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2- dimetilciclopropanocarboxilato de (R)-
92 alfa-ciano-3-fenoxibenzila) é um inseticida piretróide do tipo II, utilizada no controle de
93 artrópodes em culturas agrícolas, considerada tóxica para os peixes e organismos aquáticos
94 (FAO, 2006; GU et al., 2007). Como a LCT é um pesticida agrícola, o foco das pesquisas está
95 em torno de sua especificidade na área, a capacidade de permanência no solo e possível
96 contaminação em mamíferos. Segundo testes laboratoriais os peixes são susceptíveis a
97 piretróides sintéticos, que por sua vez, as concentrações subletais obtidas da DL50_{96h} para esses
98 compostos geralmente são valores abaixo de 10 µg L⁻¹ (AMIN & HASHEM, 2012).

99 Durante os testes de toxicidade são observados a interação das substâncias em
100 organismos vivos, relacionando seus efeitos com a concentração e o tempo de exposição ao
101 contaminantes, ou seja, os estudos toxicológicos têm como finalidade avaliar os danos
102 referentes à exposição desses organismos ao ambiente contaminado (VELMURUGAN et al.,
103 2007). Para avaliação das respostas, são recomendados órgãos responsáveis pela
104 biotransformação e excreção de xenobióticos, como as brânquias, fígado e rins (YILDIRIM et
105 al., 2006; LINS et al., 2010).

106 Durante o processo de biotransformação o tecido hepático pode apresentar diversas
107 alterações morfológicas, desde vacuolização à necrose, dependente da concentração e o tempo
108 de exposição (HILTON et al., 2001; BENZE et al., 2014). Eventualmente, a capacidade de
109 bioacumulação dos peixes pode se tornar outra preocupação quanto ao emprego de inseticidas
110 agrícolas em tratamentos terapêuticos para peixes comerciais (GUIMARÃES & CALIL, 2008).
111 O uso indiscriminado pode gerar implicações para a saúde pública conforme o consumo de
112 animais contaminados, bem como potenciais impactos nos ecossistemas próximos as
113 pisciculturas (MALLIN et al., 2011).

114 Os objetivos deste estudo foram: I - avaliar os efeitos da presença da lambda-cialotrina
115 na atividade enzimática da AST, ALT e GGT; II - identificar as respostas histopatológicas nas
116 branquiais, fígado e rins em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes
117 períodos de exposição, utilizando dose subletal (1,24 µg L⁻¹) de LCT; III - verificar a capacidade
118 de recuperação das tilápias, transferidas para ambiente livre de contaminantes, após os períodos
119 de exposição ao inseticida.

120

121 MATERIAL E MÉTODOS

122

123 Comitê de Ética no Uso de Animais

124 Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas éticas aprovados
125 pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) da Universidade Federal de Mato Grosso do
126 Sul, sobre o Protocolo n° 919/2017.

127

128 Local de estudo e Amostragem de peixes

129 Os ensaios foram conduzidos no setor de piscicultura (Grupo de pesquisa - AquiMS) e
130 Laboratório de Patologia Experimental (Lapex), no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
131 na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

132 Noventa espécimes de *Oreochromis niloticus* oriundos da mesma desova foram
133 capturados no setor de piscicultura da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, com peso
134 corporal de $108,8\text{g} \pm 36,22\text{g}$. Todos os animais passaram por um período de aclimatação de 15
135 dias, mantidos em caixas de polietileno com capacidade de 110 L em sistema semi-estático,
136 aeração artificial, controle de temperatura ($26\text{-}28^{\circ}\text{C}$) e renovação de 25% do volume total de
137 água a cada 48 horas. Durante esse período, receberam alimentação extrusada comercial para
138 peixes onívoros (36,0% de proteína bruta, 88,0% de matéria seca, 11,0% de matéria mineral,
139 6,0% de fibra bruta, 6,0% de extrato etéreo e 1,4% de fósforo), uma vez ao dia (08h), em razão
140 à 2% da massa corporal.

141

142 Ensaio Experimental – Teste de toxicidade

143 Os espécimes foram separados aleatoriamente em três grupos experimentais (controle,
144 expostos e recuperação), mantidos em jejum por até 360h em caixas de polietileno (110L) em
145 condições estáticas. Para a exposição, foi realizado um ajuste na dose subletal de acordo com a
146 média do peso corporal dos espécimes expostos ($108,8\text{g} \pm 36,22$, $n= 60$; $9,9\text{ g L}^{-1}$ biomassa).
147 Nesse cenário, uma concentração nominal subletal de $1,24\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina foi
148 aplicada como um valor de 1/9 DL50 da mesma formulação comercial usada previamente no
149 teste de toxicidade aguda ($\text{DL50}_{96\text{h}}$) obtida por Fernandes et al. (2020).

150 Os peixes (n = 30) foram expostos por 72, 168 e 336 horas, e posteriormente, 20 foram
151 analisados e 10 foram mantidos por 15 dias em aquários sem o composto, constituindo o grupo
152 recuperação. Todos avaliados ao término do período experimental.

153 Durante o período experimental foi realizado controle da qualidade de água em todos os
154 grupos, monitorando-se diariamente o pH, oxigênio dissolvido (mg L^{-1}), amônia (mg L^{-1}) e
155 temperatura ($^{\circ}\text{C}$) com auxílio do medidor multiparâmetro (Sanxin - Modelo SX751A) e kit
156 comercial (ALFAKIT, Florianópolis, Brasil).

157

158 **Análises Bioquímicas**

159 O sangue foi colhido dos peixes por punção da veia caudal com seringas (3 mL)
160 previamente banhadas em solução heparina (1000 UI mL^{-1}), após anestesia em solução eugenol
161 (50 mg L^{-1}). Para a determinação dos valores séricos do aspartato transferase (AST), alanina
162 transferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT), o soro foi obtido por meio da
163 centrifugação do sangue (5 minutos em rotação de 3.000 rpm) e congelado a -20°C até o
164 momento da realização das análises (UI/L). Esses valores foram determinados pela automação
165 (Cobas TM Auto-Trol Plus B; COBAS 221, Roche[®]), de acordo com os procedimentos e
166 métodos de controle de qualidade recomendados pelo fabricante (ROCHE, 2014).

167

168 **Análises Histológicas**

169 Após a colheita de sangue, os espécimes foram eutanasiados por aprofundamento do
170 plano anestésico em solução de eugenol na concentração (450 mg L^{-1}), de acordo com o
171 protocolo relatado por Kildea et al. (2004). Em seguida, os espécimes foram medidos
172 (comprimento padrão, cm) e pesados (g) com auxílio de fita métrica e balança de precisão.

173 Fragmentos de brânquias, fígado e rim foram fixados em solução de formalina
174 tamponada a 10% (pH 7,2) por 24 horas, em seguida transferidos para solução de álcool 70%
175 para processamento histotécnico. Os cortes histológicos foram preparados em inclusão de
176 Paraplast (Sigma Aldrich[®]) em secções de $3 \mu\text{m}$ de espessura, corados com hematoxilina e
177 eosina (HE), ácido periódico de Shiff (PAS) e pelo método da AFIP (lipofuscina) e coloração
178 de Perls (ferro).

179 As lâminas foram analisadas usando microscopia de campo claro, considerando o nível
180 de alterações teciduais (NAT) que foi estimado e adaptado de acordo com Poleksic e Mitrovic-

181 Tutundzic (1994) e Bernet et al. (1999). Os dados gerados pelo NAT foram baseados nas
 182 características dos padrões iniciais registrados (α), bem como a importância da lesão observada
 183 no corte (ω). A Tabela 1 apresenta as alterações histológicas registradas e seus respectivos
 184 graus de importância utilizadas na fórmula empregada para estimar o NAT:

185

186

$$\text{NAT} = \Sigma (\alpha \times \omega)$$

187

188 onde, α representa a distribuição do dano (0, ausente; 1, focal; 2, moderado; e 3, difuso),
 189 e ω representa o grau de reversibilidade do dano (1, alteração reversível; 2, alteração moderada
 190 com provável reversão após cessar a exposição; e 3, alteração irreversível). Os valores dos
 191 índices de cada órgão foram usados para calcular a média para os grupos controle, tratado e
 192 recuperação.

193

Tabela 1. Nível de Alteração Tecidual (NAT)* de acordo com os estágios das lesões observadas nos órgãos.

	Alterações histológicas	Grau de alteração
Brânquia		
	Hipertrofia e hiperplasia epitelial	1
	Descamação epitelial	1
	Infiltrado inflamatório epitelial	1
	Espessamento epitelial	1
	Proliferação celular epitelial	1
	Atrofia lamelar	1
	Hiperplasia de células de muco	1
	Hipertrofia e hiperplasia de células cloreto	1
	Hipertrofia de células de muco	1
	Hemorragia	1
	Edema lamelas secundárias	1
	Aneurisma	1
	Hiperemia	1
	Ruptura do epitélio lamelar	2
	Fusão de lamelas secundárias	2
	Fusão completa de lamelas secundárias	2
	Rodlet + Hiperemia + Infiltrado	2
	Fibrose epitelial	3

	Necrose	3
<hr/>		
Fígado		
	Degeneração hidrópica	1
	Esteatose	1
	Vacúolos atípicos	1
	Eosinofilia	1
	Hipertrofia hepatócitos	1
	Infiltrado leucocitário focal	1
	Hemorragia	1
	Hiperemia vascular	1
	Edema sinusoidal	1
	Congestão	1
	Depósitos de hemossiderina	1
	Melanomacrófagos	1
	Picnose	2
	Cariólise/Cariorrexia	2
	Acúmulos marrons	2
	Mastcells	2
	Alt. hepatopâncreáticas	2
	Inclusão nuclear	3
	Fibrose periductal	3
	Necrose	3
<hr/>		
Rim		
	Degeneração hidrópica	1
	Vacúolos atípicos	1
	Eosinofilia	1
	Hipertrofia cel. Tubulares	1
	Hemorragia	1
	Hiperemia vascular	1
	Edema peritubular	1
	Congestão	1
	Infiltrado leucocitário	1
	Melanomacrófagos	1
	Edema glomerular	1
	Picnose	2
	Cariólise/Cariorrexia	2
	Acúmulos hialinos (gotículas)	2
	Atrofia células tubulares	2
	Mastcells	2

Inclusão nuclear	3
Necrose	3
Glomérulo hialino	3
Granulomas	3

* Adaptado de Poleksic & Mitrovic-Tutundzic (1994); Bernet et. El. (1999); 1, facilmente reversível; 2, alterações moderadas com provável reversão após cessar a exposição; 3, alterações irreversíveis.

194

195 **Análise Estatística**

196 Os resultados foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann-
197 Whitney U, para comparação de pares de médias, considerando-se o nível de 5% de
198 significância ($P < 0,05$). Os dados foram expressos em médias e desvio padrão utilizando o
199 programa estatístico GraphPad Prism 5.0.

200

201 **RESULTADOS**

202

203 Não houve variações significativas nos parâmetros de qualidade da água ao longo do
204 experimento, porém documentadas algumas mortalidades em animais controle e tratados. A
205 incidência de mortalidade foi de aproximadamente 3% no grupo controle (1 em 30), 13% nos
206 expostos (4 em 30) e 13% nos recuperados (4 em 30), durante todo o período experimental.
207 Embora a mortalidade tenha sido relativamente baixa, os valores de ALT, AST e os achados
208 histopatológicos apontam efeitos progressivos e degenerativos de acordo com o tempo de
209 exposição ao inseticida.

210

211 **Análise Bioquímica**

212 Os níveis de AST nos animais expostos e recuperados foram superiores aos observados
213 no grupo controle em 72h hpe. Após 336 hpe, os valores de AST não diferiram
214 significativamente com o controle. Na Figura 1, os níveis de AST oscilaram, especialmente
215 entre os animais expostos e diminuíram conforme o tempo de exposição.

216 Os valores de ALT e GGT não seguiram o mesmo padrão da AST. Os níveis de ALT
217 aumentaram conforme o tempo de exposição, porém em 72 hpe foi observada diferença
218 significativa somente no grupo de animais recuperados. A GGT apesar de aumentar no período
219 de 168 hpe, não houve diferença significativas entre os grupos controle, expostos e recuperação.

220 Nenhuma variação foi observada dentro de cada grupo amostral, em diferentes tempos de
 221 exposição.

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

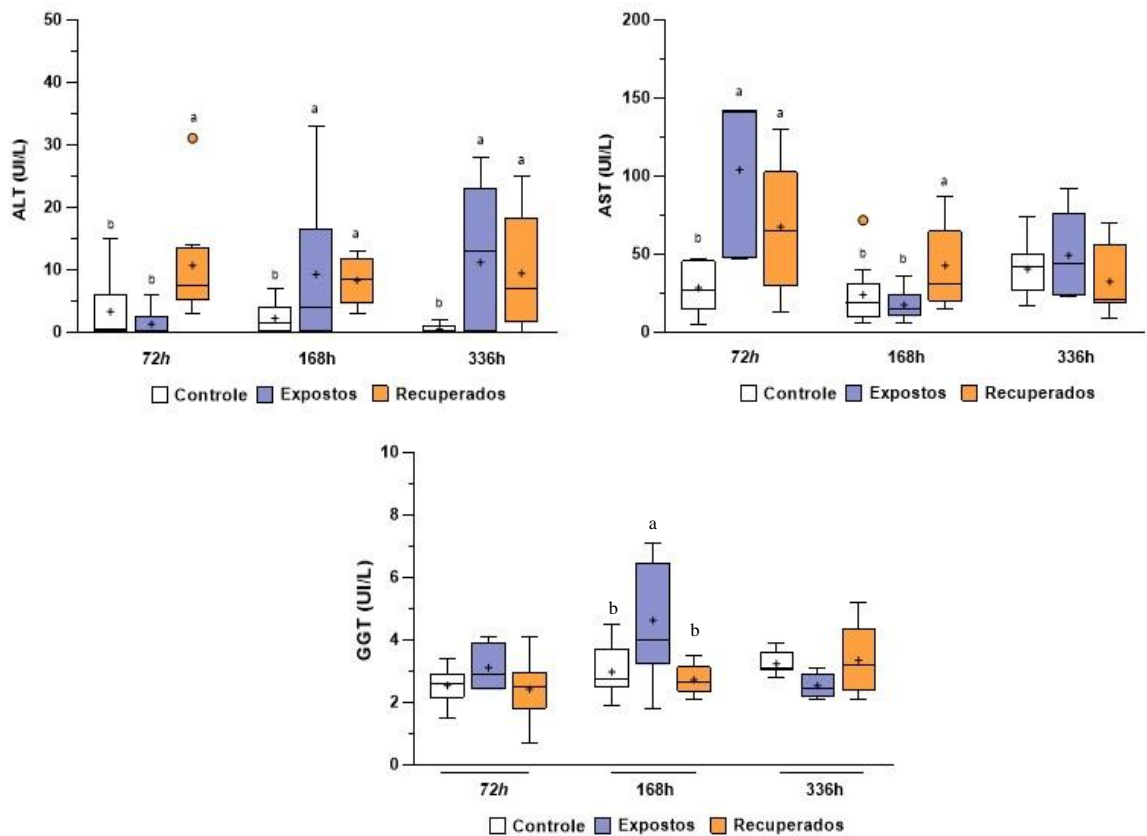


Figura 1. Efeitos da lambda-cialotrina ($1,24 \mu\text{g L}^{-1}$) nas enzimas Aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT) e Gama glutamil transpeptidase (GGT) em *Oreochromis niloticus* em diferentes períodos de exposição (72h, 168h e 336h) e 15 dias em ambiente livre de contaminantes (Recuperados). Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$).

243 Histologia da Brânquia

244

245 Os períodos de exposição crônica se distinguiram dos demais pela frequência de
 246 alterações moderadas e irreversíveis, que consistiram na presença de fusão lamelar completa,
 247 ruptura do epitélio e necrose, com ou sem fibrose (Figura 2).

248

249

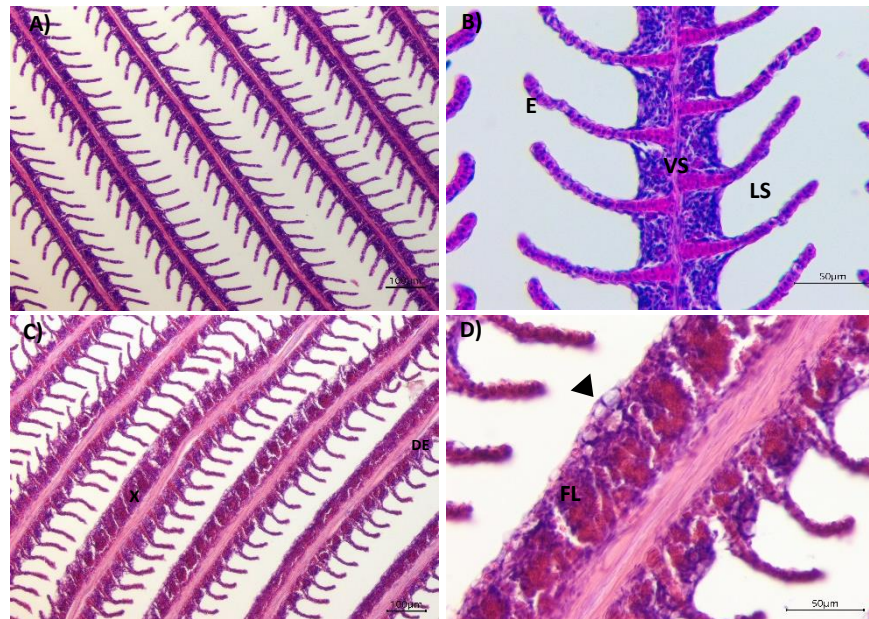


Figura 2. Secções histológica da brânquia corada em HE, de *Oreochromis niloticus* expostos a $1,24 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina (LCT). **A)** Grupo controle. Tecido normal de um espécime sem exposição à contaminantes. Escala: $100 \mu\text{m}$. **B)** Grupo controle. Notar os espaços entre as lamelas secundárias bem definidas (LS); Eritrócitos (E); vaso sanguíneo (VS). Escala: $50 \mu\text{m}$. **C)** 168h pós-exposição (hpe). Espessamento das lamelas secundárias (x), indicando dilatação de capilares; descamação do tecido epitelial (DE). Escala: $100 \mu\text{m}$. **D)** Amostra em 336 hpe. Proliferação celular epitelial seguido de fusão total das lamelas secundárias (FL); hipertrofia e hiperplasia de células de muco (cabeça de seta). Escala: $50 \mu\text{m}$.

250

251 Em 72-168 hpe, os valores NAT estavam relacionados à hiperemia vascular, hipertrofia
 252 epitelial e de células de muco, hiperplasia, descamação epitelial, e fusões lamelares secundárias.
 253 Houve progressão nos níveis de alteração tecidual a partir de 168 hpe, sendo frequentes os
 254 achados de estágios II e III como proliferações epiteliais, hipertrofias celulares e hiperplasia
 255 associadas a alguns pontos focais de necrose, em comparação aos peixes de 72 hpe. As
 256 alterações histológicas estiveram presentes em todos os períodos de exposição, mas não houve
 257 diferença significativa no índice NAT entre os períodos de exposição (Figura 3). Células
 258 mucosas, infiltrados, células de Rodlet e necrose lamelar com fusão completa das lamelas
 259 secundárias foram encontradas exclusivamente em algumas amostras com 336 hpe, em apenas
 260 duas espécimes.

261

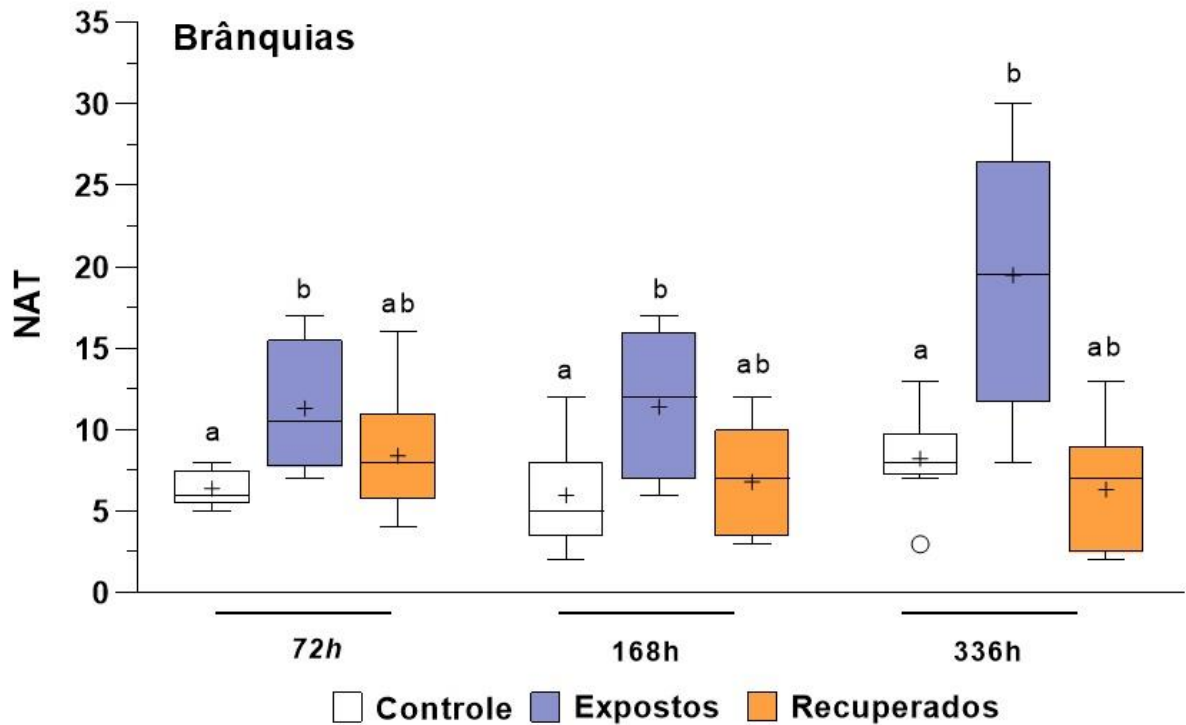


Figura 3. Nível de alteração tecidual (NAT) de brânquias em *Oreochromis niloticus* expostas à lambda-cialotrina ($1,24 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos em testes agudo e crônico. Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$). Grupos controle (caixas brancas), grupos expostos (caixas cinza) e grupos recuperados (caixas laranja).

262

263 **Histologia do Fígado**

264 Em todos os períodos de exposição (Figura 4), o NAT foi superior aos espécimes
 265 controles (C = $5,2 \pm 0,75$; 72 hpe = $15,0 \pm 1,7$ x $5,2 \pm 0,75$; 168 hpe = $11,0 \pm 5,2$; 336 hpe = $20,0$
 266 $\pm 1,9$, respectivamente), mas semelhantes aos períodos de recuperação ($14,0 \pm 1,7$; $9,6 \pm 1,2$ e
 267 $16,0 \pm 2,4$, respectivamente), demonstrando alta toxicidade do agente ao órgão e menor
 268 capacidade de recuperação, no período estudado de 15 dias.

269 Em todos os períodos de exposição foram encontrados vacúolos e pigmentos
 270 citoplasmáticos nos hepatócitos. Houve marcado aumento na deposição de ferro e lipofuscina
 271 tanto nos hepatócitos quanto nos macrófagos melanogênicos perivasculares.

272

273

274

275

276

277

278
 279
 280
 281
 282
 283
 284
 285
 286
 287
 288
 289
 290
 291
 292
 293
 294
 295
 296
 297
 298
 299
 300
 301
 302
 303
 304
 305
 306
 307
 308
 309
 310
 311

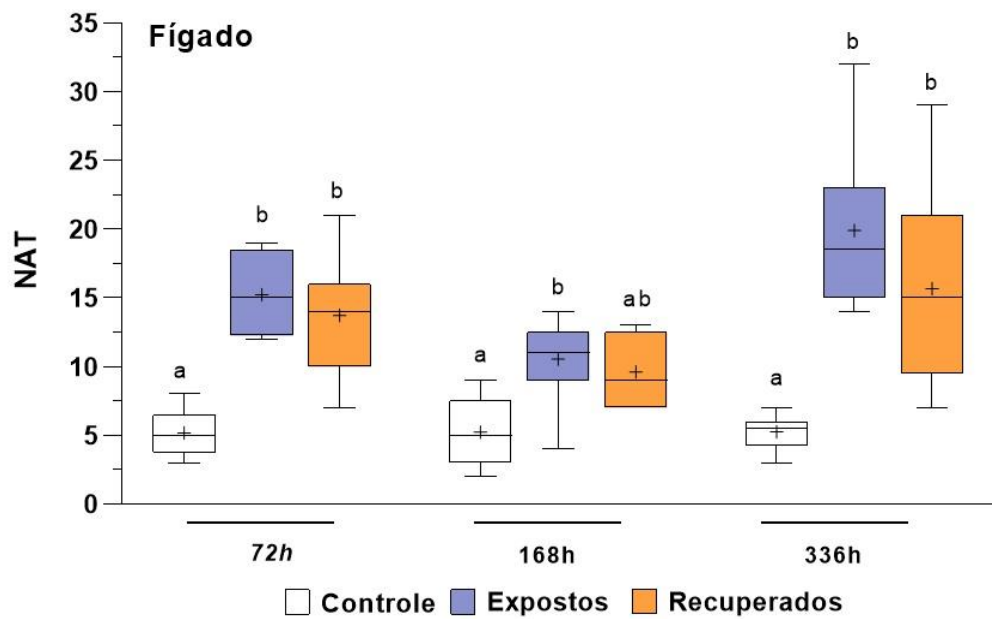


Figura 4. Nível de alteração tecidual (NAT) de fígado em *Oreochromis niloticus* expostas à lambda-cialotrina ($1,24 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos em testes agudo e crônico. Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$). Grupos controle (caixas brancas), grupos expostos (caixas cinza) e grupos recuperados (caixas laranja).

Às 336 hpe, os elevados valores de NAT associaram-se à presença de degeneração hidrópica e lipidose, difusamente distribuídas além dos agregados de melanomacrófagos (Figura 5).

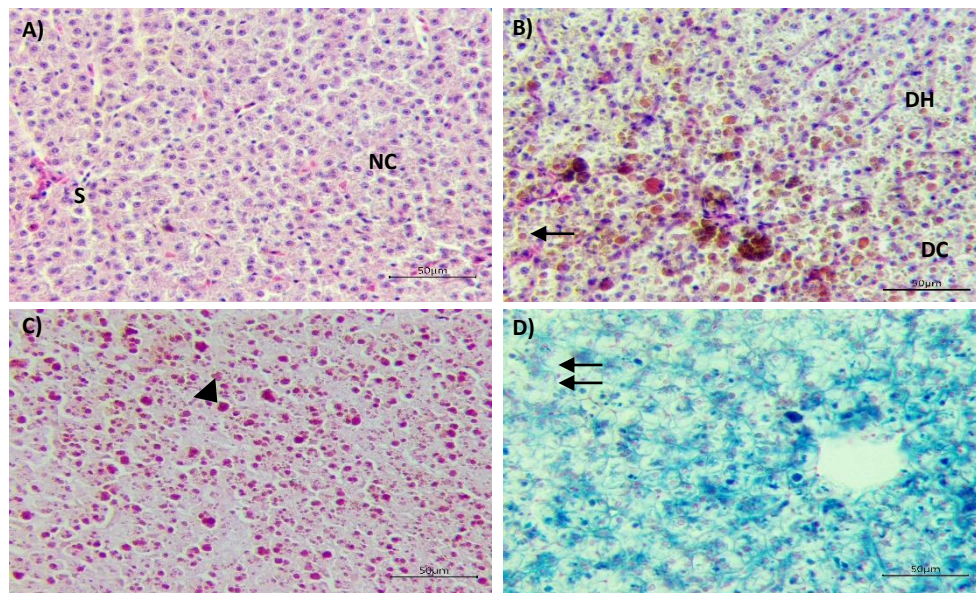


Figura 5. Secções histológica do fígado em *Oreochromis niloticus* expostas a $1,24 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina (LCT). **A)** Grupo controle. Tecido normal de um espécime sem exposição à contaminantes; parênquima hepático homogêneo com células intactas; sinusóides definidos (S); núcleos dos hepatócitos centralizados (NC) e disposição cordonal. Coloração: HE. Escala: $50 \mu\text{m}$. **B)** 72h pós-exposição (hpe). Desarranjo dos cordões hepáticos (DC); aspectos típicos de degeneração hidrópica (DH); notar grânulos eosinofílicos no citoplasma (seta). Coloração: HE. Escala: $50 \mu\text{m}$. **C)** 168h pós-exposição (hpe). Nota-se grânulos no interior dos hepatócitos pigmentados pelo método de AFIP, característico do acúmulo de lipofuscina (cabeça de seta). Escala: $50 \mu\text{m}$. **D)** Amostra em 336 hpe. Núcleos deslocados para periferia; redução do espaço sinusoidal; picnose; células hipertróficas vacuolizadas progredidos por necrose (seta dupla). Coloração: Perls. Escala: $50 \mu\text{m}$.

312

313 Nesse mesmo período de exposição, detectou-se a presença de necrose hepatocelular,
 314 picnose nuclear e dissociação do endotélio sinusoidal, denotando mudanças no grau de
 315 irreversibilidade das lesões. Além dessas alterações verificou-se hepatócitos hipertrofiados,
 316 hiperemia e focos hemorrágicos com infiltração leucocitária às 72 e 168 hpe.

317

318 **Histologia do Rim**

319 Alterações foram observadas nos rins dos peixes expostos ao LCT, verificadas com
 320 maior frequência as lesões classificadas como grau I e II, tais como: hipertrofia das células
 321 tubulares, picnose e acúmulos hialinos (Figura 6). Assim como em outros tecidos, o NAT não
 322 apresentou diferença significativa entre os animais expostos e os valores foram
 323 significativamente maiores em todos os períodos de exposição em relação ao grupo controle.

324

325

326

327

328

329

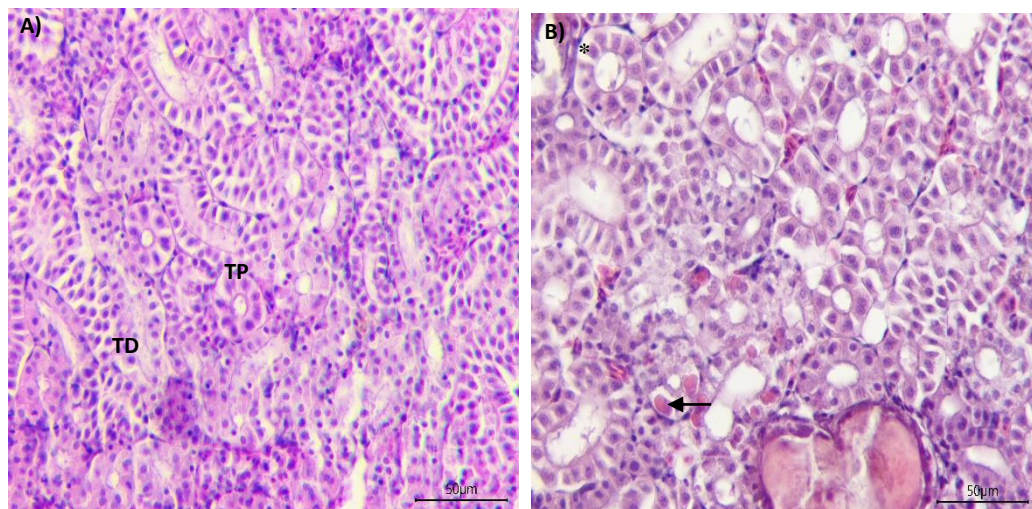
330

331

332

333

334



335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

Figura 6. Secções histológica do rim em *Oreochromis niloticus* expostas a $1,24 \mu\text{g L}^{-1}$ de lambda-cialotrina (LCT). **A)** Grupo controle. Tecido normal de um espécime sem exposição à contaminantes; túbulos proximais (TP); túbulos distais (TD); histoarquitetura renal preservada. Coloração: HE. Escala: 50 μm . **B)** 336h pós-exposição (hpe). Túbulos em processo degenerativos; nota-se inclusões hialinas nas células epiteliais (seta); espaçamento intercelulares nos túbulos proximais (*). Coloração: HE. Escala: 50 μm .

Os animais dos grupos de recuperação também apresentaram alterações teciduais após a exposição, porém em menor frequência. Os valores de NAT foram próximos ao grupo controle e menores significativamente em comparação aos animais expostos (Figura 7), demonstrando boa capacidade de recuperação do tecido renal, frente ao agente, nos períodos estudados. Os achados mais importantes do grupo de recuperados foram a presença de necrose e ausência dos acúmulos hialinos em todos os períodos (72, 168 e 336h), que eram difusas em peixes expostos à 168h.

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363 **DISCUSSÃO**

364

365

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

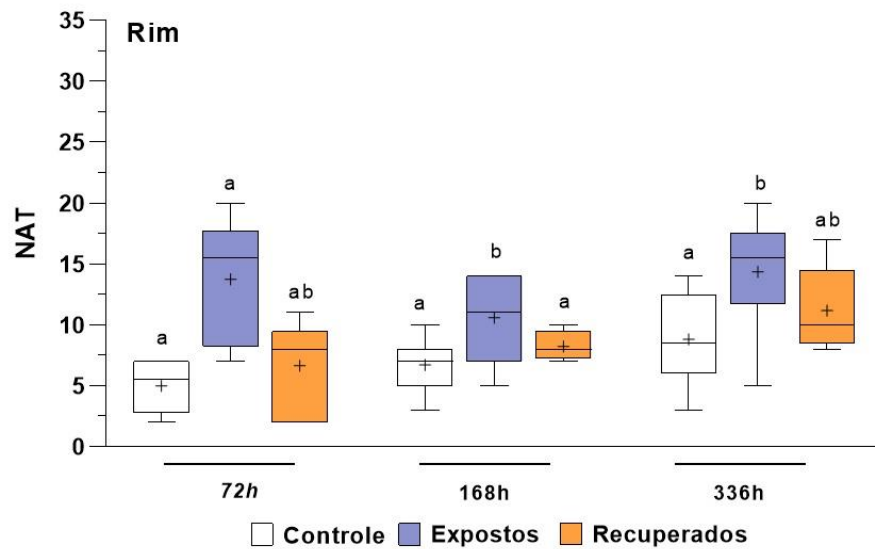


Figura 7. Nível de alteração tecidual (NAT) de rim em *Oreochromis niloticus* expostas à lambda-cialotrina ($1,24 \mu\text{g L}^{-1}$) em diferentes períodos em testes agudo e crônico. Medianas das caixas seguidas de letras diferem significativamente ($p < 0,05$). Grupos controle (caixas brancas), grupos expostos (caixas cinza) e grupos recuperados (caixas laranja).

379 grandes sequelas perigosas ao indivíduo, podendo associar esse fato a mortalidade e achados
380 histopatológicos observados no fígado, brânquias e rins dos peixes expostos a cialotrina.

381 O incremento significativo das atividades enzimáticas (AST) nas primeiras horas de
382 exposição (72 hpe), está associada ao estresse químico proporcionado pelo contato inicial com
383 composto químico. Esses efeitos tóxicos em níveis celulares, corroboram com o estudo de Vani
384 et al. (2012), que ligam os achados bioquímicos ao aumento do catabolismo proteico e estresse
385 oxidativo, considerados importantes indicadores para danos teciduais, principalmente hepático
386 (SHARMA, 1999; EL-SAYED & SAAD, 2007). Sabe-se que as alterações histopatológicas
387 nos níveis teciduais em peixes são parâmetros muito importantes para compreender a
388 concentração plausível de xenobióticos e a capacidade de detoxificação pelos animais aquáticos
389 (SVOBODOVA et al., 1994). As variações no grau das alterações teciduais sugerem
390 dependência da irreversibilidade das lesões ao tempo de exposição à LCT. Richterová et al.
391 (2014) descrevem o aumento da mortalidade dos peixes à dose-dependente e a duração da
392 exposição. A baixa toxicidade de pesticidas para os mamíferos pode ser enganosa em termos
393 de ecotoxicologia, e por consequência, levar a problemas de extrapolação de seu impacto para
394 espécies aquáticas não testadas (YILDIRIM et al., 2006).

395 O primeiro indicativo de efeito patológico e a alteração mais frequentes nas brânquias
396 foi a hiperplasia lamelar nos períodos 72-168 hpe. A hiperplasia e hipertrofia epitelial estiveram
397 distribuídas por diversas lamelas, podendo sugerir falhas na troca de oxigênio pelas brânquias.
398 Fontainhas-Fernandes et al. (2008) observaram alterações branquiais semelhantes, com
399 elevação epitelial, hipertrofia, hiperplasia, fusão lamelar, proliferação e hipertrofia das células
400 de muco e necrose. O aumento da presença de fusões lamelar secundárias em peixes 336 hpe
401 pode ser atribuída a progressão das lesões de grau I, hiperplasia/hipertrofia, observadas nos
402 períodos de exposição mais curtos (72-168 hpe).

403 Os valores do NAT nas brânquias foram maiores significativamente nos animais
404 expostos, em comparação aos animais dos grupos controle e recuperados. O aumento
405 significativo da ocorrência de alterações como hiperplasia, descamação, infiltrado inflamatório,
406 hipertrofia de células de muco, hiperemia e fusão lamelar, associados à necrose focal, foram
407 responsáveis pelo elevado valor de NAT em animais com 336 hpe ao LCT. A presença de
408 hiperemias e infiltrados inflamatórios sugerem um processo de adaptação das tilápias, que
409 ocasionando o aumento do fluxo sanguíneo nos tecidos danificados, com promoção da melhoria
410 da oxigenação celular e auxílio na desintoxicação (VIEIRA et al., 2019). Os resultados obtidos
411 demonstram que 336 horas de exposição é o período crítico pela presença de lesões irreversíveis
412 e possível perda de função branquial, como relatado por Khalil et al. (2020), que observaram

413 aumento na atividade opercular e dificuldade respiratória induzida pela exposição a lambda-
414 cialotrina. Danos teciduais graves foram registrados em vários estudos com xenobióticos
415 (VELISEK et al., 2007; VELMURUGAN et al., 2007; KORKMAZ et al., 2009; CUNHA et al.
416 2018; FERNANDES et al., 2020; SILVA et al., 2021).

417 Durante a degradação de agentes tóxicos, os mecanismos reguladores podem ser
418 sobrecarregados pelas elevadas concentrações de compostos no ambiente, e conseqüentemente,
419 resultar em danos estruturais no tecido hepático (BRUSLÉ et al., 1996). A progressão das
420 alterações pode representar o acúmulo dos metabólitos secundários à biotransformação hepática
421 da LCT, assim como a característica lipofílica aos demais tecidos do organismo. A presença de
422 vacuolização dos hepatócitos associada a quantificação de danos lipídicos e proteicos são
423 frequentemente empregadas para avaliar o estresse oxidativo induzido por pesticidas em
424 diferentes organismos, e as alterações observadas nos hepatócitos provoca redução da eficiência
425 hepática levando ao mau funcionamento de outros órgãos associados a detoxificação, levando
426 o peixe à morte (ALBINATI et al., 2007; HENARES et al., 2008; VIEIRA et al., 2019).

427 Alterações associadas à vacuolização, tumefação, acúmulos de gordura e depósitos
428 pigmentados nos hepatócitos sugerem desequilíbrio das funções reguladoras celulares podendo
429 ser classificadas como estágios histopatológicos intermediários, representativas do estresse
430 oxidativo celular. A hipertrofia dos hepatócitos pode ser um indicativo de aumento da atividade
431 enzimática quando expostos a produtos químicos (AMÉRICO-PINHEIRO et al., 2020). O
432 acúmulo de lipofuscina sugere a presença aumentada de peroxidação lipídica nos hepatócitos.
433 Embora em menor extensão e exclusivamente às 336 hpe, a presença de necrose em diversas
434 amostras sugere que a LCT interfira no metabolismo hepático de forma irreversível, como
435 demonstrado no presente estudo, onde o fígado apresentou lesões mais importantes e menor
436 capacidade de recuperação.

437 Uma vez expostos a xenobióticos, os peixes podem apresentar uma série de respostas
438 biológicas no intuito de prevenir e reduzir os danos teciduais, direta ou indiretamente
439 provocadas pela presença de contaminantes no ambiente aquático (VIEIRA et al., 2019). Os
440 resultados demonstram que a lambda-cialotrina, quando utilizada em concentrações subletais
441 de 1,24 µg L⁻¹ em *O. niloticus*, provoca alterações no parênquima hepático e afeta diretamente
442 a recuperação dos processos homeostáticos, pois lesões de graus reversíveis, como hiperemia e
443 hemorragia, presença de infiltrado inflamatório, degeneração hidrópica, hipertrofia e acúmulos
444 de pigmentos nos hepatócitos foram predominantes em todos os períodos pós-exposição.

445 O excesso de atividade metabólica seguida da perda de função hepática, associada a
446 exposição em concentrações subletais de pesticidas, gera alterações nos tecidos renais, como

447 vacuolização tubular, aumento do espaço da cápsula de Bowman e congestão (HINTON et
448 al., 1992; HENARES et al., 2008; ALBINATI et al., 2009).

449 O rim das tilápias não apresentou maior quantidade de alterações severas, alteração
450 tecidual grau III, em comparação aos tecidos hepático e branquial. Todos os peixes 72 hpe
451 apresentaram hipertrofia das células tubulares e degeneração hidrópica, o que sugere uma
452 resposta ao estresse inicial de exposição com o NAT, apresentando valores próximos ao
453 respectivo grupo nas análises do tecido hepático, aproximadamente 15. Com 336 hpe, as
454 alterações que mantiveram os índices elevados de NAT foram os maiores registros de picnose
455 e melanomacrófagos. Os animais de 168 hpe apresentaram menos lesões graves, porém não
456 houve diferença significativa entre os peixes tratados. Foram observados predominantemente
457 lesões de grau I nos grupos controle e recuperados, diferindo significativamente dos animais
458 expostos. Essas alterações contrastam com àquelas descritas para *Cyprinus carpio* expostos à
459 cialotrina na concentração de 5 μL^{-1} , onde observou-se alterações na estrutura hepática sem
460 necessariamente apresentar efeitos significativos nas brânquias, rins e intestinos, em
461 comparação ao grupo controle (RICHTEROVÁ et al., 2014).

462 A sobrevivência dos animais testados em estudos de toxicologia gera uma incógnita
463 sobre a capacidade de recuperação desses peixes após a exposição a agentes nocivos. Sabe-se
464 que as brânquias possuem uma elevada taxa de renovação celular, e que tecidos como fígado e
465 rins são capazes de se recuperar após perda parcial de sua estrutura. Nesse sentido, é interessante
466 avaliar se os efeitos deletérios em níveis celulares são prolongados ou minimizados após
467 voltarem a um ambiente livre de contaminantes. Diversos estudos notificaram efeitos letais
468 associados a lesões teciduais severas, após o emprego de inseticidas, sem identificar
469 mortalidades (DAS & MUKHERJEE, 2003; VENTURINI et al., 2015; CARDOSO et al., 2020;
470 SILVA et al., 2021).

471 O conjunto de alterações observadas horas pós-exposição representam um processo
472 cronologicamente progressivo, cujos impactos perduram após a exposição à lambda-cialotrina
473 (FERNANDES et al., 2020). Porém, devido suas funções vitais de biotransformação e
474 bioeliminação de xenobióticos, é possível que o tecido hepático necessite de um tempo maior
475 que 15 dias para sua recuperação estrutural, após exposição a doses subletais de LCT (HINTON
476 et al., 1992; TAKASHIMA & HIBIYA, 1995). Resultados corroborado por Singh et al. (2015),
477 onde observaram alterações degenerativas no fígado de *Clarias batrachus*, expostos no período
478 de 15 dias.

479 Nesse mesmo estudo, as mudanças causadas pela lambda-cialotrina afetam diretamente
480 a modulação de enzimas através da alteração do eixo hipotálamo-hipófise, verificando

481 espécimes com efeitos neurológicos. Desta forma, segue a premissa de que o principal sintoma
482 no início da intoxicação por piretróides se dá no sistema nervoso central (PINER & UNER,
483 2014). Efeitos similares foram encontrados nas tilápias durante o período experimental deste
484 estudo, associando a paralisia e disfunção motora momentânea à possível neurotoxicidade do
485 pesticida. Os piretróides produzem efeitos reversíveis na ação motora, seguido de mortalidade,
486 dependendo do nível de exposição (WOLANSKY & HARRILL, 2008).

487 Em pesquisa realizada por Korkmaz et al. (2009), a transferência de tilápias tratadas
488 com cipermetrina para ambiente livre de pesticidas provocou melhoria acentuada na estrutura
489 histológica dos indivíduos após 15 dias. O fígado e rins conseguem regenerar após 2 meses,
490 porém a concentração e o tempo de exposição afetam diretamente na capacidade e tempo de
491 recuperação dos peixes (GERNHOFER et al, 2001; LOPES et al., 2005). Segundo
492 Reimschuessel (2001), a regeneração do rim se inicia nas primeiras semanas em condições
493 favoráveis, fato que corrobora com os resultados obtidos no presente estudo, onde os tecidos
494 branquiais, hepáticos e renais apresentaram condições semelhantes, significativamente, aos
495 peixes do grupo controle, identificando capacidade recuperação das tilápias após a intoxicação
496 por lambda-cialotrina.

497 Sendo assim, é preciso ter cautela ao indicar tratamentos terapêuticos com pesticidas em
498 peixes destinados ao consumo, pois a capacidade de recuperação das tilápias não é uma resposta
499 suficiente para sugerir uma dose segura a ser empregada nas pisciculturas. Os animais testados
500 neste estudo estavam sadios e em ambiente aquático totalmente controlado, diferente da
501 situação à campo, onde os peixes convivem com constantes mudanças da água e na presença
502 de parasitos, situação na qual são ministrados tratamentos químicos. Antes da recomendação, é
503 importante o desenvolvimento de novos estudos que envolvam outras espécies comerciais,
504 criação de legislação específica, ou registro da lambda-cialotrina para fins terapêuticos em
505 pisciculturas, assegurando o uso de doses mínimas na aplicação, com aproximadamente 30%
506 da dose máxima ou subletal, próximo ao utilizado neste estudo e ressaltado por Copatti et al.
507 (2009).

508

509 **CONCLUSÃO**

510

511 O tempo de exposição à lambda-cialotrina é um fator crítico para o aparecimento de
512 alterações morfológicas irreversíveis. As alterações nos perfis enzimáticos associados aos
513 achados histológicos pós-exposição, indicam recuperação dos peixes para os períodos avaliados
514 de exposição ao LCT em *O. niloticus*, o que sugere regeneração dos órgãos alvos quando

515 alocados em ambientes livres de contaminantes em tempos prolongados, acima dos 15 dias. Em
516 contrapartida, o tecido hepático não teve sua morfologia restabelecida após o período de
517 recuperação. Os danos severos identificados (alterações de grau III, irreversíveis) e possível
518 acúmulo de xenobiótico no fígado, pode ter dificultado a recuperação dos tecidos. Mesmo em
519 baixa concentração (1,24 $\mu\text{g L}^{-1}$), a lambda-cialotrina foi tóxica para a tilápia durante
520 exposições agudas e crônicas, devendo-se levar em consideração os resultados apresentados,
521 como prévia à criação de alternativas de pesticidas para uso na tilapicultura.

522

523 **AGRADECIMENTOS**

524

525 À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado
526 de Mato Grosso do Sul (FUNDECT/CAPES nº 03/2017 - Protocolo:
527 37930.564.21066.11082017) pelo suporte financeiro para a realização do estudo, e a equipe do
528 Laboratório de Patologia Experimental (Lapex) pelo auxílio durante as atividades
529 experimentais.

530

531 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

532

533 AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.; MACHADO, A. A.; CRUZ, C.; AGUIAR, M. M.;
534 FERREIRA, L. F. R.; TORRES, N. H.; MACHADO-NETO, J. G. Histological changes in
535 targeted organs of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentrations of
536 the pesticide carbofuran. **Water Air Soil Pollut**, p. 228-231, 2020.

537

538 ALBINATI, A. C. L.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; CARVALHO, J. V.; LIRA,
539 A. D.; SANTOS, G. B.; VIDAL, L. V. O. Biomarcadores histológicos: toxicidade crônica pelo
540 Round up em piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina**
541 **Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, 2009.

542

543 AMIN, K.A., HASHEM, K.S. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes
544 in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-
545 tocopherol. **BMC Veterinary Research**, v. 8, n. 45, 2012.

546

547 BENZE, T. P.; SAKURAGUI, M. M.; ZAGO, L. H. P.; FERNANDES, M. N. Subchronic
548 exposure to diflufenuron causes health disorders in Neotropical Freshwater Fish, *Prochilodus*
549 *lineatus*. **Environmental Toxicology**, v. 10, 2014.

550

551 BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T.
552 Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish**
553 **Disease**, n. 22, p. 25–34, 1999.

554

- 555 BRUSLÉ, J. A. G. The structure and function of fish liver. In: editores - MUNSHI, J. S. D.;
 556 DUTTA, H.M. **Fish Morphology: horizon of new research**, p. 77-93, 1996.
 557
- 558 CAMARGO, A. F. M.; AMORIM, R. V. Fish farming in cages: a practice to be restricted in
 559 Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, e. 101, 2020.
 560
- 561 CARDOSO, I., SOARES, M., ANGELIS, C., FERRI, G., ISHIKAWA, M., JONSSON, C.,
 562 RANTIN, F., SAMPAIO, F. Physiological and biochemical responses of Nile tilapia
 563 (*Oreochromis niloticus*) to acute trichlorfon exposure. **International Aquatic Research**, v. 1,
 564 n. 4, p. 243-253, 2020.
 565
- 566 COPATTI, C. E., GARCIA, L. O.; BALDISSEROTTO, B. Revisão Temática. Revisão sobre o
 567 impacto de agroquímicos da cultura de arroz em peixes. **Biota Neotropica** v. 9, n. 4, 2009.
 568
- 569 CUNHA, F. S.; SOUSA, N. C. S.; SANTOS, R. F. B.; MENESES, J. O.; DO COUTO, M. V.
 570 S.; ALMEIDA, F. T. C.; FILHO, J. G. S.; CARNEIRO, P. C. F.; MARIA, A. N.; FUJIMOTO,
 571 R. Y. Deltamethrin induced nuclear erythrocyte alteration and damage to the gills and liver of
 572 *Colossoma macropomum*. **Environmental Science Pollution Research**. V. 25, p. 15102–
 573 15110, 2018.
 574
- 575 DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings:
 576 biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Comparative Biochemistry and**
 577 **Physiology Part C**, n. 134, p. 109-121, 2003.
 578
- 579 FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Lambda-cyhalothrin (146):
 580 Federal Institute for Risk Assessment, Germany, 2006.
 581
- 582 FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Species Fact Sheets: Fisheries
 583 and Aquaculture Department, 2010.
 584
- 585 FERNANDES, C. E.; SILVEIRA, A. W.; SILVA, A. L. N.; SOUZA, A. I.; POVH, J. A.;
 586 JAQUES, J. A. S.; SANTOS, E. A.; YONEKAWA, M. K. A.; PENTEADOALL, B. B.;
 587 FRANCO-BELUSSI, L. Osmoregulatory profiles and gill histological changes in Nile tilapia
 588 (*Oreochromis niloticus*) exposed to lambda-cyhalothrin. **Aquatic Toxicology**, n. 227, 2020.
 589
- 590 FISHBASE. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Disponível em:
 591 <<http://www.fishbase.org/>>. Acesso em: 20 de julho de 2021.
 592
- 593 FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; LUZIO, A.; GARCIA-SANTOS, S.; CARROLA, J.;
 594 MONTEIRO, S. Gill histopathological alterations in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed
 595 to treated sewage water. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 5, p. 1057-
 596 1063, 2008.
 597
- 598 GERNHÖFER, M., PAWERT, M., SCHRAMM, M. Ultrastructural biomarkers as tools to
 599 characterize the health status of fish in contaminated streams. **Journal of Aquatic Ecosystem**
 600 **Stress and Recovery**, v. 8, p. 241–260, 2001.
 601
- 602 GU, B. G.; WANG, H. M.; CHEN, W. L.; CAI, D. J.; SHAN, Z. J. Risk assessment of
 603 cyhalothrin on aquatic organisms in paddy field in China. **Regulatory Toxicology and**
 604 **Pharmacology**, v. 48, p. 69-74, 2007.

- 605
 606 HENARES, M. N. P.; CRUZ, C.; GOMES, G. R.; PITELLI, R. A.; MACHADO, M. R. F.
 607 Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da
 608 tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 30, n. 1, p.
 609 77-82, 2008.
- 610
 611 HINTON, D. E.; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R.; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J.
 612 D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. Histopathologic Biomarkers. In: HUGGETT R.
 613 J.; KIMERLI, R. A.; MEHRLE Jr, P. M.; BERGMAN, H. L. Biomarkers biochemical,
 614 physiological and histological markers of anthropogenic stress. **Boca Raton: Lewis Publishers**,
 615 n. 4, p. 155 –196, 1992.
- 616
 617 HINTON, D. E.; SEGNER, H.; BRAUNBECK, T. Toxic responses of the liver. In: Schlenk D,
 618 Benson WH (eds), Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. Volume 1: Organs,
 619 Taylor & Francis, Fl. USA, p. 248-298, 2001.
- 620
 621 KATO, H. C. A.; FREITAS, A. A. Panorama of the aquaculture expansion of aquaculture and
 622 the fish consumption in brazil. **Journal of FisheriesSciences.com**, v. 9, n. 3, p. 08-83, 2015.
- 623
 624 KHALIL, S. R.; ELHAKIM, Y. A.; EL-FATTAH, A. H.; FARAG, M. R.; EL-HAMEED, N.
 625 E. A.; EL-MURR, A. E. Dual immunological and oxidative responses in *Oreochromis niloticus*
 626 fish exposed to lambda cyhalothrin and concurrently fed with Thyme powder (*Thymus vulgaris*
 627 L.): Stress and immune encoding gene expression. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 100, p.
 628 208-218, 2020.
- 629
 630 KILDEA, M. A.; ALLAN, G. L.; HEARNEY, R. E. Accumulation and clearance of the
 631 anesthetics clove oil and AQUI-S from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*).
 632 **Aquaculture**, v.232, p.265-277, 2004.
- 633
 634 KORKMAZ, N.; CENGIZ, E. L.; UNLU, E.; UYSAL, E.; YANAR, M. Cypermethrin-induced
 635 histopathological and biochemical changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and the
 636 protective and recuperative effect of ascorbic acid. **Environmental Toxicology and**
 637 **Pharmacology**, n. 28, p. 198-205, 2009.
- 638
 639 KUBITZA, F. Aquicultura no Brasil: Principais espécies, áreas de cultivo, rações, fatores
 640 limitantes e desafios. **Panorama da Aquicultura**, v. 25, n. 150, 2015.
- 641
 642 LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CIRIO, S. M. Uso de peixes com
 643 biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências**
 644 **Agrárias e Ambientais**, v. 8, n. 4, p.469-484, 2010.
- 645
 646 MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da**
 647 **moderna aquicultura**. Canoas: Editora ULBRA, p. 200, 2001.
- 648
 649 MALLIN, M. A.; MCIVER, M. R.; FULTON, M.; WIRTH, E. Elevated levels of metals and
 650 organic pollutants in fish and clams in the cape fear river watershed. **Archives of**
 651 **Environmental Contamination and Toxicology**, v.61, p.461-471, 2011.
- 652
 653 LOPES, P. R. S.; NETO, J. R.; MALLMANN, C. A.; LAZZARI, R.; PEDRON, F. A.;
 654 VEIVERBERG, C. A. Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá

- 655 alimentados com dietas com aflatoxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p.
656 1029-1034, 2005.
- 657
- 658 PEIXE BR. Anuário Peixe BR da piscicultura 2021. São Paulo, SP. Disponível em
659 <<https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>>, acesso em 04 out. 2021.
- 660
- 661 POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic
662 effects of pollution. In: Müller, R., Lloyd, R. (Eds.), *Sublethal and Chronic Effects of Pollutants*
663 *on Freshwater Fish*. FAO, **Fishing News Books**, Oxford, UK, p. 339–352, 1994.
- 664
- 665 RICHTEROVÁ, Z.; MÁCHOVÁ, J.; STARÁ, A.; TUMOVÁ, J.; VELÍŠEK, J.; ŠEVÍÍKOVÁ,
666 M.; SVOBODOVÁ, Z. Effects of cyhalothrin-based pesticide on early life stages of common
667 carp (*Cyprinus carpio* L.). **BioMed Research International**, v. 1, p. 1-7, 2014.
- 668
- 669 REIMSCHUESSEL, R. A fish model of renal regeneration and development. **Ilar Journal**, v.
670 42, p. 285-291, 2001.
- 671
- 672 ROCHE. COBAS B 221 - System: Instructions for Use Roche, Mannheim, Germany, p. 360,
673 2014.
- 674
- 675 SILVA, A.L.N., RODRIGUES, R.A., SIQUEIRA, M.S.; FARIAS, K. N. N.; KUIBIDA, K. V.;
676 FRANCO-BELUSSI, L.; FERNANDES, C. E. S. Transaminase profile and hepatic
677 histopathological traits in *Piaractus mesopotamicus* exposed to insecticide Diflubenzuron.
678 **Environmental Science Pollution Research**, v. 28, p. 22002–22010, 2021.
- 679
- 680 SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. Fatores estressantes em peixes.
681 **Nutritime**, v. 6, n. 4, p. 1001-1017, 2009.
- 682
- 683 SINGH, J.; SINGH, S.; DATTA, S.; DUTTA, J.; DHANJAL, D. S.; SAINI, A.; SINGH, J.
684 Toxicological effects of lambda-cyhalothrin on liver, kidney and testis of indian catfish *Clarias*
685 *batrachus*. **Toxicology International**, v. 22, n. 3, p. 128-136, 2015.
- 686
- 687 SOARES, L. S.; BARROS. Food safety and fish farming: serious issues for Brazil. **Food and**
688 **Nutrition Sciences**, v. 11, p. 123-152, 2020.
- 689
- 690 SVOBODOVA, Z.; VYKUSOVA, B.; MACHOVA, J. The effects of pollutants on selected
691 haematological and biochemical parameters in fish. In: Editores – MULLER, R. & LLOYD, R.
692 **Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fishes**, c. 4, p. 39–52, 1994.
- 693
- 694 TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. An atlas of fish histology normal and pathological features.
695 **Kodansha: Gustav Fischer Verlag**, n. 2, 1995.
- 696
- 697 VENTURINI, F. P., MORAES, F. D., CORTELLA, L. R. X. Metabolic effects of trichlorfon
698 (Masoten®) on the neotropical freshwater fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Fish Physiol**
699 **Biochem** v. 41, p. 299–309, 2015.
- 700
- 701 VELISEK, J.; JURČÍKOVÁ, J.; DOBSÍKOVÁ, R.; SVOBODOVA, Z.; PIACKOVA, V.;
702 MACHOVA, J.; NOVOTNÝ, L. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus*
703 *mykiss*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**. V. 23, p. 297–301, 2007.
- 704

- 705 VELMURUGAN, B.; SELVANAYAGAM, M.; CENGIZ, E.I.; UNLU, E. Histopathology of
706 lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*.
707 **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 24, p. 286–291, 2007.
708
- 709 VIEIRA, C. E. D., MARTINEZ, C. B. R. The pyrethroid l-cyhalothrin induces biochemical,
710 genotoxic, and physiological alterations in the teleost *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**, v.
711 210, p. 958–967, 2018.
712
- 713 VIEIRA, C. E. D.; COSTA, P. G.; CALDAS, S. S.; TESSER, M. E.; RISSO, W. E.;
714 ESCARRONE, A. L. V.; PRIMEL, E. G.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, C. B. R. An
715 integrated approach in subtropical agro-ecosystems: Active biomonitoring, environmental
716 contaminants, bioaccumulation, and multiple biomarkers in fish. **Science of the Total**
717 **Environment**, n. 666, p. 508-524, 2019.
718
- 719 WOLANSKY, M. J. Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: A
720 critical review. **Neurotoxicology and Teratology**, n. 30, p. 55-78, 2008.
721
- 722 YILDIRIM, M. Z.; BENLI, A. C. K.; SELVI, M.; OZKUL, A.; ERKOÇ, F.; KOÇAK, O. Acute
723 toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills,
724 liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings.
725 **Environmental Toxicology**, p. 614-620, 2006.
726