

Indicadores fisiológicos de estresse em peixes expostos ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Elizabeth Affonso, Flávia Pinheiro de Barros, Elenice Martins Brasil,
Marcos Tavares-Dias & Eduardo Akifumi Ono

Resumo

*O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) tem sido usado no controle de doenças parasitárias e infecciosas. Porém, não existem informações sobre os efeitos desse produto nos peixes nativos da Amazônia, somente em peixes de clima temperado e alguns desses estudos serão relatados neste capítulo. Neste, foram avaliados também os efeitos de diferentes concentrações subletais de H_2O_2 nas respostas fisiológicas de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*, expostos a 0, 42, 84 e 126 mg/L de H_2O_2 , com 3 réplicas cada, durante 30 minutos. Foram feitas coleta de sangue antes do experimento (basal), imediatamente após o banho com H_2O_2 e 24 horas após a recuperação. Foram determinados as concentrações de glicose plasmática e os parâmetros hematológicos: hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina ([Hb]), número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os parâmetros hematológicos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, as concentrações de glicose plasmática foram significativas ($p < 0,05$) nos tratamentos com e sem H_2O_2 , e retornaram aos valores basais após 24 horas de recuperação. A sobrevivência de 100% dos animais e o retorno à homeostase fisiológica sugere que tais concentrações podem ser empregadas sem prejuízo à saúde do tambaqui. Além disso, estes resultados foram comparados e discutidos com outras espécies descritas na literatura. Sugere-se que H_2O_2 seja avaliado como quimioterápico para o tambaqui, bem como também para outras espécies após realização de teste de toxicidade e avaliação fisiológica.*

Abstract

*The hydrogen peroxide (H₂O₂) has been used to control of fish parasites and bacterial infections. However, no information on the secondary effects of this product on Amazon fish is available, only to fish species from temperate climate and some of these studies were reported in this chapter. In this chapter study, was also evaluated the effect of a 30-min therapeutical bath of hydrogen peroxide at 0, 42, 84 e 126 mg H₂O₂/L on the physiological response of juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*. Blood samples were collected before (basal), immediately after and 24 hours after (recovery) the hydrogen peroxide bath. The concentrations of plasmatic glucose and the hematological parameters were determined: blood hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb), red blood cell count (RBC), mean cell volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentrations (MCHC). The hematological parameters presented no significant differences among treatments. However, the plasmatic glucose concentrations were significantly higher ($p < 0.05$) in the treatments with and without hydrogen peroxide, and returned to basal values after 24 hours. The survival rate of 100% and recovering of physiological homeostasis suggest that the concentrations tested are harmless to tambaqui. Furthermore, these results were compared and discussed with other fish species from literature. This product should be evaluated as chemotherapeutants for the tambaqui, as well as for other fish species after studies of toxicity and physiological evaluation.*

Introdução

Na aquicultura, uma ampla variedade de substâncias químicas pode ser usada no controle de ectoparasitos, entretanto, o uso indiscriminado de alguns destes produtos tem tornado os parasitos resistentes (Sitjà-Bobadilla et al., 2006). O uso indiscriminado de produtos nesta atividade de produção tem aumentado, tornando-se um risco em potencial para o meio ambiente, para os organismos aquáticos e para a saúde do homem (Martins, 2004; FAO, 2005; Maximiano et al., 2005; Winkaler, 2008). Por isso, são necessários estudos que avaliem esses riscos e que possam garantir não somente os benefícios ao produtor, mas a segurança dos recursos hídricos, da comunidade aquática e do homem.

No Brasil, não há uma legislação específica para uso de quimioterápicos para o setor aquícola e tampouco produtos com registros para este fim, os quais são avaliados apenas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Assim, as pesquisas sobre os produtos quimioterápicos aprovados e seguros deveriam ser repassadas para o setor produtivo. Para isso, considera-se relevante os estudos sobre a toxicidade desses produtos, principalmente, para as espécies de importância econômica para o país.

Em 1994, a FDA (Food and Drug Administration), designou o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como um novo quimioterapêutico para peixes, desde que usado em baixas concentrações (250-500 mg/L) para controlar fungos em todas as espécies e nos diferentes estágios de vida, inclusive ovos. Foram realizados estudos para avaliar a segurança deste produto em diferentes espécies de peixes de clima temperado e, para espécies altamente sensíveis, foi proposto concentração de 100 mg/L H₂O₂ como dosagem terapêutica

(Tripi & Bowser, 2001). Este produto vem sendo usado não só pela sua eficácia no tratamento contra infecções causadas por fungos (Howe et al., 1999; Rach et al., 2004) e bactérias (Thomas-Jinu & Goodwin, 2004; Avendaño-Herrera et al., 2006), mas também no tratamento e controle de outros parasitos com Monogenoidea (Mansell et al., 2005; Sitjà-Bobadilla et al., 2006; Hutson et al., 2007) e protozoários (Howe et al., 1999; Rach et al., 2000). Além disso, o H_2O_2 representa uma alternativa terapêutica não prejudicial ao meio ambiente, devido a sua rápida decomposição em gás oxigênio na água (Kiemer & Black, 1997; Bowers et al., 2002; Tort et al., 2003; Avendaño-Herrera et al., 2006).

Apesar da eficácia dos terapêuticos contra os parasitos, estes podem ser também prejudiciais ao hospedeiro quando o produto usado apresenta uma estreita margem terapêutica (Howe et al., 1999; Avendaño-Herrera et al., 2006). Concentrações elevadas de H_2O_2 são tóxicas para peixes jovens (Tripi & Bowser, 2001; Thomas-Jinu & Goodwin, 2004; Avendaño-Herrera et al., 2006) e pode(m) causar danos aos tecidos branquiais (Johnson et al., 1993; Kiemer & Black, 1997; Tripi & Bowser, 2001) e na fisiologia dos peixes.

Existe uma correlação importante entre o tempo de exposição ao peróxido de oxigênio e os danos causados aos tecidos das brânquias, sendo que a maioria dos danos ocorre na extremidade da lamela secundária e em outras partes dos arcos branquiais (Kiemer & Black, 1997; Johnson et al., 1993). Portanto, esta habilidade do H_2O_2 é um fator determinante para a realização de testes de toxicidade aguda, pois este proporciona respostas rápidas dos efeitos letais deste quimioterápico para os peixes.

A avaliação de parâmetros sanguíneos em animais é uma rotina, bem como ferramenta importante na prática da veterinária clínica médica. Esta técnica simples pode prover essencial informação sobre o estado fisiológico dos animais e então ajudar o clínico a tomar decisões médicas. Em peixes, o uso de parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos tem apresentado bons resultados na avaliação dos efeitos de quimioterápicos (Tort et al., 2003; Winkaler, 2008). Isso é possível porque o peixe, sob efeito de um agente estressor, desencadeia respostas denominadas repostas ao estresse que podem ser divididas em primárias, secundárias e terciárias (Wedemeyer, 1996; Barton, 2002). As respostas primárias são mediadas pelos hormônios catecolaminas e cortisol que atingem todo o organismo, provocando os efeitos secundários. As respostas secundárias compreendem os vários efeitos bioquímicos e fisiológicos associados com o estresse, tais como: hiperglicemia, aumento das proteínas totais, modificação hematológica, íons plasmáticos, que podem ser utilizados como diagnóstico auxiliar na avaliação das condições de saúde do peixe (Affonso et al., 2002; Menezes et al., 2006; Andrade et al., 2007). As respostas terciárias atingem o organismo como um todo, comprometendo crescimento, reprodução e o sistema imunológico do organismo.

Em trutas *Oncorhynchus mykiss* expostos à concentração de 500 mg/L de H_2O_2 houve aumento do hematócrito, dos níveis de hemoglobina e catecolamina, mas essas alterações não ocorreram em peixes expostos a 100 mg/L (Powell & Perry, 1997). Em *Salmo salar*, banho de 20 minutos com 1500 mg/L de H_2O_2 causou aumento na concentração plasmática de cortisol, glicose, cloreto, potássio e sódio, mas sem alterações teciduais nas brânquias (Bowers et al., 2002). Em *Seriola lalandi*, parasitismo por Monogenoidea

Zeuxanpta seriolae causou redução na concentração de hemoglobina e aumento dos níveis de lactato e osmolaridade, mas banho de 10 minutos com 300 mg/L de H₂O₂ causou estresse agudo. Porém, este tratamento foi menos prejudicial para o peixe que os efeitos da persistência crônica do parasito, como indicado pelas alterações dos níveis lactato e osmolaridade (Mansell et al., 2005). Portanto, parâmetros hematológicos podem ser usados como bioindicadores de estresse causado pela toxicidade do H₂O₂ nos peixes (Tort et al., 2003), principalmente nas espécies mais sensíveis a esse químico.

Com a intensificação da aquicultura brasileira, as elevadas densidades de estocagem praticadas têm contribuído para a dispersão de agentes infecciosos e parasitários em tambaqui *Colossomoma macropomum* (Cuvier, 1818), peixe de grande importância para a aquicultura, principalmente, na região Norte, onde é a espécie mais cultivada (IBAMA, 2008). Nesta espécie, têm sido relatadas infecções causadas, principalmente, por Monogenoidea (Békési, 1992; Eiras et al., 1995; Martins et al., 2000; Varela et al., 2003; Tavares-Dias et al., 2006), *Ichthyophthirius multifiliis* (Martins et al., 2000; Tavares-Dias et al., 2006), *Trichodina* sp. (Eiras et al., 1995; Martins et al., 2000), bactérias e fungos (Békési, 1992; Martins & Romero, 1996; Martins et al., 2000), prejudicando a saúde dos animais e a produção. Assim, o tambaqui foi a espécie escolhida para este estudo, e o H₂O₂ o quimioterápico, por ser de grande potencialidade para uso na aquicultura da região Norte e amazônica.

Métodos de estudos de indicadores de estresse em tambaqui *Colossoma macropomum*

Obtenção e manutenção dos peixes

Os espécimes de tambaqui foram obtidos de um piscicultor local com aproximadamente 7 cm e transportados para a Estação Experimental de Piscicultura da Coordenação de Pesquisas em Aquicultura (CPAQ/INPA, AM, Brasil). Foram mantidos em viveiro escavado por dois meses e alimentados duas vezes ao dia com ração comercial. Cento e vinte peixes com peso de $29,8 \pm 4,94$ g e $11,05 \pm 0,6$ cm de comprimento foram distribuídos em 2 tanques de polietileno de 500 L, antes do início dos experimentos.

Avaliação da toxicidade aguda ao H₂O₂

Para definir as concentrações de H₂O₂ letais para o tambaqui, previamente foi realizado um teste de toxicidade a este composto, no qual 20 juvenis de tambaquis foram mantidos em jejum por 24 horas para esvaziamento do trato gastro-intestinal e, em seguida, distribuídos aleatoriamente em 4 aquários de 40 L com cinco peixes cada, mantidos sob aeração constante e sistema estático. Após este período, os peixes foram expostos a concentrações de 84, 126, 168 e 336 mg/L de H₂O₂ em solução aquosa a 30% (Merck®), durante o período máximo de 85 minutos, para determinação da taxa de mortalidade.

Exposição às diferentes concentrações subletais de H₂O₂ para avaliação fisiológica

Após definidas as concentrações letais de H₂O₂ para o tambaqui, cento e vinte juvenis foram distribuídos aleatoriamente em 12 aquários de 80 L com aeração constante, perfazendo um total de 4 grupos, foram mantidos em aclimatação e jejum, durante 24 horas. O sistema de exposição usado foi o estático e todos os tratamentos, incluindo o controle, foram realizados em triplicata, com 10 indivíduos por aquário. Após este período, a aeração dos aquários foi suspensa e imediatamente adicionado 0, 42, 84 e 126 mg/L de H₂O₂ por 30 minutos. O comportamento dos peixes foi avaliado durante o banho com H₂O₂, e a sobrevivência no período de recuperação.

Em seguida, 5 peixes de cada tratamento e suas réplicas, foram randomicamente selecionados para coleta de sangue e os demais foram transferidos para tanques de 500 L com aeração constante e fluxo contínuo de água para observar a recuperação de 24 horas. Após este período, amostras de sangue foram coletadas para as análises hematológicas.

Coleta de sangue e análises hematológicas após exposição ao H₂O₂

Antes da coleta de sangue, os peixes foram anestesiados com benzocaína (60%) e, em seguida, após a devida contenção, uma amostra de sangue foi coletada por punção do vaso caudal com seringas contendo o anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) a 10%. As amostragens foram feitas antes (basal), após o banho e 24 h de recuperação ao H₂O₂. As amostras de sangue foram destinadas à determinação dos seguintes parâmetros sanguíneos: hematócrito (Ht) determinado pelo método de microhematócrito, concentração da hemoglobina [Hb] determinada pelo método da cianometahemoglobina, contagem de eritrócitos totais (Red Blood Cell Count/RBC) realizada em câmara de Neubauer, após diluição em solução de Natt & Herrick (1952). Com estes resultados, foram calculados o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). A amostra de sangue foi centrifugada para obtenção de plasma e determinação da glicose pelo método enzimático-colorimétrico (glicose oxidase), utilizando kit comercial (Doles[®], GO).

Monitoramento da qualidade de água

Os parâmetros de qualidade da água (concentrações de oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade, pH e concentrações de amônia total e nitrito), foram medidos antes e após 20 minutos de exposição ao H₂O₂. Os níveis de oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade foram determinados utilizando oxímetro digital, e o potencial hidrogeniônico foi medido com um pH-metro digital. As concentrações de amônia total (NH₃ + NH₄⁺) e nitrito (NO₂) foram determinadas por método colorimétrico segundo Verdouw et al. (1978) e Boyd & Tucker, (1992), respectivamente. As concentrações de H₂O₂ na água dos aquários foram determinadas por titulação com solução ácida de permanganato de potássio, segundo Vogel (1981).

Resultados em tambaquis expostos ao peróxido de hidrogênio

A - Parâmetros físico-químicos e sobrevivência dos peixes

Os resultados da avaliação da toxicidade do H_2O_2 em juvenis de tambaqui estão representados na Tabela 1. O tempo máximo de sobrevivência dos peixes expostos em 168 mg/L de H_2O_2 foi 85 minutos, reduzindo para 20 minutos quando expostos a 336 mg/L. Nas menores concentrações não houve mortalidade dos peixes neste período estudado (Tabela 1). A partir destes resultados, foi decidido que a maior concentração testada para avaliar os parâmetros sanguíneos seria 126 mg H_2O_2 /L.

Os resultados dos parâmetros de qualidade da água para os 4 tratamentos foram verificados mediante a análise de variância (ANOVA One Way). Quando os tratamentos apresentaram diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os valores dos parâmetros físicos e químicos da água dos aquários, antes e após 20 minutos da adição de H_2O_2 , estão representados na Tabela 1. Condições normóxicas foram observadas nos diferentes tratamentos, mas um pequeno aumento, proporcional à concentração de H_2O_2 , foi observado, porém não significativo. Os valores de pH, após a adição de H_2O_2 foram significativamente ($p < 0,05$) elevados em relação ao controle. Ao contrário, as concentrações de amônia total foram significativamente ($p < 0,05$) menores após adição do H_2O_2 nos tratamentos.

Tabela 1. Avaliação da mortalidade e tempo de sobrevivência de juvenis de *C. macropomum* expostos a diferentes concentrações de H_2O_2 .

Concentração de H_2O_2	Mortalidade	Tempo de sobrevivência
0 mg/L	0%	85 min
84 mg/L	0%	85 min
126 mg/L	0%	85 min
168 mg/L	100%	85 min
336 mg/L	100%	20 min

Tabela 2. Parâmetros físicos e químicos da água dos aquários antes (1) e após 20 minutos (2) da adição de 0; 42,0; 84,0 e 126 mg/L de H₂O₂. Valores expressam as médias ± desvio padrão.

Parâmetros	Concentrações de H ₂ O ₂ (mg/L)			
	0,0	42,0	84,0	126,0
O ₂ mg/L (1)	5,84±0,3	5,89±0,18	5,98±0,07	6,07±0,1
O ₂ mg/L (2)	5,79±0,25	6,33±0,07	6,48±0,23	6,5±0,35
T°C (1)	27,27±0,12	27,23±0,22	27,07±0,06	27,1±0,1
T°C (2)	27,43±0,4	27,23±0,2	27,0±0	26,77±0,06
pH (1)	6,63±0,2	6,81±0,04 ^b	6,96±0,07 _b	6,99±0,04 ^b
pH (2)	6,32±0,7	7,03±0,06 ^a	7,11±0,15 ^a	7,02±0,17 ^a
Cond µS/cm (1)	22,83±1,1	22,23±0,7	21,3±0,17	21,57±0,64
Cond µS/cm (2)	16,63±0,12	23,67±0,65	23,03±0,4	23,8±2,6
Amônia mg/L (1)	0,94±0,07	0,87±0,14 ^a	0,83±0,15 ^a	0,77±0,08 ^b
Amônia mg/L (2)	1,06±0,07	0,63±0,17 ^b	0,27±0,08 ^b	0,23±0,24 ^b
Nitrito mg/L (1)	0,0102±0,005	0,0101±0,003	0,008±0,001	0,011±0,001
Nitrito mg/L (2)	0,009±0,005	0,005±0,0002	0,0046±0,0002	0,0053±0,0005

*:diferenças significativas (p<0,05); Cond: Condutividade elétrica; O₂: Oxigênio dissolvido.

As concentrações de H₂O₂ na água, após adição de 42, 84 e 126 mg/L, estão representados na Figura 1. Os resultados demonstraram que as diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio permaneceram constantes durante 20 minutos de banho.

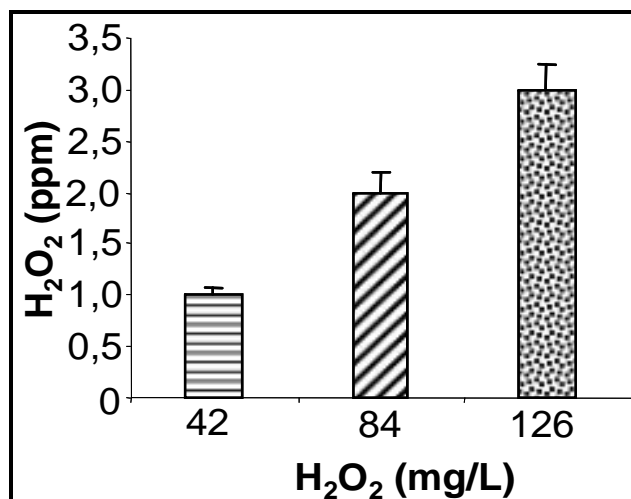


Figura 1. Concentrações de H₂O₂ na água, nos diferentes tratamentos, após 20 minutos de banho.

B - Parâmetros hematológicos

Os resultados dos parâmetros sanguíneos foram verificados mediante a análise de variância (ANOVA One Way). Quando os tratamentos apresentaram diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os valores correspondentes aos parâmetros eritrocitários dos peixes expostos a diferentes concentrações (0, 42, 84 e 126 mg/L de H₂O₂) estão representados na Figura 2. Não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Entretanto, observam-se variações nos valores encontrados quando se compara as situações: antes, após 30 min de exposição e 24 horas de recuperação ao H₂O₂. Foram encontrados valores mais elevados de Ht, Hb, RBC e VCM em todos os tratamentos, inclusive o controle, no período de 30 minutos após o banho com H₂O₂ em comparação com os valores basais.

No presente estudo, um aumento significativo ($p < 0,05$) nos níveis de glicose plasmática de juvenis de tambaqui foi verificado em todos os tratamentos durante o banho com e sem (controle) adição de H₂O₂ em relação aos valores basais (antes do banho) e, após 24 horas de recuperação, retornaram ao estado inicial (Figura 3). Entretanto, um aumento nos níveis de glicose foi observado nos indivíduos do banho com H₂O₂ em relação ao controle.

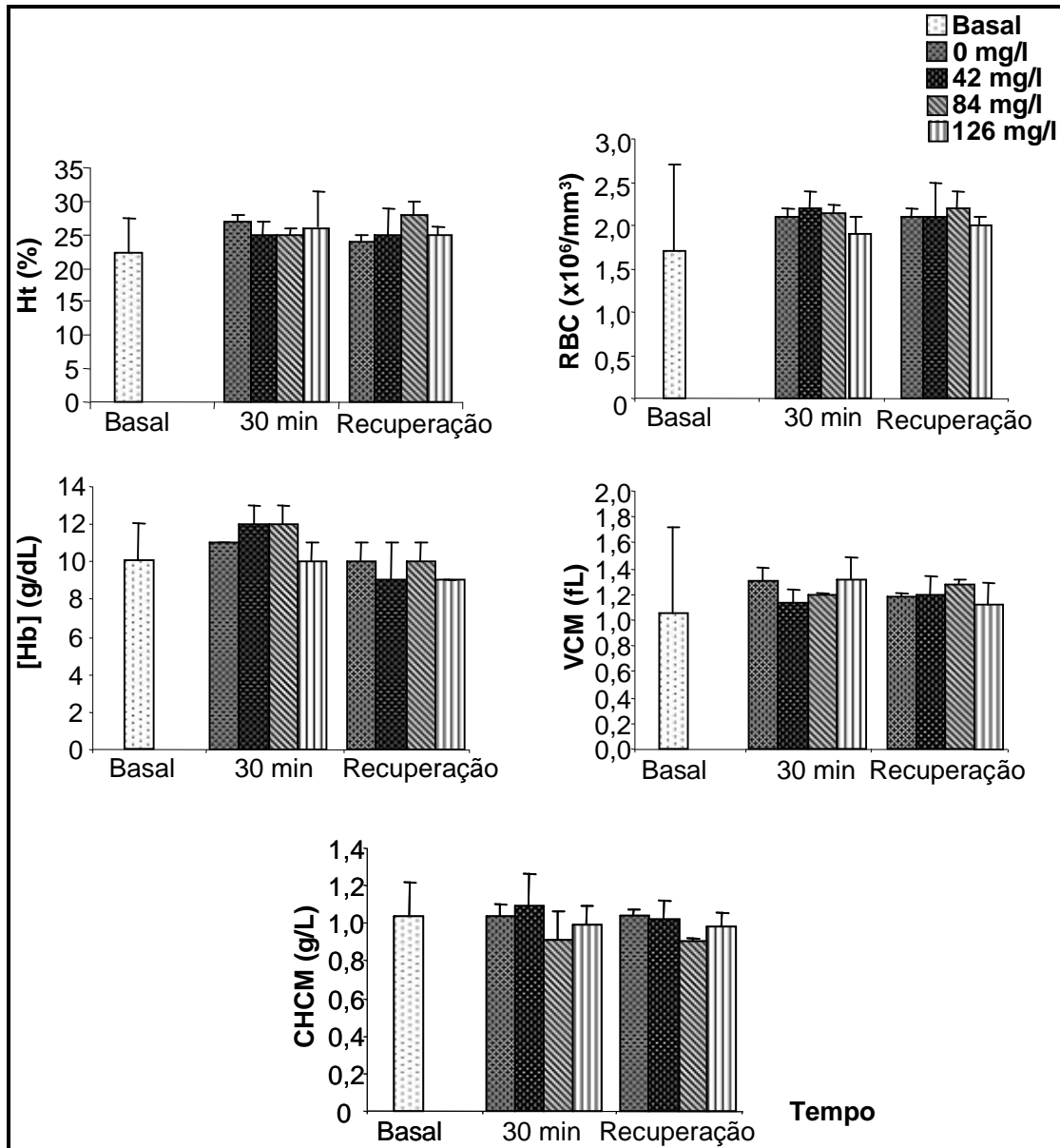


Figura 2. Hematócrito (Ht), número de eritrócitos (RBC), hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em *C. macropomum* antes e após 30 min de banho com 0, 42, 84 e 126 mg/L de H_2O_2 e 24 h de recuperação. Valores expressam as médias \pm desvio padrão.

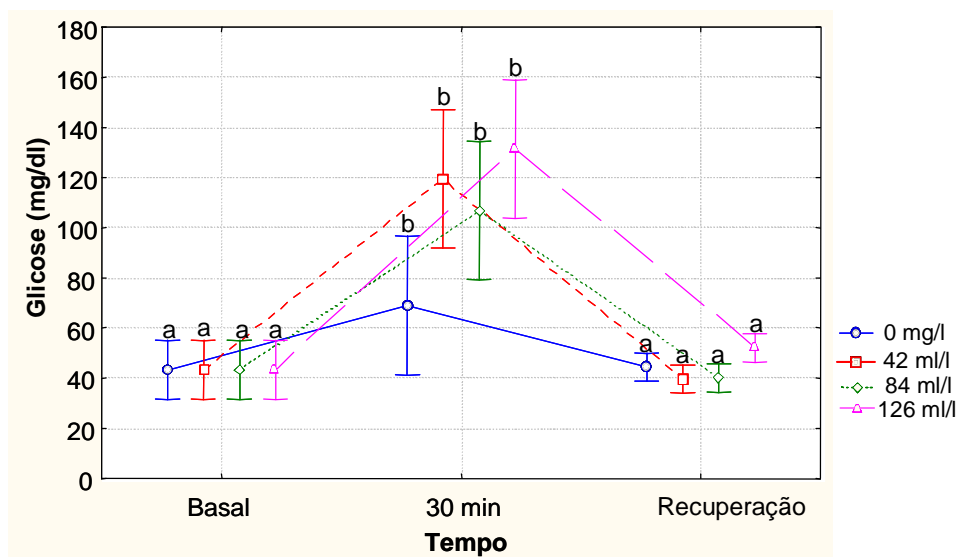


Figura 3. Concentrações de glicose plasmática de *C. macropomum* antes do tratamento (basal), após 30 min de banho com 0, 42, 84 e 126 mg/L de H₂O₂ e 24 horas de recuperação. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores basais e os tratamentos. Valores são médias \pm desvio padrão.

Em *Salmo salar* e *Oncorhynchus tshawytscha*, a toxicidade do H₂O₂ além de aumentar com a concentração e tempo de exposição ao produto também é influenciada pelo aumento da temperatura da água (Johnson et al., 1993). Assim, em ensaios laboratoriais, é necessário o acompanhamento da qualidade da água dos tanques experimentais, pois a variação em um dos parâmetros físico-químicos pode interferir nos resultados (Affonso et al., 2007; Andrade et al., 2007), principalmente em exposição ao H₂O₂. No presente estudo, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade e nitrito não apresentaram diferenças significativas nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental. Entretanto, os valores de pH da água dos peixes expostos ao H₂O₂ foram significativamente ($p < 0,05$) mais elevados em comparação àqueles do controle, independente da concentração do produto. Essas alterações podem ser explicadas em função da decomposição do H₂O₂ na água, liberando os íons OH⁻, que, conseqüentemente, aumentam o pH.

A amônia na água é um dos principais compostos que pode causar prejuízo à saúde dos peixes. Esse composto pode ser encontrado na forma de íon amônio (NH₄⁺) ou amônia (NH₃⁻), sendo o pH o principal fator que determina a proporção dessas duas formas na água; quanto maior o pH, maior será a porcentagem de amônia tóxica (NH₃⁻). No presente estudo, a adição do H₂O₂ na água causou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na concentração de amônia em relação ao controle (sem H₂O₂). Esta redução

pode ser explicada pelo processo de oxidação sofrido pela amônia, com sua transformação para nitrito e deste para nitrato, conforme verificado pela diminuição nas concentrações de nitrito. Apesar destas alterações, todos os parâmetros físico-químicos analisados estão dentro dos limites considerados adequados para o desenvolvimento e saúde dos peixes tropicais (Kubitza, 2003).

Os parâmetros hematológicos, sob efeito de um agente estressor, podem apresentar uma hemoconcentração ou hemodiluição dos eritrócitos. Hemoconcentração ocorre como estratégia para aumentar a capacidade de transporte de oxigênio no sangue em situações de estresse, onde a demanda de energia é elevada (Caldwell & Hinshaw, 1994; Carvalho & Fernandes, 2006), ou pode ser apenas uma alteração temporária frente à desidratação. Agentes estressores que podem comprometer a absorção do ferro, levar à malformação ou hemólise dos eritrócitos, à inibição da síntese de hemoglobina ou à competição pelo sítio de ligação do oxigênio, podem causar hemodiluição ou anemia nos peixes, reduzindo a capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos (Heath, 1995; Affonso et al., 2002; Jung et al., 2003; Das et al., 2006).

No presente estudo, os parâmetros hematológicos (Ht, Hb, RBC, VCM e CHCM) de *C. macropomum* exposto por 30 minutos em banhos de 42, 84 e 126 mg/L de H₂O₂ não foram alterados em função do produto. Similarmente, banhos curtos ou prolongados com concentrações de 10 ou 100 mg/L de H₂O₂ não influenciaram os valores da concentração de hemoglobina e hematócrito em *Ictalurus punctatus* (Tort et al., 2003). De acordo com esses autores, a avaliação dos efeitos do estresse por meio de parâmetros sanguíneos é mais efetiva quando o H₂O₂ é usado para tratamento de espécies sensíveis ao produto (Tort et al., 2003) ou sob efeito de altas concentrações.

A hiperglicemia é uma reposta característica dos peixes sob estresse agudo ou crônico (Wedemeyer, 1996). Em tambaqui *C. macropomum*, aumento significativo ($p < 0,05$) da concentração de glicose plasmática foi verificado em todos os tratamentos durante os banhos com e sem H₂O₂ em relação aos valores basais e retornaram a estes valores após 24 horas de recuperação ao produto. O efeito tóxico do peróxido de hidrogênio, segundo Kiemer & Black (1997), pode danificar as brânquias dos peixes, dependendo do tempo de exposição a este composto. No presente estudo, 30 minutos de banho nos diferentes tratamentos não foi suficiente para causar mortalidade, entretanto, foi observado sinal típico de estresse nos peixes, tal como subidas constantes à superfície da lamina d'água do aquário. Entretanto, a diminuição da glicose aos valores basais, durante a recuperação, é um indício de que tais concentrações de H₂O₂ testadas não comprometem a sobrevivência dos peixes.

Considerações finais

O peróxido de hidrogênio é um dos produtos químicos aprovados pela USA Food and Drug Administration (FDA) para uso na aquicultura, devido a sua comprovada eficácia no tratamento contra bactérias, fungos e ectoparasitos de peixes e, praticamente por não causar impactos ambientais. Os resultados obtidos sugerem que o peróxido de hidrogênio, em banhos de 30 minutos nas concentrações de 42, 84 e 126 mg/L de H₂O₂ pode ser

empregado sem comprometer a sobrevivência do tambaqui. Entretanto, é necessário que futuros estudos sejam realizados com peixes infectados por parasitos ou bactérias e fungos, para avaliar qual das concentrações seria mais eficaz no tratamento de tambaquis infectados. Embora determinada concentração de H₂O₂ seja letal para o tambaqui, esta poderá não eliminar e nem controlar alguns agentes patogênicos para essa espécie.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa PQ, concedida a M. Tavares-Dias (Processo: 300472/2008-0).

Referências

-
- AFFONSO, E. G.; POLEZ, V. L. P.; CORRÊA, C. F.; MAZON, A. F.; ARAÚJO, M. R. R.; MORAES, G.; RANTIN, F. T. 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol.*, 133: 375-382.
- AFFONSO, E. G.; SILVA, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MENEZES, G. C.; CARVALHO, C. S.; NUNES, E. S. S.; ITUASSÚ, D. R.; ROUBACH, R.; ONO, E. K.; FIM, J. D. I.; MARCON, J. L. 2007. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 147A:383-388.
- ANDRADE, J. I. A.; ONO, E. A.; MENEZES, G. C.; BRASIL, E. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. 2007. Influence of diets supplemented with vitamin C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comp. Biochem. Physiol.*, 146A: 576-580.
- AVENDAÑO-HERRERA, R.; MAGARIÑOS, M.; MAGARIÑOS, R.; TORANZO, A. E. 2006. Use of hydrogen peroxide against the fish pathogen *Tenacibaculum maritimum* and its effect on infected turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 257: 104-110.
- BARTON, B. A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ. Comp. Biol.*, 42: 517-525.
- BÉKÉSI, L. 1992. Evaluation of data on ichthyopathological analyses in the Brazilian northeast. *Ciênc. Cult.*, 44: 400-403.
- BOYD, E.; TUCKER, C. S. 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Auburn: Auburn University.
- BOWERS, J. M.; SPEARE, D. J.; BURKA, J. F. 2002. The effects of hydrogen peroxide on the stress response of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 25:311-313.
- CALDWELL, C. A.; HINSHAW, J. 1994. Physiological and haematological responses in rainbow trout subjected to supplemental dissolved oxygen in fish culture. *Aquaculture*, 126:183-193.
- CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture*, 251:109-117.

- DAS, P. C.; AYYAPPAN, S.; JENA, J. K. 2006. Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. *Aquaculture*, 256:80-87.
- EIRAS, J. C.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ISHIKAWA, C. M.; ALEXANDRINO, A. C.; EIRAS, A. C. 1995. Ectoparasites of semi-intensively farmed tropical freshwater fish *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* and *Colossoma macropomum*. *Bull. Europ. Assoc. Fish Pathol.*, 148-51.
- FAO. 2005. *Responsible use of antibiotics in aquaculture*. Roma, 110 p. Fisheries Technical paper.
- HEATH, A. G. 1995. *Water pollution and fish physiology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 354p.
- HOWE, G. E.; GINGERRICH, W. H.; DAWSON, V. K.; OLSON, J. J. 1999. Efficacy of hydrogen peroxide for treating saprolegniasis in channel catfish. *J. Aqua. Anim. Health*, 222-230.
- HUTSON, K. S.; ERNST, I.; WHITTINGTON, I. D. 2007. Risk assessment for metazoan parasites of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae) in South Australian sea-cage aquaculture. *Aquaculture*, 271:85-99.
- IBAMA. 2008. *Estatística da Pesca 2006 Brasil: Grandes Regiões e Unidades da Federação*. Brasília-DF.
- JOHNSON, S. C.; CONSTIBLE, J. M.; RICHARD, J. 1993. Laboratory investigations on the efficacy of hydrogen peroxide against the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and its toxicological and histopathological effects on Atlantic salmon *Salmo salar* and chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Dis. Aquat. Org.*, 17:197-204.
- JUNG, S. H.; SIM, D. S.; MI-SEON PARK, M. S.; JO, K.; YOON KIM, Y. 2003. Effects of formalin on haematological and blood chemistry in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquac. Res.*, 34:1269-1275.
- KIEMER, M. C. B.; BLACK, K. D. 1997. The effects of hydrogen peroxide on the gill tissues of Atlantic salmon, *Salmon salar* L. *Aquaculture*, 153: 181-189.
- KUBITZA, F. 2003. *Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões*. Jundiaí, São Paulo, 229 p.
- MANSELL, B.; POWELL, M. D.; ERNST, I.; NOWAK, B. F. 2005. Effects of the gill monogenean *Zeuxapta seriolae* (Meserve, 1938) and treatment with hydrogen peroxide on pathophysiology of kingfish, *Seriola lalandi* Valenciennes, 1833. *J. Fish Dis.*, 28:253-262.
- MARTINS, M. L.; ROMERO, N. G. 1996. Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial en peces cultivados: Estudio parasitológico e histopatológico. *Revta Bras. Zool.*, 13:489-500.
- MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; FUJIMOTO, R. Y.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T.; SILVA, C. A. H.; SCHALCH, S. H. C. 2000. Parasitic infections in cultivated freshwater fishes. A survey of diagnosed cases from 1993 to 1998. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 9:23-28.
- MARTINS M. L. 2004. Cuidados básicos e alternativos no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Ed.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*. São Paulo: Livraria Varela, p. 357-370.

- MAXIMIANO, A. A.; FERNADES, R. O.; NUNES, F. P.; ASSIS, M. P.; MATOS, R. V.; BARBOSA, C. G. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. 2005. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicas e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos a saúde humana e ambiental. *Ciê. Saúde Col.*, 10:483-491.
- MENEZES, G. C.; TAVARES-DIAS, M.; ONO, E. A.; ANDRADE, J. I. A.; BRASIL, E. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. 2006. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comp. Biochem. Physiol.*, 145A: 274-279.
- NATT, M. P.; HERRICK, C. A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Science*, 735-738.
- POWELL, M. D.; PERRY, S. P. 1997. Respiratory and acid-base pathophysiology of hydrogen peroxide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquatic Toxicol.*, 37:99-112.
- RACH, J. J.; GAIKOWSKIA, M.; PRAMSAY, . 2000. Efficacy of hydrogen peroxide to control parasitic infestations on hatchery-reared fish. *J. Aquat. Anim. Heath.*, 12:267-273.
- RACH, J. J.; JAMES J.; VALENTINE, J. J.; SCHREIERA, T. M.; GAIKOWSKIA, M. P.; CRAWFORD, T. G. 2004. Efficacy of hydrogen peroxide to control saprolegniasis on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) eggs. *Aquaculture*, 238:135-142.
- SITJÀ-BOBADILLA, A.; FELIPE, M. C.; ALVAREZ-PELLITERO, P. 2006. *In vivo* and *in vitro* treatments against *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea: Microcotylidae) parasitizing the gills of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 856-864.
- TAVARES-DIAS, M.; LEMOS, J. R. G.; ANDRADE, S. M. S.; AQUINO-PEREIRA, S. L. 2006. Ocorrência de ectoparasitos em *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (Characidae) cultivados em estação de piscicultura na Amazônia Central. CIVA. (<http://www.civa2006.org>), p. 726-731.
- THOMAS-JINU, S.; GOODWIN, A. E. 2004. Acute columnaris infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinnesque): efficacy of practical treatments for warm water aquaculture ponds. *J. Fish Dis.*, 27:23-28.
- TORT, M. J.; WOOSTER, G. R.; BOWSER, P. R. 2003. Effects of hydrogen peroxide on hematology and blood chemistry parameters of walleye *Stizostedion vitreum*. *J. World Aquac. Soc.*, 236-242.
- TRIPI, C.; BOWSER, P. R. 2001. Toxicity of Hydrogen Peroxide to Pre-exposed Young-of-the-Year Walleye: Effects of Water Hardness and Age of Fish. *J. World Aqua. Soc.*, 32:416-421.
- VARELLA, A. M. B.; PEIRO, S. N.; MALTA, J. C. O. 2003. Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Osteichthyes: Characidae) cultivo em tanques-rede em um lago de várzea na Amazônia, Brasil. In: URBINATI, E. C.; CYRINO, J. E. (Ed.). SIMBRAQ, Goiânia, 2002, AQUABIO: Jaboticabal, São Paulo, p. 95-105.
- VERDOUW, H.; VAN ECHTED, C. J. A.; DEKKERS, E. M. J. 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium silicylate. *Water Res.*, 12:397-402.
- VOGEL, A. I. 1981. *Análise inorgânica quantitativa*. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara.

- WEDEMEYER, G. A. 1996. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Nova York: Chapman & Hall.
- WINKALER, E. U. 2008. *Aspectos ecotóxicológicos dos inseticidas diflubenzuron e teflubenzuron para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*)*. 79 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, CAUNESP, Jaboticabal.