

EFICÁCIA DO PARATION METÍLICO E DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS SECAS DE NIM NO CONTROLE DE *Anacanthorus penilabiatus* (MONOGENOIDEA) EM PACU (*Piaractus mesopotamicus*)

Claudinei da CRUZ¹; Joaquim Gonçalves MACHADO NETO¹; Rodrigo YUDI FUJIMOTO²; Matheus Nicolino Peixoto HENARES¹; Daniela Avilez DUÓ¹

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do inseticida paration metílico e do pesticida natural azadiractina contido no extrato aquoso de folhas secas de nim (EAFSN) no controle do *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenoidea) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). A eficácia do paration metílico foi avaliada em um experimento com seis tratamentos (0,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; e 7,0 mg de paration metílico/L de água) e cinco tempos de exposição (2; 4; 8; 16; e 24h). A eficácia da azadiractina contida no EAFSN foi avaliada em um experimento com sete tratamentos (0,0; 25; 50; 75; 100; 125; e 150 mL de extrato aquoso de nim/L) e cinco tempos de exposição (24; 48; 72; 96; e 120h). A eficácia do paration metílico foi maior com o aumento da concentração e do tempo de exposição. No tratamento com 7 mg/L de paration metílico ocorreu a maior eficácia de controle em todos os tempos de exposição. Neste tratamento, as maiores eficácias ocorreram nos tempos de 16 e 24 horas de exposição, com 96,2 e 97,0% de controle. Para o EAFSN, a maior eficácia de controle (89,2%) foi com a concentração de 2,9 mg/L, após 120h de exposição. A eficácia nos tratamentos com 1,47 mg/L foi de 83,9% de controle e com 1,18 mg/L, 82,5% após 120h de exposição. O paration metílico apresentou maior eficácia de controle do *A. penilabiatus* que o EAFSN. O EAFSN foi moderadamente efetivo no controle do parasito.

Palavras Chaves: *Piaractus mesopotamicus*, tratamento, eficácia, parasitos, paration metílico, nim

EFFICACY OF THE METHYL PARATHION AND THE AQUEOUS EXTRACT OF DRY NEEM LEAVES IN THE CONTROL OF *Anacanthorus penilabiatus* (MONOGENOIDEA) IN PACU (*Piaractus mesopotamicus*)

ABSTRACT

This work determined the efficacy of the insecticide methyl parathion and the natural pesticide azadirachtin present in the aqueous extract of dry neem leaves (AEDNL) to *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenoidea) control in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). The efficacy of methyl parathion was evaluated in an experiment consisting of six treatments (0.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0 mg methyl parathion/L water) and five exposure times (2, 4, 8, 16 and 24 h). The efficacy of azadirachtin present in AEDNL was assessed in an experiment consisting of seven treatments (0,0; 25; 50; 75; 100; 125; e 150 mL/L water) and five exposure times (24, 48, 72, 96 and 120 h). The efficacy of methyl parathion increased with increasing concentration and exposure time. The highest control efficacy was obtained with a concentration of 7 mg methyl parathion/L at all exposure times. In this treatment, the highest efficacies were observed at 16 and 24 h of exposure, with a control rate of 96.2 and 97.0%, respectively. For the AEDNL, the highest control efficacy (89.2%) was obtained with a concentration of 2.9 mg/L after 120 h of exposure. The efficacy in the treatments employing 1.47 and 1.18 mg/L was 83.9 and 82.5%, respectively, after 120 h of exposure. Methyl parathion presented a higher efficacy in the control of *A. penilabiatus* than the AEDNL. The AEDNL was moderately effective in the control of the parasite.

Key words: *Piaractus mesopotamicus*, treatment, efficacy, parasites, methyl parathion, neem.

Artigo Científico: Recebido em: 30/06/2006; Aprovado em: 04/05/2007

¹ Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional, do Departamento de Fitossanidade da UNESP - Campus de Jaboticabal e Centro de Aqüicultura da UNESP/CAUNESP, Campus de Jaboticabal.

² Universidade Federal do Pará, UFPA, Campus de Bragança-PA

Endereço/Address: Depto de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Jaboticabal.
Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14870-000, Jaboticabal, São Paulo.
e-mail: cruzcl@yahoo.com

INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade aquícola ocorrida nos últimos anos no país, devido ao desenvolvimento de novas tecnologias de produção, resultou no aparecimento de muitas enfermidades nos peixes. Estas enfermidades ocorrem devido ao regime de cultivo intensivo com alta densidade populacional que provoca estresse nos animais, tratamentos químicos, transporte, reprodução artificial, má qualidade da água de cultivo e a não execução de medidas preventivas na introdução de novos peixes nos criatórios ou pelo contato dos animais de cultivo com peixes silvestres parasitados (MARTINS, 1998).

Entre os parasitos de peixes, os monogenéticos estão entre os de maior ocorrência e frequência na piscicultura brasileira, ectoparasitos do filo Platyhelminthes, que apresentam grande diversidade em número, morfologia e ecologia.

Os monogenéticos ocorreram em 63,1% dos animais de 21 espécies de sete famílias de peixes de água doce estudadas (KOHN *et al.*, 1985). Em pisciculturas de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaquis (*Colossoma macropomum*) estes parasitos ocorreram em 100% dos animais (EIRAS *et al.*, 1995); e em 58,0% de peixes provenientes de pisciculturas (MARTINS e ROMERO, 1996). Existem vários relatos de ocorrência de infestação de monogenéticos em peixes: *Osteoglossum bicirrosom* (KRITSKY e BOEGER, 1983); *Anguilla anguilla* (CRUZ-SILVA *et al.*, 1990/91); *Cyprinus carpio* (MOLNAR, 1994); *Salminus maxillosus* (BOEGER *et al.*, 1995a); *Piaractus mesopotamicus* (BOEGER *et al.*, 1995b; MARTINS, 1998); *Salmo salar* (APPLEBY e MO, 1997); e *Pimelodus maculatus* (GUTIERREZ e MARTORELLI, 1999).

Para o controle desses parasitos, muitos agentes químicos são empregados, de forma profilática ou terapêutica. Entre as substâncias químicas destacam-se: o mebendazol/triclorfon em associação (GOVEN e AMEND, 1982); o paration metílico (NOGA, 1996); o bitionol (KIM e CHOI, 1998); o praziquantel e o levamisol (HIRAZAWA *et al.*, 2000); a formalina e o verde malaquita (PIRONET e JONES, 2000); o mebendazol (MARTINS *et al.*, 2001); triclorfon (STEPHENS *et al.*, 2003); a formalina e o triclorfon (CECCHINI e COGNETTI-VARRIALE, 2003); o praziquantel (HIRAZAWA *et al.*, 2004); formalina e mebendazol (KATHARIOS *et al.*, 2006); e o permanganato de potássio, cloreto de sódio, azul de metileno e triclorfon (UMEDA *et al.*, 2006).

Entre os produtos que podem apresentar eficácia

no controle de parasitos e resultar em menor impacto negativo ao meio ambiente está o pesticida natural nim, que possui a azadiractina como principal agente natural isolado da planta *Azadirachta indica* (Meliaceae) (SCHAAF *et al.*, 2000), porém, não há relatos na literatura sobre a eficácia do nim para o controle de parasitos de peixes.

Segundo a OIE (2006), entre as doenças de peixes de notificação obrigatória, apenas o monogenético (*Gyrodactylus salaris*), tem obrigatoriedade de notificação, porém, no Brasil outras espécies de monogenéticos ocorrem em uma grande diversidade de peixes com importância comercial e ornamental. Assim, o pacu é uma espécie muito cultivada por apresentar carne saborosa, fácil obtenção de alevinos no mercado e ampla adaptação aos sistemas de cultivo, sendo uma espécie muito atacada por parasitos, principalmente as ectoparasitoses, como os monogenéticos (COHEN e KOHN, 2006). O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia do inseticida organofosforado paration metílico e do extrato aquoso de folhas secas de nim (EAFSN) no controle de parasitos monogenéticos *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenoidea, Dactylogyridae) em pacu (*P. mesopotamicus*).

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Estadual Paulista (UNESP), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal, no Laboratório de Ecotoxicologia e Saúde Ocupacional do Departamento de Fitossanidade.

A intensidade média de infestação de monogenéticos foi realizada para se estimar a carga parasitária inicial presente nos peixes. Para tanto, foram amostrados 20 animais dos 390 animais que foram utilizados nos experimentos. Estes animais foram mortos por excesso de anestésico (benzocaína a 0,1 g/L). As brânquias foram coletadas e colocadas em formaldeído (1:4000; v/v) por 1 hora, para o distendimento dos parasitos. Após este procedimento, as brânquias foram fixadas em formaldeído a 10%, por 24 horas. Posteriormente, as brânquias foram raspadas para a retirada dos parasitos e contados *en totum*. A intensidade média de infestação de parasitos presentes nas brânquias amostradas antes e depois do experimento foi realizada em estereomicroscópio de campo claro (Coleman®).

A determinação da eficácia de controle dos monogenéticos presentes nas brânquias foi calculada

por porcentagem simples de eficácia de acordo com o Guidelines for the Testing of Veterinary Medicinal Products (1994). O nível de aceitabilidade de eficácia dos produtos testados foi de $90 \pm 10\%$ de controle, de acordo com as normas da ANVISA (2004) para produtos desinfetantes e a classificação do MERCOSUL (2004).

As variáveis ambientais de temperatura, pH, amônia total, oxigênio dissolvido, turbidez e condutividade elétrica da água foram monitoradas em cada unidade experimental e posteriormente avaliadas.

A determinação da eficácia no controle dos monogenéticos com paration metílico foi realizado em experimento com delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (6x5) sendo seis concentrações (0,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; e 7,0 mg de paration metílico/litro de água) e cinco tempos de exposição (2; 4; 8; 16; e 24 horas), com três repetições. Foram utilizados 10 animais por repetição pesando 100 ± 10 g, na densidade de 16,6 g/L de água. As parcelas experimentais foram caixas plásticas com capacidade de 60 L, com aeração constante da água, durante o período experimental.

Para a utilização do EAFSN foi preparado uma suspensão contendo 10 g de folhas secas e moídas de *Azadirachta indica* por litro de água. A seguir, foi realizada a homogeneização da suspensão com auxílio de bastão de vidro, que permaneceu em repouso por 24 horas. Após este período, a suspensão foi filtrada em papel de filtro comum.

A determinação da eficácia no controle dos monogenéticos com o EAFSN foi realizada em experimento com o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (7x5), com sete concentrações (0,0; 25; 50; 75; 100; 125; e 150 mL de extrato aquoso de nim/L de água) equivalente a 0,0; 0,29; 0,59; 0,88; 1,18; 1,47; e 2,9 mg de azadiractina/L de água e cinco tempos de exposição (24; 48; 72; 96; e 120 horas), com três repetições. Foram utilizados 10 animais por repetição pesando $115,5 \pm 15$ g, na densidade de 19,1 g/L. As parcelas experimentais foram caixas plásticas com capacidade de 60 L, com aeração constante da água, durante o período experimental. As concentrações de azadiractina contidas no EAFSN utilizadas neste experimento foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) seguindo a metodologia desenvolvida por MENEZES *et al.*, (2004).

Posteriormente a aquisição dos dados estes

foram submetidos a análise de variância, sendo significativo utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A intensidade média de infestação de parasitos monogenéticos na contagem inicial foi de 320 ± 23 parasitos/peixes. Número similar de parasitos também foi utilizado por HIRAZAWA *et al.*, (2000) para avaliação de eficácia do anti-helmíntico praziquantel. O número de parasitos obtidos na contagem inicial pode ser considerado como uma infestação parasitária muito elevada de acordo com (MARTINS, 1998).

Durante o experimento de eficácia do paration metílico para o controle dos parasitos monogenéticos a temperatura da água permaneceu entre 25,5 e 26,6 °C. O aumento da concentração do paration metílico provocou aumento na condutividade elétrica da água e diminuição no oxigênio dissolvido e no pH da água (Tabela 1). SOLENG *et al.*, (1999) verificaram que a diminuição do pH da água em associação com solução aquosa de alumínio reduziu a infestação de *Gyrodactylus salaris* no salmão do atlântico. A concentração de amônia total (NH_3^+) aumentou nos tratamentos com 4, 5, 6 e 7 mg paration metílico/L, com valores variando de 320,8 a 350,4 $\mu\text{g/L}$ (Tabela 1), porém, abaixo do limite aceitável para a criação da espécie em cativeiro (SIPAUBA-TAVARES, 1994).

Os resultados dos efeitos da concentração e tempo de exposição ao paration metílico, mostra que ocorreu interação significativa entre estes dois fatores. A eficácia do paration metílico foi maior com o aumento da concentração e do tempo de exposição (Tabela 2).

A maior diminuição do número de parasitos monogenéticos em todos os tempos de exposição foi na concentração com 7 mg de paration metílico/L, que não diferiu significativamente entre os tempos de exposição (Tabela 2). Neste tratamento, as maiores eficácias ocorreram nos tempos 16 e 24 horas de exposição, com 96,2 e 97,0% de controle, respectivamente (Figura 1). A partir de 4 horas de exposição, o tratamento com 6 mg/L também apresentou eficácia de controle (88,6%) dos parasitos monogenéticos. Neste tratamento não ocorreu diferenças significativas entre os tempos de exposição de 4, 8, 16 e 24 horas, com o número médio de parasitos variando de 37,2, em 4h de exposição para 12,7 em 24h (Tabela 2). A eficácia nesta concentração variou de 91,7 a 96,0% (Figura 1).

Tabela 1. Médias e desvio padrão das variáveis de qualidade de água durante a 24 horas de tratamento com paration metílico no controle de *Anacanthorus penilabiatus*

	Concentrações de paration metílico (mg/L)					
	0,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0
Temperatura da água (°C)	25,8 ± 2,0	25,7 ± 1,5	26,6 ± 1,4	25,0 ± 2,0	25,4 ± 2,0	26,0 ± 1,8
pH	7,33 ± 0,5	7,26 ± 0,8	7,07 ± 0,6	7,40 ± 0,5	6,99 ± 0,8	6,99 ± 0,6
Oxigênio dissolvido (mg/L)	8,42 ± 1,3	8,41 ± 1,2	7,72 ± 0,8	7,44 ± 0,6	7,24 ± 0,9	7,17 ± 1,0
Condutividade Elétrica (µS/cm)	0,298 ± 5,0	0,263 ± 2,9	0,332 ± 2,0	0,479 ± 6,0	0,562 ± 9,0	0,598 ± 4,0
Amônia Total (µg/L)	201,8 ± 5,0	283 ± 6,0	320,8 ± 9,0	322,0 ± 7,0	344,0 ± 9,0	350,4 ± 5,0

Tabela 2. Intensidade média de infestação, desvio padrão e valores de F para número de *Anacanthorus penilabiatus*, após o tratamento com paration metílico

Tempo	Concentração de paration metílico (mg/L)						F
	0,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	
2h	328 Aa ± 26	114,2 Ab ± 13	90,2 Abc ± 12	74,7 Ac ± 11	70,0 Ac ± 14	35,2 Ad ± 8,7	248,77**
4h	327 Aa ± 22	113,7 Ab ± 12	50,5 Bc ± 20	58,7 Ac ± 26	37,2 Bc ± 15	31,5 Ac ± 7,1	285,53**
8h	329 Aa ± 15	70,5 Bb ± 11	51,5 Bbc ± 6,2	51,5 Abc ± 10	27,2 Bc ± 0,9	30,0 Ac ± 11	301,03**
16h	325 Aa ± 14	62,0 Bcb ± 25	19,7 Cc ± 8,9	19,2 Bc ± 11	12,7 Bc ± 5,3	12,2 Ac ± 2,6	341,26**
24h	325 Aa ± 3,6	36,7 Cb ± 3,9	15,7 Cb ± 6,3	12,2 Bb ± 6,4	12,7 Bb ± 6,0	9,5 Ab ± 1,7	352,10**
F	0,68 ^{ns}	25,45**	20,00**	15,71**	12,91**	3,13*	4,27**

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas nas colunas e letras minúsculas iguais comparadas nas linhas não diferenciam entre si pelo teste de Tukey. ** significativo em nível de 1% de probabilidade; * significativo em nível de 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo.

Nos tratamentos com 4 e 5 mg/L são verificadas as maiores eficácias (94,0 e 96,2%) nos tempos de 16 e 24 horas de exposição. Não ocorreu diferença nestes tempos de exposição em relação aos tratamentos com 6 e 7 mg/L. O tratamento com 3 mg/L de paration metílico foi o mais eficaz (88,7%) no controle de *A. penilabiatus* apenas após 24 horas de exposição (Figura 1).

Para a comercialização, um produto técnico anti-helmíntico deve apresentar eficácia acima de 80% (MERCOSUL, 2004). O paration metílico apresentou excelente eficácia acima de 90% no controle de *A. penilabiatus*, nas concentrações de 6,0 e 7,0 mg/L

nos tempos de exposição de 8, 16 e 24h e de 94 a 96% na concentração 5,0 mg/L nos tempos de 16 e 24h. Portanto, estes tratamentos podem ser classificados como eficientes no controle do *A. penilabiatus* em pacu, de acordo com os critérios de aceitabilidade de controle estabelecidos na norma de teste de eficácia do MERCOSUL (2004).

As concentrações de 6,0 e 7,0 mg/L de paration metílico também atendem ao critério de aceitabilidade de eficácia para produtos desinfetantes para o controle de organismos alvos estabelecidos pela ANVISA (2004), que é de 90 ± 10% de controle.

A utilização do paration metílico entre 8 e 24 horas

para o tratamento de parasitos monogenéticos pode ser considerado seguro, pois segundo CRUZ *et al.* (2004) a concentração de 7,5 mg/L não causou mortalidade em juvenis de pacu no teste de toxicidade aguda, com a concentração letal 50% (CL (I)_{50-96h}) do paration metílico para pacu juvenis estimada em 9,89 mg/L, podendo ser classificado como moderadamente tóxico (ZUCKER, 1985).

O aumento das concentrações e dos tempos de exposição a azadiractina contida no EAFSN provocou diminuições no pH da água, que variou de 7,33 no tratamento controle para 6,96 no tratamento com 2,9 mg/L de azadiractina, após 120 h (Tabela 3).

A concentração de oxigênio dissolvido também diminuiu com o aumento da concentração e do tempo de exposição. Por outro lado, os valores de condutividade elétrica da água aumentaram com os aumentos das concentrações e dos tempos de exposição (Tabela 3). A concentração da amônia total (NH₃⁺) na água também aumentou em todas as concentrações de azadiractina, variando de 283,0 µg/L no tratamento com 0,29 mg/L, para 370 µg/L no tratamento com 2,9 mg/L, após 120 horas de experimento (Tabela 3), porém abaixo do limitante para a criação de *P. mesopotamicus* em cativeiro segundo SIPAUBA-TAVARES (1994).

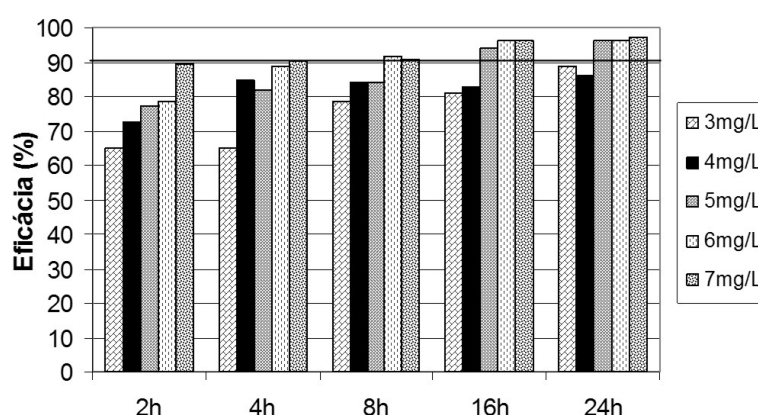


Figura 1. Eficácia dos tratamentos com paration metílico no controle do *Anacantrorus penilabiatus* em pacu. (– 90 ± 10%) nível de aceitabilidade de eficácia estabelecido pela ANVISA (2004)

Tabela 3. Médias e desvio padrão das variáveis de qualidade de água durante a 120 horas de tratamento com EAFSN no controle de *A. penilabiatus*

	Concentrações de EAFSN (mL/L)						
	0,0	25	50	75	100	125	150
Temperatura d água (°C)	25,7 ± 2,0	25,8 ± 1,3	26,6 ± 1,6	25,0 ± 1,0	25,4 ± 0,8	26,0 ± 1,5	26,6 ± 0,9
pH	7,33 ± 0,5	7,26 ± 0,3	7,07 ± 0,7	7,40 ± 0,9	6,99 ± 0,4	6,96 ± 0,3	6,96 ± 0,6
Oxigênio dissolvido (mg/L)	8,42 ± 1,0	8,41 ± 1,3	7,43 ± 1,2	7,37 ± 1,5	7,19 ± 1,3	7,06 ± 1,6	6,82 ± 1,2
Condutividade Elétrica (µS/cm)	0,290 ± 2,0	0,477 ± 3,0	0,403 ± 2,5	0,471 ± 4,0	0,592 ± 4,6	0,598 ± 3,0	0,630 ± 2,5
Amônia Total (µg/L)	201,8 ± 2,9	283,0 ± 3,0	320,8 ± 1,9	322,0 ± 3,5	344,0 ± 2,8	350,4 ± 2,9	370,0 ± 4,0

Os resultados dos efeitos dos fatores concentração e tempo de exposição à azadiractina mostraram interação significativa entre os fatores (Tabela 3).

Na concentração de 2,9 mg/L e após 120h de exposição é verificado a maior eficácia de controle (89,2%), com intensidade média de 34 ± 6,05 parasitos

(Tabela 4). No tratamento com 1,47 mg/L a eficácia foi de 83,9% após 120h (Figura 2). No tratamento com 1,18 mg/L o controle foi de 82,5% após 120h de exposição. Nos tratamentos com 0,29, 0,59 e 0,88 mg/L de azadiractina a eficácia foi de 33, 62 e 63%, respectivamente, após 120h de exposição.

Nos tratamentos com 1,47 e 2,90 mg/L a eficácia foi de 70,9 e 74,3% após 96h de exposição (Figura 2), com intensidade média de $91,7 \pm 11,1$ e $80,7 \pm 11,7$ parasitos, respectivamente. Os demais tratamentos não apresentaram eficácia de controle satisfatória (Tabela 4).

O EAFSN, baseado na concentração de azadiractina, foi moderadamente efetivo no controle de *A. penilabiatius* (MERCOSUL, 2004), porém ainda serão necessários novos estudos sobre a concentração utilizada e o tempo de exposição, para se adequar

a sua utilização em sistemas de cultivo de peixes, pois segundo CRUZ et al. (2004) a concentração letal 50% da azadiractina para alevinos e juvenis de pacu foi de 1,30 e 1,18 mg/L. O tempo de exposição ao EAFSN para se obter eficácia moderada de controle dos parasitos monogenéticos foi maior que às 96 horas de exposição da estimativa da (CL_{50-96h}) , indicando que a utilização desta substância pode ser considerada insegura para o pacu e outros organismos não-alvos, mesmo sendo considerado moderadamente tóxico (ZUCKER, 1985).

Tabela 4. Número médio, desvio padrão e valores de F para *A. penilabiatius*, após o tratamento com EAFSN

Tempo	Concentrações de EAFSN (mg/L)							F
	0,0	25	50	75	100	125	150	
24h	328 Aa ± 10,4	236,5 Ab ± 11,2	232,5 Ab ± 12,5	210,0 Ac ± 7,5	181,2 Ad ± 7,6	174 Ade ± 3,7	160± Ae ± 7,5	168,6**
48h	322 Aa ± 14,1	231,2 Ab ± 6,2	227,5 Ab ± 6,4	200 Ac ± 2,9	164 Bd ± 4	151 Bde ± 7,1	134 Be ± 10,2	212,4**
72h	315 Aa ± 4,5	221 ABb ± 7,5	224,2 Ab ± 6,5	163,7 Bc ± 11	147,7 Bc ± 6,8	122,5 Cd ± 7,1	114,5 Cd ± 5,8	266,8**
96h	317 Aa ± 13,4	220 ABb ± 7,6	170,7 Bc ± 7,5	161 Bc ± 8,6	103,5 Cd ± 6,6	91± Dde ± 11,1	80,7 De ± 11,7	365,2**
120h	315 Aa ± 7,5	212 Bb ± 6,7	120 Cc ± 13,5	114,5 Cc ± 11,3	55,5 Dd ± 10,2	51± Ede ± 14,6	34 Ee ± 6,0	549,9**
F	1,5 ^{ns}	4,86**	124,5**	75,01**	135,6**	123,7**	126,1**	23,5**

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas nas colunas e letras minúsculas iguais comparadas nas linhas não diferenciam entre si pelo teste de Tukey. ** significativo em nível de 1 % de probabilidade; * significativo em nível de 5 % de probabilidade e ^{ns} não significativo.

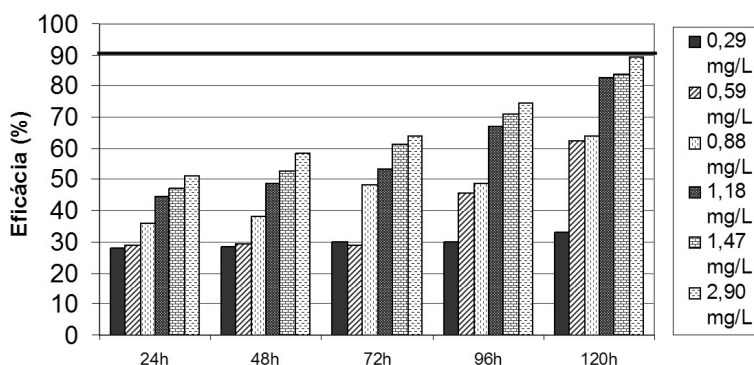


Figura 2. Eficácia dos tratamentos com EAFSN no controle do *A. penilabiatius* em *P. mesopotamicus*. (– 90 ± 10%) nível de aceitabilidade de eficácia estabelecido pela ANVISA (2004).

Com base na norma do MERCOSUL (2004) a azadiractina do EAFSN pode ser considerada moderadamente efetiva no controle dos monogenéticos *A. penilabiatius*, com eficácia variando entre 80 e 89%, após 120h de exposição, similar aos resultados de SHARP et al., (2004), para a formalina (250 e 400 mg/L) para

o tratamento dos monogenéticos *Benedenia seriolae* e *Zeuxapta seriolae*.

Para o EAFSN foi necessário tempo de exposição maior para ocorrer controle de monogenéticos. Com outros produtos foi verificada em condições de cultivo, a necessidade de tempo de exposição maior para se

obter os mesmos resultados de controle de parasitos monogenéticos. BUCHMANN e BJERREGAARD (1990) verificaram que o mebendazol controlou 100% da infestação por *Pseudodactylogyryrus anguillae* e *P. bini* na enguia européia (*Anguilla anguilla*) após 72 horas de exposição. SZÉKELY e MOLNAR (1987) observaram a eliminação dos *Pseudodactylogyryrus* sp. entre 5 e 6 dias após banho em mebendazol.

Segundo GOVEN e AMEND (1982) o tempo mínimo para o controle dos parasitos monogenéticos foi entre 12 e 24h com a combinação de 0,2 mg/L de mebendazol com 0,9 mg/L de triclorfon. Esta variação no tempo também foi verificada no tratamento com paration metílico, onde as maiores porcentagens ocorreram a partir de 16h.

A eficácia do paration metílico foi superior aos 78% de controle verificado com a utilização de 300 mg/L de formalina por 30 minutos para o controle de *Haliotrema* sp em *Litjanus johni* (SENG e SENG, 1992); aos 79% com 100 mg/L de mebendazol por 10 minutos e aos 81,4% com 10 mg/L por 24 horas, no controle de *A. penilabiatatus* do pacu (MARTINS *et al.*, 2001). Por outro lado, a eficácia proporcionada pela azadiractina foi similar à observada por estes autores.

A eficácia do paration metílico foi similar aos 95,4% de controle de *Gyrodactylus* sp. em *Oncorhynchus mykiss* com a utilização de 25 mg/L de mebendazol, por 12 horas de exposição (TOJO *et al.*, 1992); aos 100% de controle de *Microcotyle* sp. em *Pagrus pagrus* com a utilização de 200 mg/L de formalina por uma hora de tratamento (KATHARIOS *et al.*, 2006). Segundo TREVES-BROWN (2000) e STEPHENS *et al.*, (2003), apesar de não remover 100% dos monogenéticos, o trichlorfon deveria ser utilizado em baixas concentrações por longos períodos de exposição para se obter maior eficácia.

Esse método de tratamento poderia ser adotado para a utilização de extrato aquoso de folhas secas de nim (EAFSN). Porém, sua ação tóxica sobre os organismos do zooplâncton (GOKTEPE e PLHAK, 2002), macro invertebrados aquáticos (DUNKEL e RICILARDS, 1998) e nas variáveis ambientais da água devem ser avaliadas, pois o impacto negativo no ambiente aquático poderia ser alto.

Assim, é possível concluir que o paration metílico proporcionou maior eficácia de controle de *A. penilabiatatus* em pacu que o EAFSN. O EAFSN foi moderadamente efetivo no controle do parasito. O tempo de exposição para se obter a eficácia da

azadiractina foi muito longo (120h), o que pode inviabilizar sua utilização terapêutica e considerando estes resultados, também foi concluído que o paration metílico pode ser utilizado no controle de *A. penilabiatatus* tanto em profilaxia quanto em terapêutica em peixes, desde que sejam realizados testes de toxicidade crônica e avaliação de segurança da utilização desta substância química para a piscicultura e os possíveis impactos ambientais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro: Processos: 142151/2001-7 (bolsa de doutorado do primeiro autor) e 477882/2003-0 (edital universal 2002).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2004 *Manual de protocolos para testes de eficácia em produtos desinfestantes* Ed. Anvisa, 1º edição, Brasília, DF, 33p.
- APPLEBY, C. MO, T.A. 1997 Populations dynamics of *Gyrodactylus derjavini* (Monogenea) infecting atlantic salmon, *Salmo salar*, parr in the river batnfjorselva. *J. Parasitol*, Lawrence, 83(6): 23-30.
- BOEGER, W.A. DOMINGUES, M. PAVANELLI, G.C. 1995a Neotropical monogenoidea. 24. *Rhinoxenus bulbovaginatus* (Dactylogyridae) from the nasal cavity of *Salminus maxillosus* from Rio Paraná, Paraná, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz*, Rio de Janeiro, 90(6): 695-698.
- BOEGER, W.A. HUSACK, W.S. MARTINS, M.L. 1995b Neotropical monogenoidea. 25. *Anacanthorus penilabiatatus* (Dactylogyridae: Anacanthorinae) from *Piaractus mesopotamicus*, cultivated in the State of São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz*, Rio de Janeiro, 90(6): 699-701.
- BUCHMANN, K. e BJERREGAARD, J. 1990 Mebendazole treatment of Pseudodactylogyrosis in the intensive eel-culture system. *Aquaculture*, Amsterdam, 86: 139-153.
- CECCHINI, S. e COGNETTI-VARRIALE, A.M. 2003 Dehydration is more effective for control of embryonic development and larval hatching of *Diplectanum aequans* (Monogenoidea, Diplectanidae) than formalin and trichlorfon. *Aquacult. Intern*, London, 11: 261-265.

- COHEN, S.C. e KOHN, A. 2005 A new species of *Mymarothecium* and new host and geographical records for *M. viatorum* (Monogenea: Dactylogyridae), parasites of freshwater fishes in Brazil. *Folia Parasitologica, Prague*, 52: 307-310.
- CRUZ, C. MACHADO-NETO, J. G. MENEZES, M.L. 2004 Toxicidade aguda do insetida parathion metílico e do biopesticida azadiractina de folhas de neem (*Azadirachta indica*) para alevino e juvenil de pacu (*Piractus mesopotamicus*). *Pesticas: R. Ecotoxicol. e Meio Amb. Curitiba*, 14, 93-102.
- CRUZ-SILVA, M.P. CARVALHO-VARELLA, M. CARVALHO, S.P. GRAZINA-FREITAS, S. 1990/1991 Parasitas e parasitoses dos animais aquáticos em estuário e maricultura em Portugal. Resultados preliminares. *An. Fac. Medic. Vet, Lisboa*, 27/28: 223-236.
- DUNKEL, F.V. e RICILARDS, D.C. 1998 Effect of an azadirachtin formulation on six non target aquatic macroinvertebrados. *Environ. Entomol, College Park*, 27(3): 667-673.
- 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* in Brazil. *Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol*, 15(5): 148-151.
- Guidelines for the Testing of Veterinary Medicinal Products.* 1994 The rules governing medicinal products in the European Union. v. 7.
- GOKTEPE I. e PLHAK L. 2002 Comparative toxicity of two *Azadirachtin*-based neem pesticides to *Daphnia pulex*. *Environ. Toxicol. Chem, New York*, 21(1): 31-36.
- GOVEN, B.A. e AMEND, D.F. 1982 Mebendazole/trichlorfon combination: a new anthelmintic for removing monogenetic trematodes from fish. *J. Fish. Biol, London*, 20: 373-378.
- GUTIERREZ, P.A. e MARTORELLI, S.R. 1999 The structure of the monogenean community on the gills of *Pimelodus maculatus* in rio de la plata. *Parasitol, Cambridge*, 119: 177-182.
- HIRAZAWA, N. OHTAKA, T. KAZUHIKO, H. 2000 Challenge trials on the anthelmintic effect of drugs and natural agents against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Aquaculture, Amsterdam*, 188: 1-13.
- HIRAZAWA, N. MITSUBOSHI, T. HIRATA, T. SHIRASU, K. 2004 Susceptibility of spotted halibut *Verasper variegatus* (Pleuronectidae) to infection by the monogenean *Neobenedenia girellae* (Capsalidae) and oral therapy trials using praziquantel. *Aquaculture, Amsterdam*, 238: 83-95.
- KATHARIOS, P. PAPANDROULAKIS, N. DIVANACH, P. 2006 Treatment of *Microcotyle* sp. (Monogenoidea) on the gills of cage-cultured red porgy, *Pagrus pagrus* following baths with formalin and mebendazole. *Aquaculture, Amsterdam*, 251: 167-171.
- KIM, K.H. e CHOI, E.S. 1998 Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea) on the gills of cultured rockfish (*Sebastes schelegeli*) with oral administration of mebendazole and bitrionol. *Aquaculture, Amsterdam*, 167: 115-121.
- KOHN, A. FERNANDES, B.M.M. MACEDO, B. ABRAMSON, B. 1985 Helminths parasites of freshwater fishes from Pirassununga, SP. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 80(3): 327-336.
- KRITSKY, D.C. e BOEGER, W.A. 1983 Neotropical monogenea. Five new species form the aruanã *Osteoglossum bicirrosus*, a freshwater teleost from the Brazil, with proposal of *Gonocleithrum* n. gen. (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae). *Proc. Biol. Soc. Was. Washington, Washington*, 96: 581-597.
- MARTINS, M.L. 1998 Evaluation of the addition of ascorbic acid to the ration of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infestation of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenoidea). *Bras. J. Med. Biol. Ver, Ribeirão Preto*, 31: 655-658.
- MARTINS, M.L. e ROMERO, N.G. 1996 Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial em peces cultivados: estudio parasitologico e histopatologico. *Rev. Bras. Zool, São Carlos*, 13(2): 489-500.
- MARTINS, M.L. ONAKA, E.M. MORAES, F.R. FUJIMOTO, R.Y. 2001 Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes, Characidae) in Brazil. **Efficacy and hematology.** *Acta. Parasitol, Warsaw*, 46(4): 332-336.

- MENEZES, M.L. DALBERTO, A. C. CRUZ, C. MACHADO-NETO, J. G. 2004 Determination of biopesticide azadirachtin in samples of fish and in samples of water of fish ponds, using chromatography liquid of high performance. *Salusvita*, Bauru, 23: 401-414.
- MERCOSUL. 2004 *Normas mercosul para registro de produtos parasiticidas*. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. Portaria 048.h. 3p. Disponível em: <http://www.rr.ameicas.oie.int>. Acesso em: 01 jul 2004.
- MOLNAR, K. 1994 Effect of decreased water oxygen content on common carp fry with *Dactylogyrus* evacuator (Monogenea) infection of varying severity. *Diseas. Aquat. Organ*, Oldendorf, 20: 153-157.
- NOGA, E.J. 1996 *Fish disease: diagnosis and treatment*. Mosby, North Carolina State University, College of Veterinary Medicine, 367p.
- OIE, World Organization for Animal Health. 2006 Animal diseases data. OIE listed diseases. Disponível em: www.oie.int/eng/maladies/en_classification.htm. Acesso em: 19 fev. 2007.
- PIRONET, F.N. e JONES, J.B. 2000 Treatments for ectoparasites and diseases in captive western Australian dhufish. *Aquacult. Intern*, London, 8: 349-361.
- SCHAAF, O. JARVIS, A. P. ESCH, A.V.D. GIAGNACOVO, G. OLDHAM, N.J. 2000 Rapid and sensitive analysis of azadirachtin and related triterpenoids from neem (*Azadirachta indica*) by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromat. A*, Amsterdam, 886: 89-97.
- SHARP, N.J. DIGGLES, B.K. POORTENAAR, C.W. WILLIS, T.J. 2004 Efficacy of Aquil-S formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in New Zealand. *Aquaculture*, Amsterdam, 236: 67-83.
- SENG, L.K. e SENG, L.T. 1992 Treatment of cultured golden snapper, *Litjanus johni*, infected with monogeneans. *Aquaculture*, Amsterdam, 106:1-8.
- SIPAUBA-TAVARES, L.H. 1994 *Limnologia aplicada à aquicultura*, Jaboticabal: Funep. 70p.
- SOLENG, A. POLÉO, A.B.S. ALSTAD, N.E.W. BAKKE, T.A. 1999 Aqueous aluminium eliminates *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon. *Parasitol. Cambridge*, 119: 19-25.
- STEPHENS, F.J. CLEARY, J.J. JENKINS, G. JONES, J.B. RAIDAL, S.R. THOMAS, J.B. 2003 Treatments to control *Haliotrema abaddon* in the west Australian dhufish, *Glaucosoma hebraicum*. *Aquaculture*, Amsterdam, 215: 1-10.
- SZÉKELY, C. e MOLNAR, K. 1987 Mebendazole is an efficacious drug against pseudo dactylogyrosis in the European eel (*Anguilla anguilla*). *J. Appl. Ichthyol*, Berlin, 3: 183-186.
- THATCHER, V.E. e BRITES-NETO, J. 1994 Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Rev. Bras. Med. Vet*, Ribeirão Preto, 16(3): 111-128.
- TREVES-BROWN, K.M. 2000 *Applied fish pharmacology*. Aquaculture Series, v. 3. Ed. Kluwer Academic Plishers, Dordrecht, 309p.
- TOJO, J.L. SANTAMARIA, M.T. UBEIRA, F.M. ESTEVEZ; J. SANMARTIN, M.L. 1992 Anthelmintic activity of benzimidazoles against *Gyrodactylus* sp. Infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseas. Aquat. Org*, Oldendorf, 12: 185-189.
- UMEDA, N. NIBE, H. HARA, T. HIRAZAWA, N. 2006 Effects of various treatments on hatching of eggs and viability of oncomiracidia of the monogenean *Pseudodactylogyrus anguillae* and *Pseudodactylogyrus bini*. *Aquaculture*, Amsterdam, 253: 148-153.
- Zucker E. 1985 Hazard Evaluation Division. Standard Evaluation Procedure - Acute Toxicity Test for Freshwater Fish. U. S. EPA Publication 540/9-85-006. Washington, 17p.