



## **AVALIAÇÃO DE ALTERAÇÕES EM BRÂNQUIAS DO PEIXE MATO GROSSO EXPOSTO AO INSETICIDA BIFENTRINA**

Luísa Marques Luiz de Souza<sup>1</sup>

Giovanni Tobias Santos<sup>2</sup>

Claudine da Cruz<sup>3</sup>

Juliana Heloisa Pinê Américo-Pinheiro<sup>4</sup>

Recursos hídricos e qualidade da água.

### **Resumo**

A bifentrina é um composto ativo de vários inseticidas usados na agricultura e na silvicultura que pode atingir os cursos d'água. Objetivou-se avaliar possíveis alterações histopatológicas nas brânquias do peixe mato *Hyphessobrycon eques* exposto a concentrações subletais da bifentrina. O ensaio toxicidade crônica foi realizado com *H. eques*, submetido a concentrações subletais por 15 dias. As concentrações usadas nos ensaios foram baseadas no valor estimado da CL50;48h (0,031 mg L<sup>-1</sup>) para bifentrina, determinada nos ensaios de toxicidade aguda. Os peixes foram expostos durante 15 dias a concentrações subletais do inseticida de acordo com os seguintes quocientes: CL50/100 (0,0003 mg L<sup>-1</sup>), CL50/50 (0,0006 mg L<sup>-1</sup>), CL50/10 (0,003 mg L<sup>-1</sup>), CL50/5 (0,006 mg L<sup>-1</sup>) e um controle. As brânquias de todos os peixes sobreviventes ao ensaio foram utilizadas para análise histopatológicas. Na análise histopatológica, a brânquia foi retirada e imersa em uma solução fixadora de formol (10%), posteriormente incluídos em bloco, cortados e corados com Hematoxilina-Eosina e ácido periódico de Schiff. Foram registradas as seguintes alterações nas brânquias dos peixes expostos: congestão sanguínea, desarranjo da estrutura lamelar, aumento das células laminares e hemorragia. A exposição a concentrações subletais de bifentrina por 15 dias são capazes de causar efeitos adversos nas brânquias de *H. eques* que podem comprometer a saúde dos peixes. Assim, essas alterações podem ser sugeridas como possíveis biomarcadores de exposição à bifentrina.

**Palavras-chave:** Agrotóxico; Bacias hidrográficas; Bioindicadores; Ecotoxicidade.

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia Florestal, Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus Botucatu, Departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente, [luisa.marques@unesp.br](mailto:luisa.marques@unesp.br)

<sup>2</sup>Mestrando em Engenharia Civil, Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Ilha Solteira, Departamento de Engenharia Civil, [gts.santos@unesp.br](mailto:gts.santos@unesp.br)

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

<sup>4</sup>Profa. Dra. Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Botucatu, Departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente, [juliana.heloisa@unesp.br](mailto:juliana.heloisa@unesp.br)



## INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos podem chegar aos cursos d'água por meio de lançamentos e escoamento superficial das áreas onde são aplicados, sendo uma das principais fontes de contaminação, podendo além de prejudicar o ecossistema, afetar a disponibilidade de água para uma variedade de usos na bacia, incluindo pesca, lazer, abastecimento e integridade. Devido às propriedades de caráter hidrofóbico do inseticida, este é facilmente acumulado na matéria orgânica, sedimentos e em organismos aquáticos. Em análises feitas na Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí - RG, a bifentrina foi o piretróide mais encontrado, e esteve presente em todas as matrizes ambientais, em 60% dos pontos na bacia (Milani *et al.*, 2022).

A bifentrina é um composto ativo de vários inseticidas usados na agricultura e na silvicultura como método de controle para insetos praga, pertencente ao grupo químico dos piretróides, classificado como muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente no meio e altamente tóxico para organismos aquáticos e insetos. É recomendada para o controle de pragas em culturas de algodão, cana-de-açúcar, citros, feijão, milho, soja, trigo, eucalipto, entre outras (Bifentrina, 2023).

Segundo a Resolução n. 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente de 2005, interações ou a presença de contaminantes não citados na resolução, como é o caso da bifentrina, deve ter seus efeitos averiguados por ensaios ecotoxicológicos ou outros métodos científicos (Brasil, 2005).

Os peixes usados nesse trabalho conhecidos popularmente como “mato grosso” são sensíveis à alteração no meio aquático como poluições por agentes orgânicos e inorgânicos. Compostos tóxicos aos seres vivos podem se acumular em tecidos e órgãos, sendo as brânquias e o fígado os mais afetados (Alves, 2017). O epitélio das brânquias é responsável pela regulação osmótica e iônica nos peixes, quando afetado compromete trocas gasosas e consequentemente a via de obtenção de energia desses seres (Lupi *et al.*, 2007).

Objetivou-se avaliar possíveis alterações histopatológicas nas brânquias do peixe mato grosso (*Hyphessobrycon eques*) exposto a concentrações subletais da bifentrina.

## METODOLOGIA

O presente estudo foi submetido (Protocolo 0202/2022) para avaliação e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição em que foi executado. Nos ensaios de toxicidade foi usado o inseticida piretróide bifentrina (CAS n° 82657-04-3).

Os ensaios de toxicidade crônica com os peixes foram realizados de acordo com a ABNT NBR 15499: 2007 (ABNT, 2007) que estabelece o número mínimo de indivíduos, condições de aclimação, cultivo e alimentação para ensaios com peixes. Foram utilizados 75 exemplares de *H. eques* com peso médio entre 0,8 e 1 g que foram previamente aclimatados por dez dias em sala de bioensaio em caixas com capacidade de 60L, fotoperíodo de 12 h, à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , com aeração contínua promovida por bombas de ar. Os animais foram alimentados uma vez ao dia, *ad libitum*, com ração comercial com teor de 40% de proteína.

As caixas de aclimação foram sifonadas uma vez ao dia para remoção de matéria orgânica (restos de ração e excretas). O pH foi mantido entre 6,5 e 7,5, o oxigênio dissolvido acima de 5,0 mg L<sup>-1</sup> e a condutividade entre 170,0 e 180,0  $\mu\text{S cm}^{-1}$  (ABNT NBR 15499: 2007). Os peixes não foram alimentados 24 h antes da realização dos ensaios, conforme ABNT NBR 15499: 2007. As concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica foram baseadas no valor estimado da CL50;48h (0,031 mg L<sup>-1</sup>) para bifentrina estabelecida em ensaio de toxicidade aguda. Os peixes foram expostos durante 15 dias a concentrações subletais do inseticida de acordo com os seguintes quocientes: CL50/100 (0,0003 mg L<sup>-1</sup>), CL50/50 (0,0006 mg L<sup>-1</sup>), CL50/10 (0,003 mg L<sup>-1</sup>), CL50/5 (0,006 mg L<sup>-1</sup>) e um controle conforme ABNT NBR 15499:2007.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e três repetições. Cada repetição foi composta por um aquário com cinco peixes. As variáveis de qualidade de água pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade elétrica foram aferidas em dias alternados (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15 dias) com uma sonda multiparamétrica. Os peixes foram alimentados com ração comercial nos mesmos dias em que os parâmetros de água forem mensurados.



No 7º dia de ensaio realizou-se a limpeza dos aquários (remoção de resíduos de fezes). O volume de água retirado dos (1L), foi repostado em seguida com a reaplicação de bifentrina correspondente à concentração de cada aquário. Ao final do período de exposição (15 dias) ao inseticida foram realizadas coletas de brânquias para avaliação de alterações histopatológicas.

As brânquias de todos os peixes sobreviventes ao ensaio foram utilizadas para análise histopatológica. Os peixes foram eutanasiados com benzocaina, 1,5g diluída em 10 L de água, através da via respiratória para coleta dos tecidos. As amostras coletadas de brânquias foram imersas em solução aquosa fixadora de formaldeído a 10%, por 24 h. Após a fixação, as amostras foram submetidas à desidratação (em séries crescentes de etanol/água), diafanização e inclusão em parafina plástica (Histosec® - Merck). Posteriormente, foram realizados cortes de 3 a 5 µm de espessura em micrótomo manual. Os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE) e ácido periódico de Schiff (PAS). As lâminas histológicas foram avaliadas por meio de microscopia óptica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os peixes com 15 dias de exposição à bifentrina nas concentrações de 0,0003 mg L<sup>-1</sup>, 0,0006 mg L<sup>-1</sup> e 0,003 mg L<sup>-1</sup> apresentaram congestão sanguínea. Segundo Guerra-Santos *et al.* (2012), a congestão provoca dilatação do seio venoso e do canal vascular podendo gerar aneurismas, muitas vezes é seguida de ruptura do epitélio lamelar em condições mais estressantes, ou maiores concentrações de contaminantes, promovendo a ocorrência de hemorragia ao longo dos espaços interlamelares. Esses aspectos foram observados apenas na concentração mais alta de 0,006 mg L<sup>-1</sup>.

A presença de acúmulos sanguíneos nesses espaços contribuiu para o desarranjo da estrutura lamelar, observado na concentração de 0,0006 mg L<sup>-1</sup>, consiste em uma alteração no arranjo das fileiras de lamelas primárias presentes nos arcos branquiais, onde abaixo e acima com intervalos regulares se estende as lamelas secundárias que são sítios de trocas gasosas onde circula o sangue. Foi observado também aumento dessas células laminares na concentração de 0,003 mg L<sup>-1</sup> (Quadro 1).

Nas brânquias, o sangue flui através da lamela em direção contrária à da água, utilizando um plexo formado por células pilares. Este mecanismo de fluxo contracorrente melhora a eficiência na absorção de oxigênio, já que o sangue que deixa as lamelas fica em estreito contato com a água que



tem alta concentração de oxigênio e baixa concentração de dióxido de carbono. No entanto, essa grande superfície epitelial exposta ao ambiente e a alta taxa de perfusão também facilitam a absorção de contaminantes presentes na água. Portanto, o epitélio branquial dos peixes é extremamente sensível, dinâmico e metabolicamente ativo. Devido ao contato direto com o ambiente externo e por servir como barreira entre os meios interno e externo, este tecido é altamente vulnerável às mudanças ambientais (Silva, 2004).

Quadro 1: Alterações histopatológicas de brânquias de *H. eques*, após 15 dias de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0003	0,0006	0,003	0,006
Congestão sanguínea	-	X	X	X	-
Desarranjo da estrutura lamelar	-	-	X	-	-
Aumento das células laminares	-	-	-	X	-
Hemorragia	-	-	-	-	X

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

## CONCLUSÃO

A exposição a concentrações subletais de bifentrina por 15 dias são capazes de causar efeitos adversos nas brânquias de *H. eques* que podem comprometer a saúde dos peixes. Assim, essas alterações podem ser sugeridas como possíveis biomarcadores de exposição à bifentrina e destacam a necessidade de legislações mais rigorosas e medidas de controle para o uso da bifentrina objetivando-se proteger as comunidades aquáticas.

## AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela bolsa de Iniciação Científica da primeira autora e pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa da quarta autora. A UNESP pelo auxílio financeiro concedido para realização dessa pesquisa.



## REFERÊNCIAS

Associação Brasileira De Normas Técnicas (ABNT). NBR 15499. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes**. 1. ed., 2007. 21 p.

Alves, R. Uso de peixe como bioindicador de poluição aquática do Rio Catolé Grande, Bahia. **Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia programa de pós-graduação em ciências ambientais**, fev. 2017. Disponível em: <http://www2.uesb.br/ppg/ppgca/wp-content/uploads/2019/02/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Raul.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2024.

Bifentrina 100 Ec Nortox. **Registrado no Ministério da Agricultura e Pecuária** – Mapa sob nº 19020, VER 14 – 16 ago. 2023. Disponível em: [https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2024-02/bifentrina100ecnortox.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2024-02/bifentrina100ecnortox.pdf). Acesso em: 04 abr. 2024.

Brasil. Senado Federal. Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília (DF): **Ministério do Meio Ambiente**; 2005. p. 1-27.

Guerra-Santos B. *et al.* Parâmetros hematológicos e alterações histopatológicas em bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) com amyloodiniose. **Pesq. Vet. Bras.** 32(11):1184-1190, nov. 2012. DOI <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012001100019>.

Lupi, C. *et al.* Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Hispeci & Lema**, (3), 1-6, ago. 2007. Disponível em: <https://www.unifafibe.com.br/revistasonline/arquivos/revistafafibeonline/sumario/11/19042010102529.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2024.

Milani, G. B. *et al.* Avaliação da presença de resíduos de piretróides em amostras de água, sedimento e pescado na Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí (Rio Grande do Sul). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, Recife, v. 10, n. 2, p. 172-188. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/ZENODO.7321753>.

Silva, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores da contaminação aquática**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Londrina, Paraná. Disponível em: <https://www.uel.br/laboratorios/lefa/dissertacaoandressa.pdf>. Acesso em: 30 mai. 2024.