



TOXICIDADE CRÔNICA E HISTOPATOLOGIA DE FÍGADO DE PEIXE NEOTROPICAL EXPOSTO AO INSETICIDA BIFENTRINA

Miriam Caroline Geraldelli Mariano¹

Giovanni Tobias Santos²

Claudine da Cruz³

Juliana Heloisa Pinê Américo-Pinheiro⁴

Recursos hídricos e qualidade da água.

Resumo

O uso incorreto de agrotóxicos pode desencadear a contaminação dos cursos d'água e afetar os ecossistemas aquáticos. Objetiva-se com esse trabalho avaliar se concentrações subletais do inseticida bifentrina durante exposição crônica podem causar efeitos histopatológicos em fígado do peixe conhecido como “Mato-Grosso” (*Hyphessobrycon eques*). O teste de toxicidade crônica foi conduzido com *H. eques*, submetido a concentrações subletais por um período de 15 dias. As concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica foram baseadas no valor estimado da CL50;48h (0,031 mg L⁻¹) 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⁻¹), CL50/50 (0,0006 mg L⁻¹), CL50/10 (0,003 mg L⁻¹), CL50/5 (0,006 mg L⁻¹) e um controle. Na análise histopatológica, o fígado foi retirado, seccionado e imerso 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 no fígado dos peixes expostos: congestão sanguínea, aumento dos capilares sinusóides, desarranjo cordonal dos capilares sinusóides e arranjo cordonal desorganizado com atrofia. As análises histopatológicas indicam que a exposição a concentrações subletais de bifentrina por 15 dias são capazes de causar efeitos deletérios no tecido hepático de *H. eques*. Portanto, este estudo ressalta a necessidade de regulamentações mais rigorosas e medidas de controle eficazes para o uso da bifentrina, visando proteger a vida aquática e a saúde dos ecossistemas aquáticos.

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

¹Graduanda em Engenharia Florestal, Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus Botucatu, Departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente, miriam.mariano@unesp.br

²Mestrando em Engenharia Civil, Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Ilha Solteira, Departamento de Engenharia Civil, gt.santos@unesp.br

³Prof. Dr. Centro Universitário, da Fundação Educacional de Barretos, claudineicruz@gmail.com

⁴Profa. Dra. Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Botucatu, Departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente, juliana.heloisa@unesp.br

INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, fazendo com que os corpos hídricos sejam cada vez mais contaminados. O uso dos agrotóxicos é a segunda maior causa da poluição d'água, pois atingem cursos d'água a partir de lixiviação e escoamento superficial de locais onde são aplicados. Essas substâncias podem impactar a conservação dos ecossistemas aquáticos, pois sua toxicidade afeta os organismos não alvos (Cabrera *et al.*, 2023).

A bifentrina é um inseticida piretróide utilizado em larga escala para controle de pragas na agricultura e silvicultura, agindo no sistema nervoso central dos insetos. Devido à sua ocorrência em água e solo, esse produto desperta preocupação em relação à sua toxicidade para organismos como peixes e algas, pois além de ser extremamente persistente no meio ambiente também é classificado como altamente tóxico para a comunidade aquática (Milani *et al.*, 2022).

Os pesticidas são uma preocupação ao redor do mundo por serem bioacumulativos em tecidos dos peixes, que possuem sensibilidade ao serem expostos a contaminantes e a característica de absorver as substâncias presentes no meio em que vivem, por isso sendo usualmente selecionados para pesquisas ecotoxicológicas. Existem estudos que identificaram alterações bioquímicas em peixes a partir da exposição a diferentes agrotóxicos, mas ainda não se encontram na literatura dados sobre os efeitos da bifentrina nesses organismos (Ceger *et al.*, 2023; Rohani, 2023).

Como não há um limite estabelecido para a bifentrina nos padrões brasileiros de qualidade de águas superficiais, faz-se essencial a avaliação ecotoxicológica desse inseticida para peixes, visando à conservação das comunidades aquáticas. Objetiva-se com esse trabalho avaliar se concentrações subletais do inseticida bifentrina durante exposição crônica podem causar efeitos histopatológicos em fígado do peixe conhecido como “Mato-Grosso” (*Hyphessobrycon eques*).

METODOLOGIA

A presente pesquisa foi submetida (Protocolo 0202/2022) para apreciação e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição em que foi executada. Nos ensaios ecotoxicológicos foi utilizado o inseticida piretróide bifentrina (CAS nº 82657-04-3). Os ensaios de toxicidade crônica com o peixe foram executados conforme os procedimentos da ABNT NBR 15499: 2007 (ABNT, 2007), que estabelece o número mínimo de animais, condições de aclimação, cultivo e alimentação para ensaios de toxicidade crônica com peixes. Para atender os requisitos da ABNT, foram utilizados 75 exemplares de *H. eques*. Os exemplares, com peso médio entre 0,8 e 1 g foram 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 por bombas de ar. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia, *ad libitum*, com ração comercial (teor de 40% de proteína).

As caixas de aclimação foram sifonadas uma vez ao dia para remoção de matéria orgânica em decomposição (restos de ração e excretas dos animais). O pH foi mantido entre 6,5 e 7,5, o oxigênio dissolvido acima de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ e a condutividade entre $170,0$ e $180,0 \mu\text{S cm}^{-1}$ (ABNT, 2007). Os peixes não foram alimentados 24 h antes da realização dos ensaios. As concentrações utilizadas nos ensaios foram baseadas no valor estimado da $\text{CL}_{50;48\text{h}}$ ($0,031 \text{ mg L}^{-1}$) 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: $\text{CL}_{50}/100$ ($0,0003 \text{ mg L}^{-1}$), $\text{CL}_{50}/50$ ($0,0006 \text{ mg L}^{-1}$), $\text{CL}_{50}/10$ ($0,003 \text{ mg L}^{-1}$), $\text{CL}_{50}/5$ ($0,006 \text{ mg L}^{-1}$) e um controle.

O delineamento experimental utilizado nos ensaios 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 (mg L^{-1}), temperatura ($^\circ\text{C}$) e condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$) foram mensuradas em dias alternados (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15 dias) com auxílio de uma sonda multiparamétrica. Os animais foram alimentados com ração comercial nos mesmos dias em que os parâmetros de água forem aferidos.

No 7º dia de ensaio foi feita a limpeza dos aquários, retirando os resíduos de fezes. O volume de água retirado dos aquários foi de 1L, sendo repostado em seguida com a reaplicação de bifentrina



correspondente à concentração de cada aquário. Ao final do período de exposição ao inseticida, foram realizadas coletas do fígado. Para isso, foram utilizados todos os peixes sobreviventes do ensaio crônico que foram eutanasiados com benzocaina, 1,5g diluídos em 10 L de água, através da via respiratória para coleta de amostras. As amostras de fígado 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). 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 a fim de identificar possíveis alterações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fígado é um dos órgãos-alvo mais importantes para se analisar toxicidade química, uma vez que tem a função de filtrar o sangue, absorvendo o excesso de substâncias que passam por ele. Por isso, a hepatotoxicidade potencial é estabelecida como a principal preocupação relacionada à exposição e contaminação química, sendo também a causa mais comum para um componente sair de mercado (ROBERTS; JAMES; WILLIAMS, 2022).

Nos peixes, o fígado é vulnerável à ação de contaminantes devido à lentidão do fluxo sanguíneo em comparação com o débito cardíaco. Assim, os compostos tóxicos que atingem o fígado pela da corrente sanguínea permanecem em contato com os hepatócitos por um período prolongado do que nos mamíferos, potencializando seus efeitos (CAMPOS; MORAES; MORAES, 2008).

No Quadro 1, observa-se a presença de congestão sanguínea apenas na concentração mais alta testada ($0,006 \text{ mg L}^{-1}$), por outro lado, o aumento dos capilares sinusóides foi observado em concentrações baixas, intermediárias e altas de bifentrina. A presença desta alteração em diferentes concentrações sugere que o aumento dos capilares sinusóides pode ocorrer independentemente da concentração, demonstrando uma sensibilidade particular deles à bifentrina.



Quadro 01: Alterações histopatológicas de fígado de *H. eques*, após 15 dias de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L ⁻¹)				
	Controle	0,0003	0,0006	0,003	0,006
Congestão sanguínea	-	-	-	-	X
Aumento dos capilares sinusóides	-	X	X	-	X
Desarranjo cordonal dos capilares sinusóides	-	-	-	X	X
Arranjo cordonal desorganizado com atrofia	-	-	-	-	X

Fonte: Elaboração do próprio autor.

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

O desarranjo cordonal dos capilares sinusóides é observado nas concentrações de 0,003 mg L⁻¹, e 0,006 mg L⁻¹, ou seja, essa desorganização é uma resposta ao aumento da concentração de bifentrina, já tendo início em valores mais baixos. Por fim, o arranjo cordonal desorganizado com atrofia foi notado apenas na concentração mais alta (0,006 mg L⁻¹), sugerindo que essa alteração é mais severa e ocorre apenas em condições de alta exposição ao inseticida.

A congestão sanguínea e o arranjo cordonal desorganizado com atrofia foram alterações observadas exclusivamente na maior concentração, apontando que essas lesões são dose-dependentes e se manifestam em níveis mais altos de bifentrina. O aumento dos capilares sinusóides e o desarranjo cordonal dos mesmos ocorreram em várias concentrações, denotando que mesmo exposições mais baixas podem causar danos significativos, refletindo um potencial tóxico do inseticida.

CONCLUSÃO

As análises histopatológicas indicam que a exposição a concentrações subletais de bifentrina por 15 dias são capazes de causar efeitos deletérios no tecido hepático de *H. eques*. Portanto, este estudo ressalta a necessidade de regulamentações mais rigorosas e medidas de controle eficazes para o uso da bifentrina, visando proteger a vida aquática e a saúde dos ecossistemas aquáticos.



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 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.

Cabrera, M. *et al.* Effects of intensive agriculture and urbanization on water quality and pesticide risks in freshwater ecosystems of the Ecuadorian Amazon. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 337, p. 139286, out. 2023. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139286>.

Campos, C. M. De; Moraes, J. R.; Moraes, F. R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 17, p. 200-205, 2008. DOI <https://doi.org/10.1590/S1984-29612008000400006>

Ceger, P. *et al.* Evaluation of the fish acute toxicity test for pesticide registration. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 139, p. 105340, mar. 2023. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2023.105340>

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, nov. 2022. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/ZENODO.7321753>.

Roberts, S. M.; James, R. C.; Williams, P. L. (org). **Principles of toxicology: environmental and industrial applications**. 4.ed. Hoboken: Wiley, 2022.

Rohani, M. F. Pesticides toxicity in fish: histopathological and hemato-biochemical aspects: a review. **Emerging Contaminants**, Amsterdam, v. 9, n. 3, p. 100234, set. 2023. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.emcon.2023.100234>.