

SENSIBILIDADE DA BACTÉRIA *Vibrio fischeri* AO PIRETRÓIDE DELTAMETRINA

Cristiano Venícius de Matos¹
Renato Brandão do Nascimento²
Eduardo Mendes da Silva³

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento das atividades industriais em larga escala vem contribuindo para o aumento de lançamento dos rejeitos nos ecossistemas, levando, muitas vezes, a alterações na estrutura da comunidade e no funcionamento dos ecossistemas. A Ecotoxicologia passou a ter importância maior no momento em que se procuraram avaliar os efeitos tóxicos das substâncias lançadas nos ecossistemas, principalmente nos aquáticos. Para se avaliar riscos e potenciais impactos das descargas de efluentes nos corpos d'água e seus efeitos tóxicos nos organismos são feitos testes de toxicidade (bioensaios) com organismos-teste reconhecidos e padronizados internacionalmente.

Os poluentes ambientais incluem um amplo espectro de substâncias, algumas conhecidas por persistirem no ambiente, enquanto outras apresentam um efeito em curto tempo, não sendo bioacumuladas, porém capazes de induzir alterações irreversíveis nos organismos (ERIKSSON, 1991), a exemplo dos piretróides (VIRAN *et al.*, 2003). Os piretróides, juntamente com os organofosforados e carbamatos, compõem as principais classes de inseticidas usados na agricultura e no combate aos insetos vetores de doenças (HE *et al.*, 2002). Os piretróides sintéticos foram desenvolvidos a partir da estrutura química do piretro e representam um quarto dos inseticidas utilizados na agricultura em todo o mundo (MIADOKOVÁ *et al.*, 1992). Apesar das implicações ambientais negativas com o uso dos inseticidas, de acordo com Päiviö (1999), os pesticidas são distribuídos deliberadamente em todo o mundo para alterar a composição das espécies e a dinâmica dos sistemas agrícolas, visando a garantir segurança às culturas e benefícios econômicos na produção.

A deltametrina é um agroquímico sintético, do grupo dos piretróides, que paralisa rapidamente o sistema nervoso dos animais, incapacitando-os à alimentação, o que propicia proteção às culturas de plantas contra as pragas. Atualmente, é considerado o mais poderoso dos piretróides sintéticos, devido ao seu alto poder de toxicidade, podendo ser encontrado em diversos inseticidas comerciais, tais como Butox, Decis, K-Othrin entre outros (SZÉPVÖLGYI *et al.*, 1988; EXTOTNET, 1995; IPCS, 2001). Porém, com o uso indiscriminado deste agroquímico, as populações não alvo que vivem próximas às áreas de aplicação podem sofrer com seus efeitos tóxicos.

O sistema-teste adotado na avaliação da toxicidade da deltametrina foi o Microtox[®], que utiliza a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* (NRRL n° 11177) e tem como base a redução da quantidade de luz produzida pela bactéria (BENNETT & CUBBAGE, 1992), estando esta redução diretamente relacionada com a toxicidade da amostra (PANDEY *et al.*, 2002). Durante os últimos 15 anos, o uso de sistemas com bactérias luminescentes, como o Microtox[®], vem sendo amplamente aplicado na avaliação de amostras de água, solo e sedimentos. O Microtox[®] está mundialmente difundido e padronizado para análises ecotoxicológicas, assumindo grande importância nas avaliações de riscos ambientais, pois são rápidos e práticos para obtenção dos resultados (BOLUDA *et al.*, 2002). Os mecanismos que promovem os efeitos tóxicos dos compostos para a bactéria são

¹ Biólogo, egresso da Universidade Católica do Salvador – UCSal, Mestrando em Ecologia e Biomonitoramento da Universidade Federal da Bahia – UFBA. cymaraujo@zipmail.com.br

² Biólogo, egresso da Universidade Católica do Salvador – UCSal.

³ Professor do Instituto de Biologia – Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Federal da Bahia – UFBA. dasilva@ufba.br

variados e complexos, porém são facilmente percebidos uma vez que, independente da interação do toxicante com as células, desde que haja toxicidade por parte da substância, haverá um efeito na redução da emissão de luz da bactéria (CRONIN & SCHULTZ, 1998), que é a base dos bioensaios com a *V. fischeri*. Este sistema é bastante vantajoso na avaliação da toxicidade, podendo ser usado como um teste primário para determinar o risco potencial dos compostos para o ambiente (DE ZWART & SLOOF, 1983).

Este trabalho teve como objetivo investigar a toxicidade aguda da deltametrina para a *V. fischeri*, através do sistema-teste Microtox[®], bem como avaliar a eficiência do sistema-teste Microtox[®] na detecção de toxicidade da deltametrina.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Durante os meses de abril e maio/2002, foram realizados 15 testes com o agroquímico Decis, do qual era testada a toxicidade do seu principal princípio ativo, a deltametrina, que se encontra na concentração de 25g/L. Os bioensaios foram realizados no sistema-teste Microtox[®] Model 500 da Azur Environmental, o qual serviu como instrumento para medir a luminescência de uma cultura pura da bactéria *V. fischeri* de acordo com o protocolo da Microbics Corporation (1998). Em todos os testes foram utilizadas bactérias liofilizadas, que eram mantidas à temperatura de -25 a -20°C até o momento do teste. O efeito da deltametrina foi avaliado pela inibição da luminescência da bactéria (FROEHNER *et al.*, 2000), durante o período de 5, 10 e 15 min de exposição, a uma temperatura de 15°C, tendo como maior concentração da deltametrina de 89,06nM. A utilização de três intervalos de tempo na medição da toxicidade deveu-se ao fato de que algumas substâncias apresentam de imediato seu efeito tóxico, enquanto outras aumentam seus efeitos tóxicos com o tempo.

Para a reconstituição das bactérias e diluição das amostras, foram usadas, respectivamente, a solução de cloreto de sódio a 0,01% e cloreto de sódio a 2%. O grupo controle foi composto apenas com cloreto de sódio a 2%. O controle osmótico das amostras foi feito com a solução SAO (Solução de Ajuste Osmótico), composta de cloreto de sódio a 22%. Todas as soluções utilizadas foram diluídas em água Milli-Q (MICROBICS CORPORATION, 1998). Como há uma tendência natural da bactéria reduzir sua luminescência, a redução na emissão de luz observada no controle é usada para compensar a redução no grupo-teste e assim evitar interpretações superestimadas sobre o efeito da amostra nos organismos.

Os dados obtidos foram usados para calcular a CE₅₀ (concentração efetiva da amostra que causa uma redução em 50% na bioluminescência da bactéria) pelo MicrotoxOmni[™] Software for Windows 95/98/ NT (version 1), salientando que quanto menor o valor da CE₅₀, maior a toxicidade da substância. A partir desses resultados foi aplicado o teste t de comparação de médias, não-pareado, através do Programa GraphPad InStat versão 3.0 for Windows.

Foram realizados, ainda, testes de sensibilidade com sulfato de zinco (ZnSO₄. 7H₂O) e fenol, que são substâncias de referência padronizadas para o sistema-teste Microtox[®], tendo como finalidade avaliar as condições fisiológicas dos organismos e a validação dos resultados.

3. RESULTADOS/CONCLUSÃO

Os ensaios de controle de qualidade interna para o sulfato de zinco e fenol tiveram valores para o 15min-CE₅₀ e 5min-CE₅₀, respectivamente, com seus intervalos de confiança (95%), de 3,9mg/L [3,1 - 5,0] e 20,7mg/L [18,9 - 22,5], números estes que indicam a boa capacidade de resposta dos organismos, uma vez que a faixa aceitável da 15min-CE₅₀ para o sulfato de zinco é de 2 a 9mg/L e a 5min-CE₅₀ para o fenol é de 13 a 26mg/L.

Para os testes com deltametrina, os valores da CE₅₀ obtidos com as leituras de 15 minutos foram sempre maiores dos obtidos nos outros intervalos, indicando uma redução na toxicidade ao

longo do tempo. O valor médio da 5min-CE₅₀ foi 39,06nM com intervalo de confiança (95%) [36,28 - 41,84] e um coeficiente de variação CV= 12,85. A média para 10min-CE₅₀ foi 38,8nM com intervalo de confiança (95%) [35,77 - 41,82] e um coeficiente de variação CV= 14,09, não havendo diferença estatística significativa entre os intervalos de 5 e 10 min testados, indicando que a ação da deltametrina sobre a *V. fischeri* completa rapidamente sua ação tóxica, não aumentando com o tempo.

Pode-se concluir que o sistema-teste Microtox[®] apresentou-se como um bom sistema na detecção da toxicidade da deltametrina, o que permitirá uma comparação da sensibilidade da *V. fischeri* em relação aos organismos os quais serão submetidos a esse composto em futuros ensaios.

4. REFERÊNCIAS

BENNETT, J. & CUBBAGE, J. 1992. **Review and evaluation of Microtox[®] test for freshwater sediments**. Olympia, WA :Washington State Department of Ecology.

BOLUDA, R., QUINTANILLA, J. F., BONILLA, J. A., SÁEZ, E. & GAMÓN. Application of the Microtox[®] test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). **Chemosphere** **46**, 2002, pp. 355-369.

CRONIN, M. T. D. & SCHULTZ, T. W. Structure-Toxicity relationships for three mechanisms of action of toxicity to *Vibrio fischeri*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 1998, 39, pp.65-69

DE ZWART, D. & SLOOF, W. The Microtox as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants. **Aquatic Toxicology**, 4, 1983, pp. 129-138.

ERILSSON, P. DDT and pyrethroids. Ecotoxicological considerations. **Comp. Biochem. Physiol.** 100C, 1-2,, 1991,pp. 269-270.

EXTOXNET – Extension Toxicology Network. 1995. USDA National Agricultural Pesticide Impact Assessment Program. Disponível em: <<http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/deltamet.htm>>

FROEHNER, K.; BACKHAUS, T. & GRIMME, L. H. Bioassays with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity. **Chemosphere** **40**, 2000, pp. 821-828.

HE, F.; CHEN, S.; TANG, X.; GAN, W.; TAO, B. & WEN, B. Biological monitoring of combined exposure to organophosphates and pyrethroids. **Toxicol. Lett.** **134**, 2002, 19-124.

IPCS – International Programme on Chemical Safety. 2001. Deltamethrin 0247. Disponível em: <http://www.ilo.org/public/english/protection/safework/cis/products/icsc/dtasht/_icsc02/icsc0247.pdf>

MIADOKOVÁ, E.; VLCKOVÁ, V.; DUHOVÁ, V.; TREBATICÁ, M.; GARAJOVÁ, L.; GROLMUS, J.; PODSTAVKOVÁ, S.; VLEEK, D. Effects of supercypermethrin, a synthetic developmental pyrethroid, on four biological test systems. In: KARNOPP, L.; COSTA, F. L. C.; LOECK, A.E. & AMARAL, C. O.Efeitos citológicos do inseticida piretróide deltametrina em cevada (*Hordeum vulgare* L.). **Rev. Bras. de Agrociência** **5**(2), 1999, pp. 131-134.

Microbics Corporation. **Microtox[®] Test Manual**. USA: Carlsbad, CA, 1998.

PÄIVIÖ, J. Effects of modern pesticides on the microbial community in a natural and in an artificial sediment – a microcosm study. MSc. Thesis, Department Environmental Assessment, Swedish University of Agricultural Sciences, 1999.

PANDEY, A. K.; PANDEY, S. D. & MISRA, V. Removal of toxic metals from leachates from hazardous solid wastes and reduction of toxicity to Microtox by the use of calcium alginate beads containing humic acid. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 52, 2002, pp. 92-96.

SZÉPVÖLGYI, J.; Nagy, K.; BEDÓ, M.; REGÖLY-MMÉREI, A.; SZERLETICS, M.; SOÓ, K. & ANTAL, M. Examination of the interactions of decis and dithane in rats. **Toxicology** 53, 1998, pp. 107-111.

VIRAN, R.; ERKOÇ, F. Ü.; POLAT, H. & KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 55, 2003, pp. 82-85.