
Método tentativo de detecção de inseticidas em águas de abastecimento, através de bioensaios com emprego de drosófila.*

SAMUEL MURGEL BRANCO (**)
OLENTINA DE SOUZA LIMA (***)
JOAQUIM RAMOS DA SILVA (****)

1. INTRODUÇÃO

Desde trabalhos pioneiros realizados já na década de 40 e, também, da divulgação de que o assunto foi objeto através do livro "Primavera Silenciosa" da bióloga Rachel Carson, o problema da contaminação das águas pelos inseticidas orgânicos sintéticos e suas conseqüências sanitárias, vem merecendo particular atenção dos especialistas e dos organismos governamentais e internacionais. Enorme literatura tem sido acumulada, na última década, sobre o assunto, abrangendo vários dos seus aspectos, particularmente: impactos ecológicos causados sobre os ambientes terrestres e aquáticos e, especialmente, sobre as diferentes espécies componentes dos ecossistemas; ação fisiopatológica causada pelos diferentes inseticidas, particularmente sobre organismos humanos; acúmulo dos diferentes compos-

tos (especialmente organo-clorados) em elementos das cadeias tróficas terrestres e aquáticas; aperfeiçoamento e metodologia específica para análise de inseticidas em águas e alimentos; seleção de organismos sensíveis, como indicadores da presença de inseticidas nos vários ambientes.

A par desses estudos (ou em conseqüência dos alarmantes dados obtidos através dos mesmos), medidas de controle da aplicação de inseticidas — especialmente os de uso agrícola — vêm sendo propostas e aplicadas em todo o mundo, especialmente nos países desenvolvidos, embora algumas delas encontrem grande resistência e incompreensão nas áreas de alta produtividade agrícola. Como resultado dessas propostas, algumas legislações específicas foram criadas, algumas atividades controladoras e fiscalizadoras estão sendo desenvolvidas e alguns inseticidas foram suprimidos do mercado sendo vedado o seu uso em vista de sua particular periculosidade, em qualquer dose.

No Brasil, portarias baixadas a partir de 1970, pelo Ministério da Agricultura, têm procurado sanar alguns dos problemas ligados aos praguicidas, como sejam: a regulamentação da importação e comercialização de produtos mercuriais para lavoura, a determinação de limites de concentração de DDT e Paration, a proibição de fabricação e venda de produtos à base de DDT e BHC para com-

bate a ectoparasitas de animais domésticos, a permissão do uso de DDT apenas em culturas de algodão, amendoim, café e soja etc. Ao lado disso, uma nova legislação em substituição à de 1934, ainda em vigor, foi redigida sob a orientação do Senhor Diretor da Divisão de Defesa Sanitária Vegetal, do Ministério da Agricultura (Paschoal, 1979).

Em complementação a essas medidas de controle preventivo, impõe-se um sistema eficiente de detecção de concentrações nocivas desses compostos na água e nos alimentos, como única medida de segurança, do ponto de vista de saúde pública. Níveis limite de concentrações permissíveis têm sido estabelecidos e fazem parte de critérios internacionais (Water Quality Criteria, 1968) mas a verificação através de contínua vigilância, desses limites em águas destinadas ao consumo, encontra uma séria dificuldade representada pelo elevado custo de análises específicas, quando realizadas pelo método usual da cromatografia em fase gasosa (Ciola, 1973). Conseqüentemente, tal metodologia somente seria empregada em casos de suspeita da presença de algum inseticida, raramente se tornando viável a sua contínua utilização para efeito de controle permanente.

Essa dificuldade constitui uma das razões que tem levado os pesquisadores, há muitos anos, à procura de organismos sensíveis à ação desses e de outros tóxicos, para serem uti-

(*) Trabalho realizado no CRHEA (Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada) da Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

(**) Professor titular do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos, USP. Chefe do Laboratório de Hidrobiologia do CRHEA.

(***) Professora-Assistente do mesmo Departamento — Pesquisadora do Laboratório de Hidrobiologia do CRHEA.

(****) Técnico-Químico do Laboratório de Hidrobiologia do CRHEA.

lizados como indicadores da presença desses compostos, na água. Embora o ensaio realizado com tais organismos não possa substituir o método analítico no sentido de identificar, com precisão, o composto nocivo e, mesmo a sua exata concentração, ele atende, entretanto, ao objetivo fundamental do ponto de vista sanitário que é o de indicar a ausência ou revelar a presença de concentrações nocivas de substâncias tóxicas.

A escolha do organismo indicador deve atender, pois, às seguintes condições:

- a) deve ser um organismo sensível ao tóxico em questão. Tratando-se de medida preventiva de intoxicações em seres humanos, o organismo indicador deverá ser mais sensível que o homem à ação tóxica específica;
- b) deve ser um organismo de fácil reprodução e manutenção em condições de laboratório;
- c) deve ser possível a obtenção de linhagens homogêneas da mesma espécie, afim de que as respostas fisiológicas possam ser consideradas como constantes, para as mesmas condições de experimentação e não variáveis com diferenças genéticas.

Em geral, são utilizados, para indicadores de contaminação das águas, organismos aquáticos, tais como peixes, crustáceos inferiores, larvas de insetos, alguns oligoquetas e algas. Numerosos trabalhos com esses seres, enriquecem a literatura mundial. Entre nós, nos laboratórios do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada — CRHEA —, uma linha nova de bioensaios vem sendo desenvolvida com a utilização de Planárias de água doce (Souza Lima, 1980), organismos bastante sensíveis à presença de tóxicos na água.

No caso particular de inseticidas, pareceu-nos que a escolha do organismo sensível deveria recair sobre um inseto, dada a maior intensidade da ação tóxica dos inseticidas em geral sobre esses organismos. Entre os insetos possíveis, escolheu-se o díptero *Drosophila melanogaster* (mosca de frutas) pela facilidade com que é criado em condições de laboratório, a possibilidade de obtenção de uma linhagem geneticamente homogênea e, também, pelas informações prévias da alta sensibilidade desses organismos à ação tóxica de inseticidas residuais, razão pela qual é usado em prova qualitativa da presença de inseticidas em tecidos de animais e seres humanos autopsiados (1).

(1) Comunicação pessoal da Dra. Rosa Gaeta, do Laboratório de Toxicologia do Instituto Biológico.

As etapas do método que ora se propõe são as seguintes: estudo da percentagem de morte em algumas concentrações de diferentes inseticidas para conhecimento pormenorizado da sensibilidade da espécie; processo de concentração de inseticidas na água, visando o desenvolvimento de um método quantitativo baseado na frequência estatística de mortes em cada concentração estudada e os testes propriamente ditos.

2. METODOLOGIA

A metodologia proposta é uma adaptação, para água, do processo utilizado pela seção de Toxicologia do Instituto Biológico de São Paulo, para tecidos animais, e que consiste, basicamente, na extração do inseticida de tecidos contaminados, impregnação de tiras de papel de filtro que são, depois, expostas à presença de *Drosófilas*.

No presente caso, tratando-se de água e não de tecidos e, visando um resultado quantitativo, a técnica foi modificada, passando a ser realizada da seguinte forma:

2.1 CULTURA DE DROSOFILA

As moscas são cultivadas segundo a metodologia usual, em frascos com o seguinte meio de cultura:

agar: 30 gramas
água bidestilada — 1 litro
açúcar: 60 gramas
levedura: 180 gramas
Nipagin (ou Hidroxikenzoato de metila) — 15 ml
mel "Karo" — 1 colher

A cada 15 dias, faz-se a repicagem da cultura, afim de se evitar o esgotamento total do meio. Nenhum cuidado especial, quanto à temperatura, é tomado salvo — é claro — casos de variações bruscas e intensas: as moscas são mantidas sempre à temperatura do ambiente.

2.2 DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE DAS DROSOFILAS AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INSETICIDAS

Soluções de diferentes concentrações de inseticidas são preparadas e, nelas, mergulhadas tiras de papel de filtro que, depois de secas, são introduzidas em pequenos tubos de 50 x 10 mm. Cinquenta moscas são colocadas em cada tubo, assim como um pequeno fragmento do meio de cultura. Faz-se a leitura nos diferentes frascos, 6, 12, 24 e 48 horas após.

Para maior precisão de resultados, é conveniente proceder-se como nos testes de colimetria, ou seja, fazer-se diluições sucessivas da concentração considerada letal para 50%

das moscas. Com isto, estabelece-se, para cada inseticida, a sensibilidade dos animais e, conseqüentemente, padrões de comparação.

2.3 TESTES PARA DETECÇÃO DE INSETICIDAS EM AMOSTRA DE ÁGUA

Dois tipos de testes podem ser realizados: um, mais rápido, expedito e econômico, outro mais lento, porém, mais abrangente e permitindo um tratamento estatístico mais adequado.

Primeiro teste — É realizado usando-se um conjunto de 10 tubos (50 x 10 mm), perfeitamente limpos, dos quais, 8 recebem 4 ml da água a ser analisada, são cobertos com papel de filtro e levados à estufa — 35°C — para evaporar totalmente. Os inseticidas eventualmente presentes na água devem permanecer nos tubos ou adsorvidos ao papel de filtro da cobertura. Após a evaporação, cada tubo é "lavado" com acetona, substância na qual a maioria dos inseticidas é solúvel. A seguir, uma tira de papel de filtro é umedecida na acetona de lavagem e posta para evaporar. Nos dois tubos remanescentes, isto é, 9.º e 10.º, colocamos: apenas acetona, no primeiro (4 ml) e, no segundo, 4 ml da mesma água. Procedimento semelhante em relação às tiras de papel de filtro, é seguido para estes dois tubinhos. O objetivo da técnica da evaporação é aumentar a concentração dos inseticidas, eventualmente presentes na água e a sua posterior deposição sobre as fitas de papel Watman, nos oito primeiros tubos. O 9.º e 10.º asseguram, respectivamente, o controle dos possíveis efeitos diretos da acetona sobre as moscas e a verificação da possibilidade da existência de uma quantidade tão acentuada de tóxico que possa, mesmo sem solubilização, ser detectada através da morte dos insetos.

Após este trabalho preliminar, as fitas de papel de filtro, bem como o papel de cobertura, são colocados nos respectivos tubinhos, perfeitamente secos e, em cada um deles, introduzidas 50 *Drosófilas*, levemente anestesiadas.

A alimentação das moscas é garantida por uma porção do meio de cultura disposta no fundo do tubo e, a renovação do ar para respiração, se faz através do papel poroso que fecha cada um deles.

A "leitura" dos resultados é feita 6, 12, 24 e 48 horas contadas após o despertar dos insetos e os resultados comparados com os padrões previamente estabelecidos.

Segundo teste — Assemelha-se ao anterior, dele diferindo essencialmente em três aspectos:

- a) na quantidade da água utilizada

que, aqui, é de 400 ml, portanto 100 vezes maior. Proporcionalmente maior é o tempo gasto na evaporação do líquido: 25 a 30 dias na estufa, a 35°C;

- b) no número de moscas utilizadas em cada frasco que é de 500, ou seja, 10 vezes maior;
- c) no emprego de apenas um frasco de controle: o do efeito da acetona.

O uso de maior volume de água e de maior número de insetos, além da vantagem da maior concentração de inseticida, se houver, ainda facilita o tratamento estatístico dos dados.

Esta metodologia foi utilizada no exame de águas de alguns pequenos rios dos arredores da cidade de São Carlos. Destes, apenas um ocasionou

valor significativo de letalidade das moscas o que motivou um levantamento do uso do solo da área correspondente. Este levantamento confirmou a suspeita da presença de atividades libertadoras de substâncias tóxicas.

Este resultado preliminar estimulou os autores a prosseguir nos experimentos visando a obtenção de um número significativo de resultados que justifique o seu emprego como processo rotineiro.

Ao mesmo tempo, pretende-se:

- a) realizar ensaios com solventes que sejam imissíveis na água, visando obter mais rápida concentração do tóxico, por simples decantação;
- b) realizar trabalho de natureza estatística com o objetivo de obter resultados quantitativos através

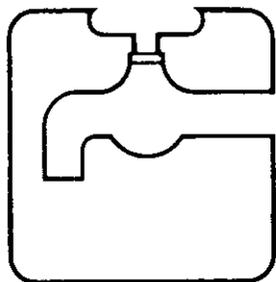
da letalidade relativa de várias diluições da amostra original.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Scientific Development Program, da Organização dos Estados Americanos (OEA) e do Serviço Autônomo de Água e Esgotos (SAEE) de São Carlos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carson, R. (1964). Primavera Silenciosa. 305 pp. Edições Melhoramentos. São Paulo.
2. Paschoal, A. (1979). Pragas, Praguicidas & A Crise Ambiental. Problemas e Soluções. 120 pp. Fundação Getúlio Vargas. Rio de Janeiro.
3. Water Quality Criteria (1968) FWPCA. 243 pp. Washington, D.C.
4. Souza Lima, O. (1980). Ciência e Cultura. aceito para publicação.



noticiário sabesp

SANEAMENTO NA GRANDE SÃO PAULO

Cerca de 260 mil pessoas de 91 bairros da Capital serão beneficiadas com mais 509 km de coletores de esgotos que a Sabesp, entre outras obras, está implantando. Trata-se de uma das mais importantes obras no setor de coleta na região.

As novas redes compreendem centenas de ruas em Santo Amaro, Casa Verde, Vila Maria (Baixa e Alta), Carandiru, Tatuapé, Penha e Nossa Senhora do Ó, e nos distritos regionais da Sabesp da Penha e São Miguel (onde serão instalados mais 22 km de redes), Moóca (mais 20 km), Vila Mariana e Ipiranga (22 km), Lapa e Pirituba (20 km).

Em janeiro último, a Sabesp liberou mais 83 km de redes coletoras, que possibilitarão cerca de 10.500 ligações domiciliares, nas bacias de Interlagos e Córrego do Cintra. Além disso, a empresa havia entregue, em novembro passado, à população da Região Metropolitana, mais 53 km de redes, beneficiando diretamente 21.600 habitantes de Poá, Ferraz de Vasconcelos e Itaquera.

Também em novembro a Sabesp

concluiu outros 213 km de redes coletoras de esgotos sanitários na região Oeste da Grande São Paulo, que permitirão o atendimento futuro de cerca de 116 mil pessoas através de 23 mil ligações prediais.

Na Baixada, uma experiência inédita

Com capacidade para 110 milhões de litros de água, o reservatório de Santa Tereza, em Santos, está sendo implantado em forma de túnel, no interior do morro do mesmo nome. Trata-se de experiência inédita no Brasil. Esse reservatório será o maior da América Latina. Enquanto isso, prosseguem também as obras de redes de esgotos, incluindo a que servirá a zona noroeste de Santos, abrangendo também parte de São Vicente e a que atenderá Cubatão, beneficiando 7 mil residências.

No Guarujá, no setor de água, as obras em execução permitirão elevar o atendimento de 268 para 330 mil habitantes. Será também (até 1982) duplicada a capacidade de seus serviços de esgotos. Ali, a Sabesp está implantando um novo sistema que compreende a construção de estações elevatórias e emissários. Há também o interceptor da Enseada de 3,4 km, de diâmetro entre 1,5 e 1,8 metros. O destino final dos esgotos, depois de tratados futuramente na estação de pré-condicionamento, será através de dois emissários submarinos de 4,5 km cada um, e 0,90 m de diâmetro.

Em São Vicente, os esgotos que eram lançados na ponte de Itaipu, são agora revertidos para o emissário submarino de Santos. Essa providência já possibilitou melhora na balneabilidade da Praia Grande. O problema, no entanto, será definitivamente solucionado com a entrada em

operação da nova rede de esgotos em implantação naquele município. Estão assentados 41,7 km de tubulações no Boqueirão, com execução de 20 mil ligações domiciliares. Enquanto isso, em Vila Guilhermina, estão sendo assentados 40 km de redes e executadas 20 mil ligações. No que se refere a água, a Sabesp deverá duplicar a atual capacidade de abastecimento. As obras incluem a construção do reservatório do Boqueirão, com capacidade para 10 milhões de litros, a subadutora da avenida Tupiniquins (2.500 metros), e o novo sistema de captação que, uma vez concluído, ainda em 1981, possibilitará um fornecimento de água de 500 mil litros por segundo, ou seja, o dobro da disponibilidade atual.

Estâncias

Nas estâncias hidrominerais em que a Sabesp opera e administra os serviços de saneamento básico, foram executadas diversas obras, sendo que outras encontram-se em construção. Assim, em Águas da Prata foi concluído recentemente o sistema de esgotos sanitários, compreendendo 6 km de rede coletora, 204 ligações prediais, linha de recalque, estação elevatória e lagoa de tratamento.

No distrito de Iaras, em Águas de Santa Bárbara, foi concluído no ano passado o sistema de abastecimento. Em Águas de São Pedro encontra-se em execução o projeto das obras que dotarão de melhorias o sistema de abastecimento de água. Em Ibirá e Termas de Ibirá, a Sabesp realiza obras de esgotos.

Para Ibiúna, foram destinadas melhorias no sistema de água, sendo que no distrito de Paruru encontram-se em andamento as obras de instalação dos sistemas de água e esgoto.