

NICOLE FONTES LOSANO

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO INSETICIDA DELTAMETRINA EM  
MORCEGOS FRUGÍVOROS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**  
**2015**

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

L879e  
2015 Losano, Nicole Fontes, 1989-  
Efeitos da exposição ao inseticida Deltametrina em  
morcegos frugívoros / Nicole Fontes Losano. – Viçosa, MG,  
2015.  
ix, 31f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Mariella Bontempo Duca de Freitas.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.22-31.

1. Morcegos. 2. *Artibeus lituratus*. 3. Piretróides - Efeito fisiológico. 4. Produtos químicos agrícolas. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-graduação em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 599.45


NICOLE FONTES LOSANO

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO INSETICIDA DELTAMETRINA EM  
MORCEGOS FRUGÍVOROS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de Outubro de 2015.

  
Gisele Mendes Lessa Del Giúdice

  
Bruno Edésio dos Santos Melo

  
Mariella Bontempo Duca de Freitas (Orientadora)

“Viva como se fosse morrer amanhã.  
Aprenda como se fosse viver para sempre.”

*Mahatma Gandhi*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os momentos de minha vida, me guiando e me intuindo sempre.

À minha mãe, **Lenicir Fontes**, pelo amor incondicional e carinho constante, pelos incentivos e conselhos, por sempre acreditar em mim, e pela paciência e apoio neste período. Você é minha preciosidade, minha amiga conselheira!

Ao meu pai, **Ronaldo Losano**, por todo amor e por estar presente em minha vida, pelo apoio e pelas palavras de força e incentivo.

À minha irmã, **Vanessa Fontes Losano**, por entender minha ausência, pela paciência e por todo amor e carinho que tem por mim.

Aos demais parentes, obrigada pelo apoio, incentivo, conselhos, carinho e por acreditarem em mim.

À minha orientadora **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariella Bontempo Duca de Freitas**, pela oportunidade e orientação, por ter acreditado no meu trabalho e por ter contribuído na minha formação profissional e pessoal.

Ao co-orientador, **Prof. Dr. Leandro Licursi de Oliveira**, agradeço as dicas e sugestões no meu trabalho e por me receber em seu laboratório.

Ao co-orientador **Prof. Dr. Juraci A. Oliveira**, por todos os conselhos, pela amizade, pela paciência, pelos ensinamentos pessoais e profissionais, e por confiar em mim quando mais precisei.

À **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gisele Mendes Lessa del Giúdice**, por me conduzir a um novo rumo em meu mestrado, tornando tudo isso possível, obrigada pelo carinho e pela confiança.

À **Msc. Jerusa Maria de Oliveira**, meu agradecimento mais do que especial por todo ensinamento e apoio, pela paciência, pela parceria nos trabalhos, pela dedicação e empenho dispensados.

A toda a equipe do Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros.

À Universidade Federal de Viçosa, juntamente com o programa de Pós-graduação em Biologia Animal pela oportunidade de cursar o mestrado e pela

infraestrutura fornecida para a execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento e Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos Laboratórios de Ecofisiologia de Quirópteros (Departamento de Biologia Anima – UFV), Laboratório de Imunologia e Glicobiologia, Laboratório de Imunovirologia Molecular, Laboratório de Biofísica e Laboratório de Biologia Estrutural (Departamento de Biologia Geral – UFV) pela infra- estrutura e reagente concedidos.

Aos amigos de laboratório **Esteban Giraldo, Diego Torres e Taline Gonçalves**, pelo acompanhamento e por toda a ajuda em minha pesquisa. Quero agradecer principalmente pelo carinho e a amizade de vocês.

Ao **Dimitry Fernandes**, meu amigo confidente de tantos anos, obrigada por me ouvir e me aturar em momentos tão difíceis e por compartilhar tantas alegrias também. Pelo amor eterno e verdadeiro.

Ao meu amigo **Msc. Renato Barbosa Ferraz**, quero fazer um agradecimento especial pela sua preciosa amizade, você é um irmão para mim. Obrigada por todos os momentos que vivemos juntos, por ajudar a me tornar o que sou hoje.

Ao **Msc. Bruno Castelo Branco Domiani**, que com sua mais bela forma de olhar a natureza e o mundo me fez ver a perfeição nas coisas mais simples! Por ser meu ídolo. Tem toda minha admiração e respeito. Obrigada pela sua amizade e companheirismo.

Ao meu querido psicólogo e amigo **Davidson Lemela**, que me fez enxergar o caminho certo a seguir me direcionando para esta conquista.

À minha querida amiga **Shirley Madlener**, por ter se tornado uma segunda mãe para mim, sempre disposta a me ouvir e me auxiliar em tudo que precisei.

Aos amigos, **Msc. Matheus Neves, Msc. Elvis Almeida, e Msc. Fausto Ferraz**, por serem meus amigos e vizinhos, companheiros, por todas as vivências boas que tivemos. Mais que amigos e vizinhos vocês se tornaram parte de minha família.

As queridas amigas de Viçosa, **Lívia Rabelo, Raquel Mendes, Danuzy Lopes, Ana Clara Gariglio, Silvana Melo**, por todas os momentos vivenciados, pelas confidências ao longo destes dois anos.

Aos amigos de Praia Grande – SP, **Suely Suzana, Yuri Barros, Renato Moretti, Taluan Souza, Marcel Liberato, Daphine Liberato, Mariana Carvalho,**

Amigos do magnificat: **Lincoln Lucena, Netto Thomaz, Olatunde Oluwatuyi, Kauê Moreira, Vitor Messias, Marcelo Santis, Edgar Sato, Julio Nicolella**. Amigos eternos e verdadeiros para sempre! A distância nunca vai enfraquecer essa amizade e o amor que sinto por vocês.

Amigos da **Chácara do ipê** pela maravilhosa convivência, pelos ótimos almoços de domingo e pelo incentivo.

**Família Galvão** por me apoiarem e por todo acolhimento e carinho, vocês se tornaram uma segunda família para mim.

A toda a população de morcegos...

E por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto.

## **BIOGRAFIA**

Nicole Fontes Losano, filha de Ronaldo Losano e Lenicir Fontes, nasceu em 17 de novembro de 1989 na cidade de São Paulo - SP, Brasil. Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura (2010) e Bacharelado (2011) na Universidade Santa Cecília (UNISANTA). Ingressou no programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em nível de Mestrado, em julho de 2013, pelo Departamento de Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa (UFV), defendendo a dissertação em de 29 de outubro de 2015.



## ÍNDICE

<b>RESUMO</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	7
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	8
<b>3.1</b> SISBIO e comitê de ética .....	8
<b>3.2</b> Laboratórios .....	8
<b>3.3</b> Caracterização química do agrotóxico .....	8
<b>3.4</b> Tratamento experimental .....	9
<b>3.5</b> Dosagem de proteína total.....	11
<b>3.6</b> Determinação dos lipídios totais .....	11
<b>3.7</b> Ácidos graxos totais da carcaça .....	11
<b>3.8</b> Determinação da atividade das enzimas antioxidantes e do produto da peroxidação lipídica .....	12
<b>3.9</b> Análise estatística.....	13
<b>4. RESULTADOS</b> .....	13
<b>4.1</b> Consumo alimentar e peso corporal .....	13
<b>4.2</b> Proteína total .....	13
<b>4.3</b> Lipídios totais .....	13
<b>4.4</b> Ácidos graxos totais da carcaça .....	13
<b>4.5</b> Atividade das enzimas antioxidantes e do produto da peroxidação lipídica .....	14
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	17
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	21
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	22

## RESUMO

LOSANO, Nicole Fontes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2015. **Efeitos da Exposição ao Inseticida Deltametrina em Morcegos Frugívoros.** Orientadora: Mariella Bontempo Duca de Freitas. Coorientadores: Juraci Alves de Oliveira e Leandro Licursi de Oliveira

Durante o forrageio, morcegos frugívoros podem ser afetados pela exposição a agrotóxicos, por meio dos alimentos ou água contaminados, o que pode resultar em danos oxidativos, histopatológicos, e ao metabolismo energético, que podem levar, a longo prazo, ao declínio populacional da espécie. Com o intuito de investigar os possíveis danos que o agrotóxico deltametrina pode causar em morcegos frugívoros da espécie *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) (Olfers, 1818), abundante na Mata Atlântica, onde desempenha importante papel ecológico, o presente estudo teve por objetivo avaliar se a dosagem comercialmente recomendada do agrotóxico deltametrina e/ou uma dose 3 vezes acima desta induz danos metabólicos e/ou estresse oxidativo em animais expostos. Morcegos machos (n = 18) foram coletados em fragmentos de Mata Atlântica em Viçosa - MG e separados em três grupos experimentais, alimentados por 7 dias com frutas (mamão) contendo deltametrina nas seguintes concentrações (v/v): 1) Controle: 0% (n = 7); 2) Delt1: 0,1% (n = 6); Delt2: 0,3% (n = 5). Após o tratamento, foram realizadas análises do metabolismo energético, como dosagem de proteína total e lipídios totais do tecido hepático e muscular, ácidos graxos da carcaça e análises das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), bem como o produto da peroxidação lipídica malondialdeído (MDA) em tecido hepático. Os resultados obtidos demonstraram uma diminuição do peso corporal, após o período experimental, em animais do grupo Delt2. Em relação ao metabolismo energético, morcegos do grupo Delt2 apresentaram uma maior concentração de proteínas no músculo, porém não reportaram alterações nas reservas energéticas como ácidos graxos da carcaça e lipídios totais do tecido hepático e muscular. Quanto às enzimas indicativas de estresse oxidativo, não foram encontradas alterações na atividade da SOD, CAT e MDA em tecido hepático dos grupos expostos (Delt1 e Delt2) quando comparados ao controle. Conclui-se, portanto, que o inseticida piretróide deltametrina, nas concentrações testadas e quando empregado de forma aguda, por um período de 7 dias, não induziu alterações metabólicas importantes ou estresse oxidativo ao tecido hepático de morcegos frugívoros.

## ABSTRACT

LOSANO, Nicole Fontes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa , October, 2015. **Effects of Exposure to Insecticide Deltamethrin in Bats Frugivores.** Advisor: Mariella Bontempo Duca de Freitas. Co-Advisors: Juraci Alves de Oliveira and Leandro de Oliveira Licursi.

Foraging bats, such as the great fruit-eating bat *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) (Olfers, 1818), may be exposed to pesticides through contaminated food or water. This continuous exposure may result in damage to the energy metabolism, anti-oxidative defenses or histopathological alterations, and all of them might lead to population declines on a long-term scenario. In order to investigate the possible damage that the pesticide deltamethrin might cause in bats, this study aimed at evaluating whether the commercially recommended concentration of deltamethrin and/or a dose 3 times above this induce metabolic damage and/or oxidative stress in the liver of fruit-eating bats. Male bats (n = 18) were collected in fragments of Atlantic Forest in Viçosa, MG, and separated into three experimental groups fed for 7 days with fruits (papaya) containing deltamethrin in the following concentrations (v / v): 1) Control: 0% (n = 7); 2) Delt1: 0.1% (n = 6); Delt2: 0.3% (n = 5). We performed analyzes of energy metabolism as total protein, total lipids from liver and muscles, as well as carcass fatty acids and the activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and the product of peroxidation lipid malondialdehyde (MDA) in the liver. Bats exposed to deltamethrin at concentrations of over a period of 7 days showed a decrease in body weight (Delt2). Results also showed a higher concentration of proteins in muscles from Delt2, however, no other changes in energy reserves have been observed. This study also reported no changes in the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and the product of malondialdehyde lipid peroxidation (MDA) in liver tissue from exposed bats, which demonstrates that the deltamethrin pyrethroid did not induce oxidative stress when exposed to these concentrations for 7 days.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da população humana tem sido utilizado como principal argumento para dar suporte à necessidade de uma maior e mais eficiente produção de alimentos pelos sistemas agrícolas (DRIESCH et al., 1996). Em consequência, muitos agrotóxicos tem sido utilizados na agricultura com a finalidade de combater insetos-pragas, vetores de doenças e plantas daninhas que podem causar danos às plantações (EL-SHENAWY, 2010). Segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal (SINDIVEG), o setor de defensivos agrícolas faturou cerca de US\$ 10,500 bilhões em 2013, número 8% superior a 2012. Entretanto, o uso indiscriminado de agrotóxicos vem causando sérios danos ao meio ambiente, com a contaminação dos solos, dos alimentos, das águas superficiais e subterrâneas. Tais substâncias são agentes poluidores e os efeitos de seu uso constituem um problema reconhecido mundialmente, agravado pela utilização inadequada, podendo resultar em problemas de saúde para o homem, para espécies não-alvo pelo consumo de água e alimentos contaminados, bem como para o ecossistema como um todo (SPADOTTO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2001).

O comportamento de um agrotóxico no ambiente é determinado por vários processos físico-químicos e biológicos, como retenção (sorção, absorção), a transformação (degradação química e biológica), o transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e ainda por interações desses processos (SPADOTTO et al., 2004).

A classificação dos agrotóxicos envolve vários aspectos, como a finalidade do uso, a estrutura química, a resposta neurotóxica e o modo de ação do ingrediente ativo no organismo-alvo. O modo mais usual, no entanto, está relacionado ao grupo de organismos-alvo, sendo, assim, classificados em inseticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas e/ou raticidas, acaricidas, nematicidas, moluscicidas, e outros. Em relação à toxicidade, são classificados em extremamente tóxicos, altamente tóxicos, medianamente tóxicos e levemente tóxicos, de acordo com a dose letal a 50% dos indivíduos (DL50), em mg/kg, tendo ratos submetidos à toxicidade aguda como referência (ANDREI, 2005; LARINI, 1999).

Dentre os vários grupos de inseticidas, os piretróides, originalmente obtidos a partir da espécie vegetal *Chrysanthemum cinerariaefolium*, apresentam aplicação de largo espectro no controle de insetos. Entretanto, esses compostos naturais apresentam baixa

estabilidade em condições ambientes e, em função disso, foram realizadas modificações químicas estruturais, resultando em piretrinas com elevado grau de toxicidade aos insetos, como a cipermetrina, a deltametrina, a aletrina, cialotrina, bifentrina e permetrina (SANTOS et al., 2008; PIMPÃO, 2006;).

Os piretróides constituem o grupo de inseticidas mais amplamente utilizado nas lavouras e, em comparação com outros agrotóxicos, são considerados de baixo impacto ambiental e de baixa toxicidade em mamíferos (SANTOS et al., 2008). Entretanto, várias pesquisas tem demonstrado que esses compostos causam sérios efeitos tóxicos em peixes, abelhas e artrópodes aquáticos (GRISOLIA, 2005; VIRAN, 2003) e apresentam riscos a pássaros e mamíferos (SUCEN, 2015; QUEIROZ et al., 2001; NARAHASHI, 1996). Os efeitos tóxicos mais comuns numa exposição por via oral em mamíferos são neuroexcitatórios, como tremores, convulsões e salivação (SODERLUND, 2002).

O mecanismo de ação dos piretróides em organismos-alvo se dá por ativação dos canais de sódio dos filamentos nervosos, bloqueando a sua abertura e fechamento, encurtando a fase despolarizante, diminuindo o tempo de entrada dos íons de sódio no interior da célula. Esta classe de inseticida atua também ligando-se aos receptores do GABA, bloqueando os canais de cloro e sua ativação (VELISEK et al., 2007; BRADBERRY et al., 2005), o que pode causar hiperexcitabilidade observada em envenenamentos severos por piretróides es tipo II (BRADBERRY et al., 2005).

Dentre todos os piretróides conhecidos até o momento, a deltametrina é considerada a mais tóxica para vertebrados (SANTOS et al., 2008) e conhecido quimicamente como (S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzil-(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato, com fórmula química  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ . Em água, apresenta vida média variando entre 17 e 110 dias, tende a ser estável em pH ácido e neutro e torna-se susceptível à hidrólise em condições alcalinas (LASKOWSKI, 2002). A deltametrina pertence à classe de inseticidas do grupo químico éster do ácido crisântemico ou piretróide do Tipo II. Tem sido amplamente utilizada em diversos cultivos no Brasil, na medicina veterinária no controle de pulgas e carrapatos, e como controlador de vetores transmissores de doenças pela saúde pública. Este inseticida é considerado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2014) um praguicida de classe tipo III ou, medianamente tóxico, perigoso ao ambiente.

Existem diversos estudos sobre os mecanismos celulares e moleculares de ação tóxica da deltametrina em animais e, nesse caso, os organismos tomados como referência

são, geralmente, os ratos (DUBEY et al., 2013; TUZMEN et al., 2008; SATHANANDAM et al., 2006). Em morcegos, entretanto, há carência de estudos e, nesse sentido, considerando que eles podem ser afetados pela exposição indireta ao agrotóxico, por meio dos alimentos contaminados, torna-se evidente a necessidade de conhecimentos sobre os danos potenciais a esses animais.

Os morcegos (Chiroptera, Mammalia) apresentam grande relevância na regulação dos ecossistemas tropicais, onde podem representar 40 a 50% das espécies de mamíferos em certas áreas (TIMM, 1994), sendo considerados indicadores de níveis de alterações no ambiente e bom material de estudos sobre diversidade (FENTON et al., 1992). Devido às suas adaptações morfológicas, hábitos alimentares e diversidade de formas, os quirópteros podem ocupar diversos nichos, em complexa relação de interdependência com o meio (FENTON et al., 1992), atuando como polinizadores, reguladores de populações de insetos e dispersores de sementes (KUNZ et al., 1994). A dispersão de sementes por meio das fezes de morcegos frugívoros é fundamental para a manutenção das florestas e recuperação de áreas degradadas, bem como o sucesso reprodutivo das plantas consumidas (GARCIA et al., 2000), o que é favorecido pelas grandes distâncias percorridas através do voo, visitando diferentes habitats em uma única noite. Diversas espécies do gênero *Artibeus* mantêm um fluxo gênico entre diferentes fragmentos, com sua capacidade de percorrer aproximadamente 35 km, explorando ilhas costeiras e áreas continentais (MENEZES et al., 2008).

Dentre os Chiroptera, destaca-se o grupo mais versátil na exploração de alimentos: a família Phyllostomidae. Endêmica do continente americano, podem explorar néctar, pólen, folhas, insetos, frutos, sangue entre outros (PASSOS et al., 2004). A subfamília Stenodermatinae é composta principalmente por espécies frugívoras, como *Artibeus lituratus* (OLFERS, 1818), que distribui-se desde o México até o norte da Argentina e praticamente todo o Brasil (EISENBERG et al., 1999). Os representantes desta espécie podem se abrigar em copas de árvores de ambientes conservados e ambientes urbanos (BIANCONI et al., 2004). Apresentam grande relevância na regulação dos ecossistemas tropicais (TIMM, 1994) sendo considerados indicadores de níveis de alterações no ambiente e bom material de estudos sobre diversidade (FENTON et al., 1992). Atuam como polinizadores, reguladores de populações de insetos e como eficientes dispersores de sementes de florestas primárias para áreas de floresta secundárias (LOPEZ, et al 2004; KUNZ et al., 1994), sendo esta dispersão fundamental para a manutenção das florestas e

recuperação de áreas degradadas, bem como o sucesso reprodutivo das plantas consumidas (GARCIA et al., 2000).

As espécies neotropicais do gênero *Artibeus lituratus* apresentam coloração da pelagem predominantemente amarronzada, podendo variar entre as regiões geográficas, possuem duas listas claras faciais conspícuas, não possuem calda e apresentam folha nasal mediana em forma de lança na extremidade do focinho. São animais de grande porte com aproximadamente 75 mm de antebraço e peso variando entre 44 a 87 gramas com uma envergadura de 32 a 33 cm (NOWAK, 1994; REIS et al., 2007), sendo considerados um dos maiores morcegos brasileiros, e sua orientação ocorre através do olfato (FRAHM 1981) e visão, além da ecolocalização (REIS et al., 2007), assim como todas as espécies da família Phyllostomidae.

Durante o forrageio, morcegos frugívoros se deparam facilmente com alimentos contaminados com agrotóxicos em várias áreas de cultivo. Em comparação com outros mamíferos, estes animais são considerados potencialmente mais sensíveis à exposição aos agrotóxicos por causa de suas características ecológicas como alta longevidade, longo período reprodutivo e diminuição do metabolismo pela hibernação (STAHLSCHMIDT et al., 2012).

Estudos realizados por Brinati (2011) demonstraram que morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* expostos cronicamente a doses comerciais do inseticida endossulfan apresentaram alterações metabólicas, como diminuição das reservas de proteínas nos membros anteriores, diminuição de ácidos graxos totais da carcaça, bioacúmulo do agrotóxico nos tecidos adiposo e hepático e aumento de lipídeos no tecido hepático. Alterações histopatológicas no tecido hepático e alterações nas reservas energéticas também têm sido observadas nesses animais quando expostos ao inseticida organofosforado fentiona (AMARAL et al., 2012). O metabolismo energético compreende todas as vias utilizadas pelo organismo para obter e utilizar a energia a partir de fontes provenientes da alimentação e de fontes endógenas (POWERS ET AL., 2000). Os nutrientes provenientes da alimentação (carboidratos, proteínas e lipídios) podem ser utilizados de forma imediata pelo organismo, gerando energia aos tecidos, ou serem armazenadas na forma de reservas energéticas (DOUGLAS, 2002; POWERS et al., 2000). As principais formas de reservas energéticas são armazenadas de forma a liberar energia na forma de ATP quando mobilizadas (oxidadas), de forma a atender as demandas energéticas corporais (GLEESON, 2005).

Alterações metabólicas envolvem, também, a capacidade antioxidante de indivíduos da espécie *Artibeus lituratus* expostos ao inseticida endossulfan. As modificações das atividades das enzimas antioxidantes indicam que esses animais se encontram sob ação do estresse oxidativo resultante da ação do endossulfan e que, nesse caso, essas enzimas poderiam ser utilizadas como biomarcadores de toxicidade ambiental em morcegos (OLIVEIRA, 2013).

O estresse oxidativo ocorre pelo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS – Reactive Oxygen Species), tais como íon superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila (OH) e oxigênio singlet ( $^1O_2$ ) (AVILEZ et al., 2008; SINGH et al., 2008), que podem causar sérios danos celulares, de forma estrutural e funcional. Entretanto, a intensidade desses efeitos pode ser minimizado por meio da atuação de mecanismos antioxidativos enzimáticos, como a ação das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POX) e peroxidases do ascorbato (APX) e mecanismos não enzimáticos, como a glutationa, ascorbato e vitaminas (SINGH et al., 2008).

A SOD apresenta uma importante função antioxidante, catalisando a dismutação do radical  $O_2^-$  a  $H_2O_2$  ( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ) (Ross et al, 1991). O  $H_2O_2$  resultante é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a CAT e a POX (LIMÓN-PACHECO, 2009; HERMES-LIMA, 2004; DROGE, 2002).

A avaliação da atividade da CAT é uma importante forma de monitoramento do estresse oxidativo (AVILEZ et al., 2008; CHANDRAN et al., 2005) uma vez que é um componente de defesa antioxidante primário, que catalisa a redução do  $H_2O_2$  formando  $H_2O$  e  $O_2$  e a oxidação de compostos hidrogenados, tais como etanol, metanol, fenóis, ácido fórmico (AEBI, 1984).

Embora eficientes, os sistemas antioxidantes podem ser incapazes de impedir a ação dos ROS e, nesse caso, os sítios preferenciais de ação são as membranas celulares, resultando na peroxidação lipídica. Nesses casos, os ROS agem sobre os ácidos graxos polinsaturados dos fosfolipídeos das membranas, desintegrando-os e permitindo a entrada dos ROS nas estruturas intracelulares. Isso causa alterações na estrutura e permeabilidade das membranas celulares, causando perda na seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, e formação de produtos citotóxicos como o malondialdeído, podendo levar a danos no DNA e morte celular (FERREIRA, 1997).



A grande maioria dos estudos toxicológicos testaram piretróides em altas doses, e com exposições que não traduzem o real modo de exposição dos animais silvestres não-alvo na natureza, ou seja, estudos com animais expostos a pesticidas via gavagem, não refletem a exposição real que animais silvestres enfrentam na natureza. Há, portanto, uma escassez de estudos com doses recomendadas pelo fabricante, em um período agudo de exposição e em organismos não-alvos em condições ecologicamente relevantes, como os morcegos frugívoros.

Com o intuito de descobrir os possíveis danos que o agrotóxico deltametrina pode vir a causar em morcegos da espécie *Artibeus lituratus*, o presente estudo teve por objetivo avaliar se a dosagem comercialmente recomendada do agrotóxico deltametrina e/ou uma dose 3 vezes acima desta induz danos metabólicos e/ou estresse oxidativo.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a possível toxicidade do inseticida piretróide deltametrina e seus efeitos no metabolismo energético e capacidade antioxidante do tecido hepático em morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* após a exposição a doses comerciais e uma dose 3 vezes maior do que a dose comercial recomendada deste inseticida, visando contribuir para a avaliação dos impactos causados pela deltametrina em mamíferos não-alvo expostos a este agrotóxico.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 SISBIO e comitê de ética

Todas as capturas, transporte e procedimento experimental estão de acordo com as instruções e autorização do IBAMA-SISBIO (Processo nº 44828/1) e do comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Viçosa (Processo nº 45/2014).

#### 3.2 Laboratórios

O processamento das amostras e análise do material deste estudo foi realizado no Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros (Departamento de Biologia Animal), Laboratório de Imunologia e Glicobiologia, Laboratório de Imunovirologia Molecular, Laboratório de Biofísica e Laboratório de Biologia Estrutural (Departamento de Biologia Geral – Universidade Federal de Viçosa).

#### 3.3 Caracterização química do agrotóxico

Foi utilizado o inseticida piretróide deltametrina (Figura 1), adquirido em loja comercial, conhecido quimicamente como (S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzil-(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003), sua classificação toxicológica é *Produto Técnico Classe III ou medianamente tóxico*. Apresenta fórmula química  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ , e pertence à classe de inseticidas do grupo químico éster do ácido crisântemico ou piretróide do Tipo II. O mecanismo de ação da deltametrina ocorre sobre os canais do GABA (Gamma-AminoButyric Acid), neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC), onde se ligam bloqueando os canais de cloro, levando a uma hiperexcitabilidade do SNC (ESHLEMAN, 1991).

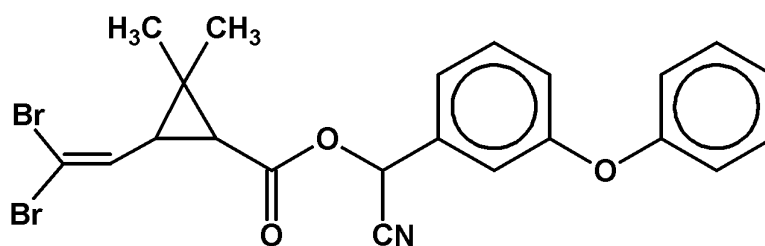


Figura 1. Estrutura química da deltametrina.

### 3.4 Tratamento experimental

Morcegos machos adultos (n=17) da espécie *Artibeus lituratus* foram coletados com redes de neblina na Mata do Paraíso do Campus da Universidade Federal de Viçosa (20° 45' S e 42° 52' W), localizada na cidade de Viçosa, MG – Brasil. Esses animais foram identificados com a Chave de Identificação de Morcegos Brasileiros (VIZZOTTO et al., 1973), separados aleatoriamente, pesados com pesola e mantidos em morcegário localizado na área externa do Museu de Zoologia João Moojen da UFV, com iluminação natural e temperatura ambiente (Figura 2), por dois dias, para período de adaptação. Durante esse período, os animais foram alimentados com mamão maduro, por se tratar de alimento de fácil aceitação em cativeiro (AMARAL, 2012).

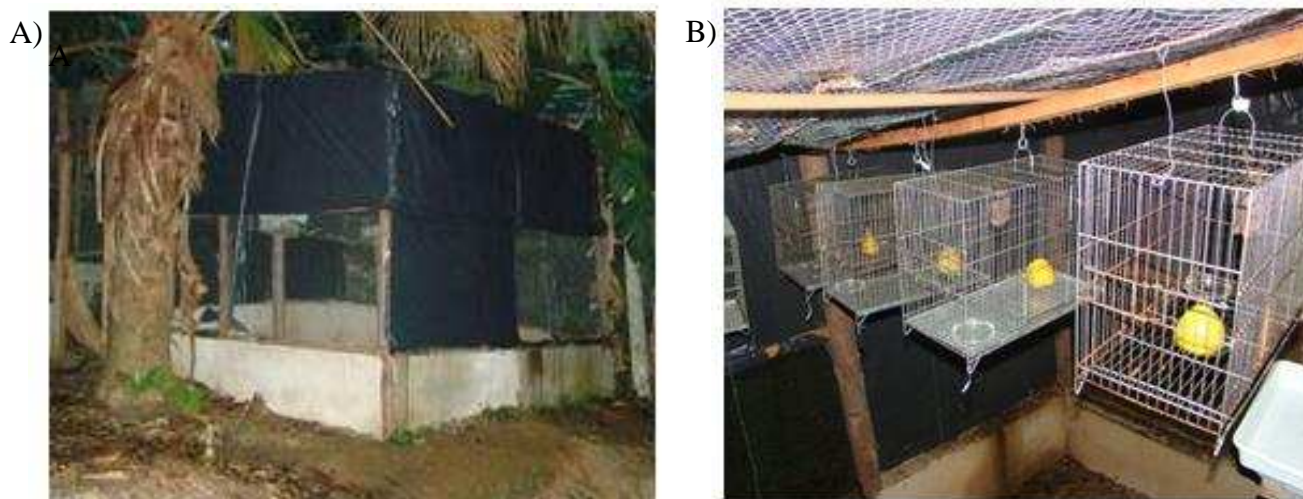


Figura 2. Recinto (morçegário) (A) utilizado para acondicionamento das gaiolas (B) no período de tratamento dos animais, localizados no Museu de Zoologia João Moojen – UFV.  
Imagem: Alessandro Brinati

Após o período de adaptação, os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais: grupo controle (Controle; n=6), alimentados com frutos sem tratamento; grupo deltametrina 1 (Delt1; n=6), alimentados com frutos tratados com deltametrina a 0,1 % (v/v), concentração recomendada pelo fabricante para aplicação nas lavouras; grupo deltametrina 2 (Delt2; n=5), alimentados com frutos tratados com deltametrina 0,3 % (v/v) concentração 3 vezes maior do que a dose ambiental permitida. Para o tratamento das frutas com deltametrina oferecidas aos grupos Delt1 e Delt2, o inseticida foi diluído em água e aplicado diariamente nas referidas concentrações, de forma

homogênea, com o auxílio de um borrifador (aproximadamente 2 mL), garantindo total aplicabilidade na superfície externa do mamão. As frutas tratadas e não tratadas foram partidas transversalmente (aproximadamente 200 g cada porção) e oferecidas aos animais durante sete dias, por volta das 18:00 h, com a casca voltada para cima (Figura 3), visando simular a situação encontrada por morcegos na natureza. Ao final da exposição diária, as sobras foram recolhidas e pesadas. Durante esse período, os animais também receberam água *ad libitum*. Ao final dos 7 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados, por deslocamento cervical seguido de decapitação, e retiradas amostras de tecido hepático, carcaça e o músculo peitoral, as quais foram pesadas e congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análise posterior.



Figura 3. Alimentação durante o experimento, destacando a forma como as frutas foram oferecidas aos animais.

Imagem: Nicole Fontes Losano

### 3.5 Dosagem de proteína total

O homogenato utilizado na determinação da proteína total hepática e muscular, foi preparado a partir de 100 mg de tecido hepático e tecido muscular de cada animal. Os tecidos foram coletados, lavados com solução salina (NaCl) 0,9% para remover o excesso de sangue, acrescentado 1 mL de tampão fosfato pH 7,0 (0,2 M com 1 mol de EDTA) e homogeneizado até completa dissolução do tecido, centrifugado a 10.000 xg por 10

minutos a 4°C. Posteriormente, a amostra foi diluída 20 vezes e uma alíquota de 100 µL deste homogenato foi utilizado para análise pelo método de Lowry para dosagem da proteína total (LOWRY et al., 1951).

### **3.6 Determinação dos lipídios totais**

Foram pesados aproximadamente 100 mg do tecido hepático e muscular (músculo peitoral) para a determinação dos lipídios totais. Homogeneizadas em 12,5 mL de solução clorofórmio:metanol (2:1). Após filtração e separação das fases por adição de 4 mL solução salina (NaCl) 0,9%, uma alíquota da fase clorofórmica (5 mL) foi utilizada para determinação dos lipídios totais pelo método gravimétrico (FOLCH et al.,1957).

### **3.7 Ácidos graxos totais da carcaça**

A carcaça foi pesada e acondicionada em um recipiente de vidro contendo 200 mL de KOH 6 N, até sua total dissolução, levadas a banho-maria a 80°C por 30 min, sendo posteriormente filtrada com lã de vidro. Foi acrescentado 50 ml de álcool absoluto (99%) em uma alíquota de 50 mL desta solução. Foi retirado uma alíquota de 20 mL desta solução e acrescentados 40mL de éter de petróleo sendo agitados durante 2 min, aspirando a fase superior em bomba a vácuo, tendo esse processo repetido por 3 vezes. Foi acrescentado 200 µL de verde-bromo-cresol 0,4% e acidificada com 5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), submetida à extração por clorofórmio, acrescentando 3 vezes o volume de clorofórmio agitado por 2 minutos. Foram utilizados 50 mL desta fase para a determinação dos ácidos graxos totais por método gravimétrico (FOLCH et al.,1957).

### **3.8 Determinação da atividade das enzimas antioxidantes e do produto da peroxidação lipídica.**

Para o preparo dos homogenatos utilizados na determinação da atividade da catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e do produto da peroxidação lipídica malondialdeído (MDA), 100 mg de tecido hepático de cada animal foram coletados, lavados com solução salina 0,9% para remover o excesso de sangue, acrescentado 1 mL de tampão fosfato pH 7,0 (0,2 M com 1 M de EDTA) e homogeneizado até completa dissolução do tecido. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 10.000 xg a 4 °C durante 10 minutos, e o sobrenadante foi utilizado para os testes enzimáticos.

Para a análise da atividade da CAT, foi preparado um tampão fosfato com peróxido de hidrogênio (40 µL de peróxido de hidrogênio em 25 mL de tampão fosfato pH 7,0), posteriormente 10 µL de homogenato foi acrescentado em 1 mL de tampão com peróxido de hidrogênio, sendo a CAT estimada por meio da decomposição do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (10 mmol L<sup>-1</sup>) durante o primeiro minuto da reação em 240 nm em espectrofotômetro (AEBI et al., 1984) usando o coeficiente de extinção molar de 36 mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>.

Para a determinação da atividade da SOD, foram pipetados em placa de Elisa 30 µl do homogenato, 99 µL de tampão fosfato pH 7,0 (0,2M), 6 µL de MTT (1,25 mM), 15 µL de pirogalol (100 µM), incubados por 5 minutos em estufa a 37°C e a reação interrompida acrescentando 150 µL de dimetilsulfóxido. Os resultados foram obtidos através de Elisa a 570 nm baseada na capacidade desta enzima em catalisar a reação de superóxido O<sup>2-</sup> e peróxido de hidrogênio, e assim diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol (DIETERICH et al., 2007).

A avaliação da peroxidação lipídica, mediante quantificação do MDA, foi feita em 200 µL amostras do sobrenadante dos homogenados dos tecidos adicionadas à 400 µL de solução TBARS (ácido tricloroacético 15 % e 0,375 % de ácido tiobarbitúrico, HCl 0,25 N) e mantidos em banho-maria a 90 °C por 40 minutos. Após resfriamento foi acrescentado 600 µL de álcool butílico, homogeneizado durante 2 minutos e centrifugado a 6.840 xg por 10 minutos. O sobrenadante obtido foi mensurado em espectrofotômetro a 535 nm (WALLIN et al, 1993). A concentração de MDA (unidade MDA mg<sup>-1</sup>) foi determinada por meio de curva padrão, a partir do reagente TMPO (1,1,3,3-tetramethoxypropane), nas concentrações de 0 a 4 mM).

### **3.9 Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de homogeneidade de variância com o teste Shapiro-Wilk. As médias entre grupos foram comparadas usando ANOVA seguida do teste de Tukey para os dados paramétricos ou Kruskal-Wallis para os dados não-paramétricos, com nível de significância de p < 0,05.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Consumo alimentar e peso corporal**

O consumo alimentar não apresentou diferenças significativas do grupo controle em relação aos grupos tratados com o inseticida deltametrina nas concentrações 0,1% e 0,3% (v/v) (Tabela 1).

Em relação à média da variação dos pesos corporais, o grupo Delt2 apresentou uma diminuição de peso em relação ao grupo controle ( $F_{(2,14)}=4,20$ ;  $P=0,0357$ ). O grupo Delt1 não apresentou variação de peso corporal em relação grupo controle (Tabela 1).

### **4.2 Proteína total**

As concentrações de proteína total no fígado não diferiram em nenhum dos grupos analisados ( $F_{(2,14)}=0,851$ ;  $P=0,4478$ ). Observou-se um aumento da quantidade de proteína no músculo dos dois grupos que receberam tratamento com deltametrina quando comparados ao grupo controle ( $F_{(2,14)}=9,99$ ;  $P=0,002$ ;  $DF=14$ ; Delt1 vs. Controle;  $P=0,0034$ ; Delt2 vs. Controle  $P = 0,0071$ ) (Tabela 1).

### **4.3 Lipídios totais**

As concentrações de lipídios totais do fígado nos grupos Delt1 e Delt2 foram similares quando comparados ao grupo controle ( $F_{(2,15)}=1,87$ ;  $P=0,1882$ ; Delt1  $P=0,5650$ ; Delt2  $P=0,5814$ ). Em relação aos lipídios totais dos músculos, os grupos Delt1 e Delt2 também não sofreram alterações quando comparados ao ao grupo Controle ( $F_{(2,15)} = 1,47$ ;  $P = 0,2617$ ) (Tabela 2).

### **4.4 Ácidos graxos totais da carcaça**

As concentrações de ácidos graxos totais da carcaça não apresentaram diferenças significativas do grupo controle em relação aos grupos tratados com o inseticida deltametrina nas concentrações 0,1% e 0,3% (v/v) ( $F_{(2,14)} = 1,75$ ;  $P = 0,2092$ ) (Tabela 2).



#### **4.5 Atividade das enzimas antioxidantes e do produto da peroxidação lipídica.**

A atividade da enzima antioxidante SOD no fígado de *Artibeus lituratus* expostos apresentou resultados semelhantes aos do grupo Controle ( $2,56 \pm 0,215$  U/mg proteína) quando comparado com os grupos tratados com deltametrina a 0,1% (Delt1) e 0,3% (Delt2) ( $2,47 \pm 0,167$  U/mg proteína;  $3,08 \pm 0,206$  U/mg proteína) ( $F_{(2,14)}=2,63; P=0,1073$ ). Os resultados obtidos para a atividade da enzima CAT em animais expostos também não apresentaram alterações significativas quando comparados ao grupo Controle (controle =  $0,265 \pm 0,0340$  U/mg proteína; Delt1 =  $0,238 \pm 0,00950$  U/mg proteína ; Delt2 =  $0,261 \pm 0,00389$  U/mg proteína) ( $F_{(2, 14)} = 0,465; P = 0,6374$ ) (figura 4).

Da mesma forma, os resultados referentes ao produto da peroxidação lipídica (MDA) foram similares em todos os grupos (Controle =  $0,0189 \pm 0,00261$  nmol/mg proteína; Delt1 =  $0,0124 \pm 0,00174$  nmol/mg proteína; Delt2 =  $0,0194 \pm 0,00171$  nmol/mg proteína) ( $F_{(2, 14)} = 3,57; P = 0,0560$ ) (Figura 5).

Tabela 1. Determinação da variação corporal e consumo alimentar nos grupos controle, Delt1 (0,1%) e Delt2 (0,3%).

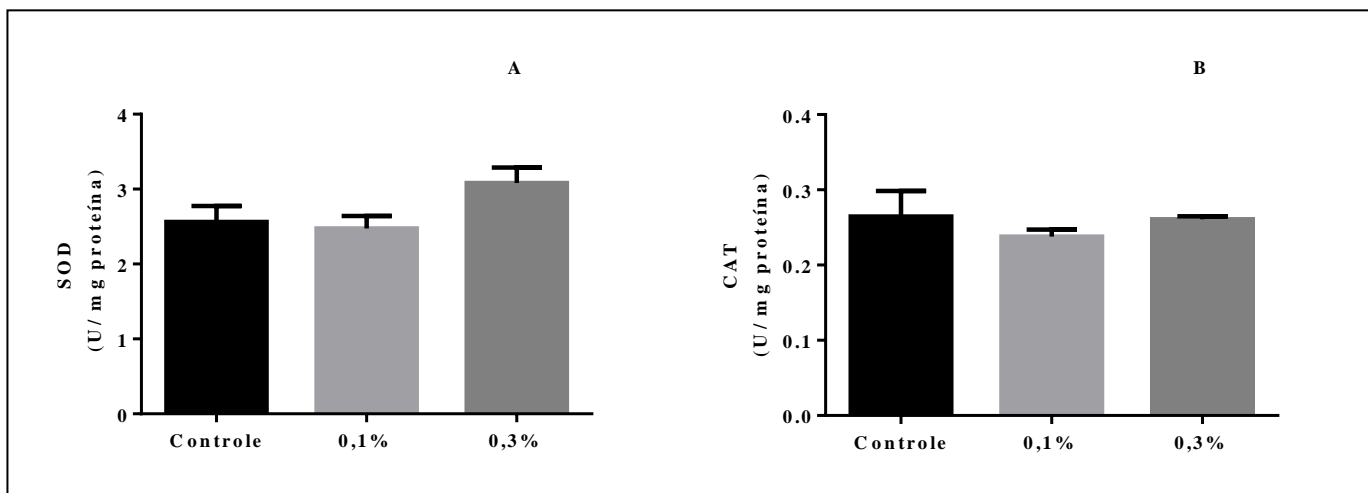
	<b>Massa corporal inicial (g)</b>	<b>Peso corporal final (g)</b>	<b>Diferença (g)</b>	<b>Alimento consumido (g)</b>	<b>Alimento Fornecido (g)</b>	<b>Sobras de alimento (%)</b>
<b>Controle</b>	69,43 ± 4,46	68,93 ± 1,30	0,05 ± 1,43	145,76 ± 13,6	234,14	37,75
<b>Delt1</b>	76,00 ± 4,46	69,37 ± 2,50	6,63 ± 3,28	111,48 ± 7,29	198,71	43,90
<b>Delt2</b>	74,25 ± 1,86	62,79 ± 4,38	11,46 ± 3,46*	104,18 ± 12,6	207,2	53,85

Média da variação do peso corporal entre o início e final do experimento; Média diária dos alimentos consumidos, fornecidos e das sobras de alimentos; No decorrer de 7 dias de experimento nos grupos controle, Delt1 (0,1%) e Delt2 (0,3%); \* diferença significativa em relação ao controle.

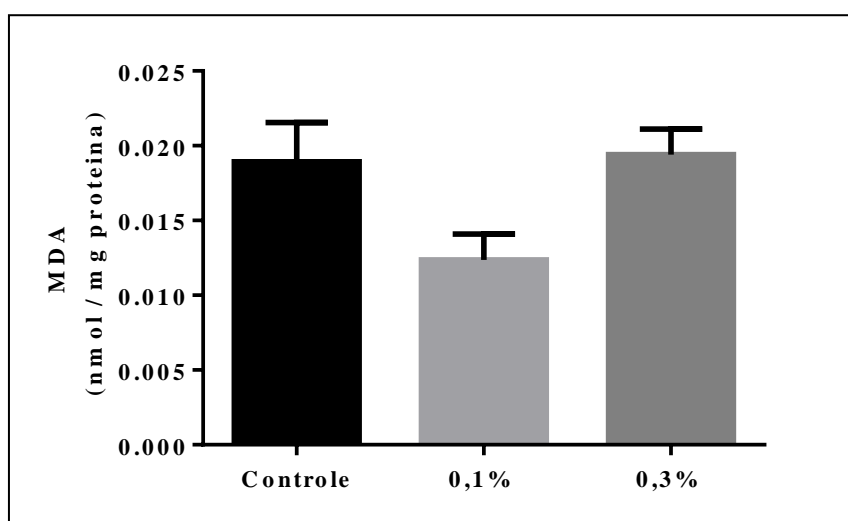
Tabela 2. Concentração proteína total, concentração de lipídios totais nos tecidos hepático e muscular e concentração de ácidos graxos da carcaça, em animais do grupo controle e em grupos expostos ao inseticida deltametrina (Delt1 0,1% e Delt2 0,3%), durante 7 dias

	<b>Proteína Total (g/mL)</b>		<b>Lipídios Totais (g/100 g)</b>		<b>Ácidos graxos da carcaça (g/mL)</b>
	<b>Fígado</b>	<b>Músculo</b>	<b>Fígado</b>	<b>Músculo</b>	<b>Carcaça</b>
<b>Controle</b>	226 ± 1,95	75,7 ± 9,77	17,6 ± 1,97	13,3 ± 1,09	0,53 ± 0,068
<b>Delt1</b>	238 ± 10,4	135 ± 11,4	20,7 ± 0,58	11,2 ± 1,11	1,16 ± 0,30
<b>Delt2</b>	241 ± 10,2	132 ± 10,8*	14,4 ± 3,62	11,2 ± 0,82	0,78 ± 0,30

\* diferença significativa em relação ao controle.



**Figura 4** – Atividade das enzimas superóxido dismutase (A) e catalase (B) (U/ mg proteína) no fígado de morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* alimentados durante 7 dias com mamão tratado com o inseticida piretroide deltametrina. Controle (sem inseticida); 0,1% (Delt1) =deltametrina g/L; 0,3% (Delt2) = deltametrina g/L.



**Figura 5** – Resultados do produto da peroxidação lipídica MDA (nmol/mg proteína) no fígado de morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* alimentados durante 7 dias com mamão tratado com o inseticida piretroide deltametrina. Controle (sem inseticida); 0,1% (Delt1) =deltametrina g/L; 0,3% (Delt2) = deltametrina g/L.

## 5. DISCUSSÃO

Agrotóxicos tem sido amplamente utilizados, se tornando um problema de ordem mundial (MAYON, 2006). Medidas de controle estão sendo adotadas para desenvolver produtos que causem menos impactos ambientais e à saúde, tanto do homem como de espécies não-alvo (EL-SHENAWY, 2010). Atualmente, os piretróides constituem o grupo de inseticidas mais amplamente utilizado nas lavouras e, em comparação com outros agrotóxicos, são considerados de baixo impacto ambiental e de baixa toxicidade em mamíferos (SANTOS ET AL., 2008). Entretanto, várias pesquisas tem demonstrado que esses compostos causam sérios efeitos tóxicos em peixes, abelhas e artrópodes aquáticos (GRISOLIA, 2005; VIRAN, 2003) e apresentam riscos a pássaros e mamíferos (SUCEN, 2015; QUEIROZ et al., 2001; NARAHASHI, 1996). Na agricultura, os piretróides tem sido utilizados para substituir o uso de agrotóxicos mais tóxicos e persistentes, como organofosforados.

No presente estudo, durante a exposição dos animais, observamos que morcegos expostos ao inseticida deltametrina apresentaram uma diminuição do peso corporal no grupo Delt2 (0,3% v/v) ao final do experimento. Estudos em ratos tratados com o mesmo agrotóxico, em baixas e altas doses por 45 dias (0,003, 0,03, e 0,3 mg/kg/dia) ou 90 dias (1,02, 2,56 e 6,40 mg/kg/dia) também reportaram perda de peso em animais expostos (XU et al., 2015; CHARGUI et al., 2012). Em relação às reservas energéticas analisadas, as concentrações hepáticas de proteínas não apresentaram alterações em decorrência da exposição à deltametrina. No entanto, no músculo peitoral, houve aumento da concentração proteica em ambos os grupos tratados (Delt1 e Delt2). Estudos relacionados com alterações metabólicas induzidas por agrotóxicos, como os organofosforados, demonstraram que os animais apresentam um quadro de hiperglicemia (KUMAR et al., 2009; RAHIMI et al., 2007), sendo esse um sintoma típico da toxidez por agrotóxicos.

O principal efeito toxicológico dos organofosforados ocorre de maneira semelhante ao dos piretróides, levando a uma hiperexcitabilidade do sistema nervoso central (SNC) e, com isso, afeta a regulação do metabolismo da glicose (RAY et al., 2012), conforme demonstrado por Cremer et al. (1985) em ratos expostos a piretróides. Essas mesmas alterações no metabolismo de glicose foram, também, verificadas em trabalhadores rurais expostos ao piretróide deltametrina, com aumento de 50% na prevalência de regulação da glicose anormal em comparação com aqueles não expostos (WANG, 2011).

Uma das possibilidades que explicaria o aumento observado das concentrações proteicas observadas seria uma possível hiperglicemia induzida pela deltametrina. Portanto, seria interessante dosar também as concentrações de glicose na circulação sanguínea de animais expostos, a fim de se verificar esta possibilidade.

Em geral, os resultados do presente estudo não revelaram alterações significativas em padrões metabólicos importantes, como o de ácidos graxos da carcaça e lipídios totais em tecido hepático e muscular, nos dois grupos tratados com o inseticida deltametrina. Em outros estudos realizados com os inseticidas fentiona e epinosina, em morcegos frugívoros, também não foram observadas alterações das concentrações de lipídios totais do tecido hepático e muscular, durante um tratamento de 7 e de 30 dias de exposição (AMARAL, 2012). Outro estudo, também realizado com morcegos frugívoros expostos ao agrotóxico endosulfan durante um período de 35 dias, observou que os animais não apresentaram alterações nos lipídios totais do músculo peitoral e patas posteriores, porém foi observado um aumento significativo dos lipídios totais em tecido hepático (BRINATI, 2011). Os diferentes resultados encontrados podem estar relacionados ao fato do tempo de exposição não ser o mesmo, bem como o agrotóxico utilizado e suas diferentes doses.

Embora os parâmetros metabólicos avaliados não tenham sofrido alterações, sugere-se que outros mecanismos relacionados aos carboidratos possam ser avaliados, uma vez que estudos realizados com piretróides do tipo I e II, durante 60 dias de exposição, reportaram nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, dano oxidativo e alterações do metabolismo energético, incluindo um aumento da taxa de glicólise anaeróbica, aumento da oxidação de ácidos graxos (LIANG, 2013).

Alterações metabólicas envolvem, também, a capacidade antioxidante em mamíferos. Em condições normais, o corpo produz antioxidantes (enzimáticos e não-enzimáticos) capazes de manter um balanço entre a produção e consumo de ROS e, assim, prevenir o estresse oxidativo e danos celulares (GENESTRA, 2007; HERMES-LIMA, 2004; DROGE, 2002). Esses danos envolvem a oxidação dos lipídios, danos às proteínas e ao DNA, podendo causar morte celular (GENESTRA, 2007; DROGE, 2002). Fatores exógenos também podem desencadear o estresse oxidativo, como a exposição a radiação, fumo, metais, poluentes ambientais e pesticidas (LIMÓN-PACHECO et al., 2009; ABDOLLAHI et al., 2004).

Estudos realizados com o inseticida deltametrina em determinadas concentrações (1,28 e 44,5 mg/kg/dia; 5,0 e 35,0 mg/kg/dia) mostraram que este agrotóxico pode induzir

a produção de ROS (DUBEY et al., 2013; TUZMEN et al., 2008). Mecanismos de defesa enzimáticos, como as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) atuam no combate as ROS. Em um primeiro momento ocorre um aumento da atividade enzimática de SOD e CAT indicando que estas enzimas estão atuando na proteção contra as ROS, protegendo dos danos oxidativos que podem ser causados pelo excesso de ROS no organismo. Em situações de estresse mais severo, no entanto, ocorre decréscimo na atividade dessas enzimas, as quais estariam sendo inibidas pelo aumento na concentração de ROS e, assim, não conseguem combater o excesso de produção de ROS, podendo levar ao estresse oxidativo (ORUC, 2012).

A capacidade antioxidante tem sido frequentemente utilizada como bioindicador de toxicidade por contaminantes (AMIN et al, 2012; ADBOLLABI, 2004). Por este motivo, nós investigamos o efeito da formulação comercial do inseticida piretróide deltametrina na capacidade antioxidante do tecido hepático, em morcegos frugívoros *Artibeus lituratus*. Os resultados esperados seriam encontrar uma diminuição da atividade enzimática de SOD e CAT conforme reportado por estudos realizados com o mesmo inseticida (XU, et al., 2015; DUBEY et al., 2013; TUZMEN et al., 2008).

No presente estudo, as doses de inseticida utilizadas e o tempo de exposição de 7 dias estudados não alteraram a atividade antioxidante das enzimas SOD e CAT no fígado dos morcegos tratados nas dosagens de 0,1% e 0,3% (v/v) no tecido hepático de morcegos frugívoros *Artibeus lituratus*. Diferentemente do encontrado na literatura onde morcegos frugívoros quando expostos a diferentes doses do inseticida endosulfan durante 35 dias, apresentaram diminuição na atividade das enzimas SOD e CAT em tecido hepático (OLIVEIRA et al., 2013). Estudos realizados com ratos tratados com deltametrina também apresentaram diminuição das enzimas SOD e CAT após 28 dias de tratamento, com diferentes concentrações quando comparados ao controle (DUBEY et al., 2013). Resultados semelhantes foram encontrados em estudos realizados em tecido hepático de ratos durante 16 semanas de tratamento com o mesmo inseticida em doses baixas e altas (5,0 mg/kg/dia e 35,0 mg/kg/dia) (TUZMEN et al., 2008). Em estudos realizados com baixas doses (1,02 mg/kg/dia) em ratos durante 90 dias de tratamento foi observada uma diminuição na atividade da SOD em tecido hepático, porém, não houve alterações na atividade enzimática da CAT (XU, et al., 2015). As alterações da atividade dessas enzimas podem ser dependentes da dose e do tempo de exposição, bem como do tecido estudado (ABARIKWU et al., 2010) o que justifica os resultados encontrados pelos nossos estudos.

Os produtos da peroxidação lipídica (MDA) no fígado dos morcegos tratados com o inseticida deltametrina nas doses 0,1% e 0,3% (v/v) não diferiram do grupo controle, da mesma forma que os resultados encontrados para ratos tratados com baixas, médias e altas doses (1,02, 2,56, e 6,40 mg/kg/dia) do mesmo inseticida em um período de 90 dias (XU et al., 2015). Este aumento na concentração de MDA também foi observado em ratos, quando expostos a 45 dias (0,3 mg/kg/dia) (CHARGUI et al, 2012) e 30 dias (MANNA et al., 2005) de tratamento com deltametrina. Acredita-se que estes aumentos podem ter sido causados pela oxidação da membrana plasmática mediada por toxicidade das ROS causadas pelo pesticida (CLASEN et al., 2012; ORUC, 2012).

Tomados em conjunto, nossos resultados indicam que o inseticida piretróide deltametrina, nas concentrações testadas, de 0,1% e 0,3% (v/v), em solução preparada e borrifada em frutas oferecidas aos morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* (OLFERS, 1818), em um período agudo de 7 dias, não provocou alterações metabólicas nas concentrações de ácidos graxos da carcaça, lipídios totais do tecido hepático e muscular, bem como alterações na atividade enzimática das enzimas SOD e CAT, e do produto da peroxidação lipídica relacionados ao estresse oxidativo. De acordo com os dados encontrados na literatura, acredita-se que o fato de não encontrarmos alterações nestas análises se justifica pelo baixo tempo de exposição, pelas baixas concentrações testadas e pelo fato de testarmos a ação deste pesticida da forma pelo qual os animais estariam expostos a ele na natureza. Em função do fato de que a exposição à deltametrina, em condições naturais, ser potencialmente crônica, ou seja, o animal no campo está potencialmente exposto a pesticidas durante todo o tempo de vida, faz-se necessário outros estudos abrangendo uma combinação com outros pesticidas e um maior tempo de exposição para verificar possíveis danos toxicológicos causados pelo inseticida deltametrina, bem como estudos em diferentes órgãos.

## 6. CONCLUSÃO

Após a avaliação do impacto da exposição ao piretróide deltametrina nas concentrações 0,1% (dose ambiental permitida) e 0,3% (dose 3 vezes acima da dose comercial recomendada) (v/v) em morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* (OLFERS, 1818), em condições ecologicamente relevantes e durante um período agudo de 7 dias, verificou-se ausência de maiores alterações nas reservas energéticas como: ácidos graxos da carcaça e lipídios totais do tecido hepático e muscular. As atividades das enzimas indicadoras de estresse oxidativo, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e o produto da peroxidação lipídica malondialdeído (MDA), também permaneceram inalterados após a exposição aguda ao inseticida. Estudos mais abrangentes, incluindo a exposição crônica ao pesticida, mais fiéis à realidade enfrentada pelos animais na natureza (exposição contínua por todo o período de vida do animal) são necessários para uma melhor avaliação dos efeitos deste inseticida em espécies silvestres não-alvo.



## 7. REFERÊNCIAS

ABARIKWU, S.O.; ADESIYAN, A.C.; OYELOJA, T.O.; OYEYEMI, M.O.; FAROMBI, E.O. Changes in sperm characteristics and induction of oxidative stress in the testis and epididymis of experimental rats by an herbicide, atrazine. *Archives Environmental Contamination. Toxicology*. 58: 874 - 882. 2010.

ABDOLLAHI, M., A. RANJBAR, S. SHADNIA, S. NIKFAR AND A. REZAEI. Pesticides and oxidative stress: A review. *Medical Science Monitor*. 10: 141 - 147. 2004.

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*. 105: 121 - 126. 1984.

AMARAL, T.S.; CARVALHO, T.F.; SILVA, M.C.; GOULART, L.S.; BARROS, M.S.; PICANÇO, M.C.; NEVES, C. A.; FREITAS, M. B. Metabolic and histopathological alterations in the fruit-eating bat *Artibeus lituratus* induced by the organophosphorous pesticide fenthion. *Acta Chiropterologica*. 14: 225 - 232. 2012.

AMIN, K.A.; HASHEM, K.S. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *Veterinary Research*. 8: 45. 2012.

ANDRADE JÚNIOR, D.R.; DE SOUZA, R.B.; SANTOS, S.A.; ANDRADE, D.R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 31: 60 - 68. 2005.

ANDREI, E. *Compêndio de defensivos agrícolas*. São Paulo 7.ed. 2005.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/9446f78047458c8895a3d53fbc4c6735/D06++Deltametrina.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 21 set. 2014.

AVILEZ, I.M.; HORI, T.S.F.; ALMEIDA, L.C.; HACKBARTH, A.; BASTOS, N.J.C.; BASTOS, V.L.F.C.; MORAES G. Effects of phenol in antioxidant metabolism in

matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**. 148: 136 - 142. 2008.

BRADBERRY, S. M.; CAGE, S. A.; PROUDFOOT, A. T.; VALE, J. A. Poisoning due to Pyrethroids. **Toxicological Reviews**. 24: 93 – 106. 2005.

BRINATI, A. **Efeitos toxicológicos do inseticida endossulfan sobre o metabolismo energético de morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* e análise do bioacúmulo no tecido adiposo e hepático**. Dissertação (Mestrando em Biologia Animal), Universidade Federal de Viçosa (MG). 2011.

BUEGE, J.A. AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation methods. **Enzymology**. 52: 302 – 310 p. 1978.

CHANDRAN, R.; SIVAKUMAR, A.A.; MOHANDASS, S.; ARUCHAMI, M. 2005. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**. 140: 422 - 426. 2005.

CHARGUI, I.; GRISSA, I.; BENSASSI, F.; HRIRA M.Y.; HAOUEM, S.; HAOUAS, Z.; BENCHEIKH H. Oxidative Stress, Biochemical and Histopathological Alterations in the Liver and Kidney of Female Rats Exposed to Low Doses of Deltamethrin (DM): A Molecular Assessment. **Biomedical and Environmental Sciences**. 25: 672 - 683. 2012.

CLASEN, B.; LORO, V. L.; CATTANEO, R.; MORAES, B.; LÓPES, T.; AVILA, L. A.; ZANELLA, R.; REIMCHE, G. B.; BALDISSEROTTO, B. Effects of the commercial formulation containing fipronil on the non-target organism *Cyprinus carpio*: Implications for rice-fish cultivation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 77: 45 - 51. 2012.

COGO, A.J.D.; SIQUEIRA, A.F.; RAMOS, A.C.; CRUZ, Z.M.A.; SILVA, A.G. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza On line**. 7: 37-42. 2009.

CREMER, J.E.; SEVILLE, M.P. Changes in regional cerebral blood flow and glucose metabolism associated with symptoms of pyrethroid toxicity. **Neurotoxicology**. 6:1 - 12. 1985.

DARNELL, J.E.; LODISH, H.F.; BALTIMORE, D. **Molecular Cell Biology**. 2.ed. New York: Scientific American Books, 1990. 1105 p.

DIETERICH, S., BIELIGK, U., BEULICH, K., HASENFUSS, G., PRESTLE, J. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**. 101: 33-9. 2000.

DOUGLAS, C. R. **Tratado de Fisiologia Aplicada a Nutrição**. São Paulo: Ed. Robe, 2002. 1046 p.

DRIESCH, V.; ROY, G.; BELLOWS, J.R.; THOMAS S. **Biological Control**. New York, Ed. Champman & Hall, 1996. 539 p.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**. 82: 47 - 95. 2002.

DUBEY, N.; KHAN, A.M.; RAINA, R. Sub-acute deltamethrin and fluoride toxicity induced hepatic. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 91: 334 - 338. 2013.

EISENBERG, J.F.; REDFORD, K.H. **Mammals of the Neotropics: The Central Neotropics**. Chicago: The University of Chicago Press. Vol 3. 1999.

EL-SHENAWY, N.S. Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. **Toxicology in Vitro**. 24: 1148 - 1157. 2010.

FENTON, M.B.; ACHARY, L.; AUDET, D.; HICKEY, M.B.C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M.K.; SYME, D.M. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as

indicators of habitat disruption in the Neotropics. **Biotropica**. Washington. 24: 440 - 446. 1992.

FISCHER, W.A; FISCHER, E.A. Comportamento social e reprodutivo do morcego-cara-branca, *Artibeus lituratus*. **Ecologia e Preservação De Uma Floresta Tropical Urbana**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas. 1995. 106 - 110 p.

FOLCH, J.; LESS, M.; SLORNE STANLEY, G. H. A. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **Journal of Biological Chemistry**. 226: 497. 1957.

GANONG, W.F. **Review of Medical Physiology**. Prentice - Hall Inc. 17 ed.1995.

GARCIA, Q.S.; REZENDE, J.L.P.; AGUIAR, L.M.S. Seed dispersal by bats in a disturbed area of southeastern Brazil. **International Journal of Tropical Biology and Conservation**. 48: 125 - 128. 2000.

GENESTRA, M. Oxyl radicals, redox-sensitive signaling cascades and antioxidants: **Review Cellular Signaling**. 19: 1807 - 1819. 2007.

GLEESON, M. Basic metabolism: fats. **Surgery**. 23: 83 - 88. 2005.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. Brasília, DF: Universidade de Brasília. 2005. 392 p

HABIG, W. H., PABST, M. J., JAKOBY, W.B. Glutathione S-Transferases: The First Enzymatic Step In Mercapturic Acid Formation. **The Journal of Biological Chemistry**. 249 (22): 7130-7139. 1974.

HERMES-LIMA, M. **Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals**. In: Storey, Kenneth B (Ed.). **Functional Metabolism: Regulation and Adaptation**. John Wiley & Sons. 2000. 319- 368.

JÉQUIER, E. Carbohydrates as a source of energy. **American Journal of Clinical Nutrition**. 59: 682S- 685S. 1994.

KUMAR, A.; JOSHI, R.; RAJINI, P.S. Reversible hyperglycemia in rats following acute exposure to acephate, an organophosphorus insecticide: Role of gluconeogenesis. **Toxicology**. 257: 40 – 45. 2009.

KUNZ, T.H.; PIERSON, E.D. **Bats of the World: an introduction**. 1-46. In: R.W. NOWAK (Ed.). Walker's bats of the World. Baltimore, The Johns Hopkins University Press. 1994. 287 p.

LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. São Paulo. Editora Manole. 1999. 230 p.

LASKOWSKI, D.A. Physical and chemical properties of pyrethroids. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. 174: 49 - 170. 2002.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3.ed. São Paulo: Sarvier. 2002. 134 - 195.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M.E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. **Mutation Research**. 674: 137-147.2009.

LOWRY O.H.; ROSEBROUGH N.J; FARR A.L.; RANDALL R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. 193(1):265-75. 1951.

MANNA, S.; BHATTACHARYYA, D.; MANDAL, T.K.; DAS, S. Repeated dose toxicity of deltamethrin in rats. **Indian Journal of Pharmacology**. 37: 160 - 4. 2005.

MAUGHAN, R. Basic metabolism II: carbohydrate. **The Medicine Publishing Company Ltda**. 23: 154-158. 2005.

MAYES, P. A. Biologic oxidation. In: Murray, R. K.; Granner D. K; Mayes P. A.; RODWELL V. W. (Ed.). **Harper's Biochemistry**. San Mateo, Appleton & Lange. 1990. 105 - 111.

MAYON, M.; BERTRAND, A.; LEROY, D.; MALBROUCK, C.; MANDIKI, S. N. M.; SILVESTRE, F.; GOFFART, A.; THOMÉ, J-P.; KESTEMONT, P. Multiscale approach of fish responses to different types of environmental contaminations: a case study. **Science of the Total Environment**. 367: 715 - 731. 2006.

MEDELLIN, R.A.; GOANA, O. Seed dispersal by bats and birds in forest and disturbed habitats of Chiapas. **Biotropica**. 31: 478 - 485. 1999.

MENEZES-JR., L.F; DUARTE, A.C.; NOVAES, R.L.M.; FAÇANHA, A.C.; PARACCHI, A.L.; COSTA, L.M.; PRATA, A . F.D.; ESBÉRARD, C.E.L. Deslocamento de *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (Mammalia, Chiroptera) entre ilhas e continente no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Biota Neotropical**. 8: 243 - 245. 2008.

NARAHASHI, T. Neuronal ion channel as the target sites of insecticides. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 79: 1 - 14. 1996.

NORDLIE, R. C.; FOSTER, J. D.; LANGE, A. J. Regulation of glucose production by the liver. **Annual Review of Nutrition**. 19: 379 - 406. 1999.

OLIVEIRA, J.M. **Exposição crônica a baixas concentrações do inseticida endossulfan altera a capacidade antioxidante de morcegos frugívoros (*Artibeus lituratus*, OLFERS, 1818)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal), Universidade Federal de Viçosa (MG). 2013.

OLIVEIRA-SILVA, J.J.; ALVES, S.R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P.N.; MATTOS, R.C.O.C.; MOREIRA, J.C. Influência de fatores socioeconômico na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. 35:130 - 135. 2001.

ORUC, E. Oxidative Stress Responses and Recovery Patterns in the Liver of *Oreochromis niloticus* exposed to Chlorpyrifos-Ethyl. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 88:678 - 684. 2012.

PASSOS, F.C., GRACIOLLI, G. Observação da dieta de *Artibeus lituratus* (Olfers) (Chiroptera, Phyllostomidae) em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. 21: 487 - 489. 2004.

PIMPÃO, C.T. **Avaliação aguda dos efeitos toxicológicos da deltametrina em uma espécie de peixe fluvial nativo: estudo bioquímico e imunotóxico**. Curitiba: UFPR. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos). Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. 2006.

POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. Mensuração do Trabalho, da Potência e do Gasto Energético. In: POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. **Fisiologia do Exercício: Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. São Paulo: Manole. 2000. 527 p.

QUEIROZ, S.C.N.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**. 24: 68 - 76. 2001.

RAHIMI, R.; ABDOLLAHI, M. A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 88: 115 - 121. 2007.

RAY, P.D.; HUANG, B.W.; TSUJI, Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. **Cellular Signalling**. 24: 981 - 990. 2012.

REIS, N.R.; PERACCHI, A . L.; PEDRO, W. A .; LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**. Londrina. 2007. 253 p.

ROSS, D.; MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. **Membrane lipid oxidation**. 2: 151 - 170. 1991.

SANTOS, M.A.T.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R. Piretróides – uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**. 18: 339 - 349. 2008.

SATHANANDAM, S.A.; JAMES, V.B.; WENDY, T.H.; SRINIVASA, M.; JEFREY, W.F.; STEPHANIE, P. Characterization of deltamethrin metabolism by rat plasma and liver microsomes. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 156 - 166. 2006.

SJÖRGREN, B.; NOERDENSJÖLD, T.; HOLMGREEN, H. MOLLERSTROM, J. BEITRAGZUR KENNTNIS DER LEBERRHYTHMIK. Glycogen, Phosphor und Calcium in der Kaninchenleber. **Pflügers Archiv European Journal of Physiology**. 240 (4): 427-448. 1938.

STAHLSCHEMIDT, P.; BRÜHL, C.A. Bats at risk? Bat and insecticide residue analysis of food items in an apple orchard. **Environmental Toxicology and Chemistry**. 31: 1556 - 63. 2012.

SILVERMAN, L.M., CHRISTENSON, R.H. Aminoácidos e proteínas. In: BURTIS,C.A.; ASHWOOD, C. R. **Tiretz: Fundamentos de Química Clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.1998. 18: 234 - 274.

SINDIVEG - **Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal**. Disponível em: <<http://www.sindiveg.org.br/noticia.php?ed=1&cod=2373>>. Acesso em: 22 set. 2014.

SINGH, P.B.; SINGH, V.; NAYAK, P.K. Pesticide residues and reproductive dysfunction in different vertebrates from north India. **Food and Chemical Toxicology**. 46: 2533-2539. 2008.

SOARES, E.A. Manejo nutricional no exercício físico. **Revista Nutrição em Pauta**. 3: 49 - 48, 2001.



SODERLUND, D.M.; CLARK, J.M.; SHEETS, L.P.; MULLIN, L.S.; PICCIRILLO, V.J.; SARGENT, D.; STEVENS, J.T.; WEINER, M.L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**. 171: 3 - 59. 2002.

SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; LUCHINI, L.C.; ANDRÉA, M.M. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: Princípios e recomendações. Embrapa. Jaguariúna, SP. **Embrapa Meio Ambiente**. Documentos 42. 2004.

SUCEN - **SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS**. Disponível em: <<http://www.sucen.sp.gov.br/docstec/seguranca/cap12cla.pdf>>. Acesso em: 28 mar. 2015.

TIMM, R.M. Ecology and natural history of a neotropical rain forest. Chicago, University of Chicago Press. **The Mammal Fauna**. 229 - 237. 1994.

TUZMEN, N.; CANDAN, N.; KAIA, E.; DEMIRYAS, N. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. **Cell Biochemistry and Function**. 26: 119 - 124. 2008.

VELISEK, J.; JURCIKOVÁ, J.; DOBSIKOVÁ, R.; SVOBODOVÁ, Z.; PIACKOVÁ, V.; MÁCHOVÁ, J.; NOVOTNY, L. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**. 23: 297 - 301. 2007.

VIRAN, R.; ERKOC, F.U.; POLAT, H.; KOCAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 55: 82 - 85. 2003.

VIZZOTTO, L. D., TADDEI V. **Chave para determinação de Quirópteros brasileiros**. São José do Rio Preto. 1973. 72p.

XU, M.Y.; WANGA, P.; SUNA, Y.J.; WANGA, H.P.; LIANGA, Y.J.; ZUA, L.; WU, Y.J. Redox status in liver of rats following subchronic exposure to the combination of low dose dichlorvos and deltamethrin. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 124: 60 - 65. 2015.

WANG, J.; ZHU, Y.;CAI, X.; YU, J.; YANG, X.; CHENG, J. Abnormal glucose regulation in pyrethroid pesticide factory workers. **Chemosphere**. 82: 1080 - 1082. 2011.