



ECOTOX – Brazil

J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 5, n. 2-3, 2010, 1-13
doi: 10.5132/jbse.2010.02.012

JBSE

Toxicidade do Inseticida Organofosforado Abate® em Alevinos de *Poecilia reticulata*

L. Z. CRIVELANTI^{1*}, L. C. GUILHERME³, S. MORELLI² & S. BORIN¹

¹Universidade Estadual Paulista – UNESP, Av. Pedro Marques, 235, Jardim Universitário,
CEP 14882-222, Jaboticabal – SP, Brasil

²Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, MG, Brasil

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

(Received December 1, 2009; Accepted August 6, 2010)

RESUMO

O praguicida Abate®, que contém 1% do inseticida organofosforado temefós, é, utilizado no controle químico das larvas do mosquito da dengue pelos centros de controle de zoonoses. Devido às escassas informações disponíveis sobre seu impacto no ambiente aquático, objetivou-se avaliar o efeito do Abate® na sobrevivência de alevinos de *Poecilia reticulata*, peixe larvófago que promove o controle biológico das larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Para estimar o tempo que era letal para 50% dos organismos expostos (TL₅₀) o delineamento experimental utilizou cinco tratamentos (0,0; 0,375; 0,5; 0,625 e 0,75 mg.L⁻¹ de Abate®) com nove réplicas cada. Concluiu-se que concentrações iguais ou superiores a 0,375 mg.L⁻¹ de Abate® são letais a alevinos de *P. reticulata*. O TL₅₀ estimado na morte da 2ª larva foi de 239 ± 41 minutos (coeficiente de variação: 17,32%) no tratamento com 0,75 mg.L⁻¹ e 401 ± 104 minutos (coeficiente de variação: 25,91%) na menor concentração utilizada (0,375 mg.L⁻¹). Verificou-se que mesmo em água limpa houve mortalidade dos alevinos sobreviventes à exposição ao inseticida, indicando um possível efeito residual.

Palavras-chave: Praguicida organofosforado, *Poecilia reticulata*, TL₅₀.

ABSTRACT

Toxicity of Organophosphate Insecticide Abate® to Larvae of *Poecilia reticulata*

The pesticide Abate®, which contains 1% of organophosphate temephos as active ingredient, has been used to control the larva of the mosquito responsible for dengue. However, little information is available about the impact of this pesticide in the aquatic environment. This study evaluated the effect of the Abate® on the survival of larvae of *Poecilia reticulata*, a larvivorous fish that serves as biological control of *Aedes aegypti*. In order to estimate the lethal time for 50% of exposed larvae (LT₅₀), the organisms were exposed to five treatments (0.0; 0.375; 0.5; 0.625 and 0.750 mg.L⁻¹ of Abate®) with nine replicates each. Concentrations equal or higher than 0.375 mg.L⁻¹ of Abate® showed to be lethal to larvae of *P. reticulata*. LT₅₀ was estimated for the 2nd larvae was 239 ± 41 minutes for a concentration of 0.750 mg.L⁻¹ and 401 ± 104 minutes for 0.375mg.L⁻¹. In addition, larvae that survived to the Abate® exposure presented mortality after transference to clean water, indicating a possible residual effect of the insecticide.

Keywords: Organophosphorus pesticides, *Poecilia reticulata*, LT₅₀.

* Corresponding author: Leandro Zuccolotto Crivelenti; e-mail: crivelenti_lz@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* pertence à família Culicidae, é o responsável pela transmissão da dengue no Brasil. Apresenta hábito doméstico, antropofílico e com atividade hematofágica diurna. As fêmeas, após alimentarem-se de sangue, põem de 300 a 750 ovos em intervalos de 4-5 dias, apresentando acentuada preferência por recipientes contendo água relativamente limpa, embora tenham sido observadas também em ambientes poluídos (Fajardo *et al.*, 2001; Rey, 2001; Tauil, 2002; Forattini & Brito, 2003; Moraes *et al.*, 2004).

O praguicida Abate® contém como ingrediente ativo o inseticida organofosforado temefós numa concentração de 10 g.kg⁻¹ do produto. Pertencente ao grupo de compostos químicos amplamente utilizados em agropecuária como inseticidas, é usado como a principal estratégia para o controle das larvas do mosquito *A. aegypti*. Esporadicamente ocasionam intoxicações acidentais em animais e humanos, que resultam em insuficiência cardiorrespiratória e comprometimento do sistema nervoso autônomo por meio da inibição de algumas enzimas, principalmente a acetilcolinesterase, exacerbando os efeitos do neurotransmissor acetilcolina (Cavaliere *et al.*, 1996; Hamm *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 2004).

Observou-se nos últimos anos a necessidade de dosagens cada vez mais altas de Temefós para o controle do *A. aegypti*, demonstrando resistência das larvas de mosquitos coletadas em várias cidades (Carvalho *et al.*, 2004). Esse fato destaca a necessidade de que alternativas biológicas devam ser consideradas em programas de controle de vetores da dengue, visto poderem superar os problemas de resistência e eliminação, bem como proporcionar ausência do efeito residual das aplicações de larvicidas (Brancco *et al.*, 1997) e menor custo (Kusumawathiea *et al.*, 2008).

Controles biológicos utilizando copépodos *Mesocyclops longisetus var. longisetus* (Santos & Andrade, 1997) e bactérias Vectobac 12 AS e Teknar 3000 (*Bacillus thuringiensis israelensis*) (Ruas-Neto *et al.*, 1994; Polanczyk *et al.*, 2003) foram utilizados com sucesso no combate às larvas de *Aedes* spp.

Uma alternativa biológica para controle da dengue é a utilização do peixe lebiste, também conhecido por guppy ou barrigudinho, pertencente à família dos Poecilídeos e encontrado nas bacias brasileiras e na América Central (Pereira, 1979). A espécie mais comum é a *Poecilia reticulata* que são larvófagos e seu pequeno porte, rusticidade, prolificidade e baixa exigência de oxigênio permitem-lhes sobreviver em pequenos reservatórios (Cruz, 1946). Nos rios e em condições experimentais o lebiste mostrou-se um excelente predador de larvas de *Aedes aegypti* (Garces *et al.*, 1988; Kusumawathiea *et al.*, 2008), com baixo custo de manutenção quando comparado ao controle químico com temefós (Kusumawathiea *et al.*, 2008). No entanto, fazem-se necessárias avaliações sobre o impacto do uso concomitante do agente químico e biológico, a fim de avaliar prováveis prejuízos à sobrevivência deste último. Dessa forma, buscou-se com este trabalho avaliar a influência de diversas concentrações de Abate® (com temefós como princípio ativo) na sobrevivência de alevinos de *Poecilia reticulata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se a captura de matrizes de *Poecilia reticulata* no córrego Santa Luzia em Uberlândia – MG (18° 56' 27" S – 048° 14' 11" O), as quais foram transportadas para o Laboratório de Citogenética Animal do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia – UFU. Foram mantidas em aquários, cujas condições da água permaneceram adequadas à espécie e, após parirem, foram selecionadas as larvas de lebiste que compuseram os grupos experimentais.

O delineamento experimental utilizou cinco tratamentos com nove repetições cada. Estes foram distribuídos de acordo com as concentrações nominais do praguicida comercial Abate® correspondentes a: T1 = 0,0 mg.L⁻¹ (Controle); T2 = 0,375 mg.L⁻¹; T3 = 0,5 mg.L⁻¹; T4 = 0,625 mg.L⁻¹ e T5 = 0,75 mg.L⁻¹. Ou seja, essas concentrações são equivalentes a 3,75, 5,0, 6,25 e 7,5 µg.L⁻¹ de temefós, respectivamente. Essa dose foi estipulada a partir da dose 1 mg.L⁻¹ normalmente utilizada em lagos artificiais e lagos no Centro de Controle de Zoonoses de Uberlândia.

Após aclimação, foram distribuídos quatro alevinos por tratamento, em nove repetições, em recipientes contendo 100 mL de água com pH 7,2, amônia/amônio menor que 0,05 g.L⁻¹ e temperatura média 26,3 °C.

O tempo de experimentação foi de 36 horas compreendendo o tempo de letalidade média (TL₅₀) e avaliação da sobrevivência posterior a exposição. Foram anotadas os tempos decorridos da morte do primeiro e segundo alevino em cada repetição e calculados os tempos de letalidade média (TL₅₀). E na tentativa de avaliar efeitos residuais do praguicida, nos alevinos sobreviventes, esses foram mantidos em água limpa e observados durante 24 horas.

As médias obtidas dentro de cada grupo estudado foram comparadas pela análise de variância de via única e, posteriormente, avaliadas pelo Teste Tukey, onde valores de *p* inferiores ou iguais a 0,05 foram considerados significativos. Ademais, para análise dos sobreviventes, foi utilizada a tabela de contingência pelo teste de Fisher.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A morte do primeiro alevino ocorreu mais rapidamente no T5 (217 ± 28,2 minutos) e mais tardiamente no T2 (383 ± 107,5 minutos), sendo respectivamente a maior e a menor concentração nominal testada de Abate®. A média de tempo necessária para se atingir a TL₅₀, ou seja, a morte da segunda larva, nos conjuntos de tratamentos T2 e T3, assim como T3 e T4 apresentaram-se semelhantes, sendo que todos os tratamentos apresentaram médias de mortalidade diferentes (*p* < 0,001) do grupo controle (T1) (Tabela 1).

Verificou-se que concentrações iguais ou superiores a 0,375 mg.L⁻¹ de Abate® foram capazes de provocar a morte de 50% dos alevinos de *P. reticulata*, embora trabalhos que objetivaram estimar valores de CL₅₀ não terem demonstrado mortalidade tanto de lebistes (Selvi *et al.*, 2004), quanto de *Tilapia melanopleura* (Anadu *et al.*, 1996) expostas à 1 e 3 mg.L⁻¹ de Abate®, respectivamente. Sendo assim, o uso da TL₅₀ auxiliou na diferenciação da toxicidade dos tratamentos, pois além

Tabela 1 – Tempo médio (\pm desvio padrão), intervalo de confiança (em minutos) e coeficiente de variação das médias (em %) decorrido para se atingir a TL_{50} de *P. reticulata* expostos aos diferentes tratamentos com Abate®.

Tratamentos	T1*	T2	T3	T4	T5
Tempo da morte (minuto)	(Controle)	(0,375 mg.L ⁻¹)	(0,5 mg.L ⁻¹)	(0,625 mg.L ⁻¹)	(0,75 mg.L ⁻¹)
Primeiro alevino		383 \pm 107,5 (a)**	335 \pm 112,4 (a)	252 \pm 115,5 (b)	217 \pm 28,2 (b)
IC (95%) limite superior	-	466,1	421,8	335,5	239,2
IC (95%) limite inferior	-	300,8	248,9	163,8	195,7
Coeficiente de variação	-	28,03%	33,54%	26,54%	12,99%
Segundo alevino		401 \pm 104 (a)	376 \pm 82,6 (ab)	335 \pm 82,5 (b)	239 \pm 41,5 (c)
IC (95%) limite superior	-	481,7	440,3	398,5	271,8
IC (95%) limite inferior	-	321,7	313,2	271,7	208,0
Coeficiente de variação	-	25,91%	21,94%	24,63%	17,32%

*O tratamento T1 (Controle) não apresentou mortalidade;**As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de 5%.

Tabela 2 – Sobrevivência dos alevinos de *P. reticulata* em água limpa por 24 horas após a retirada dos alevinos do recipiente contendo Abate®.

Tratamentos	T1*	T2	T3	T4	T5
Resposta	(0,0 mg.L ⁻¹)	(0,375 mg.L ⁻¹)	(0,5 mg.L ⁻¹)	(0,625 mg.L ⁻¹)	(0,75 mg.L ⁻¹)
Nº de sobreviventes	18 (a)**	18 (a)	16 (a)	16 (a)	10 (b)
Mortos	0 (a)	0 (a)	2 (a)	2 (a)	8 (ab)
p	-	-	0,48	0,48	0,002
Coeficiente de variação	-	-	19,4%	19,4%	36,1%

* Para mimetizar o estresse e manuseio realizado em cada repetição, somente dois peixes foram retirados do recipiente Controle (T1), ficando 2 alevinos em 9 repetições (total de 18 alevinos). ** Os valores seguidos de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Fisher.

da pequena diferença entre as concentrações testadas, estas foram inferiores às concentrações atóxicas relatadas por outros autores (Anadu *et al.*, 1996; Selvi *et al.*, 2004). Possivelmente tal resultado se deva ao fato de terem sido utilizados alevinos neste experimento, diferentemente dos descritos pelos demais autores que utilizaram peixes adultos, provavelmente mais resistentes aos efeitos do produto.

Estes resultados se tornam relevantes pois, de acordo com informações pessoais fornecidas pelo supervisor de combate a dengue da cidade de Uberlândia (MG), a dose recomendada de temefós pelo Centro de Controle de Zoonoses é de 1 g de Abate® (1% de temefós) em 1.000 L de água (1 mg.L⁻¹), e este tem sido amplamente utilizado em lagos e lagoas para controle do vetor da dengue, mesmo podendo ser bioacumulativo em alguns seres aquáticos (Selvi *et al.*, 2004; Kusumawathiea *et al.*, 2008). Nesse sentido, avaliou-se a sobrevivência dos dois alevinos restantes de cada repetição, a qual foi comprometida mesmo quando transferidos para ambientes com água limpa demonstrando uma possível intoxicação residual. As porcentagens de sobreviventes em água limpa de todos os tratamentos diferenciaram do T1 (Controle) 24 horas após a retirada dos alevinos do recipiente contendo Abate®. Observou-se que somente o T5 apresentou uma sobrevivência significativamente menor que os demais tratamentos, incluindo o Controle T1 (Tabela 2).

A resistência das larvas do mosquito *A. aegypti* ao temefós força a utilização de dosagens cada vez maiores (Carvalho *et al.*, 2004) e tende a aumentar seus efeitos tóxicos, inclusive nos animais não alvos. Dessa forma, sugere-se a realização de estudos com doses inferiores a 0,375 mg.L⁻¹ de Abate® em um maior tempo de exposição, a fim de se conhecer os efeitos deletérios cumulativos de baixas doses do temefós aos quais o ambiente aquático e a população humana vêm sendo expostos diariamente.

Agradecimentos – À Faculdade de Medicina Veterinária da UFU pelo auxílio financeiro e incentivo para realização deste projeto. Ao Centro de Controle de Zoonoses de Uberlândia por ceder o produto Abate® e informações importantes para esse estudo e a médica veterinária Mariana Cristina Hoepfner Rondelli pela versão do resumo para a língua inglesa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANADU, D. I., ANASO, H. U. & ONYEKA, O. N. D., 1996, Acute toxicity of the insect larvicide abate® (temephos) on the fish tilapia melanopleura and the dragonfly larvae neurocordelia virginiensis. *J. Environ. Sci. Health. B.*, 31:1363-1375. doi: 10.1080/03601239609373072.
- BRANCCO, J. E., DALBON, M., MARINOTTI, O. & BARATA, J. M. S., 1997, Organophosphorous and carbamate resistance in a population of *Culex quinquefasciatus*. *Rev. Saude Publica*, 31:182-183. doi: 10.1590/S0034-89101997000200013.
- CARVALHO, M. S. L., CALDAS, E. D., DEGALLIER, N., VILARINHOS, P. T. R., SOUZA, L. C. K. R., YOSHIZAWA, M. A. C., KNOX, M. B. & OLIVEIRA, C., 2004, Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. *Rev. Saude Publica*, 38:623-629. doi: 10.1590/S0034-89102004000500002.
- CAVALIERE, M. J., CALORE, E., PEREZ, N. M. & PUGA, F. R., 1996, Organophosphate myotoxicity. *Rev. Saude Publica*, 30:267-272. doi: 10.1590/S0034-89101996000300010.
- CRUZ, A. M., 1946, O papel dos peixes larvófagos na destruição de mosquitos. *Bol. Agric.*, 47:85-88.
- FAJARDO, P. M., LOZANO, G., REALPE, O. & HERNÁNDEZ, L. E., 2001, Nociones populares sobre “dengue” y “rompehuesos”, dos modelos de la enfermedad en Colombia. *Rev. Panam. Salud Publica*, 10:167-168.
- FORATTINI, O. P. & BRITO, M., 2003, Household water reservoirs and control of *Aedes aegypti*. *Rev. Saude Publica*, 37:676-677. doi: 10.1590/S0034-89102003000500021.

- GARCÉS, F. J., GONZÁLEZ, B. R. & KOLDENKOVA, L., 1988, Capacidad depredadora de *Poecilia* (Lebistes) *reticulata* Peters, 1895 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 y *Aedes aegypti* Linneo, 1762 (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio en Cuba. *Rev. Cubana Med. Trop.*, 40:54-60.
- HAMM, J. T., WILSON, B. W. & HINTON, D. E., 1998, Organophosphate-induced acetylcholinesterase inhibition and embryonic retinal cell necrosis in vivo in the Teleost (*Oryzias latipes*). *Neurotoxicology*, 19:853-870.
- KUSUMAWATHIEA, P. H. D., WICKREMASINGHEB, A. R., KARUNAWEEERAC, N. D. & WIJEYARATNED, M. J. S., 2008, Costs and effectiveness of application of *Poecilia reticulata* (guppy) and temephos in anopheline mosquito control in river basins below the major dams of Sri Lanka. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 102:705-711.
- MORAES, N. B., BASTOS, G. C., LIMA, A. S., VASCONCELOS, D. C., SOUSA, L. L. F. & PINHEIRO, K. M. A., 2004, Dengue: um desafio a vencer. *Rev. CFMV*, 33:11-17.
- PEREIRA, R., 1979, *Peixes da nossa terra*. Nobel, São Paulo.
- POLANCZYK, R. A., GARCIA, M. O. & ALVES, S. B., 2003, Potential of *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner for controlling *Aedes aegypti*. *Rev. Saude Publica*, 37:813-816. doi: 10.1590/S0034-89102003000600020.
- REY, L., 2001, *Parasitologia, parasitos e doenças parasitárias no homem nas Américas e na África*. 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- RUAS-NETO, A. L., SILVEIRA, S. M. & COLARES, E. R. C., 1994, Mosquito control based on larvicides in the State of Rio Grande do Sul, Brazil: choice of the control agent. *C. Saude Publica*, 10:222-230. doi: 10.1590/S0102-311X1994000200009.
- SANTOS, L. U. & ANDRADE, C. F. S., 1997, Survey of cyclopids (*Crustacea, Copepoda*) in Brazil and preliminary screening of their potential as dengue vector predators. *Rev. Saude Publica*, 31:221-226. doi: 10.1590/S0034-89101997000300002.
- SELVI, M., SARIKAYA, R. & ERKOÇ, F., 2004, Acute behavioral changes in the Guppy (*Poecilia reticulata*) exposed to temephos. *G. U. J. Sci.*, 17:15-19.
- TAUIL, P. L., 2002, Critical aspects of dengue control in Brazil. *Cad. Saude Publica*, 18:867-871. doi: 10.1590/S0102-311X2002000300035.