

Toxicidade Aguda de Parathion Metil para *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae), em Condições Tropicais

Cíntia Castro Quaresma

Marcos Vinicius Bastos Garcia

Terezinha Batista Garcia

Resumo

O uso de agrotóxicos tem aumentado em áreas de várzeas da Amazônia, sobretudo nas proximidades das cidades. Embora os agrotóxicos sejam aplicados diretamente sobre plantas ou no solo, os efeitos no ambiente aquático têm sido alvo de preocupações devido ao alto risco de contaminação de rios, lagos e águas subterrâneas. No Brasil, a toxicidade de pesticidas para o ambiente aquático e principalmente para peixes tem sido recentemente estudada. O inseticida Parathion metil é um dos mais usados na agricultura de várzeas amazônicas. Neste estudo a toxicidade de Parathion metil foi avaliada para *Danio rerio*, uma espécie de peixe usada como indicadora em ensaios toxicológicos. Ensaios de laboratório mostraram que a toxicidade de Parathion metil para *Danio rerio* em condições tropicais (água natural e temperatura mais elevada) é mais baixa quando comparada com os resultados obtidos em condições temperadas (água reconstituída e temperatura mais baixa). Além disso, a toxicidade é ainda mais baixa se comparada com valores obtidos para espécies de peixes de regiões de clima temperado. Tais diferenças de toxicidade provavelmente acontecem devido à sensibilidade de cada espécie bem como às condições físico-químicas da água usada nos testes. Portanto, novos dados devem ser produzidos, sob condições tropicais, para uma avaliação de risco ambiental, nos trópicos, desse inseticida.

Termos para indexação: ecotoxicologia, pesticidas, várzeas amazônicas.

Acute toxicity of Parathion Metil to *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae), under tropical conditions

Abstract

The use of agrochemicals has been increased in the Amazon floodplains, mainly in the vicinities of cities. In spite of the agrochemicals are usually applied directly on the crops or soil, their side effects in the aquatic environment have become an issue of great concern due to the high risk of water bodies and groundwater contamination. In Brazil, the toxicity of pesticides for aquatic environment and usually for fish species has been recently investigated. The insecticide Parathion metil is one of the mostly used in the agriculture of amazonian floodplains. In this study, the toxicity of Parathion metil was evaluated for *Danio rerio*, a fish species used as indicator in toxicity essays. Acute tests in laboratory showed that the toxicity of Parathion metil to *D. rerio* in tropical conditions (natural water and higher temperature) is lower compared with the results from tests performed in temperate conditions (reconstituted water and lower temperature). Besides, the toxicity is even lower if compared with values found for fish species from temperate regions. Such differences in toxicity are probably due to sensitivity fish species as well as the physico-chemical conditions of water used in the tests. Therefore, new data should be produced in tropical conditions for an environmental risk assessment of this insecticide in the tropics.

Index terms: ecotoxicology, pesticides, Amazonian floodplains.

Introdução

Dentre as substâncias tóxicas orgânicas e inorgânicas introduzidas no ambiente os agrotóxicos são os principais contaminantes. O uso de agrotóxicos tem aumentado em áreas de várzeas da Amazônia, sobretudo nas proximidades de Manaus (WAICHMAN et al., 2002). Diagnóstico realizado nessas áreas mostram que equipamentos de aplicação e outros utensílios usados com defensivos são lavados diretamente nos rios e igarapés por 70% dos produtores (WAICHMAN et al., 2003). Recentemente os efeitos dos agrotóxicos no ambiente aquático têm sido alvo de grande preocupação devido ao alto risco de contaminação de rios e lagos próximos dos cultivos agrícolas. Embora os pesticidas sejam aplicados diretamente sobre plantas ou no solo, é

alto o risco de contaminação de rios, lagos e águas subterrâneas. No Brasil a toxicidade de pesticidas para o ambiente aquático, principalmente para peixes, tem sido investigada em estudos recentes (CRUZ et al., 2004; RESGALLA JUNIOR et al., 2002; PATRÍCIO et al., 2002). O inseticida Parathion metil é amplamente utilizado na agricultura de várzea. A contaminação do ambiente aquático por pesticidas pode resultar em altos riscos de intoxicação para os peixes (CRUZ et al., 2004). Neste estudo avaliou-se o potencial toxicológico de Parathion metil para *Danio rerio* em condições tropicais.

Material e Métodos

Seleção da espécie e procedimentos de cultivo

A espécie *Danio rerio* (HAMILTON-BUCHANAN, 1822), Cyprinidae, é um peixe tropical originário da Índia, conhecido no Brasil como "paulistinha" e no exterior como "zebra fish". Atualmente é utilizado em vários países como organismo modelo em estudos toxicológicos. Neste estudo foram utilizados exemplares de *D. rerio* criados em tanque escavado. Os peixes destinados aos ensaios foram retirados do tanque e aclimatados em aquários com água do Rio Solimões.

Seleção do pesticida

Testes de toxicidade foram feitos usando a formulação de inseticida Parathion metil (Folidol 600®), um inseticida-acaricida do grupo organofosforado, concentrado emulsionável de uso exclusivamente agrícola e classificado como altamente perigoso ao meio ambiente.

Procedimento experimental

A determinação da toxicidade aguda do inseticida para *D. rerio* foi baseada no protocolo nacional NBR 15088 (ABNT, 2004) e internacionais OECD no. 203 (OECD, 1992) e ISO 7346-1/2 (ISO, 1996a, b). Eles descrevem o método para a determinação de toxicidade aguda para *D. rerio*, em ensaios estáticos e semi-estáticos. No ensaio estático os organismos são expostos às diferentes concentrações da substância, sem renovação da solução. No ensaio semi-estático os organismos são expostos com renovação da solução a cada 24h, sendo este ensaio apropriado para testar substâncias que causam redução de oxigênio, voláteis ou instáveis em água. Neste estudo foi utilizado o ensaio estático com duração de 96 horas; os indivíduos utilizados mediam entre 2,5 a 3,5 cm conforme a norma ISO 7346. O teste foi

realizado em laboratório com temperatura ambiente e ciclo natural de iluminação de 12h / 12h (luz / escuro).

Antes do início do ensaio os peixes foram aclimatados por sete dias na água do Rio Solimões, em aquário de vidro (70 L), na relação de massa do organismo/volume de água de 1 g/L e alimentados duas vezes ao dia (pela manhã e ao final da tarde). Os peixes foram alimentados com ração comercial (submetida a um processo de trituração fina) para crescimento de tambaqui (*Colossoma macroporum*), com 28% de proteína bruta. Testes preliminares foram feitos para estimar a faixa de concentração onde a mortalidade varia de 0% a 100%. Com base no resultado desses testes foi definida a faixa de concentração para o teste definitivo.

Antes do ensaio definitivo os peixes foram mantidos em água de aclimação com as mesmas condições da água de diluição e alimentados até 24 horas antes do início do experimento. O ensaio definitivo foi feito em uma série de cinco concentrações de 11,5; 12,5; 13,5; 14,5 e 15,5 mg /L em delineamento inteiramente casualizado em 3 repetições. Em cada recipiente contendo 2 L da solução teste foram colocados oito indivíduos e expostos durante 96 horas. Um sistema de aeração ligado a pipetas tipo Pasteur foi instalado em cada recipiente com a função de fornecer oxigênio e promover estabilização do pH. Durante o ensaio foram medidos, a cada 24 horas, o oxigênio dissolvido, o pH e a temperatura (Tabela 1). A dureza da água foi medida apenas em uma amostra da água de diluição no início do ensaio.

Tabela 1. Características físico químicas da água durante o ensaio de toxicidade aguda.

Características	Controle	11,5mg	12,5 mg
pH	7,0 – 7,7	7,0 – 7,7	7,3 – 7,6
Temperatura (° C)	25,6 – 26,0	25,5 – 26,1	25,9 – 26,1
Oxigênio	6,7 – 7,4	4,4 – 6,5	6,2 – 6,6
Características	13,5 mg	14,5 mg	15,5 mg
pH	7,4 – 7,6	7,2 – 7,5	7,1 – 7,6
Temperatura (° C)	25,9 – 26,1	26,0 – 26,1	25,9 – 26,1
Oxigênio	5,2 – 7,1	5,9 – 6,7	6,0 – 6,9

Análises estatísticas

Para a estimativa da concentração letal mediana (CL_{50}) foi utilizado o método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977). Foram calculados os intervalos de confiança a 95% (IC-95%), associados a CL_{50} . O programa de análises Trimmed Spearman-Kärber foi obtido no servidor Internet da U.S. EPA (<http://www.epa.gov/nerleerd/stat2.htm>). O programa TOXRAT® (2003) foi usado para as análises de Probit e elaboração da curva de dose de resposta.

Resultados e Discussão

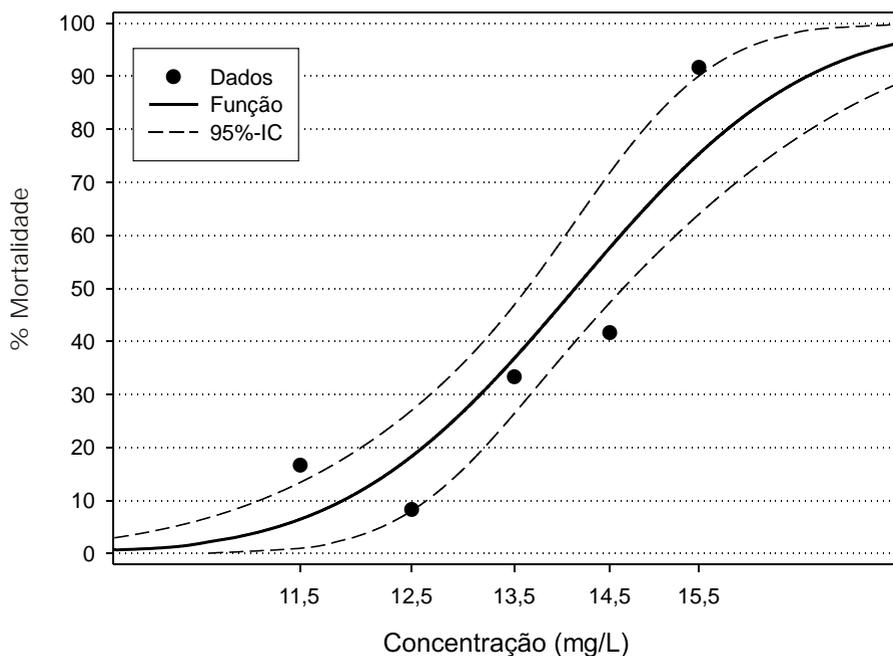
Em estudos sobre o efeito agudo de Parathion metil para *D. rerio*, os valores da CL_{50} encontrados estão entre 1,9 mg/L (Roex et al., 2002) e 5,6 mg/L (BELLAVERE; GORBI, 1984). Neste estudo, a toxicidade de Parathion metil para *D. rerio* foi estimada a CL_{50} de 14,1 mg/L (IC-95% = 13,6 a 14,6). A sensibilidade de *D. rerio* ao Parathion metil em condições tropicais (neste trabalho) é 2,5 a 7,4 vezes menor se comparado aos estudos de Bellavere & Gorbi (1984) e Roex et al. (2002). Comparada aos resultados obtidos para espécies de clima temperado (BROWN, 1978) a sensibilidade é 3 a 5 vezes menor (Tabela 2). No Brasil, a toxicidade de Parathion foi estudada para as espécies tropicais nativas matrinxã (*Brycon cephalus*) (AGUIAR, 2002) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (CRUZ et al., 2004), cujos valores da CL_{50} foram estimados em 6,0 mg/L e 9,8 mg/L, respectivamente. No presente trabalho a temperatura da água é o fator que mais difere dos ensaios realizados em condições de clima temperado. A grande diferença de sensibilidade ao Parathion entre espécies oriundas de clima temperado e tropical pode ser inerente à própria espécie (comportamento, fisiologia) e também às condições de teste (temperatura, pH e dureza da água).

Conclusões

A menor sensibilidade de *Danio rerio* ao Parathion metil em relação aos resultados encontrados na literatura para esta e outras espécies de peixes deve-se provavelmente à influência das condições físico-químicas da água e da sensibilidade da própria espécie teste. Portanto, as informações toxicológicas produzidas para espécies de clima temperado devem ser interpretadas com cautela se usadas para a avaliação de risco ambiental nas regiões tropicais. Sugere-se que dados toxicológicos sejam produzidos para espécies de peixes tropicais nativas e sob condições tropicais.

Tabela 2. Toxicidade aguda de Parathion metil para *Danio rerio* (tropical) comparada a espécies originárias de outras regiões.

Espécie	Origem	CI50 (mg/L)	Referência
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Rainbow trout)	Temperado	2,8	Brown (1978)
<i>Salmo trutta</i>	Temperado	4,7	Brown (1978)
<i>Perca favescens</i> (Perch)	Temperado	3,1	Brown (1978)
<i>Piaractus mesopotamicus</i> (Pacu)	Tropical	9,8	Cruz et al (2004)
<i>Brycon cephalus</i> (Matrinxã)	Tropical	~ 6,0	Aguiar (2004)
<i>Danio rerio</i> (Paulistinha)	Tropical	1,9	Roex et al (2002)
<i>Danio rerio</i> (Paulistinha)	Tropical	5,6	Bellavere e Gorbi (1984)
<i>Danio rerio</i> (Paulistinha)	Tropical	14,1	Este trabalho

Fig. 1. Curva dose-resposta de toxicidade aguda de Parathion metil para *Danio rerio*.

Referências

- ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15088: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2004.
- AGUIAR, L. H. et al. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus*. Environmental Research, v. 95, p. 224-230, 2004.
- BELLAVERE, C.; GORBI G. Biological variability and acute toxicity of Parathion, Dichlobenil and TPBS to *Biomphalaria glabrata* and *Brachydanio rerio* Environ. Technol. Lett., v. 5, n. 9, p. 389-396, 1984.
- BROWN, A.W.A. Insecticides and fish. In: BROWN, A.W.A. (Ed.) Ecology of pesticides. New York: John Wiley and Sons, 1978.
- CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J.; MENEZES, M. L. Toxicidade aguda do inseticida paration metílico e do biopesticida azadiractina de folhas de neem (*Azadirachta indica*) para alevino e juvenil de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, v. 14, p. 93-102, 2004.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environmental Science and Technology, v. 11, p. 714-719, Correction (1978) 12, 417, 1997.

ISO International Organization for Standardization. ISO-7346-1: Water quality: determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachidanio rerio Hamilton: Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]: part 1: static method. Geneve, Switzerland. 1996a.

ISO International Organization for Standardization. ISO-7346-2: Water quality: determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachidanio rerio Hamilton: Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]: part 2: semi-static method. Geneve, Switzerland. 1996b.

OECD Organisation for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals No. 203 "Fish, Acute Toxicity Tests", Paris, 1992.

PATRÍCIO, F.C.; RIGITANO, R.L.O.; GOUVÊA, A.V.; FRANCO, A.A. Toxicidade do inseticida-nematicida aldicarbe às espécies de peixes Brachydanio rerio (Hamilton-Buchanan, 1822) e Orthospinus franciscensis (Eigenmann, 1929). *Ciência e Agrotecnologia.*, v. 26, n. 2, p. 385-391, 2002.

RESGALLA JUNIOR, C. et al. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticida utilizados na cultura do arroz irrigado sobre juvenis de carpa (Cyprinus carpio). *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, v. 12, p. 59-68, 2002.

ROEX, E. W. M.; VAN LANGEN, M. C. T.; VAN GESTEL, C. A. M. Acute toxicity of two compounds with different modes of action to the zebrafish, Danio rerio. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 68, p. 269-274, 2002.

WAICHMAN, A. V.; RÖMBKE, J.; NINA, N. C. S. Agrotóxicos: elemento novo na Amazônia. *Ciência Hoje*, v. 32, n. 190, p. 70-73, 2003.

WAICHMAN, A. V. et al. Use and fate of pesticides in the Amazon state, Brazil: Risk to human health and the environment. *ESPR - Environmental Science and Pollution Research*, v. 9, n. 6, p. 423-428, 2002.

TOXRAT® Software for the statistical analysis of biotests. Copyright: ToxRat Solutions GmbH, Alsdorf, Germany, 2003.