



EFEITO DE INSETICIDAS USADOS NA AQUICULTURA SOBRE ORGANISMOS BIOINDICADORES ZOOPLACTÔNICOS E FITOPLANCTÔNICOS.

MARJORIE GUIMARAES¹; MARINA DAL'BÓ PELEGRINI²; VERONICA J. DE
PAULA³; CLAUDIO M. JONSSON⁴; VERA L. CASTRO⁵;

Nº 11411

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade de agentes tóxicos isoladamente ou simultaneamente. Os compostos estudados foram diflubenzurom e parationa metílica. Inicialmente foram feitos estudos a fim de avaliar a toxicidade individualmente em organismos teste. A seguir, foi avaliada a ação conjunta de uma mistura binária dos compostos diflubenzurom e parationa metílica utilizando os mesmos organismos-testes. Para tanto, os testes foram realizados com dois organismos planctônicos e um fitoplanctônicos, sendo os planctônicos microcrustáceos como *Artemia salina* e *Daphnias similis*. Estes organismos foram escolhidos pela sua ampla na avaliação de toxicidade devido a sua fácil disponibilidade e obtenção de neonatos (VANHAECKE, 1981). Já o organismo fitoplanctônico utilizado foi a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, que é uma alga verde unicelular. Os compostos testados, conforme os valores de CE50 - 48h e a classificação da 'Environmental Protection Agency' (EPA, 1985), apresentam-se como extremamente, altamente e moderadamente tóxicos, respectivamente, para diflubenzurom, a mistura diflubenzurom (50%) + parationa metílica (50%) e a parationa metílica. Apesar da avaliação da ação conjunta dos dois inseticidas ser ainda necessária em uma maior gama de organismos aquáticos e períodos maiores, os resultados obtidos são úteis para a ampliação da base de dados sobre interações de poluentes em organismos não-alvo.

1 Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biomédicas, Metrocamp Veris IBTA, Campinas-SP.

✉ marjorieguimaraes@yahoo.com.br

2 Bolsista EMBRAPA: Graduação em Ciências Biológicas, Unicamp, Campinas-SP

3 Bolsista Treinamento Técnico 3 FAPESP: Graduada em Ciências Biomédicas, Veris IBTA, Campinas-SP

4 Orientador: Pesquisador, LEB-EMBRAPA, Jaguariúna-SP (jonsson.cnpma@embrapa.com.br)

5 Colaborador: Pesquisadora, LEB-EMBRAPA, Jaguariúna-SP (castro.cnpma@embrapa.com.br)



ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the toxicity of toxic agents alone or simultaneously. The compounds studied were Diflubenzurom and methyl-parathion. Initially studies were conducted to evaluate the toxicity of individual test organisms. Following, we assessed the joint action of a binary mixture of compounds and methyl-parathion Diflubenzurom using the same test organisms. To this end, two tests were performed with planktonic organisms and phytoplankton, and the planktonic microcrustaceans as brine shrimp and *Daphnia similis*. These organisms were chosen for their broad assessment of toxicity due to its easy availability and obtaining neonates (VANHAECKE, 1981). The phytoplankton organism utilized was microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*, which is a unicellular green alga.

The compounds tested, as the EC50 values-48 h and the classification of 'Environmental Protection Agency (EPA, 1985), present themselves as extremely highly, and moderately toxic, respectively, for diflubenzurom, the mixture (50%) + diflubenzurom parationa, via methylic (50%) and the parationa methylic route.

The results are useful for increasing database on interactions of pollutants on non-target organisms, however the evaluation of the action of two insecticides on a greater range of aquatic organisms and a longer period would be required.

INTRODUÇÃO

O diflubenzurom e a parationa metílica são inseticidas usados em uma ampla gama de culturas agrícolas, assim como na piscicultura para o controle de predadores e ectoparasitas (CRUZ, 2005; SCHALCH, 2009). A maioria dos ensaios laboratoriais com estes biocidas tem sido conduzida com os compostos individualmente, sendo que são limitadas as informações disponíveis a respeito da sua ação conjunta quanto à possibilidade de potencialização de efeito.

Neste contexto, a ecotoxicologia estuda os efeitos adversos causados aos organismos vivos, expostos não somente a um agente tóxico isoladamente, mas frequentemente a mais de um desses agentes. Isto pode ser decorrente da aplicação de formulações de misturas para obter uma maior eficiência no controle da praga, ou ainda; resultante do aporte individual dos agentes químicos ao compartimento ambiental, com conseqüente mistura no mesmo. Os ensaios ecotoxicológicos têm por finalidade saber se as substâncias químicas, isoladas ou em forma de mistura, são nocivas a sistemas vivos, e como e onde se manifestam seus efeitos (KNIE; LOPES, 2004).

MATERIAL E MÉTODOS

Organismos submetidos aos testes de toxicidade.

Para a realização dos testes ecotoxicológicos foram utilizados os microcrustáceos *Daphnia similis*, *Artemia salina* e o organismo fitoplanctônico *Pseudokirchneriella subcapitata*.

A *Daphnias similis* é um microcrustáceo planctônico de água doce, com tamanho médio entre 5 e 6 mm. Atua na cadeia alimentar aquática como consumidor primário entre os metazoários, alimentando-se por filtração de material orgânico particulado, principalmente de algas unicelulares. É conhecida popularmente como pulga d água (KNIE; LOPES, 2004).

A *Artemia salina* é um pequeno crustáceo, que vive normalmente em lagos de água salgada ou salobra, podendo viver em água preparada artificialmente (salina). Faz parte dos zooplanktons como as *Daphnias* e seu tamanho médio entre 8 e 10 mm de comprimento, variando de acordo com o meio em que vive e os alimentos que ingere. Quanto mais avermelhadas melhor, pois contém mais caroteno (substância que estimula as cores dos peixes).

A alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* é um organismo-teste de grande importância para ensaios ecotoxicológicos por se tratar de um produtor primário, compondo a base da cadeia alimentar e tem sido utilizadas para avaliação da toxicidade aquática de compostos químicos.

Determinação dos níveis de toxicidade

A fim de utilizar uma menor quantidade de material, do volume de meio de cultura e de amostra necessárias, o presente trabalho utilizou placas de Petri 80 x 15 mm como recipiente-teste. Os controles foram feitos com os resultados dos testes de sensibilidade utilizando a substância de referência (água desclorada). O teste foi aplicado para a avaliação da toxicidade dos produtos comerciais com o princípio ativo diflubenzurom (DIMILIN®) e a parationa metílica (FOLISUPER®) em suspensão contendo determinados níveis de concentração dos pesticidas e a sua mistura. Já nos testes com *A. salina* e *D. similis* foram utilizados béquer, com um volume total de 20ml, para avaliação de toxicidade. Em ambos os testes realizados - imobilidade e crescimento - foi usada água desclorada, adicionado a cada placa Diflubenzuron, Parationa metílica em diferentes concentrações, variando de 0,001 à 100 (mg/L), e a mistura (1:1). Os testes com organismo de microcrustáceos foram realizados em um período de 48h de exposição, enquanto que, o organismo fitoplanctônico foi exposto a um período de 192h. Os experimentos foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos testados, conforme os valores de CE50-48h e a classificação da 'Environmental Protection Agency' (EPA, 1985), apresentam-se como extremamente, altamente e moderadamente tóxicos, respectivamente, para diflubenzurom, a mistura (diflubenzurom (50%) + parationa metílica (50%)) e a parationa metílica.

Os resultados obtidos aos 3 organismos submetidos com os inseticidas separados, com o composto do diflubenzurom para *Artemias salinas* resultaram em (CE 50 – 48h = 0,08), para a *Daphnia similis* (CE 50 – 48h = 0,000976), para a *Pseudokirchneriella subcapitata*, foi (CE 50 – 192h = 58). Já o composto de Parationa Metílica para *Artemias salinas* resultaram (CE 50 – 48h = 5,09), para a *Daphnia similis* (CE 50 – 48h = 0,001551), e para *Pseudokirchneriella subcapitata*, foi (CE 50- 24,76). A combinação dos compostos diflubenzurom e parationa metílica (1:1), para *Artemia salina* resultou em (CE 50 – 48h = 0,13), para a *Daphnia similis* (CE 50 - 48h =

0,000779), e a *Pseudokirchneriella subcapitata* (CE 50 – 48h= 23,81). Foi constatado no teste um efeito sinérgico leve.

A toxicidade do diflubenzurom para *A. salina*, *Daphnia similis* e *Pseudokirchneriella subcapitata* é aproximadamente 50 vezes maior do que a da parationa metílica. Apesar de graficamente ter se constatado um leve sinergismo entre os componentes da mistura, o baixo valor do Índice de Aditividade calculado (IA=0,21) para *A. salina*, (IA=0,54) para *D. similis* e (IA=0,65) para *P. Subcaptata* indica uma potencialização do efeito menor do que 1,2 vezes, para as 48h de exposição. Os dados apontam que a presença dos dois inseticidas no mesmo compartimento aquático não acarretaria um risco significativo quanto a potencialização do efeito tóxico dos mesmos, sendo que no organismo fitoplanctônico de *P. subcaptata* o valor de IA foi maior do que os organismos planctônicos.

Os resultados são de utilidade na ampliação da base de dados sobre interações de poluentes em organismos não-alvo, entretanto é necessária a avaliação da ação conjunta dos dois inseticidas numa maior gama de organismos aquáticos e num período maior de exposição.

Tabela 1. Parâmetros de interação da mistura Diflubenzuron + Parationa metílica (1:1).

Organismos	<i>Artemia salina</i>	<i>Daphnia similis</i>	<i>Pseudokirchneriella Subcaptata</i>
Índice de Aditividade (IA)	0,21	0,54	0,65
Tipo de Interação	sinergismo	sinergismo	sinergismo
Fator de Magnificação	1,21	1,54	1,65

As **Figuras 1. (a), (b) e (c)** mostram os gráficos dos dados de toxicidade experimentais e dos ensaios realizados em cada tipo de organismo:

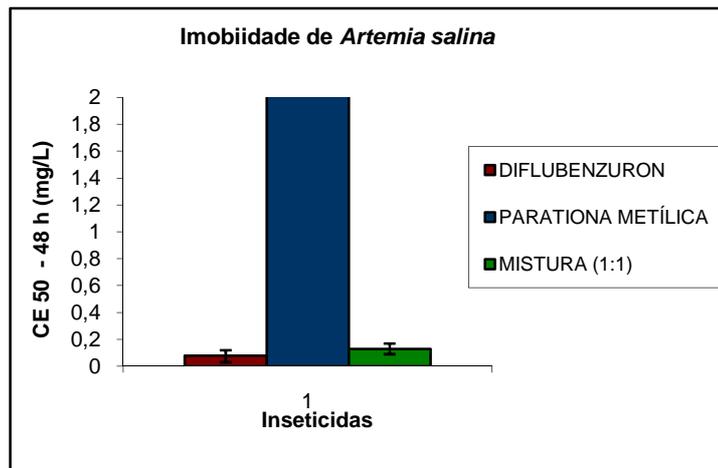


FIGURA 1. (a) Efeito de inseticidas e sua mistura sobre o microcrustáceo *Artemia Salina*.

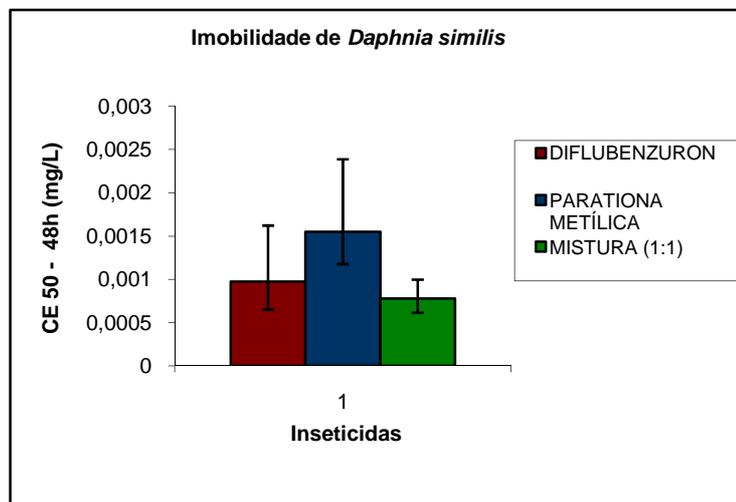


FIGURA 1. (b) Efeito de inseticidas e sua mistura sobre o microcrustáceo *Daphnia Similis*.

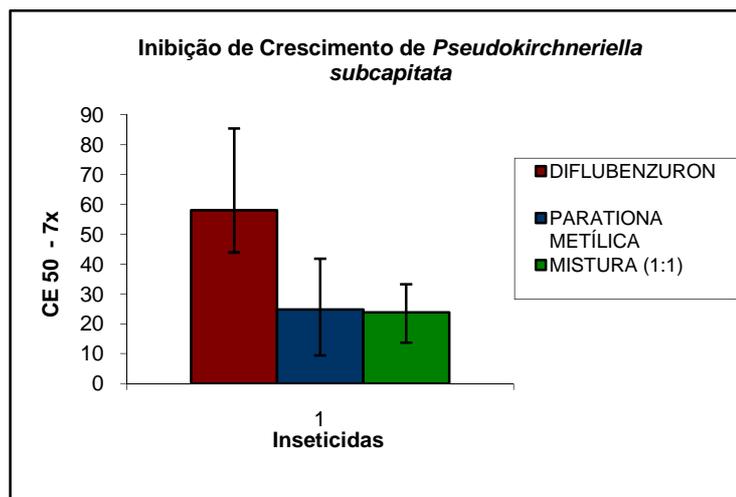


FIGURA 1. (c) Efeito de inseticidas e sua mistura sobre o fitoplânctônico *Pseudokirchneriella subcapitata*



CONCLUSÃO

Através deste trabalho, foram obtidos resultados importantes, já que os resultados são de utilidade na ampliação da base de dados sobre interações de poluentes em organismos não-alvo. Entretanto, ainda é necessária a avaliação da ação conjunta dos dois inseticidas numa maior gama de organismos aquáticos e num período maior.

Para o organismo planctônico de *Artemia salina* a toxicidade do diflubenzurom para *A. salina* é aproximadamente 50 vezes maior do que a da parationa metílica. (GARTENSTEIN,S, 2006) relataram uma toxicidade bem maior do primeiro (CE50-48h = 0,37 µg/L) para larvas do mesmo organismo-teste. No organismo planctônico de *Daphnia similis*, os dois inseticidas, assim como sua mistura, demonstraram ser “extremamente tóxicos” para este microcrustaceo, segundo a classificação da USEPA. Tal fato relaciona a alta toxicidade que estes compostos possuem para insetos e, também, para outros artrópodes. Já no organismo fitoplancônico *Pseudokirchneriella subcapitata*, a toxicidade dos inseticidas e de sua mistura é “baixa” conforme a classificação da USEPA, ou seja, entre 10 e 100 mg/L. Este foi o organismo no qual se constatou maior sinergismo, entretanto com um grau de magnificação (1,65) que não atingiu o dobro de potenciação de toxicidade em relação ao composto individual.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao CNPM (LEB) – EMBRAPA, pela oportunidade de estágio.

À FAPESP – pelo apoio.



REFERÊNCIAS

[http://repositorio-](http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/20021/2/Efeitos%20ecotoxicologicos%20de%20pesticidas%20e%20factores%20abioticos%20em%20Daphnia%20magna.pdf)

[aberto.up.pt/bitstream/10216/20021/2/Efeitos%20ecotoxicologicos%20de%20pesticidas%20e%20factores%20abioticos%20em%20Daphnia%20magna.pdf](http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/20021/2/Efeitos%20ecotoxicologicos%20de%20pesticidas%20e%20factores%20abioticos%20em%20Daphnia%20magna.pdf) (18/06/2011)

<http://junic.unisul.br/2007/JUNIC/pdf/0189.pdf> (27/06/2011)

<http://www.ambiente-augm.ufscar.br/uploads/A2-158.pdf> (01/07/2011)

MARKING, L.L. (1985) Toxicity of chemical mixtures. In: RAND, G.M. and PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and application*. Hemisphere Publishing Corporation, Washington. p.164-176.

U.S.EPA. Hazard Evaluation Division. Standard Evaluation Procedure. Acute Toxicity Test for Freshwater Invertebrates. EPA-540/9-85-005. (1985.)

GARTENSTEIN, S. (2006). Toxicity effects of diflubenzuron, cypermethrin and diazinon on the development of *Artemia salina* and *Heliocidaris tuberculata*. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 12, 83-90.

CRUZ, C. (2005). Aspectos toxicológicos de paration metílico e de extrato aquoso de folhas secas de neem (*Azadirachta indica*) para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e eficácia no controle de Monogenea Dactylogyridae. 81 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

KNIE; LOPES (2004) Testes toxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.

SCHALCH, S.H.C. (2009). Praziquantel, levamisol e diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) e *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 18, 53-59.

VANHAECKE, P. (1981) Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 5, 382-387.