



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AGUDA AO DIMETOATO EM MICROCRUSTÁCEOS E ANELÍDEOS

Bárbara **Farrapo**¹; Sara **Blumel**²; José Henrique **Vallim**³; Rodrigo **Castanha**⁴;
Vera Lúcia de **Castro**⁵

Nº 15414

RESUMO - O dimetoato é um inseticida organofosforado de amplo espectro que penetra no corpo através da ingestão, inalação e contato com a pele. Em animais, pode ser metabolizado em produtos de oxidação mais tóxicos afetando muitos organismos não-alvo, incluindo invertebrados aquáticos e do solo. Tanto o microcrustáceo *Daphnia magna* quanto a minhoca *Eisenia fetida* são organismos adequados para ensaios de toxicidade, uma vez que pode ser facilmente criados e possuem curto ciclo de vida. O objetivo desse estudo foi avaliar a toxicidade aguda (48h) do dimetoato no microcrustáceo *Daphnia magna* enquanto organismo-teste aquático e avaliar os efeitos do dimetoato grau técnico sobre a sobrevivência de *Eisenia fetida*. Procurou-se também verificar a viabilidade do método de contato com papel de filtro para avaliação de ensaios de toxicidade aguda com minhocas. A CE_{50} para *Daphnia magna* foi de 0,99 mg/L com intervalo de confiança 95% de 1,22 - 1,54. A CL_{50} foi de 1083,55 mg/L de dimetoato grau técnico com limites inferiores e superiores a 95% de 711,23 – 1375,55 mg/L para a *E. fetida*. O dimetoato grau técnico apenas apresentou letalidade a 50% da população em concentração acima de 1000 mg/L o que pode ser considerado praticamente não tóxico a organismos não-alvo do solo. Foi evidenciada também a eficiência do método de contato com papel de filtro como ferramenta para avaliação de toxicidade para *E. fetida*.

Palavras-chaves: *Daphnia magna*, *Eisenia fetida*, dimetoato, toxicidade.

1. Autor, Bolsista Embrapa: Graduação em Medicina Veterinária, FAJ, Jaguariúna-SP; bafarrapoct@hotmail.com
2. Colaborador, bolsista PIBIC/CNPq, Graduação em Medicina Veterinária, FAJ, Jaguariúna-SP; sara.blumel@hotmail.com
3. Colaborador, Analista da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; jose.vallim@embrapa.br.
4. Colaborador, Técnico da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; rodrigo.castanha@embrapa.br.
5. Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; vera-lucia.castro@embrapa.br



**9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo**

ABSTRACT- Dimethoate is an organophosphate insecticide of broad spectrum that enters the body through ingestion, inhalation and skin contact. In animals, it can be metabolized to more toxic oxidation products affecting many non-target organisms, including water and soil invertebrates. Both *Daphnia magna* microcrustacean as earthworm *Eisenia fetida* are organisms suitable for toxicity tests, since it can be easily created and have short life cycle. The aim of this study was to evaluate the acute toxicity (48h) of dimethoate in *Daphnia magna* microcrustacean while aquatic organism-test and evaluate the effects of dimethoate technical degree on the survival of *Eisenia fetida*. We tried also to check the feasibility of the method of contact with filter paper for evaluation of acute toxicity tests with earthworms. *Daphnia magna* dimethoate EC_{50} was 0.99 mg/L with 95% confidence interval 1.22 to 1.54. The LC_{50} was 1083.55 mg/L of technical grade dimethoate with lower and upper limits 95% 711.23 to 1375.55 mg/L to *E. fetida*. Dimethoate technical grade showed only 50% mortality of the population at concentrations above 1000 mg / L which may be considered practically non-toxic to non-target organisms in the soil. It was also evidenced the contact method's efficiency with filter paper as a tool for evaluation of toxicity to *E. fetida*.

Key-words: *Daphnia magna*, *Eisenia fetida*, dimethoate, toxicity.

1. INTRODUÇÃO

Os organofosforados (OP) correspondem ao grupo mais aplicado de inseticidas, sendo o dimetoato um dos mais utilizados. O dimetoato é registrado no Brasil para ser utilizado como inseticida e acaricida em culturas de tomate, trigo, algodão, citrus e maçã. Ele tem uma alta mobilidade potencial no solo, mas é relativamente instável e tem um coeficiente de partição óleo-água (Koc) de 28,3 mg/L. Assim, é necessário estudar seus efeitos tóxicos sobre os organismos não-alvo para avaliar o risco de como os OP podem afetar os organismos não-alvo e afetar a cadeia alimentar. O uso extensivo de dimetoato e sua posterior liberação em ambientes pode ocasionar uma série de efeitos sobre estes organismos e alterar o equilíbrio das comunidades biológicas. Como um agrotóxico bastante utilizado do grupo OP, a maioria dos testes de toxicidade aquática de dimetoato foi feito em peixes e caranguejos, enquanto que os estudos sobre o zooplâncton são limitados (PEREIRA et al., 2014).

Estudos feitos com o dimetoato mostraram que este composto prejudica o comportamento natatório de rotíferas (GUO et al., 2012, CHEN et al., 2014) e afeta a reprodução de *Daphnia magna* (ANDERSEN et al., 2006). Em minhocas – *Eisenia andrei* – ele pode afetar indicadores



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

bioquímicos enzimáticos como acetilcolinesterase e catalase em doses utilizadas na agricultura (VELKI e HACKENBERGER, 2013). De acordo com SANTOS et al. (2011), a dose de aplicação recomendada de dimetoato não causa prejuízo ao crescimento de minhocas, apesar de concentrações crescentes resultarem em um decréscimo da biomassa, em especial na dependência da distribuição do organismo na profundidade do solo.

Os bioensaios agudos têm sido utilizados para determinar o impacto de vários agrotóxicos sobre a vida aquática e terrestre e, com isso, formular normas de qualidade utilizando fatores de aplicação adequada. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a toxicidade aguda (48h) do dimetoato grau técnico (mesmo princípio ativo utilizado na produção do dimetoato comercial, mas sem veículos e solventes) em organismos-teste de compartimentos aquáticos (*Daphnia magna*) e terrestres (*Eisenia fetida*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Organismos

A *Daphnia magna* é um microcrustáceo de água doce, mantida durante o teste em água reconstituída, de acordo com a OECD 202 (OECD, 2000).

O anelídeo *Eisenia fetida* é organismo representantes do solo. As minhocas foram mantidas em substrato contendo turfa, carvão vegetal, vermiculita, casca de pinus e ácidos húmicos e de pH $7,0 \pm 0,5$. A alimentação básica das minhocas é composta por esterco animal sendo o de bovino o melhor quando a criação tem como função principal a produção de húmus. Para os testes foram selecionadas apenas as minhocas cliteladas.

2.2 Ensaio em microcrustáceos

Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados expondo os organismos a oito concentrações de dimetoato grau técnico (0,0781 - 10 mg/L) além do controle (água reconstituída) em placas para cultura celular em poliestireno com doze poços (5 mL/poço). Cada poço continha dois neonatos de *Daphnia magna*. O teste foi realizado durante um período de 48h com fotoperíodo de 12h luz / 12h escuro e a temperatura de 21 ± 1 °C. Ao término do ensaio foi verificada a mortalidade em cada concentração (Figura 1)

2.3 Ensaio em minhocas

As minhocas são consideradas como boas indicadoras para avaliação toxicológica de poluição no solo. O ensaio foi realizado pelo método de contato com papel de filtro (Figura 2). Previamente à realização dos testes de dose-resposta, as minhocas foram mantidas em papel de filtro umedecido, sob escuro a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h para eliminação do conteúdo intestinal. Para a realização do teste, foram inseridos discos de papel de filtro qualitativo tratados com dimetoato grau técnico dissolvido em água deionizada em placas de petri de 9 cm de diâmetro. Foram avaliadas seis concentrações de dimetoato (de 750 a 2000 mg/L) mais o controle realizado apenas com a água de diluição, com 10 réplicas para cada concentração contendo apenas uma minhoca por placa. As placas foram incubadas sob luz a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48h e ao final do ensaio a mortalidade foi registrada.

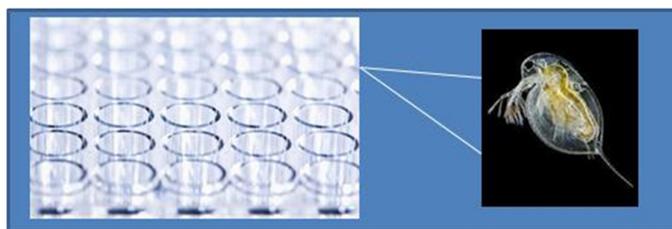


Figura 1 Microplaca para o teste com Daphnia



Figura 2. Placa contendo um indivíduo adulto de *E. fetida*



3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cálculo para CE_{50} para a imobilização foi realizado através da análise de probito utilizando o *software Statgraphic*. A CE_{50} foi de 0,99 mg/L com intervalo de confiança 95% de 1,22 - 1,54. Em relação à avaliação da toxicidade aguda (48h) do dimetoato grau técnico no microcrustáceo *Daphnia magna*, a CE_{50} obtida, indica que o dimetoato é altamente tóxico para a *Daphnia magna* (Figura 3), de acordo com critérios estabelecidos pela USEPA (1985) para valores acima de 100 mg/L.

Também foram avaliados os efeitos do dimetoato grau técnico sobre a sobrevivência de *Eisenia fetida* e verificada a viabilidade do método de contato com papel de filtro para avaliação de ensaios de toxicidade aguda de organofosforado usando este organismo. Após 48h de exposição, a *E. fetida* apresentou CL_{50} de 1083,55 mg/L de dimetoato grau técnico com limites inferiores e superiores a 95% de 711,23 – 1375,55 mg/L (Tabela 1, Figura 4). O teste de contato com o papel de filtro mostrou-se eficaz, uma vez que as minhocas se adaptaram bem, além de ser uma excelente ferramenta, pois elimina efeitos associados às propriedades do solo.

Compostos normalmente lançados no ar ou no solo podem atingir o meio aquático na sua forma original ou como produto de transformação. O agente testado é um organofosforado que possui alto potencial de mobilidade em solo e água, mas é relativamente instável, degradando-se rapidamente. O dimetoato é moderadamente tóxico para peixes de água doce e altamente tóxico para os invertebrados de água doce após exposição aguda (USEPA, 2008). Uma vez que a concentração de um agrotóxico pode variar na dependência de múltiplos fatores ambientais como temperatura, presença de matéria orgânica e outros; a CE_{50} encontrada deverá ser estudada frente à diferentes condições ambientais. Assim, os resultados obtidos servirão de base para estudos adicionais.

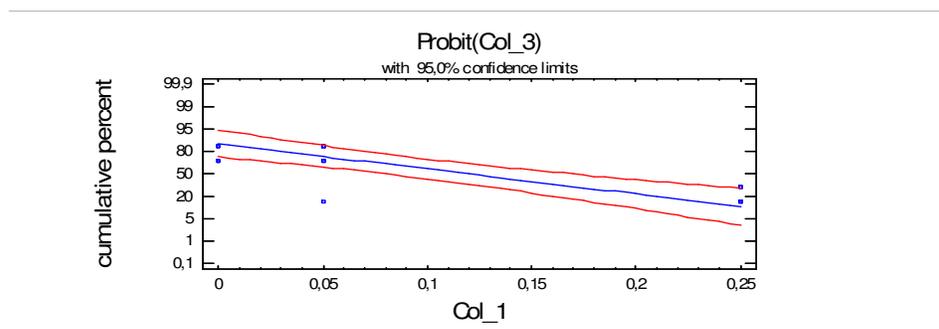


Figura 3. Efeito da exposição ao dimetoato técnico em daphnias - CL_{50} 48h

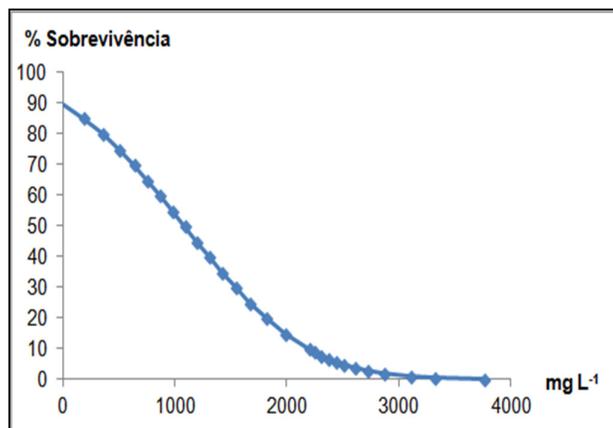


Figura 4. Porcentagem de sobrevivência de *E. fetida* sobre ação de dimetoato grau técnico.

Tabela 1. Número de organismos vivos *Eisenia fetida* após 48h de exposição a diferentes concentrações de dimetoato

Concentração (mg/L)	Nº de organismos vivos (48h)
0	8
1000	3
1200	2
1400	4
1600	2
1800	1
2000	1

4. CONCLUSÃO

O dimetoato é altamente tóxico para a *Daphnia magna*. A CE_{50} foi de 0,99 mg/L com intervalo de confiança 95% de 1,22 – 1,54.

A CL_{50} foi de 1083,55 mg/L de dimetoato grau técnico com limites inferiores e superiores a 95% de 711,23 – 1375,55 mg/L para a *E. fetida*. O dimetoato grau técnico apenas apresentou letalidade a 50% da população em concentração acima de 1000 mg/L o que pode ser considerado



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

praticamente não tóxico a organismos não-alvo do solo. Foi evidenciada também a eficiência do método de contato com papel de filtro como ferramenta para avaliação de toxicidade para *E. fetida*.

5. AGRADECIMENTOS

À Embrapa pela bolsa concedida.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, T.H.; TJORNHOJ, R.; WOLLENBERGER, L.; SLOTHUUS, T.; BAUN, A. Acute and chronic effects of pulse exposure of *Daphnia magna* to dimethoate and pirimicarb, **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, p. 1187–1195, 2006.

CHEN, J.; WANG, Z.; LI, G.; GUO, R. The swimming speed alteration of two freshwater rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Asplanchna brightwelli* under dimethoate stress, **Chemosphere**, v. 95, p. 256–260, 2014.

GUO, R.; REN, X.; REN, H. A new method for analysis of the toxicity of organophosphorus pesticide, dimethoate on rotifer based on response surface methodology, **Journal of Hazardous Materials**, v. 237–238, p. 270–276, 2012.

PEREIRA, A.S.; CEREJEIRA, M.J.; DAAM, M.A. Comparing ecotoxicological standards of plant protection products potentially toxic to groundwater life with their measured and modeled concentrations, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 102, p. 152–159, 2014.

SANTOS, M.J.G.; FERREIRA, V.; SOARES, A.M.V.M.; LOUREIRO, S. Evaluation of the combined effects of dimethoate and spirodiclofen on plants and earthworms in a designed microcosm experiment, **Applied Soil Ecology**, v. 48, p. 294–300, 2011.

VELKI, M.; HACKENBERGER, B.K. Inhibition and recovery of molecular biomarkers of earthworm *Eisenia andrei* after exposure to organophosphate dimethoate, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 57, p. 100–108, 2013.

USEPA. **Risks of dimethoate use to the federally-listed california red legged frog (*Rana aurora draytonii*)**, 20460, Environmental Fate and Effects Division, Office of Pesticide Programs, 2008.

USEPA. **Hazard evaluation division – Standard evaluation procedure – Acute toxicity test for freshwater invertebrates office of pesticide programs**. Washington, DC, 1985.