

I-024 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO CARBOFURANO UTILIZANDO *DANIO RERIO* COMO BIOINDICADOR

Willian Ribeiro Ide⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Mestre em Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais da UFMS. Doutorando em Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais da UFMS. Técnico do Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Danielle Amorim Freitas de Souza

Graduanda em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Ingrid Cecília Walker

Graduanda em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Thais Caregnatto Thomé

Graduanda em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Maria Lucia Ribeiro

Engenheira Química pela Universidade Federal de São Carlos. Mestre em Química (Físico-Química) pela Universidade de São Paulo. Doutora em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professora titular na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Endereço⁽¹⁾: Av. Costa e Silva, Cidade Universitária, Campo Grande – MS, CEP: 79090-900 - Brasil. E-mail: willian.ide@ufms.br/willian.ide@hotmail.com

RESUMO

O carbofurano é um pesticida amplamente utilizado na agricultura para o controle de pragas. Por estar sendo utilizado constantemente em culturas, este pesticida tem sido acusado de estar contaminando os recursos hídricos e todos os seres que dependem deste recurso, incluindo o homem. Tendo em vista a dimensão deste problema, fica evidente a necessidade de monitorar este poluente na água, assim como determinar a concentração prejudicial e os efeitos tóxicos desta substância. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda do pesticida carbofurano utilizando *Danio rerio* (peixe paulistinha), como bioindicador, determinando a concentração letal mediana (CL₅₀) em 48h e 72h de exposição. Os testes realizados indicaram que a faixa de concentração do pesticida, que apresenta toxicidade ao *Danio Rerio*, encontra-se entre 1 e 10 mg.L⁻¹, sendo, a concentração letal após um período de exposição de 48h e 72h igual a 8,7 mg.L⁻¹ e 8,1 mg.L⁻¹, respectivamente. Assim, conclui-se que o carbofurano é um agrotóxico moderadamente tóxico ao organismo *Danio rerio*. No entanto, merece ser monitorado na água de abastecimento, constantemente, visto que este pesticida apresenta efeitos tóxicos acumulativos e que pode causar maiores danos em períodos maiores de exposição.

PALAVRAS-CHAVE: Agrotóxico, ecotoxicidade, peixe paulistinha.

INTRODUÇÃO

Em decorrência do crescimento populacional e da alta demanda por alimentos, a produção agrícola tem aumentado, nessas últimas décadas, exponencialmente. No entanto, a atual intensificação do uso das terras para fins agrícolas tem despertado grande preocupação devido, principalmente, aos impactos que vem causando ao ambiente, sobretudo no que diz respeito à contaminação dos recursos hídricos por insumos agrícolas, como nutrientes e pesticidas (RIBEIRO *et al.*, 2013).

Os pesticidas, também chamados de agrotóxicos, são substâncias orgânicas (clorados, clorofosforados, fosforados e carbamatos) ou inorgânicas, utilizadas na agricultura para o controle de pragas e doenças em culturas. Segundo CALDAS *et al.* (2010), os pesticidas incluem em todo o mundo numerosos compostos com diferentes funcionalidades e com uma vasta gama de polaridade e solubilidade. De acordo com BENITEZ *et*

al. (2002), os pesticidas podem se apresentar em diferentes formas, tais como: inseticidas; herbicidas; fungicidas; etc.

O carbofurano (2,3-di-hidro-2,2-dimetil-benzofuran-7-il-methylcarbamate, $C_{12}H_{15}NO_3$) é um inseticida, pertencente a classe dos carbamatos, amplamente utilizado na agricultura. Trata-se de uma substância bem conhecida, utilizada para inibir a atividade de insetos em grãos de soja, arroz, cana de açúcar, tabaco, milho, batatas e legumes (MA *et al.*, 2010). De acordo com BENITEZ *et al.* (2002), este agrotóxico tem sido amplamente utilizado em culturas agrícolas e apresenta uma persistência elevada em água devido à sua estabilidade química; por conseguinte, é cada vez mais detectada em superfície e águas residuais. Devido à ampla utilização deste inseticida, fica evidente a necessidade de monitorar constantemente a qualidade de água de abastecimento, assim como identificar a concentração prejudicial e os efeitos tóxicos deste agrotóxico, na água.

Para avaliar a concentração prejudicial e os efeitos tóxicos são realizados, geralmente, ensaios de toxicidade. A Toxicidade refere-se à capacidade de determinada substância, produto ou conjunto de substâncias, de provocar efeitos danosos aos organismos com os quais entram em contato. Estes efeitos podem ser desde alterações comportamentais, alteração de crescimento ou reprodução até a morte dos organismos.

Os testes de toxicidade são importantes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes, uma vez que somente as análises químicas não possibilitam esse tipo de avaliação. Além disso, análises de toxicidade já vêm sendo exigidas por leis ambientais no Brasil, como a Resolução CONAMA 357/05.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda do agrotóxico carbofurano utilizando *Danio rerio* (peixe paulistinha), como bioindicador, assim como determinar a concentração letal mediana (CL_{50}) em 48h e 72h de exposição.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi avaliado a toxicidade aguda do agrotóxico carbofurano (FURADAN 350) em diferentes concentrações (0,001 mg.L⁻¹, 0,01 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹, 1 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹ e 20 mg.L⁻¹), afim de determinar a concentração letal mediana (CL_{50}), ou seja, a concentração que causa efeito letal em 50% dos organismos após um determinado período de exposição. Este agrotóxico foi escolhido porque, além de estar presente em águas de abastecimento, é tóxico e suspeito de estar associado a problemas de saúde humana.

Neste estudo, foi utilizando o peixe *Danio rerio* (paulistinha), como bioindicador. Nos ensaios de ecotoxicidade com *Danio rerio*, 6 organismos jovens, que foram aclimatados durante 7 dias, foram expostos a 1000 mL de amostra, em concentrações diluídas, por um período de 48 h e 72 h, em regime estático (sem renovação diária das soluções-teste), sem iluminação e sem o fornecimento de alimento aos organismos. A letalidade era registrada a cada 24h até o final do ensaio e, quando haviam organismos mortos, os mesmos eram retirados. Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Os testes foram considerados válidos pois a sobrevivência do controle foi de 100%.

A água de diluição e de cultivo foram produzidas de acordo com a norma da ABNT (NBR 15.088/2004). O cultivo foi realizado em um aquário com capacidade de 120 L, mantendo-os em temperatura de $22^{\circ}C \pm 2$ (Figura 1). Os peixes foram alimentados com ração comercial após as manutenções de seus aquários, exceto um dia antes dos testes. Os organismos-testes, juvenis de *Danio rerio*, com peso médio de 0,3 g eram aclimatados à água de diluição na temperatura de $22^{\circ}C \pm 2$ durante 7 dias antes dos ensaios serem realizados. A água utilizada no cultivo dos organismos foi a da rede de abastecimento, após um processo de descloração com Tiossulfato de Sódio. A medição do cloro livre remanescente na água utilizada foi realizada com o kit de teste de cloro da Hach.

Para avaliar a qualidade da água de cultivo foram realizadas constantes análises de condutividade, dureza, oxigênio dissolvido, pH e temperatura. As mesmas análises foram feitas para a água de diluição. Todas as análises foram realizadas em duplicata e de acordo com as normas estabelecidas pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2012).



Figura 1: Aclimação dos peixes no aquário.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta as médias das condições iniciais da água de diluição com seus respectivos valores de desvio padrão (DP).

Tabela 1: Condições iniciais da água de diluição.

Amostra	Condutividade		Dureza		Oxigênio Dissolvido		pH		Temperatura	
	Média uS.cm ⁻¹	DP uS.cm ⁻¹	Média mg.L ⁻¹	DP mg.L ⁻¹	Média mg.L ⁻¹	DP mg.L ⁻¹	Média -	DP -	Média °C	DP °C
Branco	47,30	0,00	41,17	0,00	7,32	0,13	7,13	0,04	23,10	0,00

Os testes com carbofurano tiveram a finalidade de avaliar a sensibilidade do bioindicador (*Danio rerio*) por meio do CL₅₀. As Tabelas 2 e 3 mostram os resultados obtidos para os testes com carbofurano em 48 e 72 horas de exposição e, a Figura 2, os resultados do CL₅₀.

Tabela 2: Resultados dos testes com carbofurano com 48 horas de exposição.

Concentração de carbofurano (mg.L ⁻¹)	Teste 1	Teste 2	Mortalidade	
			Total	(%)
Controle	0	0	0	0
0,001	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0
1	0	0	0	0
10	6	4	10	83
20	6	6	12	100

Os testes de 48 horas com carbofurano mostram que a partir da concentração de 10 mg.L⁻¹ a mortalidade do *Danio rerio* é elevada. As concentrações abaixo de 1 mg.L⁻¹ não apresentaram toxicidade aguda aos organismos testados.

Tabela 3: Resultados dos testes com carbofurano com 72 horas de exposição.

Concentração de carbofurano (mg.L ⁻¹)	Teste 1	Teste 2	Mortalidade	
			Total	(%)
Controle	0	0	0	0
0,001	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0
1	0	0	0	0
10	6	6	12	100
20	6	6	12	100

Os testes de 72 horas com carbofurano mostram que a partir da concentração de 10 mg.L⁻¹ a mortalidade do *Danio rerio* é elevada. As concentrações abaixo de 1 mg.L⁻¹ não apresentaram toxicidade aguda aos organismos testados

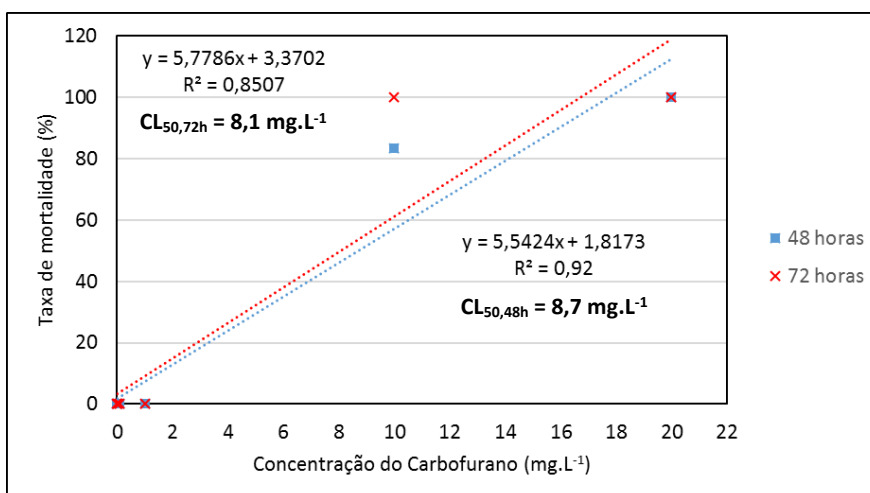


Figura 2: Representação gráfica da porcentagem de mortalidade de *Danio rerio* em função das concentrações de carbofurano nos ensaios de toxicidade aguda.

Na Figura 2, observa-se que o CL₅₀ do carbofurano para o *Danio rerio* foi de 8,7 mg.L⁻¹ em 48h de exposição e de 8,1 mg.L⁻¹ em 72h de exposição. AMÉRICO *et al.* (2015), avaliando a toxicidade aguda do carbofurano através do organismo *Oreochromis niloticus* (tilápia), obteve um CL_{50;48h} igual a 0,44 mg L⁻¹, o que classifica o inseticida como altamente tóxico para o organismo em estudo. FRELLO *et al.* (1999), avaliando a toxicidade do mesmo pesticida através de bioensaios com peixes e microcrustáceos, determinou a Concentração Letal (CL₅₀) e Concentração Efetiva (CE₅₀) de carbofurano para *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*, respectivamente, para 48 horas de exposição. Os autores encontraram um CL₅₀ de 164,91 µg/L para *Poecilia reticulata* e um CE₅₀ de 18,7 µg/L para *Daphnia magna*. COLONETTI (2003), em seu estudo de toxicidade do carbofurano com *Daphnia magna*, também encontrou valores de CE próximos ao encontrado por FRELLO *et al.* (1999). Em seus testes, o valor de CE₅₀ em 24h de exposição do microrganismo ao agrotóxico foi de 37 µg/L e o valor de CE₅₀ em 48h de exposição foi de 30 µg/L.

Comparando os dados da literatura com os obtidos neste trabalho, verifica-se que o *Danio rerio* apresenta uma menor sensibilidade ao carbofurano, ou seja, uma maior resistência ao agrotóxico, comparado aos demais organismos bioindicadores avaliados. Isto ocorre, pois organismos de tamanhos reduzidos apresentam uma taxa metabólica muito maior sofrendo, consequentemente, maiores efeitos tóxicos do que organismos de tamanhos maiores.

Em relação ao grau de toxicidade, ZUCKER (1985) classifica o potencial de toxicidade aguda para peixes e invertebrados aquáticos em: extremamente tóxico (CL₅₀<0,1); altamente tóxico (0,1 < CL₅₀< 1); moderadamente tóxico (1 < CL₅₀<10); ligeiramente tóxico (10 < CL₅₀<100); e praticamente não tóxico (CL₅₀>100). Os testes realizados neste trabalho mostraram que o agrotóxico carbofurano é moderadamente

tóxico ao organismo *Danio rerio*, visto que os valores de CL tanto para 48h quanto para 72h de exposição encontravam-se entre as concentrações de 1 mg.L⁻¹ e 10 mg.L⁻¹.

Apesar de apresentar uma toxicidade moderada para essa espécie, o carbamato deve ser utilizado com cautela, pois as concentrações testadas causaram sinais de intoxicações aos peixes sobreviventes e, em alguns casos, até a morte após as 72h de exposição.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi determinado a faixa de concentração de carbofurano que apresenta toxicidade aguda aos organismos bioindicadores *Danio rerio* e, conseqüentemente, a vida humana. A partir dos experimentos realizados conclui-se que o carbofurano é um agrotóxico moderadamente tóxico ao organismo *Danio rerio* e, portanto, merece ser monitorado na água de abastecimento, constantemente, visto que é um agrotóxico amplamente utilizado na agricultura. Os testes realizados indicam que a faixa de concentração do agrotóxico que apresenta toxicidade ao *Danio Rerio* encontra-se entre 1 e 10 mg.L⁻¹, sendo, a concentração letal após um período de exposição de 48h ou 72h, igual a 8,7 mg.L⁻¹ e 8,1 mg.L⁻¹, respectivamente.

Para trabalhos futuros que envolvam a degradação do carbofurano ou mesmo a toxicidade do carbofurano utilizando *Danio rerio*, como organismo biodiindcador, sugere-se trabalhar entre as faixas de concentração de 1 mg.L⁻¹ e 10 mg.L⁻¹. Também sugere-se avaliar a toxicidade crônica do agrotóxico carbofurano ao *Danio rerio*, uma vez que foram observados alterações e comprometimento deste peixe, após 72 h de exposição ao pesticida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15088: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. São Paulo, 2004. 19 p.
2. AMÉRICO, J. H. P., MACHADO, A. A., IGNÁCIO, N. F., SILVA, M. A., NETO, J. G. M. Ecotoxicity of carbofuran insecticide for tilapia (*Oreochromis niloticus*). XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECHNIA ZOOTEC. 2015. Anais. Fortaleza - CE, 2015.
3. APHA; AWWA; WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22th edition, Washington D.C.: American Public Health Association, 2012.
4. BENITEZ, F. J., ACERO, J. L., REAL, F. J. Degradation of carbofuran by using ozone, UV radiation and advanced oxidation processes. Journal of Hazardous Materials, v.89, p.51–65, 2002.
5. CALDAS, S. S., DEMOLINER, A., COSTA, F. P., D'OCA, M. G. M., PRIMEL, E. G. Pesticide Residue Determination in Groundwater using Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. Journal of the Brazilian Chemical Society, v.21, n.4, p.642–650, 2010. <http://doi.org/10.1590/S0103-50532010000400009>
6. COLONETTI, J. Avaliação da toxicidade do carbaril, carbofurano e fenol utilizando *Daphnia magna* como bioindicador. Criciúma, 2003. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2003.
7. FRELLO, C. P., MATIAS, W. G., COSTA, R. H. R. Avaliação da toxicidade aguda do pesticida carbofurano utilizando reativos biológicos: *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*. 20º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. 1999. Anais. Rio de Janeiro, 1999.
8. MA, Y.-S., SUNG, C.-F., LIN, J.-G. Degradation of carbofuran in aqueous solution by ultrasound and Fenton processes: Effect of system parameters and kinetic study. Journal of Hazardous Materials, v.178, n.1-3, p.320–325, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.01.081>
9. RIBEIRO, A. C. A., DORES, E. F. G. C., AMORIM, R. S. S., LOURENCETTI, C. Resíduos de pesticidas em águas superficiais de área de nascente do rio São Lourenço- MT: validação de método por extração em fase sólida e cromatografia líquida. Química Nova, v.36, n.2, p.284–290, 2013. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422013000200015>
10. Zucker, E. Hazard Evaluation Division, Standard Evaluation Procedure: Acute Toxicity Test for Freshwater Fish. EPA-540/9/85-006. U.S. Washington D.C.: Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, 1985.