



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE**

de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016 www.pocos.com.br

ECOTOXICIDADE DO INSETICIDA IMIDACLOPRID PARA A MACRÓFITA AQUÁTICA LENTILHA D'ÁGUA

Juliana Heloisa Pinê Américo-Pinheiro(1); Leticia de Oliveira Manoel(2); Nádia Hortense Torres(3); Luiz Fernando Romanholo Ferreira(4); Joaquim Gonçalves Machado-Neto(5)

(1) Doutora em Aquicultura e Biologia Aquática, Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP-CAUNESP), Jaboticabal/SP, e-mail: americo.ju@gmail.com; (2) Doutoranda do Curso de Pós-graduação em Zoologia, Laboratório de Ecologia de Peixes-Pirá, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP-IBB), Botucatu/SP, e-mail: leticia.is@gmail.com; (3) Pós-doutoranda em Engenharia de Processos, Laboratório de Tratamento de Resíduos e Efluentes, Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju/SE, e-mail: [nahortense@gmail.com](mailto:nadahortense@gmail.com); (4) Professor Doutor, Laboratório de Tratamento de Resíduos e Efluentes, Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju/SE, e-mail: romanholobio@gmail.com; (5) Professor Titular, Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP - CAUNESP), Jaboticabal/SP, e-mail: joaquimgmn@gmail.com.

Eixo temático: Saúde, Segurança e Meio Ambiente

RESUMO – O imidacloprid é utilizado para controle de insetos pragas na agricultura e pode atingir corpos hídricos intoxicando organismos não alvos. O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade aguda do imidacloprid para *Lemna minor* e classificar o inseticida de acordo com seu potencial tóxico. As macrófitas foram cultivadas em meio Hoagland's, mantidas em sala com temperatura controlada ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), intensidade de luz de 6.500 lux e fotoperíodo de 12 horas. Os ensaios foram realizados nas mesmas condições de cultivo e com duração de sete dias. A sanidade e sensibilidade do lote de macrófitas foi avaliada por meio de ensaio com a substância de referência NaCl. Nos ensaios definitivos foram utilizadas 3 réplicas para cada concentração. Para cada réplica foram selecionadas 4 colônias de *L. minor* com 3 frondes cada, totalizando 12 frondes por réplica. Nas avaliações foram registrados o número de frondes, clorose e necrose. Nos ensaios definitivos foram utilizadas seis concentrações de imidacloprid (100, 500, 900, 1300, 1700, 2100 mg L⁻¹) e um controle. A concentração de inibição de crescimento (CI_{50;7d}) foi calculada com o auxílio do software Trimmed Spearman Karber. A CI_{50;7d} média do imidacloprid para *L. minor* foi de 348,36 mg L⁻¹. A partir da concentração de 900 mg L⁻¹ as frondes apresentaram clorose. O imidacloprid classifica-se como praticamente não tóxico para *Lemna minor*. Apesar da baixa toxicidade para esse organismo, o neonicotinóide deve ser utilizado com cautela, pois pode ser absorvido pela raiz das macrófitas e causar impactos negativos em herbívoros das cadeias tróficas aquáticas.

Palavras-chave: Agrotóxico. Ambientes aquáticos. *Lemna minor*. Toxicidade aguda.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE**

de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016 pocos.com.br

ABSTRACT – Imidacloprid is used for insect pests control in agriculture and can reach water bodies intoxicating non-target organisms. The aims of this study was to determine the acute toxicity of imidacloprid for *Lemna minor* and classify the pesticide according to its toxic potential. The weeds were grown in Hoagland's, kept in temperature controlled room (24 ± 1 ° C), light intensity of 6,500 lux and a photoperiod of 12 hours. Assays were performed under the same cultivation conditions and lasting seven days. The health and sensitivity of the macrophyte batch was assessed by testing with NaCl reference substance. In the definitive assays used were 3 replicates per concentration. For each replica were selected 4 colonies of *L. minor* with 3 fronds each, totaling 12 fronds per replicate. The assessments were recorded frond number, chlorosis and necrosis. In the definitive tests were used six concentrations of imidacloprid (100, 500, 900, 1300, 1700, 2100 mg L⁻¹) and a control. The concentration of growth inhibition (IC₅₀; 7d) was calculated with the aid of the Trimmed Spearman Karber software. The IC₅₀; 7d average imidacloprid to *L. minor* was 348.36 mg L⁻¹. From the concentration of 900 mg L⁻¹ fronds showed chlorosis. The imidacloprid is classified as practically non-toxic to *Lemna minor*. Despite the low toxicity to the organism, the neonicotinoid should be used with caution because it can be absorbed by the roots of weeds and cause negative impacts on herbivores of the aquatic food chains.

Keywords: Pesticide. Aquatic environments. *Lemna minor*. Acute toxicity.

Introdução

Os ecossistemas aquáticos são contaminados com substâncias químicas provenientes de atividades industriais e agrícolas. Os agrotóxicos constituem uma das principais classes de contaminantes encontrados em ambientes aquáticos (VEIGA et al., 2006; GRÜTZMACHER et al., 2008) que podem causar impacto na biota devido a toxicidade que apresentam para organismos não alvos (QI et al., 2013).

O imidacloprid é um inseticida do grupo químico dos neonicotinóides utilizado em todo mundo, principalmente para controle de insetos sugadores de culturas (pulgões, cigarrinhas, tripés, mosca branca e cupins) (TOMLIN, 1997; TOMIZAWA e CASIDA, 2005). Esse inseticida sistêmico também pode ser utilizado para tratamento de sementes e para aplicação diretamente no solo e via foliar, cujo mecanismo de ação tóxica é agonista do receptor de acetilcolina em insetos (MATSUDA et al., 2001). Em 2013, o imidacloprid destacou-se entre os 10 ingredientes ativos mais vendidos no Brasil (IBAMA, 2014).

O uso frequente e muitas vezes incorreto de agrotóxicos ocasiona a contaminação dos solos, da atmosfera, das águas superficiais e subterrâneas, e dos alimentos (SPADOTTO, 2006). A contaminação das águas superficiais e subterrâneas ocorre principalmente pela movimentação das águas da chuva e de irrigação. Os agrotóxicos dissolvidos nas águas podem ser lixiviados com as águas de drenagem que escoam das plantações e dos solos e atingem a rede hidrográfica (CEREJEIRA et al., 2003).



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE**

de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016 www.pocos.com.br

As macrófitas são encontradas em quase todos os tipos de ambientes aquáticos e desempenham importante papel no ciclo de nutrientes e fluxo de energia (ESTEVES, 1998). Elas constituem a base das cadeias tróficas aquáticas de herbivoria direta assim como das cadeias de detritivoria (THOMAZ, 2002). A importância dessas plantas também está relacionada com a sua capacidade de estabelecer forte ligação entre ecossistemas aquáticos e o ambiente terrestre que o circunda (JORGENSEN e LÖFFLER, 1990).

A *Lemna minor*, conhecida popularmente como lentilha d'água, é uma macrófita aquática flutuante padronizada internacionalmente e indicada pelo Guidelines for the testing of chemicals (OECD, 2002) para avaliação de toxicidade aguda de substâncias químicas. *L. minor* é facilmente cultivada, tem taxa de crescimento elevada em condições de laboratório e alta sensibilidade a poluentes.

Assim, devido à frequência e intensidade de uso de imidacloprid, principalmente na cultura de cana-de-açúcar, são necessários estudos sobre concentrações tóxicas a organismos não alvos que são a base das cadeias tróficas aquáticas como as macrófitas.

O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade aguda do imidacloprid para *Lemna minor* e classificar o inseticida de acordo com seu potencial tóxico para a macrófita.

Material e Métodos

Os ensaios de toxicidade aguda com a macrófita *Lemna minor* foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional do Departamento de Fitossanidade associado ao Centro de Aquicultura da UNESP.

O inseticida utilizado foi o neonicotinóide imidacloprid (CAS n° 13826-41-3) na formulação comercial Provado SC® (200 g L⁻¹) fabricado pela Bayer CropScience AG.

Os ensaios de toxicidade aguda para *L. minor* foram realizados de acordo com os procedimentos do Guideline for testing of chemicals – *Lemna minor* Growth Inhibition da OECD (2002).

As macrófitas foram cultivadas em meio Hoagland's composto de água destilada reconstituída com nutrientes e pH 5,8. Os organismos foram mantidos em sala com temperatura controlada de 24 ± 1°C, intensidade de luz de aproximadamente 6.500 lux e fotoperíodo de 12 horas.

Para os ensaios com *L. minor* foram selecionadas espécimes com frondes (folhas) em bom aspecto sanitário, nutricional e de tamanho homogêneo. Os ensaios foram realizados na sala climatizada com as mesmas condições de cultivo e com duração de sete dias.

A sanidade e sensibilidade do lote de macrófitas foi avaliada por meio de ensaio com a substância de referência NaCl. A concentração de inibição média (CI50;7d) do NaCl para a macrófita foi de 4,22 g L⁻¹, com limite superior (LS) de 4,87 g L⁻¹ e limite inferior (LI) de 3,65 g L⁻¹. Este resultado confirma que as macrófitas estavam em condições normais de sanidade e sensibilidade, de acordo com a carta controle de cultivo do laboratório.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS
21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016 www.pocos.com.br

Após os ensaios com a substância de referência, foram realizados ensaios preliminares com imidacloprid para determinar o intervalo de concentração que causa 0 e 100% de inibição de crescimento das macrófitas.

Nos três ensaios definitivos foram utilizadas 3 réplicas para cada concentração. Para cada réplica foram selecionadas 4 colônias de *L. minor* com 3 frondes cada, totalizando 12 frondes por réplica.

As avaliações foram realizadas no 3°, 5° e 7° dia de exposição ao inseticida. Nas três avaliações foram registrados o número de frondes formadas (inibição do crescimento), ocorrência de clorose (perda da clorofila) e de necrose (morte das macrófitas). Nos ensaios definitivos foram utilizadas seis concentrações de imidacloprid (100, 500, 900, 1300, 1700, 2100 mg L⁻¹) e um controle (meio de cultivo sem inseticida).

Ao final dos ensaios foi registrado o número de frondes em cada réplica e calculada a concentração de inibição de crescimento 50% estimada (CI₅₀;7d) para o inseticida com o auxílio do software Trimmed Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977).

Com o valor obtido de CI₅₀;7d, o imidacloprid foi classificado quanto ao potencial tóxico de acordo com as classes de toxicidade aguda propostas por Zucker (1985) (Tabela 1).

Tabela 1. Classes de toxicidade aguda propostas por Zucker (1985), baseadas nos valores de CI₅₀ de agrotóxicos para organismos não alvos.

	Valores de toxicidade aguda (mg L⁻¹)	Classificação ecotoxicológica
Zucker (1985)	CI ₅₀ < 0,1	Extremamente tóxico
	0,1 < CI ₅₀ < 1	Altamente tóxico
	1 < CI ₅₀ < 10	Moderadamente tóxico
	10 < CI ₅₀ < 100	Ligeiramente tóxico
	CI ₅₀ > 100	Praticamente não tóxico

Resultados e Discussão

A CI₅₀;7d média estimada do imidacloprid para *L. minor* foi de 348,36 mg L⁻¹ com LS de 424,74 mg L⁻¹ e LI de 287,37 mg L⁻¹ (Figura 1). Com o valor obtido, o inseticida se classifica como praticamente não tóxico de acordo com Zucker (1985) para a macrófita.



XIII Congresso Nacional de MEIO AMBIENTE

de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016 pocos.com.br

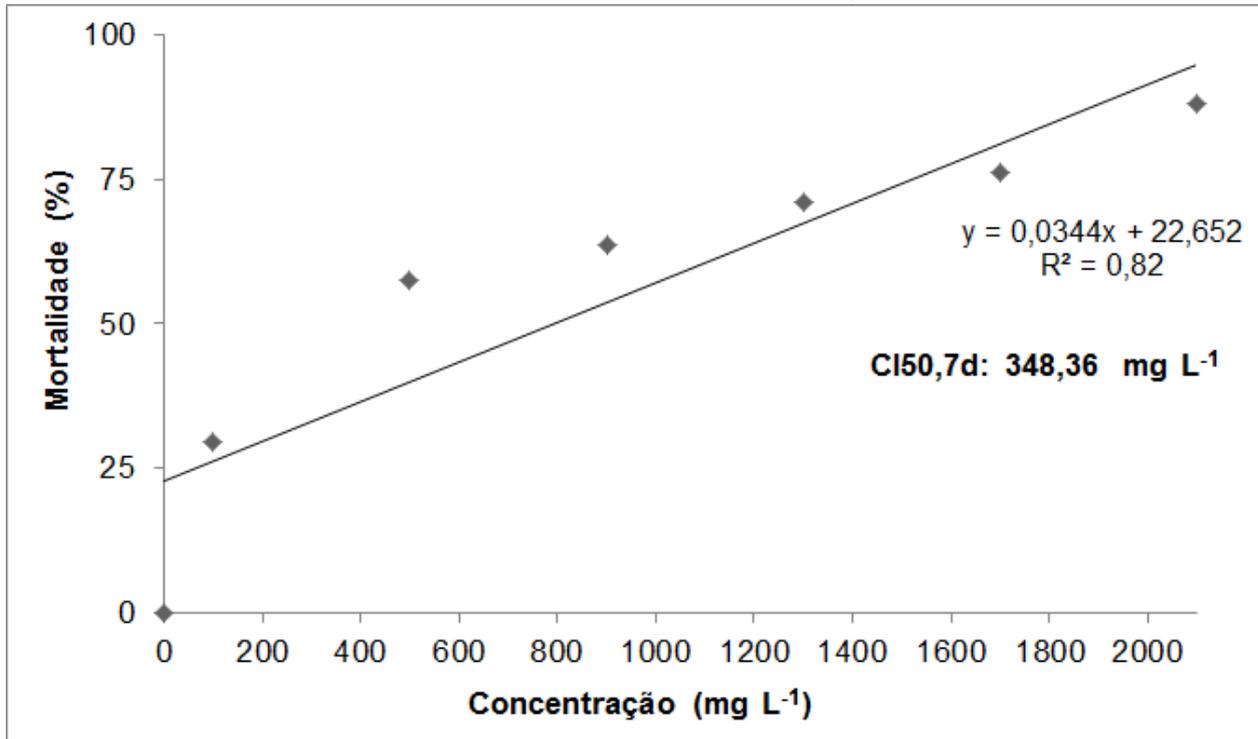


Figura 1. Representação gráfica da porcentagem de mortalidade média da macrófita aquática *Lemna minor* em função das concentrações do inseticida imidacloprid nos ensaios de toxicidade aguda.

No controle não ocorreu inibição do crescimento das frondes das macrófitas. Nas concentrações de 100; 500; 900; 1300; 1700 e 2100,0 mg L⁻¹ de imidacloprid a inibição do crescimento foi 29,4%; 57,4%; 63,5%; 71,1%; 76,2% e 88% respectivamente. A partir da concentração de 900,0 mg L⁻¹ as frondes apresentaram sinais de clorose.

Para *L. minor*, o neonicotinóide thiamathoxan teve a mesma classificação obtida para o imidacloprid (CI_{50;7d} > 100,00 mg L⁻¹) (CARRASCHI-OLIVEIRA, 2014). O imidacloprid é menos tóxico para *L. minor* do que para a alga *Desmodesmus subspicatus* (CI_{50;72h} de 116 mg L⁻¹) (TISLER et al., 2009). Devido ao mecanismo de ação dos neonicotinóides, a macrófita *L. minor* assim como algumas algas são organismos relativamente tolerantes ao inseticida imidacloprid (DAAM et al., 2013).

O elevado valor da CI_{50;7d} do imidacloprid para *L. minor* pode estar relacionado ao mecanismo de ação desses inseticidas que atuam no sistema nervoso dos insetos. Assim, como as macrófitas apresentam fisiologia diferente dos insetos, o inseticida é praticamente não tóxicos para *L. minor*.

Conclusões



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS

21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016 www.meioambiente.pocos.com.br

O inseticida imidacloprid classifica-se como praticamente não tóxico para macrófita aquática *Lemna minor*. No entanto, na concentração de 100 mg L⁻¹ o inseticida pode causar inibição de crescimento da lentilha d'água. Apesar da baixa toxicidade (CI_{50;7d} > 100 mg L⁻¹) para esse organismo, o neonicotinóide deve ser utilizado com cautela, pois o imidacloprid pode ser absorvido pela raiz das macrófitas e causar impactos negativos em herbívoros das cadeias trófica aquáticas.

Agradecimento

A primeira e segunda autora agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida.

Referências Bibliográficas

CARRASCHI-OLIVEIRA, S. P. Ecotoxicidade, segurança clínica e eficácia de fármacos em jovens de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). 2014. 101p. Tese (Doutorado). Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal.

CEREJEIRA, M. J. et al. Pesticides in Portuguese surface and ground waters. *Water Research*, Oxford, v.37, n.5, p. 1055-1063, 2003.

DAAM, M. A. et al. Preliminary aquatic risk assessment of imidacloprid after application in an experimental rice plot. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, New York, v.97, p. 78-95, 2013.

GRÜTZMACHER, D. D. et al. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.12, n.6, p. 632-637, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v12n6/v12n06a10.pdf>>. Acesso em 02 abr. 2016.

HAMILTON, M.A. et al. Trimed Sperman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicology bioassays. *Environmental Science & Technology*, Easton, v.7, p.714-719, 1977.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). Relatórios de comercialização de agrotóxicos – Boletim anual de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. 2014. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>> Acesso em: 10 jan. 2016.

JORGENSEN, S. E.; LÖFFLER, H. 1990. Guidelines of Lake Managment. International lake. Environment Comitte. United Nations Environment Programme.v.3, 174p.

MATSUDA, K. et al. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, Cambridge, v. 22, p.573–580, 2001.



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS
21, 22 E 23 DE SETEMBRO DE 2016
www.meioambiente.pocos.com.br

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD).
Lemna sp. Growth Inhibition Test. In: GUIDELINE for testing of chemicals, 2002.

SPADOTTO, C. A. Avaliação de riscos ambientais de agrotóxicos em condições brasileiras. Documentos 58. Embrapa:Cnpma, Jaguariúna, 20p., 2006.

THOMAZ, S. M. Fatores ecológicos associados à colonização e ao desenvolvimento de macrófitas aquáticas e desafios de manejo. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 20, p. 21-33, 2002. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/pd/v20nspe/03.pdf>>. Acesso: 05 abr. 2016.

TISLER, T. et al. Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, Oxford, v. 76, n.7 p. 907-914, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653509005815>>. Acesso em: 01 abr. 2016.

TOMLIN, C. D. S. *The Pesticide Manual*. 11th. The British Crop Protection Council, UK: Farnham Surrey, 1997, 1250p.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v.48, p. 339-364, 2003. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.ento.48.091801.112731>>. Acesso em: 06 abr. 2016.

VEIGA, M. M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.22, n.11, p.2391-2399, 2006. Disponível em: <<http://www.mobilizadores.org.br/wp-content/uploads/2014/05/texto-5363c7126809f.pdf>>. Acesso em: 06 abr. 2016.

ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure - Acute Toxicity Test for Freshwater Fish. Washington: USEPA PUBLICATION, 1985. 167p.