

AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DO FUNGICIDA CAPTAN, ATRAVÉS DO ESTUDO COMPARATIVO ENTRE DUAS ESPÉCIES DE OLIGOCHAETAS EDÁFICOS (Amyntas hawayanus, ROSA-1891 e Eisenia foetida, SAVIGNY-1826)

B. CARLOS BORGES TANCK*

Duas espécies de Oligochaetas edáficas foram avaliadas para determinar a CL50 através do método "ARTISOL" adaptado, utilizando-se quatro formulações distintas do fungicida CAPTAN. Os resultados obtidos indicaram variabilidade entre as espécies, demonstrando que agentes químicos podem afetar diferentemente organismos do mesmo grupo. Portanto, a utilização de grupos representativos da pedofauna em biotestes confirma a necessidade de aprimorar novas técnicas, com o objetivo de fornecer resultados efetivos que possibilitem entender melhor o grau de toxicidade dos químicos.

1 INTRODUÇÃO

Muitos estudos têm investigado os efeitos dos agrotóxicos sobre as comunidades bióticas do solo e dentre estas, os Oligochaetas edáficos (minhocas) são avaliados constantemente em biotestes nos laboratórios ou em condições de campo (1). O desenvolvimento de novos biocidas para controlar pragas na agricultura têm sido o objetivo da moderna química agrícola (7) e o seu uso tem possibilitado aumento da produção, o que não seria possível sem a presença destes potentes químicos. Alguns dos mais efetivos

* Mestre em Agronomia pela Universidade Federal do Paraná e Pesquisador do CEPPA.

agrotóxicos são de fato biocidas de amplo espectro, cujos efeitos incluem a destruição acidental de espécies benéficas (6). Assim, biotestes com Oligochaetas edáficos devem ser mais explorados, pois estes organismos estabelecem e mantêm a estrutura e a fertilidade do solo. É evidente que alguns agrotóxicos podem provocar efeitos deletérios ou subletais (2), afetando conseqüentemente as características físicas, químicas e biológicas do solo. Os efeitos da acumulação de agrotóxicos pelos Oligochaetas edáficos, é de interesse ecológico, porque estes organismos podem desempenhar papel na redistribuição dos agentes químicos após a aplicação (10), causando efeito em outros organismos ou contaminando águas subterrâneas (8).

O estudo comparativo entre duas espécies de Oligochaetas edáficos fornece subsídio científico para avaliar, com exatidão, as diferenças entre espécies e demonstrar resultados efetivos do componente químico analisado. A determinação da ecotoxicidade de agentes químicos, descrita originalmente por M. B. BOUCHÉ (3) em 1984, recomenda o uso de meio sintético padrão (ARTISOL) para bioensaios, que tem por finalidade avaliar a concentração letal média (CL50) para organismos do solo (minhocas), durante período determinado.

No presente trabalho utilizou-se duas espécies distintas, uma padronizada mundialmente para biotestes (Eisenia foetida) (3) e a outra com grande espectro populacional em solos tropicais, onde há manutenção de matéria orgânica (fresca/decomposta) e desenvolvimento tecnológico de sistemas de conservação de solos, como o plantio direto (Amyntas hawayanus) (11). Para determinar a ecotoxicidade aguda, utilizou-se quatro concentrações diferentes do agente químico CAPTAN N- (TRICLOROMETIL-TIO) CICLOHEXANO-4 1,2-DICARBOXIMIDA), expondo os organismos testes à diferentes dosagens para o bioensaio.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AGENTE QUÍMICO (CAPTAN)

Para o bioteste foram utilizadas quatro formulações fungicida CAPTAN (25% i.a.; 50% i.a.; 75% i.a. e 92% i.a.) sendo sua característica física o estado sólido na forma pó seco. O agente químico estudado foi obtido de empresa atuam no mercado nacional de produção de agrotóxicos.

2.2 MATERIAL BIOLÓGICO (Oligochaetas edáficos)

Os organismos foram cultivados em caixas de plástico (100 litros) em laboratório, com temperatura controlada ($\pm 2^{\circ}\text{C}$), usando-se esterco de cavalo esterilizado (12% farinha de osso e farelo de trigo na proporção de 85%, 5% respectivamente. Os Oligochaetas edáficos utilizados no bioteste de ecotoxicidade eram adultos com clitelo, estrutura reprodutora característica da classe, pesando em torno de 300-600 mg para Eisenia foetida e 750-1100 para Amyntas hawayanus.

2.3 SUBSTRATO TESTE

Para a preparação do substrato artificial, usou-se uma mistura de 30 g de turfa (solo orgânico) calada seca, estufa a 50°C , 60 g de sílica gel em pó impalpável e 10 g de esterco de cavalo esterilizado (120°C). O conteúdo de água para umidificar o substrato foi determinado através da fórmula de capacidade de campo $[\text{WK} = (\text{G-Z-T})/\text{Tx}100]$.

2.4 TESTE DE SENSIBILIDADE (PADRONIZAÇÃO)

No teste de sensibilidade utilizou-se cloroacetato ($\text{C}_1\text{H}_2\text{CONH}_2$) de qualidade analítica, com cinco concentrações a partir da solução padrão, tendo como objetivo avaliar a sensibilidade dos organismos testes.

condições biológicas dos organismos para o bioensaio de ecotoxicidade.

2.5 FUNDAMENTO

O método consistiu na exposição dos Oligochaetas edáficos adultos à várias concentrações do agente químico, durante o período de 14 dias, com intuito de determinar a concentração do agente tóxico que causa mortalidade a 50% dos organismos teste.

2.6 PROCEDIMENTO

Adaptou-se o método original do bioteste (3), utilizando substrato mais enriquecido no que tange às características físico-químicas e qualidade alimentar, visando fornecer condições similares ao ambiente edáfico.

Em cristalizadores de vidro (2 litros) contendo 90 g de substrato orgânico mineral, utilizado para veicular o agente químico em estudo, adicionou-se quantidades específicas do fungicida CAPTAN conforme a concentração desejada e água para umidificar o substrato junto ao produto. Após homogeneização colocou-se 1425 g de bolinhas de vidro em cada cristalizador com o objetivo de conferir estrutura ao substrato. Para cada formulação do fungicida foram preparadas cinco concentrações diferentes e cinco repetições, sendo que o controle branco continha apenas água destilada, substrato e bolinhas de vidro. Em cada recipiente teste colocou-se dez organismos na superfície, cobriu-se os recipientes com plástico escuro finamente perfurado e preso com elástico para evitar fuga. Os recipientes teste foram mantidos em local com temperatura ambiente controlada ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo de 24 horas no escuro, durante 14 dias, no Laboratório de Avaliação de Ecotoxicidade de Organismos do Solo, convênio CEPPA/FUNPAR, no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná.

2.7 CONTROLE DE QUALIDADE

Os resultados foram considerados válidos, porque a porcentagem de organismos teste mortos no controle não excedeu a 10% e a CL50 para o teste de sensibilidade com a cloroacetamida ficou dentro da faixa de 35 mg a 160 mg/Kg.

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos da CL50 para as diferentes concentrações do CAPTAN, foram calculados segundo o método estatístico "TRIMMED SPEARMAN-KARBER" (5). Comparou-se os efeitos da variável-1 (concentração) e da variável-2 (espécie) utilizando-se ANOVA (ANÁLISE PARAMÉTRICA), para a igualdade de médias o teste F, enquanto que, na comparação múltipla das variáveis para verificar diferenças entre as médias, o teste de Newman-Keuls (9).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A literatura sobre os efeitos dos agrotóxicos na comunidade de Oligochaetas edáficos tem sido revista cuidadosamente (3) e comprovado que determinados agrotóxicos afetam os processos bioquímicos, a mobilidade, a reprodução e provocam distúrbios no sistema nervoso destes organismos (4).

Os resultados da CL50 indicaram que os níveis de toxicidade para as dosagens das quatro concentrações estudadas, mostram diferenças entre repetições (Tabelas 1 e 2).

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL50) DO FUNGICIDA CAPTAN PARA O ORGANISMO TESTE *Amyntas hawayanus* DETERMINADA PELO MÉTODO TRIMMED SPEARMAN-KARBER
UNIDADE: mg/kg de substrato seco

REPETIÇÃO DO BIOENSAIO	CONCENTRAÇÃO DO INGREDIENTE ATIVO			
	Captan 25% CL ₅₀	Captan 50% CL ₅₀	Captan 75% CL ₅₀	Captan 92% CL ₅₀
1	1319,50	857,41	428,70	399,99
2	1231,14	799,99	399,99	399,99
3	1414,21	857,41	428,70	373,21
4	1414,21	857,41	459,47	399,99
5	1319,50	746,42	459,47	373,21
MÉDIA \bar{X} (M.A.S.)	1339,21	823,73	435,27	389,28

TABELA 2 - CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL50) DO FUNGICIDA CAPTAN PARA O ORGANISMO TESTE *E.foetida* DETERMINADA PELO MÉTODO TRIMMED SPEARMAN-KARBER
UNIDADE: mg/kg de substrato seco

REPETIÇÃO DO BIOENSAIO	CONCENTRAÇÃO DO INGREDIENTE ATIVO			
	Captan 25% CL ₅₀	Captan 50% CL ₅₀	Captan 75% CL ₅₀	Captan 92% CL ₅₀
1	1624,50	1055,60	492,45	428,70
2	1624,50	1055,60	565,68	459,47
3	1515,21	984,91	565,68	492,45
4	1624,50	1055,60	492,45	459,47
5	1624,50	984,91	565,68	459,47
MÉDIA \bar{X} (M.A.S.)	1602,74	1027,32	536,39	459,91

De acordo com K.E.LEE (7), o espectro biocida varia com a dose e com a espécie de organismo exposto à biotestes em laboratório ou no ambiente edáfico. Na Tabela 3 isto torna-se mais evidente, onde as variáveis diferem entre elas ou combinadas.

TABELA 3 - ANÁLISE DO EFEITO ENTRE VARIÁVEIS E INTERAÇÕES ENTRE ELAS

STAT Summary of all Effects; design: GENERAL 1 - VAR1, 2 - VAR2 MANOVA						
Effect	df Effect	MS Error	df Error	MS Error	F	p-level
1	3*	2343569.*	32.*	1904.715*	1230.404*	0.000000*
2	1*	254722.*	32.*	1904.715*	133.732*	.000000*
12	3*	19972.*	32.*	1904.715*	10.485*	.000059*

* EFEITO SIGNIFICATIVO
VAR.1 - CONCENTRAÇÕES
VAR.2 - ESPÉCIES ESTUDADAS

P<0.05 → significativo

Comparando-se as médias da CL50 para as quatro formulações entre as espécies, o valor obtido para "p" é menor que 0.001, comprovando que as diferenças são significativas e que o espectro biocida é determinante. As interações entre as variáveis (Tabela 4) mostram grande variabilidade, mas ocorrem casos onde as interações não foram significativas, isto porque deve ter ocorrido distribuição inadequada do biocida junto ao substrato.

K.E.LEE (7) afirma que as variações de toxicidade entre espécies, está determinada principalmente pelas condições a que os Oligochaetas edáficos são expostos. Suas reações frente aos agrotóxicos determinam na prática a capacidade para adaptações fisiológicas, bioquímicas e de comportamento, podendo ser considerada como um tipo de padrão para teste em laboratório.

ABELA 4 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS MÚLTIPLAS ENTRE AS VARIÁVEIS

TAT		Newman-Keuls test; VAR3			
GENERAL		Probabilities for Post-Hoo Tests			
ANOVA		INTERACTION: 1 x 2			
AR1	VAR2	{1}	{2}	{3}	{4}
		1339.712	1602.742	823.7280	1027.324
25	HAWA (1)		.000134*	.000123*	.000134*
25	FOETI {2}	.000134*		.000165*	.000123*
50	HAWA {3}	.000123*	.000165*		.000134*
50	FOETI {4}	.000134*	.000123*	.000134*	
75	HAWA {5}	.000131*	.000137*	.000165*	.000131*
75	FOETI {6}	.000165*	.000131*	.000134*	.000123*
92	HAWA {7}	.000137*	.000138*	.000131*	.000131*
92	FOETI {8}	.000131*	.000131*	.000123*	.000165*

TAT		Newman-Keuls test; VAR3			
GENERAL		Probabilities for Post-Hoo Tests			
ANOVA		INTERACTION: 1 x 2			
AR1	VAR2	{5}	{6}	{7}	{7}
		435.2480	536.3880	389.2780	459.9120
25	HAWA (1)	.000131*	.000165*	.000137*	.000131*
25	FOETI {2}	.000137*	.000131	.000138*	.000131*
50	HAWA {3}	.000165*	.000134*	.000131*	.000123*
50	FOETI {4}	.000131*	.000123*	.000131*	.000165*
75	HAWA {5}		.002588*	.105736NS	.378402NS
75	FOETI {6}	.002588*		.000199*	.009379*
92	HAWA {7}	.105736NS	.000199*		.039949*
92	FOETI {8}	.378402NS	.009379*	.039949*	

As variações que ocorreram dentro do grupo de repetições, demonstrou que os organismos se adaptaram rapidamente, mas por um período curto, período este recomendado para bioteste.

4 CONCLUSÃO

Os valores obtidos para a CL50 indicaram um processo ativo do grau de toxicidade do fungicida CAPTAN, o qual provocou efeitos deletérios em pequena escala para as duas espécies de Oligochaetas edáficos. Dentre os organismos teste, a espécie Eisenia foetida foi mais tolerante, enquanto que a espécie Amyntas hawayanus foi mais sensível em todas as concentrações na mesma proporção. A determinação da CL50 para os dois organismos demonstrou que o CAPTAN não é nocivo, quando usado nas doses recomendadas para agricultura no controle de pragas. A interpretação dos dados obtidos na análise estatística demonstrou variabilidade e diferença toxicológica entre as espécies estudadas. Desta maneira, é necessário testar-se outras espécies que povoam solos agrícolas, com objetivo de determinar a variação que a comunidade edáfica sofre com o impacto dos insumos.

A necessidade de utilizar-se de novas tecnologias para avaliação da ecotoxicidade de agrotóxicos para organismos do solo, motivou o presente experimento, dando conta da importância de se testar novas espécies da pedofauna e fortalecendo a hipótese da caracterização de grupos representativos.

Abstract

Two species of oligochaeta (earthworms) were tested to determine the LC50 by one adaptation of the "artisol" method, using four different formulations of the fungicide Captan. The results showed the variability among species, demonstrating that the organisms of the same group can be differently affected by chemicals. So, the use of representative groups of the pedofauna in biotests must be done to improve new techniques which will increase the effective results about the chemicals toxicity comprehension.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ANTON, F., LABORDA, E., LABORDA, P. Acute toxicity of the fungicide Captan to the Earthworm Eisenia foetida. Bull. Environ. Contam. Toxicol., v. 45, p. 82-87, 1990.
- 2 ANTON, F., LABORDA, E., LABORDA, P., RAMOS, E. Carbofuran acute toxicity to Eisenia foetida. Bull. Environ. Contam. Toxicol., v. 50, p. 407-412, 1993.
- 3 BOUCHÉ, M. B. Ecotoxicologie des Lombriciens. I Ecotoxicologie Controlée. Acta. Oecologia, v. 5, p. 271-287, 1994.
- 4 BRIGGS, G. G., LORD, K. A. The distribution of Aldicarb and its metabolites between Lumbricus terrestris, water and soil. Pesticides Science, v. 14, p. 412-416, 1993.
- 5 HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C., THURTON, R. V. Trimmed Spearman Karber Method of estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol., v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977.
- 6 KITAZAWA, Y., KITAZAWA, T. Influence of application of a fungicide, an insecticide, and compost upon soil biotic community. Faculty of Agric. Rev., v. 4, p. 94-108, 1978.
- 7 LEE, K. E. Earthworms: their ecology and relations with soils and land use. London : Academic Press, 1985. 409 p.
- 8 LORD, K. A., BRIGGS, G. G., NEALE, M. C., MANLOVE, R. Uptake of pesticides from water and soil by earthworms. Pesticides Science, v. 11, p. 401-408, 1980.
- 9 MONTGOMERY, D. C. Design and Analysis of Experiments. New York : John Wiley, 1976. 355 p.
- 10 STERNERSEN, J., OIEN, N. Action of pesticides on earthworms part IV: Uptake and elimination of Oxamil compared with carbofuran. Pesticides Science, v. 11, p. 396-400, 1990.
- 11 TANCK, B. C. B. Flutuação populacional do Oligochaeta edáfico (Gênero; Amyntas) em quatro ecossistemas distintos, através de dois métodos de extração. Curitiba, 1994. 83 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Paraná.