

**A UTILIZAÇÃO DA LENTILHA D'ÁGUA (*Lemna minor*) E DO PEIXE
GUARU (*Phalloceros caudimaculatus*) COMO BIOINDICADORES NA
ECOTOXICOLOGIA**

**Janáina Borges de Azevedo França¹; Daniela da Costa Vaz²; Thiago Vieira de
Moraes³; Claudinei da Cruz⁴; Paulo César Timossi⁵**

¹Discente do curso de Doutorado do IFG – Câmpus Rio Verde, email
janaina_baf@hotmail.com

² Discente do curso de Mestrado da UEG – UNU Ipameri

³Discente do curso de Mestrado do IFG – Câmpus Rio Verde

⁴ Docente do curso de da UNESP – Câmpus Jaboticabal

⁵Docente do curso de Agronomia da UFG – Câmpus Jataí, email
ptimossi2004@yahoo.com.br

RESUMO – É notória a importância de se preservar o ecossistema aquático, pois nos últimos anos a poluição deste ecossistema tem aumentado, em razão do crescimento e do avanço industrial e agrícola. O trabalho foi realizado no NEPEAM - Núcleo de Pesquisas Ambientais em Matologia, do Departamento de Fitossanidade, localizado na UNESP – Universidade Estadual Paulista Câmpus de Jaboticabal. Foram desenvolvidos testes de toxicidade aguda com o peixe guaru (*Phalloceros caudimaculatus*) e com a macrófita aquática lentilha d'água (*Lemna minor*) potenciais organismos bioindicadores, avaliando a toxicidade do herbicida diuron do grupo das uréias substituídas, muito utilizado no Sudeste Goiano, principalmente no município de Ipameri, no controle de plantas daninhas do algodão (*Gossypium hirsutum*). O herbicida foi considerado tóxico para a lemna bem como para o guaru.

Palavras-chave: Impacto ambiental, contaminação, morte de bioindicadores, diuron.

INTRODUÇÃO

O interesse do homem pelas questões ambientais tem aumentado gradativamente nos últimos tempos devido às ocorrências de acidentes com produtos químicos de repercussão mundial (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006). No Brasil o acidente de maior repercussão mundial é o Caso Rodhia onde em 1919 as empresas francesas Rhône-Poulenc[®] e Progil[®] fabricavam o Pentaclorofenato de sódio "penta"; Hexaclorobenzeno "HCB ou hexa"; tetracloroeto de carbono, potenciais inseticidas e solventes. Os resíduos deixados pela Rodhia não acabaram mesmo com o fechamento da empresa em 1995. As conseqüências foram maiores que o avanço econômico proporcionado pela Rodhia como câncer, alterações hepáticas, problemas emocionais e destruição de ecossistemas (MELLO, 1995).

Segundo Knie e Ester (2004), nos testes de toxicidade os organismos bioindicadores são utilizados para avaliar potenciais impactos causados por derramamentos acidentais ou pela liberação contínua de efluentes industriais. O biomonitoramento pode ser realizado com espécies diferentes de bioindicadores, algas, bactérias, daphnias, moluscos, plantas aquáticas e peixes (UBA, 1994). O *Phalloceros caudimaculatus* é um peixe originário do Brasil e do Uruguai, pertencente à família Poecillidae (Poecilídeos) (JAYA, 2007). O guaru é um peixe pequeno, habitante de

7ª JORNADA ACADÊMICA 2013
18 a 23 de Novembro
Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás
Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho

pequenos córregos e riachos que normalmente cortam áreas agrícolas e colonizam áreas infestadas por macrófitas como forma de proteção contra predadores (WONG, 2000).

Segundo Stodola (1967), a macrófita *Lemna minor* é uma planta aquática pequena que flutua na superfície da água, possuindo algumas peças reduzidas (raízes, folhas). Para a sua nutrição são dependentes da matéria dissolvida na água e flutuam livremente e não enraízam, mudando sua posição com cada movimento da água ou do vento. Ela reproduz-se vegetativamente com novas frondes ou folhas brotando a partir das bordas das folhas mais velhas (GEOFFROY, FRANKART e EULLAFFROY, 2004).

No sudeste Goiano o uso do herbicida diuron é intenso, devido sua ação pré-emergência e com os resultados satisfatórios obtidos após o uso; segundo dados da *ARADO CONSULTORIA AGRONÔMICA; no município de Ipameri a safra passada (2007) foi de 12 mil ha onde 8 mil ha foram tratados com o herbicida diuron. E na safra deste ano, onde a produção atinge 5 mil ha, cerca de 3 mil ha será tratado com o mesmo herbicida.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório do NEPEAM, pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de Jaboticabal, no período de 02 a 31 de janeiro de 2008.

Lemna minor

A macrófita *Lemna minor* foi coletada em coleções de plantas aquáticas mantidas nos mesocosmos do NEPEAM e submetida às etapas de seleção e desinfecção em que as plantas com aspecto saudável foram selecionadas e transferidas para o recipiente teste, com o auxílio de pinça metálica, para evitar danos às frondes sendo lavadas em solução aquosa de hipoclorito a 0,2% por três segundos e imersas em água destilada por duas vezes, assim foram aclimatadas em cristalizadores esterilizados contendo 500 mL⁻¹ da solução de Hoaglan, para suprir as necessidades da planta durante a aclimação na sala de bioensaio com fotoperíodo de 12h e temperatura de 24°C, durante um período de sete dias antes da aplicação do herbicida.

Para a realização do teste de toxicidade, foram novamente selecionadas plantas de aspecto saudável do cultivo, e transferidas para recipientes de vidro previamente lavados, acetoados e esterilizados na estufa por uma temperatura de 150°C, cada recipiente recebeu quatro plantas de três frondes cada totalizando 12 frondes (folhas), para o cultivo foram adicionados 50 mL⁻¹ de solução de Hoagland e os recipientes foram cobertos com filme plástico transparente visando evitar a evaporação da água e perfurados para permitir as trocas gasosas e novamente mantidos na sala de cultivo sob as condições de aclimação por um período de 24h. Após o cultivo, serão pesadas, diluídas e aplicadas às seguintes concentrações do herbicida diuron Karmex®, 0,0; 10,0; 30,0; 50,0; 70,0; 90,0; 110,0 e 130,0 mgL⁻¹ dissolvidos em 50 mL⁻¹ da solução de Hoagland em três repetições. Para os testes preliminares, as parcelas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizados (DIC), com três repetições, oito tratamentos totalizando 24 parcelas, aclimatados sob a condição do cultivo e avaliados durante sete dias. Foram avaliados o número de frondes e o número de plantas de cada recipiente, ou seja, a CL(I) 50% a Concentração Letal que afeta as funções vitais

7ª JORNADA ACADÊMICA 2013
18 a 23 de Novembro
Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás
Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho

(crescimento, reprodução, morte) de 50% dos bioindicadores durante a exposição do teste.

Antes de realizar a análise de variância, os dados foram transformados em raiz quadrada (\sqrt{x}), pois são originários de contagem, os quais geralmente seguem a distribuição de Poisson, na qual a média é igual à variância. Posteriormente, foi realizado o teste de Dunnet com o objetivo de comparar os tratamentos com a testemunha (BANZATTO e KRONKA, 1989).

Phalloceros caudimaculatus

Os animais utilizados nos testes foram aclimatados por 10 dias na sala de bioensaio com temperatura controlada de 27°C e fotoperíodo de 12 horas. A aclimatação foi realizada em uma caixa de amianto, revestida de resina com capacidade para 250 L, com sistema de aeração contínua e alimentação apenas uma vez ao dia com ração comercial.

Os testes foram conduzidos sem substituição ou sifonagem de água e sem alimentação durante as 96 horas de exposição ao herbicida. Diariamente foi avaliado a mortalidade dos peixes, sendo os peixes mortos retirados dos aquários, e guardados em sacos plásticos no freezer pois posteriormente o período do teste todos os animais mortos oriundos de testes com produtos fitossanitários são incinerados para evitar contaminação humana ou ambiental.

No teste realizado, foram utilizados 6 aquários com 5 animais em cada. Os peixes foram selecionados, pesados e colocados em um aquário com 2 L de água durante 24 horas. Após esse período, foram distribuídas as concentrações no primeiro teste de 0,0; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 mgL⁻¹ de diuron a temperatura de 27 °C.

No segundo teste foram de 0,0; 10; 20; 30; 37 e 40 mgL⁻¹ de diuron Karmex® e temperatura de 27 °C.

Foram realizados dois testes de toxicidade aguda para o guaru com o objetivo de encontrar a CL 50% - 96 h (concentração tóxica que provoca morte dos organismos teste, ou seja, a concentração que mata 50% dos organismos expostos em um tempo específico nas condições de teste, no caso em 96 h).

O trabalho foi desenvolvido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com as concentrações de (0,0; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 mgL⁻¹ de diuron/27 °C/24hs) e (0,0; 10; 20; 30; 37 e 40 mgL⁻¹ de diuron/27 °C/96hs).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Lemna minor

A Tabela 1 mostra a análise de variância das variáveis: número de plantas e número de frondes. O número de plantas apresentou um teste não foi significativo, ($p \leq 0,05$) e o número de frondes foi significativo ($p \leq 0,05$). As alterações no crescimento apresentado pela macrófita *Lemna minor* mostram a toxicidade do herbicida para a planta já que esta não se desenvolve conforme o esperado, pois herbicidas em geral, contaminam o ambiente aquático causando problemas aos organismos existentes (FARGASOVA, 1994 e WONG, 2000).

Tabela 1. Análise de Variância (ANOVA), número de plantas e frondes, quanto à toxicidade do herbicida diuron em plantas de *Lemna minor*, Jaboticabal, UNESP, 2008.

Causas da variação	Q.M.		
		Número de Frondes	Número de Plantas
Tratamento	7	2.65580 *	0.137067 ^{NS}
Resíduo	16	0.054896 *	0.110221 ^{NS}
Total	23		
C.V. %	-	6,31	10,12

* Significativo a 5% de probabilidade; ^{NS} Não Significativo a 5% de probabilidade; dados transformados em raiz quadrada (\sqrt{x}).

A Tabela 2 apresenta o resultado do Teste de Dunnett, no qual os tratamentos foram comparados à testemunha. O tratamento controle (0,0 mgL⁻¹) que não foi exposto ao herbicida diuron apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos, mostrando que o número de frondes aumentou, ou seja, houve crescimento das plantas. Os demais tratamentos apresentaram redução do crescimento das plantas demonstrado pelo baixo número de frondes, quando comparados à testemunha. De acordo com Santos, Pitelli e Banzatto (1997), as respostas biológicas como, crescimento e morte das fronte indicam sensibilidade das macrófitas aquáticas aos herbicidas presentes na água.

Tabela 2. Número médio de frondes para cada concentração do herbicida diuron em plantas de *Lemna minor*, Jaboticabal, UNESP, 2008.

Concentração do tratamento mg.L ⁻¹	Média
0	5,83 a
10	3,42 b
30	3,51 b
50	3,11 b
70	3,51 b
90	3,54 b
110	3,26 b
130	3,55 b

Médias seguidas da mesma letra, comparadas em relação à testemunha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram apresentados por Landolt e Kandeler, (1987) em estudos ecotoxicológicos utilizando herbicidas, em que demonstraram que as macrófitas aquáticas sofreram alterações em relação ao crescimento e reprodução quando expostas aos herbicidas.

Phalloceros caudimaculatus

No primeiro teste, não foi encontrada curva de mortalidade e houve mortalidade no controle, que pode ter sido ocasionada por choque térmico durante a

7ª JORNADA ACADÊMICA 2013
18 a 23 de Novembro
Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás
Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho

transferência dos peixes do tanque para os aquários, conforme apresentado nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Parâmetros avaliados quanto á toxicidade do herbicida ao peixe *Phalloceros caudimaculatus* no primeiro teste. (Jaboticabal, 2008)

Concentração do Produto	Mortalidade e em 24 h	Mortalidade e em 48 h	Mortalidade e em 72 h	Mortalidade e em 96 h	Total de alevinos mortos
0,0	2	0	0	0	2
0,1	1	1	0	0	2
0,5	0	1	0	0	1
1,0	1	0	0	0	1
5,0	2	0	1	0	3
10,0	3	0	0	0	3

Tabela 4. Parâmetros avaliados quanto á toxicidade do herbicida ao peixe *Phalloceros caudimaculatus* no segundo teste. (Jaboticabal, 2008)

Concentração do Produto	Mortalidade e em 24 h	Mortalidade e em 48 h	Mortalidade e em 72 h	Mortalidade e em 96 h	Total de alevinos mortos
0,0	3	0	0	0	3
10,0	1	0	0	1	2
20,0	0	1	1	1	3
30,0	1	1	0	1	3
37,0	3	0	2	-	5
40,0	2	0	3	-	5

O herbicida diuron apresentou índices de mortalidade para o guaru nos dois testes realizados, porém em nível não significativo ocorrendo mortalidade no controle dos dois testes realizados invalidando os mesmos, sendo assim necessário a realização de testes com novas concentrações procurando parametrizar o método. Vale salientar que esse tipo de pesquisa é rápido, porém há a necessidade de realizar vários ensaios até obter-se resultados confiáveis.

CONCLUSÕES

Com o teste de toxicidade aguda com a *Lemna minor* foi possível observar que o herbicida diuron pode ser considerado tóxico para a macrófita *L. minor*. O herbicida diuron apresentou índices de mortalidade para *P. caudimaculatus* nos dois testes realizados, porém em nível não significativo ocorrendo mortalidade no controle

7ª JORNADA ACADÊMICA 2013
18 a 23 de Novembro
Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás
Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho

dos dois testes realizados invalidando os mesmos, sendo assim necessária a realização de testes com novas concentrações procurando parametrizar o método.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. do N. Delineamento Inteiramente Casualizado. In: **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: Ed. Funep, 1989. p. 53 – 89.
- FARGASOVA, A. Comparative study of plant growth hormone (herbicide) toxicity in various biological subjects. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** San Diego: v.29, n.3, p.359-364, 1994.
- GEOFFROY, L.; FRANKART, C.; EULLAFFROY, P. **Comparison of different parameter responses in Lemna minor and Scenedesmus obliquus exposed to herbicide flumioxazin**. France: Environ Pollut, 2004.v. 131, n.2, p. 233-241.
- JAYA, G. **Phalloceros caudimaculatus.Guaru cauda manchada**. Disponível em: http://www.aquahobby.com/gallery/b_Phalloceros_caudimaculatus.php . Acesso em 01 de out. de 2013.
- KNIE, J. L.W. ESTER, W. B. L. **Testes ecotoxicológicos: métodos , técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/GTZ. 2004. 289 p.
- LANDOLT, E.; KANDELER, R. The family of Lemnaceae – a monographic study: phytochemistry, physiology, application, bibliography. Biosystematic investigation the family of duckweeds. **Stifung Rubel: Veroffenteichungendes Geobotanischen Institutes der ETH**, Zurich, v.4, 638 p., 1987.
- MELLO, O. **Dossiê “Caso Rodhia”**. Transcrito do site da ACPO - Associação dos Contaminados Profissionalmente por Organoclorados, maio de 1995. Disponível em: <http://www.acpo.org.br/biblioteca/bb/Dossie1.htm> Acesso em 05 de out. de 2013.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, S.F. **Guia de Herbicidas**, 5ª Edição. Londrina: Grafmarke Editora, 2005. 1378 p.
- SANTOS, D. M. M. dos; PITELLI, R.A.; BANZATTO, D. A.; **Influência de herbicidas em macrófitas aquáticas**. Jaboticabal. Ed. FUNEP, 8p., 2001.
- STODOLA, J. **Encyclopedia of water plants**.Ed. By TFH Publications, INC. P.O.Box 27.N.J. 07753: Neptune City, 1967. 368 p.
- UBA (Umweltbundesamt) **Contínuos Biotests for Water Monitoring of the River Rhine**. Berlin Texte58/94, 1994.30p.
- WONG, P. K. Effects of 2,4 D, glyphosate and paraquat on growth photosynthesis and chlorophyll a synthesis of Scenedesmus quadricauda Berb 614. **Chemosphere**, Oxford, v.41, n.1-2, p.177-182, 2000.
- WONG, P. K. **Effects of 2,4-D, glyphosate and paraquat on growth photosynthesis and chlorophyll-a synthesis of Scenedesmus quadricauda Berb 614**. Oxford: Chemosphere, 2000. v. 41, n. 1-2, p. 177-182.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. Rima. **Ecotoxicologia Aquática: principios e aplicações**. São Carlos: Editora Rima, 2006.p.117-197.