

ESTUDO DA TOXICIDADE DO LARVICIDA DIFLUBENZURON SOBRE A ENTOMOFAUNA AQUÁTICA EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Luciene Teixeira VERÍSSIMO¹; Raquel T. de M. SAMPAIO²; Iléa Rodrigues BRANDÃO²

(¹) Bolsista PIBIC INPA/CNPQ; (²) Orientadoras INPA/CPEN/CPCS

1. Introdução

A malária, doença tropical que mais provoca mortes no mundo, tem sido alvo de controle químico desde o século passado. O único meio disponível na prevenção de doenças como a malária é o combate ao vetor, eliminando seus criadouros aquáticos ou combate químico. Este último induz ao desenvolvimento de populações resistentes (Macoris *et al.*, 1995; Rawlins, 1998), sendo assim é necessário pesquisas de produtos novos e mais seguros ao meio ambiente (Ferreira, 2007). Os estágios imaturos dos vetores da malária, *Anopheles* (Meigen, 1818), se desenvolvem no mesmo ambiente que os insetos aquáticos benéficos, isto é, que não transmitem doenças, considerados como entomofauna não-alvo em programas de controle (De Barjac, 1990). Larvicidas são aplicados no controle desses vetores comprometendo assim organismos não-alvo (WHO, 2006). A Organização Mundial de Saúde (OMS) exige que testes de segurança sejam feitos sobre os organismos acompanhantes, antes que seja de uso público (Lacey e Mulla, 1990; De Barjac, 1990). Este trabalho tem como objetivo estudar a toxicidade do larvicida Diflubenzuron contra a entomofauna aquática não alvo em condições de laboratório; coletar a entomofauna aquática nos arredores de Manaus e criar em condições de laboratório; informar pH e temperatura nestes locais. Realizar também bioensaios com imaturos de duas famílias de insetos aquáticos, Euthyplociidae e Notonectidae, para avaliação da toxicidade do Diflubenzuron; determinar a CL50 e CL90 no caso de existir toxicidade.

2. Material e Métodos

As áreas para coleta dos insetos aquáticos são duas: a primeira coleta dos insetos aquáticos da família Euthyplociidae, ordem Ephemeroptera, foi realizada em um trecho de um igarapé no campus da Universidade Federal do Amazonas pertencente à Bacia hidrográfica do Educandos, coordenadas S 3° 05' 55,12" e W 59° 58' 11,78" – Manaus/AM apresentando características de ambiente preservado; a segunda coleta para obtenção da família Notonectidae, ordem Heteroptera, foi realizada nos tanques de piscicultura da Coordenação de Pesquisas em Aqüicultura (CPAQ), coordenadas 3° 05' 58" S e 59° 58' 0" – Manaus/AM, com características de ambiente antropicamente alterado. O material foi acondicionado no campo em baldes e em caixas de poliestireno 30L contendo água do local coletado e trazido ao laboratório de Macroinvertebrados Aquáticos do INPA/CPEN para criação e aplicação nos bioensaios utilizando a dose do fabricante de 1g/L. O larvicida foi pesado por meio de uma balança de precisão na dose de uma 1g/L, que é a dose recomendada pelo fabricante. Concluída a pesagem, o larvicida foi acondicionado em envelopes de papel alumínio para facilitar o transporte e evitar o contato direto com o produto. Os bioensaios foram realizados em aquários contendo água do local de coleta e o volume do Diflubenzuron na concentração recomendada pelo fabricante (1g/L). Posteriormente, foram feitas observações (leituras) da mortalidade e/ou sobrevivência dos imaturos em 05 dias do contato com o Diflubenzuron, como também do controle, não contendo o larvicida. Os bioensaios foram feitos em condições de temperatura 26±2°C e umidade relativa entre 80% e 90%. Os critérios de avaliação dos bioensaios são os descritos por (Dulmage *et al.* 1990) com modificações: a mortalidade no grupo controle não deverá ultrapassar 30% e o limite de confiança considerado foi de 95%. Se possível, a concentração letal para

matar 90% (CL90) e 50% (CL50) da população alvo será calculada, se possível, usando o programa POLO-PC.

3. Resultados e Discussão

Os resultados do efeito do Diflubenzuron sobre a entomofauna estudada obtidos através da leitura de mortalidade dos bioensaios estão apresentados nas Tabelas 1, e 2. Nos dados do primeiro bioensaio, na família Euthyplociidae (79 indivíduos), observou-se que a mortalidade ocorreu a partir das 48 h. Constatou-se também que após cinco dias (120 h) 95% dos indivíduos sofreram efeitos do larvicida. A mortalidade dos indivíduos foi mais elevada após 24 h de exposição. As leituras de mortalidade do segundo bioensaio demonstraram que a mortalidade foi menor que no primeiro bioensaio, demonstrando tolerância à dose testada que é 1g/L e com isso menor suscetibilidade, apesar da mortalidade iniciar nas primeiras 24 h, sendo o maior índice apresentado nos cinco dias de observação. Constatou-se que após cinco dias (120 h) de tratamento, cerca de 30% dos indivíduos da família Euthyplociidae sofreram efeitos do larvicida. Constata-se que o efeito do Diflubenzuron no terceiro bioensaio foi pouco expressivo; a mortalidade inicia em 72h, sendo o maior efeito em 96h, com mortalidade igual a três indivíduos. Até o quinto dia do experimento, morreram 05 indivíduos, ou seja 15% . Na leitura do primeiro bioensaio com a família Notonectidae não houve mortalidade nas primeiras 24h e à partir das 48h os indivíduos começaram a sofrer efeito do larvicida. Durante cinco dias de exposição ao larvicida, cerca de 13% dos indivíduos haviam morrido. Na leitura do segundo bioensaio com a família Notonectidae observou-se que, ao contrario do bioensaio anterior, os indivíduos começaram a sofrer efeito do larvicida a partir das 24h. Observou-se também que a mortalidade foi mais alta nas primeiras 24h com 06 indivíduos mortos. Durante cinco dias de observação, cerca de 17 Notonectidae haviam morrido, representando 19% de mortalidade.

Tabela-1. Bioensaios da família Euthyplociidae. Mortalidade sob a exposição ao Diflubenzuron na dose de 1g/L com leitura até o quinto dia de experimento.

Dose		Tempo de exposição					
		24 h	48 h	72 h	96h	120 h	n
1g/L	Bioensaios / Controles						
	BI	0	17	15	17	2	60
	BII	5	4	2	4	2	60
	BIII	0	17	16	20	3	94
	C 1	0	1	3	0	2	19
	C2	0	5	1	0	0	15
	C3	0	0	0	0	0	10

B: Bioensaio; C: Controle.

Tabela-2. Bioensaio da família Notonectidae. Mortalidade sob a exposição ao Diflubenzuron na dose de 1g/L com leitura até o quinto dia de experimento.

Dose		Tempo de exposição					
		24h	48h	72h	96h	120h	n
1g/L	Bioensaios /Controle						
	B I	0	5	7	5	7	150
	BII	6	4	0	3	4	75
	C1	0	1	2	3	2	60
	C2	0	0	1	1	0	15

B: Bioensaio; C: Controle.

Nos controles houve mortalidade de poucos indivíduos, não ultrapassando o limite do critério de confiança estabelecido por Dulmage. *et. al* 1990, isto é, tolerância de até 30% de mortalidade. Estes resultados corroboram os de Ferreira *et al* (2007) e Ferreira (2008) onde Euthyplociidae foi uma das famílias mais sensíveis ao Diflubenzuron e concordam com Ferreira (2008) onde afirma serem os quatro primeiros dias de ação do Diflubenzuron sobre Notonectidae em laboratório, os de maior atividade. No entanto Ferreira *et al.* (2007) e Steelman *et al.* (1975) observaram redução não significativa no número de indivíduos em experimentos com IGRs (Reguladores de crescimento) em outros macroinvertebrados. O cálculo da CL50 e CL 90 não foi possível e recomenda-se mais repetições desses bioensaios para que o programa Polo PC possa processar os cálculos, como também repetições com outras famílias de macroinvertebrados para que se possa recomendar com segurança o uso deste larvicida nos controles de vetores de doenças.

Palavras-chave: Insetos aquáticos não alvo; Diflubenzuron; Segurança ambiental

4. Conclusões

Com base nos resultados obtidos nos bioensaios com as famílias de insetos aquáticos (Euthyplociidae e Notonectidae) submetidas ao tratamento com o regulador de crescimento Diflubenzuron durante cinco dias, podemos concluir que o efeito sobre a família Euthyplociidae foi maior nas leituras de 48h e 96h e que sobre a família Notonectidae, o efeito foi maior nas leituras de 48h e 120h. O efeito do Diflubenzuron sobre a família Notonectidae (2%) foi menor que sobre a família Euthyplociidae (6%), sendo portanto esta última a família mais susceptível.

5. Bibliografias citadas:

Dulmage, H. T.; Yousten, A. A.; Singer, S. e Lacey, L. (1990). A. Guidelines for production of *Bacillus thuringiensis*/ H-14 and *Bacillus sphaericus*. UNDP/World Bank/WHO, Steering Committee to Biological Control of Vetores, Geneva. 59 p.

Ferreira, F.A.S.; Sampaio, R.T.M. (2007). Invertebrados não alvos em criadouros semi-artificiais de (*Anopheles Meigen, 1818*) na Amazônia Central In: 1º Simpósio de Conservação na Amazônia, Manaus. Conservação no Baixo Rio Negro: UFAM Ed.

Ferreira, F.A.S.; Sampaio, R.T.M.; Lopes, M.J.N. (2007). Composição da entomofauna aquática não alvo proveniente de criadouros de vetores da malária (*Anopheles Meigen, 1818*) nos arredores de Manaus/AM. Anais da XVI Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA: 295-296.

Ferreira, F.A.S. (2008). Efeitos do Diflubenzuron sobre Macroinvertebrados aquáticos em laboratório. *Anais da XVII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/ CNPq/ FAPEA/ INPA*: 240-241.

Lacey, L. A. and M. S. Mulla. 1990. Safety of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* to non-target organisms in the aquatic environment. In Laird, M., I. A. Lacey, and E. W. Davidson, editors. **Safety of microbial insecticides**. Boca Raton, FL CRC Press. p. 169-188.,

Macoris, M.L.G.; Camargo, M.F.; Silva, I.G.; Takaku, L.; Andrighetti, M.T. (1995). Modificação da suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* ao temephos. *Revista de Patologia Tropical*, 24: 31-40.

Rawlins, S.C. (1998). Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. *Revista Panamericana Salud Publica*, 4: 243-251.

Steelman, C. D.; Farlow, J. E.; Breaud, T. P.; Schilling, P. E. Effects of growth regulators on *Psorophora columbiae* (Dyar and Knab) and nontarget aquatic insect species in rice fields. *Mosquito News* 35(1):67-76. 1975.

WHO - World Health Organization. (2006). Pesticides and their application for the Control vectors and pests of public health importance. Ed 6 WHO/WHOPES Library Cataloguing-in- Publication Data, Geneva, Switzerland, 114 pp. Publication Data, Geneva, Switzerland, 114 pp.