

Efeitos de agrotóxicos utilizados no cultivo de cana-de-açúcar sobre a alimentação de duas espécies monofiléticas de *Ceriodaphnia* (Crustacea: Cladocera)

Bruna C. C. Moruzzi; Laís C. M. Silva; Renan C. Gebara; Evaldo L. G. Espíndola; Raquel A. Moreira.

Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo

E-mail: brunamoruzzi@usp.br

Objetivos

Avaliar o efeito de concentrações subletais do inseticida Regent® 800 WG (ingrediente ativo – i.a. fipronil) e do herbicida DMA® 806 BR (i.a. 2,4-D) sobre o comportamento alimentar (taxas de filtração e ingestão) de espécies monofiléticas de *Ceriodaphnia*, de ambiente tropical (*Ceriodaphnia silvestrii*) e temperado (*Ceriodaphnia dubia*). Posteriormente, foi avaliado se há recuperação nas taxas de filtração dos cladóceros em um período de pós-exposição em meio limpo (sem contaminação). Também foi comparada a sensibilidade das espécies aos agrotóxicos.

Métodos e Procedimentos

As formulações comerciais dos agrotóxicos utilizadas foram Regent® 800WG (i. a. fipronil) e DMA® 806 BR (i.a. 2,4-D). Os cladóceros adultos (48 horas de idade) foram expostos em quadruplicata (n=20) a diferentes concentrações subletais de fipronil, sendo elas: 0,0004 mg/L (F1), 0,0008 mg/L (F2), 0,0012 mg/L (F3), 0,0016 mg/L (F4) e 0,002 mg/L (F5). Para o 2,4-D, as concentrações testadas foram: 40 mg/L (D1), 50 mg/L (D2), 60 mg/L (D3), 70 mg/L (D4) e 80 mg/L (D5), assim como estabelecidas e apresentadas em Silva et al. (2020), além de uma concentração fixa de 2×10^5 células mL⁻¹ da alga *Raphidocelis subcapitata*. Uma réplica adicional (sem animais) foi acrescentada para determinar as diferenças da concentração inicial de algas. Após 24 h, os organismos foram transferidos para frascos contendo meio

limpo (não contaminado) com suspensão de *R. subcapitata* a uma concentração de 2×10^5 células mL⁻¹ e permaneceram por 4 h no escuro (período pós-exposição). Após as 24 horas de exposição aos agrotóxicos e as 4 horas de pós-exposição em meio sem contaminação, a concentração de algas foi determinada por citometria de fluxo (FACSCalibur, Becton Dickinson) de acordo com os métodos propostos por Sarmento (2008), e a densidade celular foi obtida por meio do software FlowJo (TreeStar.com, versão V10.0). As taxas de alimentação foram calculadas pela equação de Allen et al. (1995): $F = V (C_0 - C_{24 \text{ ou } 4}) / t$, onde F é a taxa de alimentação (células individuais⁻¹ h⁻¹); V é o volume do recipiente de teste (mL); C₀ é a concentração inicial de células algais (células mL⁻¹); C_{24 ou 4} é a concentração final de células algais (células mL⁻¹) e t é a duração do experimento (24 ou 4 h). Os dados dos ensaios foram avaliados quanto à normalidade (teste do qui-quadrado) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) e, em seguida, analisados usando ANOVA de uma via. Um teste post hoc de Dunnett de comparações múltiplas foi realizado para verificar diferenças significativas entre os tratamentos e o controle com 95% de confiança. Todos os testes estatísticos foram realizados no software Statistica 7.0 (Statsoft, 2004).

Resultados

Em relação aos experimentos com a *Ceriodaphnia silvestrii*, após as 24 horas de exposição aos agrotóxicos, os resultados referentes, inicialmente ao fipronil mostraram

que os cladóceros expostos aos tratamentos F1, F2, F3, F4, e F5 diferiram dos organismos do controle tanto em relação às taxas de filtração quanto ingestão. Os resultados de pós-exposição neste cenário não apresentaram diferenças estatísticas significativas e assim, indicam uma possível recuperação da espécie no período pós-exposição. Para os testes realizados com 2,4-D foi possível observar no período de 24 horas que a taxa de filtração diferiu para os organismos expostos ao tratamento D5, quando comparados aos do controle. Na análise da taxa de ingestão, os organismos expostos aos tratamentos D1 e D5 diferiram significativamente dos organismos do controle. Para as análises de pós-exposição, não foi observada nenhuma variação estatisticamente significativa para as taxas de filtração e ingestão.

Nos experimentos realizados com a espécie *Ceriodaphnia dubia* em exposição ao fipronil, tanto as taxas de filtração quanto ingestão no período após as 24 horas de exposição, observou-se diferenças estatísticas significativas para os organismos expostos aos tratamentos F3, F4 e F5 em relação aos organismos do controle. A análise estatística de pós-exposição não apresentou nenhuma alteração significativa. Em relação aos testes executados com o composto 2,4-D, os resultados demonstram que no período de 24 horas, organismos expostos aos tratamentos D2, D3, D4 e D5 diferiram significativamente do controle, em ambos parâmetros analisados, taxas de filtração e ingestão. Em contrapartida, não foi obtida diferenças significativas no comportamento alimentar (filtração e ingestão) no período de pós-exposição.

Conclusões

Por conseguinte, se torna evidente que apesar das espécies serem monofiléticas, ambas apresentaram respostas distintas no que diz respeito ao comportamento alimentar, referentes à exposição aos compostos fipronil e 2,4-D por 24 horas. *C. silvestrii* apresentou maior sensibilidade ao fipronil, enquanto que, para o 2,4-D, *C. dubia* demonstrou maior sensibilidade ao composto. No entanto, ambas as espécies provavelmente se recuperaram no período de pós-exposição, uma vez que não foram observados efeitos significativos sobre o

comportamento alimentar e assim, apresentaram a mesma resposta.

Referências Bibliográficas

- Allen, Y., Calow, P., Baird, D.J., 1995. A mechanistic model of contaminant-induced feeding inhibition in *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 14 (9): 1625-1630
- Mansano, A.S., Souza, J.P., Cancino-Bernardi, J., Venturini, F.P., Marangoni, V.S., Zucolotto, V., 2018. Toxicity of copper oxide nanoparticles to Neotropical species *Ceriodaphnia silvestrii* and *Hyphessobrycon eques*. *Environ. Pollut.* 243: 723-733.
- Sarmiento H, Unrein F, Isumbisho M, Stenuite S, Gasol JM, Descy J-P. 2008. Abundance and distribution of picoplankton in tropical, oligotrophic Lake Kivu, eastern Africa. *Freshw Biol* 53:756-771
- Silva, L.C.M., Moreira, R.A., Pinto, T.J.S., Ogura, A.P., Yoshii, M.P.C., Lopes, L.F.P., Montagner, C.C., Goulart, B.V., Daam, M.A., Espíndola, E.L.G., 2020. Acute and chronic toxicity of 2,4-D and fipronil formulations (individually and in mixture) to the Neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. *Ecotoxicology* 29: 1462-1475.
- Systat, 2008. Systat Software, Incorporation SigmaPlot for Windows version 11.0.