

EFEITO CUMULATIVO DE DICOFOL EM LARVAS E IMAGOS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Heloisa H. C. BARRETTO*
Odete N. K. INOMATA*
Sirlei BRANCO**
Wladimir João TADEI**

RIALA 6/720

BARRETTO, H. H. C. e col. - Efeito cumulativo de Dicofol em larvas e imagos de *Drosophila melanogaster*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 52(1/2): 5-8, 1992.

RESUMO: Moscas (*Drosophila melanogaster*) foram criadas em meio de cultura à base de banana e agar, adicionado de cinco diferentes concentrações de Dicofol, pesticida bastante usado na citricultura paulista. A cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons de parte extraída da amostra com solvente orgânico, tornou possível quantificar resíduos do produto em todas as amostras de larvas e de imagos analisadas. Os resultados encontrados em imagos e larvas sugerem um acúmulo de Dicofol durante o ciclo de desenvolvimento das moscas.

DESCRITORES: Dicofol. Moscas (*Drosophila melanogaster*). Imagos, larvas, determinação.

INTRODUÇÃO

A ação conjunta dos insumos aplicados à agricultura, notadamente o emprego de agrotóxicos, tem permitido o aumento da produção. Todavia, o uso indiscriminado de um número sempre crescente de produtos altamente tóxicos, tem contribuído para o desequilíbrio ambiental, causando sérios prejuízos até mesmo para a espécie humana.

Os compostos organoclorados, nestas últimas décadas, têm sido amplamente utilizados, de forma a tornarem-se parte integrante de ciclos biológicos, geológicos e químicos. A detecção na água^{5,9} no solo^{8,16} e na atmosfera⁷, mostra que o acúmulo tem alcançado níveis tóxicos afetando populações de pássaros^{2,4}, peixes¹⁰ e outros animais^{6,11,15} agravando o problema da poluição e aumentando a contaminação da cadeia alimentar como demonstrado por Uhnak e col.¹⁴, ao analisarem amostras de batata, trigo, leite, ovos, carne e leite materno, durante os anos de 1975 a 1983.

No Brasil, os organoclorados estão proibidos para uso agrícola desde setembro de 1985 (Portaria

329 do Ministério da Agricultura) com algumas exceções como é o caso do Dicofol para culturas de algodão e citrus.

O Dicofol 1, 1-bis (clorofenil) - 2, 2, 2 - tricloro etanol é um óleo viscoso de cor marrom, solúvel na maioria dos solventes orgânicos e comercialmente encontrado como concentrado emulsionável e pó molhável a 18,5% e, como pó seco a 5%. Tem amplo emprego como acaricida em culturas de laranja do Estado de São Paulo.

Diante das poucas informações sobre persistência de compostos organoclorados em insetos foi verificada a possibilidade de larvas e imagos desta mosca desenvolvidas em meio de cultura contendo o Dicofol serem passíveis de armazenar este composto.

MATERIAL E MÉTODOS

Meio de Cultura

água	1.000 ml
agar	12 g
banana-nanica	800 g
fermento Fleischmann	15 g

* Da Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz — São Paulo — Brasil.

** Do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto — Universidade Estadual Paulista — UNESP.

xarope Karo	25 ml
ácido propiônico	22 ml
solução alcoólica de Nipagin	2 ml

Todas as amostras foram mantidas congeladas até o momento da análise.

Reagentes

n-hexano para análise de resíduos
éter etílico para análise de resíduos
diclorometano para análise de resíduos
sulfato de sódio anidro granulado
silica gel 60, - 0,063-0,2000 nm (70-230mesh) Merck, aquecida por uma noite a 360° e desativada com 3% de água
ácido sulfúrico concentrado
xileno mais emulsificante
padrão de dicofol

AMOSTRAS

Moscas de espécie *Drosophila melanogaster* de um estoque montado em março de 1986 a partir de oito fêmeas e mantido em câmara de temperatura constante a 25,0 ± 1,0°C.

A partir de uma solução contendo 2g/ml de Dicofol em xileno com emulsificante, preparou-se misturas de 100ml de meio de cultura com 10, 20, 40, 60 e 80 mg de Dicofol respectivamente. De cada uma destas misturas foram tomados 6,0 ml em tubos de ensaio onde foram colocados dez casais de moscas com três dias para um período de oviposição de 24 horas. Decorridos quatro dias os tubos foram deixados em freezer por uma hora e em seguida foram adicionados 3,0 ml de água destilada a ± 2,0°C visando a imobilização das larvas que eventualmente estivessem vivas. A seguir os tubos foram agitados de forma a desprender as larvas da parede e do meio de cultura.

As larvas (A) provenientes de cada tubo foram lavadas com água destilada em peneira fina até que todo o resíduo do meio fosse retirado. Procedida a secagem com papel absorvente foram armazenadas em frascos de vidro até o momento da análise.

Os imagos (B) foram obtidos a partir de 100 casais virgens com três dias de idade, após um período de oviposição de 24 horas. Quando da emergência eram coletados diariamente e após rápida esterilização acondicionados em frascos de vidro até a realização da análise.

Paralelamente montou-se um grupo com moscas desenvolvidas em meio de cultura sem dicofol e um outro grupo com moscas desenvolvidas em meio de cultura contendo 0,4 ml de xileno com emulsificante para se verificar a influência do solvente. Para obtenção das amostras controle, procedeu-se da mesma maneira acima citada para se obter as larvas (A) e imagos (B).

PROCEDIMENTO

Pesar a amostra e misturar com sulfato de sódio anidro granulado. Macerar em almofariz e extrair o pesticida com 3 x 5 ml de hexano. Reunir os extratos hexânicos em tubo e adicionar 0,1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agitar. Decantar e transferir a camada superior com pipeta Pasteur. Para coluna cromatográfica contendo 4,5 g de sílica desativada. Eluir com 45,0 ml de solução a 25% de éter etílico em hexano. Concentrar, e injetar em cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons nas seguintes condições:

Temperatura da coluna: 204°C
Temperatura do detector: 230°C
Temperatura do injetor: 225°C
Velocidade do gás de arraste: 30 ml/min

Coluna de vidro espiralada de 1/8 de polegada de diâmetro interno, com seis pés de comprimento e fase estacionária 1,5% OV 17 + 1,95% OV 210 em gás Chrom Q II 100/120 mesh.

A sensibilidade do aparelho foi ajustada de maneira a se obter uma deflexão de 60% da escala do papel registrador, com 200 pg de dicofol e ruído de 0,1 mm.

Um teste prévio mostrou que o dicofol não é destruído no tratamento com ácido sulfúrico.

Para se avaliar a metodologia foi adicionada a amostra isenta do pesticida, 5 ml de uma solução de dicofol a 10 ng/ml e obteve-se uma recuperação de 84%.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Em todas as amostras analisadas verificamos, pela (tabela 1), que houve retenção de quantidades elevadas de Dicofol em ambas as fases do desenvolvimento das moscas (larvas e imagos). Nos grupos controle dois de A e dois de B, como era esperado, não foi detectado resíduo no limite de 0,01 mg/kg. Verifica-se também que a quantidade de resíduos nas larvas é menor, o que sugere um efeito cumulativo do composto no imago. Há uma relação direta, nas duas fases do desenvolvimento, entre as quantidades do composto detectadas nas amostras, com a concentração de Dicofol adicionada ao meio de cultura, exceto para imagos tratados com 20 mg.

TABELA 1
Concentração de dicofol em larvas e imagos de *Drosophila melanogaster*

Concentração de Dicofol adicionada ao meio mg/100ml	Larva controle mg/kg (ppm)	Larva (A) mg/kg (ppm)	Imago controle mg/kg (ppm)	Imago (B) mg/kg (ppm)
0,0	<0,01	—	<0,01	—
0,0	<0,01	—	<0,01	—
10,0	—	24,22	—	36,35
20,0	—	40,43	—	81,00
40,0	—	66,33	—	103,17
60,0	—	99,51	—	400,82
80,0	—	123,13	—	223,88

O armazenamento de Dicofol em tecido animal foi avaliado primeiramente por Smith e col.¹² utilizando ratos como organismo-teste. Os autores verificaram que após dez semanas de dieta com 10 mg/kg (ppm) do composto, a concentração no tecido adiposo das fêmeas foi o dobro da detectada nos machos.

Os resultados são concordantes com os de outros autores trabalhando com diferentes organismos, tais como os de Barbera e col.¹ que detectaram também Dicofol em peixes, com os de Montone⁷ que encontrou resíduos e organoclorados tanto em peixes como em pássaros marinhos e com os de To-Figueiras e col.¹³ no homem.

A concentração de resíduos detectada nos imagos mostra efeito cumulativo do composto ao longo do desenvolvimento, o que está de acordo com Karakaya e Ozalp³ que já haviam observado que níveis de organoclorados aumentavam de acordo com o tempo de exposição.

CONCLUSÃO

Os maiores níveis de Dicofol nos imagos, entre um e meio para quatro vezes os respectivos níveis nas larvas, sugerem um acúmulo do produto durante o ciclo de desenvolvimento das moscas.

RIALA 6/720

BARRETTO, H. H. C. *et al.* - Cumulative effect of Dicofol in larvae and imagines of *Drosophila melanogaster*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 52(1/2): 5-8, 1992.

ABSTRACT: Flies (*Drosophila melanogaster*) were reared on banana-agar medium with five different concentrations of dicofol pesticide very large used in paulista citrus. Gas chromatograph with eletron capture detector its possible to quantify residues of the chemical in all samples of larvae and imagines examined. Results found suggest an accumulation of dicofol during the development of the flies.

DESCRIPTORS: *Dicofol*, *Flies (Drosophila melanogaster)*. *Larvae*, *Imagines*, *Determination*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBERA, J. C.; LOPES, F. J.; HERNANDEZ, F.; MEDINA, J. & PASTOR, A. — Gas chromatographic determination of organochlorine pesticides; contamination of Dicofol, Fenson, and Tetradifon in fish and natural waters of a wet area beside the Mediterranean Sea. *Bull. environ. Contam. Toxicol.* 36: 211 - 218, 1986.
2. JOHNSTON, D. W. — Organochlorine pesticide residues in Florida birds of prey. 1969-76. *Pest. Monitor. J.* 12: 8-15, 1978.
3. KARAKAYA, A. E. & OZALP, S. — Organochlorine pesticides in human adipose tissue collected in Ankara (Turkey) 1984-1985. *Bull. environ. Contam. Toxicol.* 38: 941-945, 1987.
4. KING, K. A.; FLINCKINGER, E. L. & HILDEBRAND, H. H. — Shell thinning and pesticide residues in Texas aquatic bird eggs, 1970. *Pest. Monitor. J.* 12: 16 - 21, 1978.
5. LARA, W. H. & BARRETTO, H. H. C. — Resíduos de pesticidas clorados em águas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 69 - 74, 1972.
6. MARTINEAU, D.; BELAND, P.; DESJARDINS, C. & LAGACI, A. — Levels of organochlorine chemicals in tissues of beluga Whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Laurence Estuary, Quebec, Canada. *Arch. environ. Conntam Toxicol.* 16: 137 - 147, 1987.
7. MONTONE, C. — Hidrocarbonetos clorados no litoral do Estado de São Paulo, 1987. (Tese de

- Mestrado — Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo.)
8. MOORE, D. G. & LOPES, B. R. — DDT residues in forest floors and soils of Western Oregon, september-november 1966. *Pest. Monit. J.* 14: 77-85, 1980.
 9. PEARCEP, A. P.; REYNOLDS, L. M. & DAVID, B. P. — DDT residues in rainwater in New Brunswick and estimate of aerial transport of DDT into the gulf of St. Lawrence, 1967-68. *Pest. Monitor. J.* 11: 199-204, 1978
 10. PICER, M.; PICER, N. & AHEL, M. - Chlorinated insecticide and PCB residues in fish and mussels of East Coastal waters of middle and North Adriatic Sea, 1974-75. *Pest. Monitor. J.* 12: 102-112, 1978.
 11. SCHICK, C. T.; BRENNAN, L. A.; BUCHANAN, J. B.; FINGER, M. A.; JOHNSON, T. M. & HERMAN, S. G. — Organochlorine contamination in shorebirds from Washington State and the significance for their falcon predators. *Environ. Monitor. Asses.* 9: 115-131, 1987.
 12. SMITH JR., R. B.; LARSON, P. S.; FINNERGAN, J. K.; HAAG, H. B.; HENNIGAR, G. R. & FLORAPEARL, C. — Toxicology studies of 2,2 -bis- (chlorophenyl) - 2, 2, 2 - trichloroethanol (Kelthane). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1: 119 - 134, 1959.
 13. TO-FIGUEIRAS, J.; RODAMILANS, M.; GOMEZ, J. & CORBELLA, J. — Hexachlorobenzene residues in the general population of Barcelona. In: MORRIS, C. R. & CABRAL, J. R. P. - Hexachlorobenzene. INTERNATIONAL SYMPOSIUM, [s.l.] Proceedings [s.n.t.] p. 147 - 148, 1986.
 14. UHNAK, J.; VENINGEROVA, M. & MDARIC, A. — Dynamics of hexachlorobenzene residues in the food chain. In: MORRIS, C. R. & CABRAL, J. R. P. - Hexachlorobenzene. INTERNATIONAL SYMPOSIUM, [s.l.] Proceeding [s.n.t.] p. 109 - 113, 1986.
 15. VEITH, G. D.; KUEHL, D. W.; LEONARD, E. N.; WELCH, K. & PRATT, G. — Fish, wildlife, and estuaries Polychlorinated biphenyls and other organic chemical residues in fish from major United States watersheds near the Great Lakes, 1978. *Pest. Monitor. J.* 15: 1 - 13, 1981.
 16. WOODWELL, G. M.; CRAIG P. P. & JOHNSON, H. A. — DDT in the biosphere: where does it go? *Scienc.* 174: 1101-1110, 1971.

Recebido para publicação em 8 de julho de 1991.