

Sobrevivência de eleuteroembriões de *Rhamdia quelen* (Teleostei) exposto em extrato botânico com potencial efeito inseticida

Survival of *Rhamdia quelen* (Teleostei) eleuteroembryos submitted in botanical extract with insecticidal effect

Gabriela Matachinski de Souza*, Elton Celton de Oliveira[†],
Claudinei de Freitas Vieira[‡], Tainá dos Santos[§], Everton Ricardi Lozano da Silva[¶]

RESUMO

Extratos botânicos apresentam atividade inseticida sobre organismos alvos, porém sobre organismos não-alvos precisam ser investigados. O objetivo foi avaliar a sobrevivência e parâmetros toxicológicos, tais como deformidades morfológicas, mobilidade, débito cardíaco e fragmentação no DNA, em eleuteroembriões de *Rhamdia quelen* submetidos ao extrato hexânico de *Ricinus communis*. Para determinar as concentrações deste trabalho foi utilizado como referência a concentração letal (CL₅₀) do extrato hexânico obtida para *Chrysodeixis includens*, lagarta da soja (espécie-alvo). Foram avaliadas as seguintes dosagens: (D1) 50% da CL₅₀, (D2) 25%; (D3) 12,5%; (D4) 6,25%; (D5) 3,12% e (D6) 1,56%; (CTR) Controle negativo; (CTRV) Controle veículo. Os ovos viáveis foram alocados em microplacas de ELISA de 96 poços, nos respectivos tratamentos. As maiores concentrações do extrato (D1 = 1%, D2 = 0,5%, D3 = 0,25% e D4 = 0,125%) inviabilizaram a eclosão e/ou causaram elevada letalidade a posteriori. Apenas nas diluições D5 e D6 os eleuteroembriões tiveram sobrevivência semelhante aos controles. As concentrações D5 e D6 apresentam maior potencial para prospecção de um novo produto agrônomico fitossanitário, pois apresentaram baixa toxicidade para os eleuteroembriões.

Palavras-chave: toxicologia, organismos não-alvos, controle alternativo, biossegurança.

ABSTRACT

Botanical extracts present insecticidal activity on target organisms, but on non-target organisms need to be investigated. The aim was to evaluate survival and toxicological parameters, such as morphological deformities, mobility, cardiac output and DNA fragmentation, in eleuteroembryos of *Rhamdia quelen* submitted to hexane extract of *Ricinus communis*. To determine the concentrations of this work, the lethal concentration (CL₅₀) of the hexanic extract obtained for *Chrysodeixis includens*, soybean caterpillar (target species) was used as reference. The following dosages were evaluated: (D1) 50% of CL₅₀, (D2) 25%; (D3) 12.5%; (D4) 6.25%; (D5) 3.12%; (D6) 1.56%; (CTR) Negative control; (CTRV) Vehicle control. Viable eggs were placed in 96-well ELISA microplates, in the respective treatments. The highest concentrations of the extract (D1 = 1%, D2 = 0.5%, D3 = 0.25% and D4 = 0.125%) unviable the hatching or caused high lethality. The eleuteroembryos survive was similar between D5, D6, and controls.

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; matachinski.gabriela@hotmail.com

[†] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; eltonoliveira@utfpr.edu.br

[‡] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; claudineidfv@gmail.com

[§] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; taaiinnaa@hotmail.com

[¶] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; evertonlricardi@utfpr.edu.br

The concentrations D5 and D6 present higher potential for prospecting for a new phytosanitary agronomic product, because they presented low toxicity to the eleuteroembryos.

Keywords: toxicology, non-target organisms, alternate control, biosecurity.

1 INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje é muito comum a utilização de agrotóxicos para combater as pragas na lavoura. A “ideia” de um sistema produtivo mais natural vem sendo difundida através dos agroecossistemas, que buscam utilizar técnicas de manejo mais sustentáveis, tal como substituir os inseticidas sintéticos por extratos botânicos (CABEL; OELOFSE, 2012). Mesmo nestas substâncias naturais com propriedades inseticidas é de suma importância a análise de segurança em organismos não-alvos (MAZZOLENI; NOGUEIRA, 2006). Neste sentido, foi conduzido um experimento para avaliar se diluições do extrato botânico de mamona (*Ricinus communis*) produz efeitos letais em eleuteroembriões de jundiá (*Rhamdia quelen*).

2 MÉTODO (OU PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA)

Inicialmente, foi retirada a fração hexânica do extrato botânico de *R. communis*. Os frutos secos com sementes foram triturados para o preparo dos extratos, diluindo-se 20g do pó em 200mL de álcool 80%. O extrato inicial foi filtrado e submetido ao processo de rotaevaporação. Os compostos restantes foram ressuspendidos em água destilada para formar o extrato bruto, o qual foi separado em duas fases pelo extrator hexano, sendo a parte superior à fração hexânica. Esta solução foi solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO) a 1,0% e depois diluída em água reconstituída para determinar as concentrações-teste.

Utilizou-se 50% da concentração letal para a espécie-alvo deste inseticida natural (CL₅₀=2%), a lagarta-soja *Chrysodeixis includens*, como referência para a mistura inicial. Assim, as concentrações de exposição dos eleuteroembriões de *R. quelen* foram: 1% (D1); 0,5% (D2), 0,25% (D3); 0,125% (D4); 0,0625% (D5); 0,0312% (D6); 0,0 (controle negativo) e 0,0 + 1%DMSO (controle veículo).

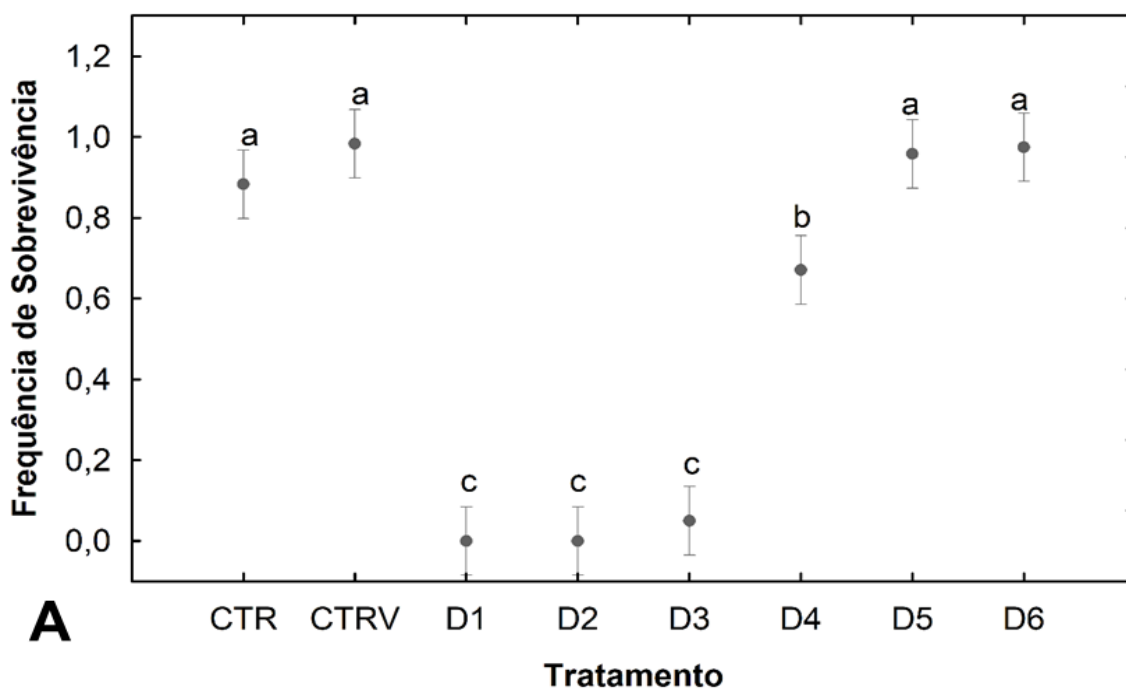
Os ovos viáveis de *R. quelen* foram alocados em microplacas de ELISA de 96 poços, nos respectivos tratamentos. Foram utilizadas quintuplicatas e avaliada a taxa de eclosão em 28hpf e a sobrevivência em 48, 72 e 96hpf.

Os procedimentos adotados foram aprovados pela Comissão de Ética na Pesquisa com o Uso de Animais sob o parecer nº 2019-05/2019.

3 RESULTADOS

Foi possível evidenciar que as maiores concentrações da fração hexânica (de 0,25% a 1,0%) inviabilizaram significativamente a eclosão dos ovos e foram prejudiciais ao desenvolvimento da fase inicial de vida de *R. quelen* (Fig. 1). Nas diluições 0,5 e 1,0% não ocorreram eclosões, na 0,25% a taxa de eclosão foi de 0,5%, na 0,125% de 67%. Já nas diluições 0,0312 e 0,0625% a taxa de eclosão foi superior a 90%, não diferindo significativamente dos grupos controles pela ANOVA.

Figura 1 – Taxa de eclosão dos eleuteroembriões de *R. quelen* expostos ao extrato hexânico de *R. communis*. CTR = controle negativo; CTRV = controle veículo; D1 – D6 = diluições de 1% a 0,031%. O título representa o valor da ANOVA e as letras indicam as diferenças ou semelhanças estatísticas pelo teste de Tukey.
 $F(7, 32)=124,90; p<0,001$



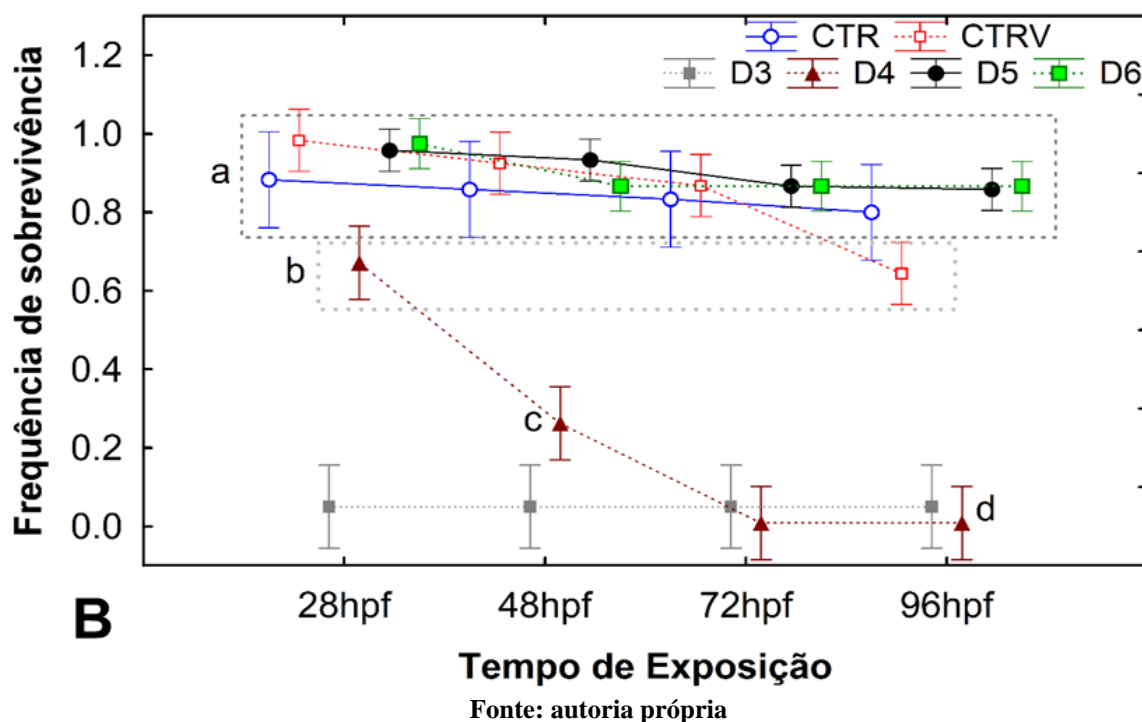
Fonte: autoria própria

A análise da sobrevivência foi realizada excluindo-se os grupos 0,5 e 1,0%, devido aos 100% de inviabilidade na eclosão, e permitiu evidenciar que os grupos controle e aqueles expostos as menores concentrações tiveram grande similaridade na sobrevivência transcorrida as 96hpf. O grupo controle veículo apresentou um pequeno decréscimo significativo na sobrevivência das larvas após 72hpf. As concentrações intermediárias apresentaram uma redução significativa na sobrevivência em 48 e 72hpf, com mortalidade de quase todos os indivíduos ao final de 96hpf (Fig. 2).

No presente estudo, somente as concentrações de 0,0312 e 0,0625% do extrato vegetal em fração hexânica não foram letais para eleuteroembriões de *R. quelen*, indicando em um primeiro momento o seu maior potencial para prospecção, por atender a um dos principais critérios de biossegurança que é a baixa letalidade. A taxa de sobrevivência das larvas é crucial para entender o risco de exposição a produtos químicos em organismos aquáticos, uma vez que fornece uma ligação entre toxicidade e manutenção em longo prazo de populações naturais (CAIXETA et al., 2016).

Figura 2 – Sobrevivência dos eleuterioembriões de *R. quelen* expostos ao extrato hexânico de *R. communis* ao longo de 96 horas pós-fertilização (hpf). CTR = controle negativo; CTRV = controle veículo; D3 – D6 = diluições de 0,25% a 0,031%. O título representa o valor da ANOVA e as letras indicam as diferenças ou semelhanças estatísticas pelo teste de Tukey.

$$F(15, 80) = 8.91, p < 0.001$$



O extrato botânico de mamona contém ácido sirínigico e rutina, os quais possuem principalmente alcalóides, fenóis e flavonoides em sua composição (WARMLING, 2018). Estes compostos apresentam potencial inseticida e são os prováveis desencadeadores de letalidade nos peixes submetidos às maiores concentrações.

4 CONCLUSÃO

Os eleuterioembriões de *R. quelen* apresentaram elevada vulnerabilidade à fração hexânica de *R. communis* nas diluições de 0,125 a 1,0% do extrato em fração hexânica, podendo implicar em risco a sua viabilidade populacional caso a substância seja produzida e lançada no ambiente nas concentrações e formulações aqui sugeridas. Apenas nas menores concentrações utilizadas apresentaram um grande potencial para um novo produto agrônômico fitossanitário e mais seguro para os organismos não-alvos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à bolsa de iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos, pelo fomento e infraestrutura. Esta seção é obrigatória nos trabalhos que receberam bolsa e auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- CABEL, J. F.; OELOFSE, M. An indicator framework for assessing agroecosystem resilience. **Ecology and Society**, v. 17, n. 1, p. 13, 2012.
- CAIXETA, E.S., SILVA, C.F., SANTOS, V.S., CAMPOS JÚNIOR, O.E., PEREIRA, B.B., Ecotoxicological assessment of pyriproxyfen under environmentally realistic exposure conditions of integrated vector management for *Aedes aegypti* control in Brazil. **Journal of Toxicology Environmental Health** 79A, 799–803, 2016.
- MAZZOLENI, E.M.; NOGUEIRA, J.M. **Agricultura orgânica: características básicas do seu produtor**. RER, Rio de Janeiro, v. 44, n.2, p. 263-293, 2006.
- WARMLING, Jheniffer Valmira. **Efeitos letais e subletais de extratos vegetais alcoólicos sobre *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2018. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pósgraduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.