



## EFEITO DE UM INSECTICIDA PIRETRÓIDE-PERMETRINA SOBRE CLOROFÍCEAS

por

MARIA MANUELA RODRIGUES DA SILVA \*

e

MARIA GENUÍNA FLORES \*

### SUMMARY

This study concerns the effects of a pirethroid insecticide-permethrin — on growth kinetics of fresh-water algae isolated from Furnas lake, Azores. Two species were studied, *Scenedesmus protuberans* and *Chlorococcum humicola*, which have quite different morphological and ecological characters.

Results show a remarkable difference of behaviour. *Scenedesmus protuberans* presents a fading of the growth curves, on the 1th day after pesticide application.

This tendency continues to increase till the 16th day.

*Chlorococcum humicola* shows a sharp growth drop on 4th day of culture. Recover of growth starts after the 4th day, but never reaches the levels of control cultures.

---

\* Laboratório de Ecologia Aplicada da Universidade dos Açores.  
9500 Ponta Delgada.

## RESUMO

Este estudo diz respeito aos efeitos de um inseticida piretróide — permetrina — na cinética do crescimento de algas de água doce, isoladas da lagoa das Furnas, S. Miguel, Açores. Foram estudadas duas espécies: *Scenedesmus protuberans* e *Chlorococcum humicola*, que apresentam características morfológicas e ecológicas bastante diferentes.

Os resultados obtidos mostram uma notável diferença de comportamento entre as duas espécies. Em *Scenedesmus protuberans* observa-se uma quebra na curva de crescimento após a aplicação do pesticida; em *Chlorococcum humicola* — aplicação da permetrina no 3.º dia de cultura é evidenciado um decréscimo no crescimento a partir do quarto dia de cultura, observando-se o restabelecimento deste, sem no entanto atingir os níveis obtidos pelas culturas controlo.

## 1 - INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas na agricultura, numa região em que existem lagoas que se encontram situadas em crateras contidas em caldeiras de vulcões, com terrenos circundantes cobertos por pastagens e florestas, é natural que os produtos fitossanitários e correspondentes metabólitos, em virtude da elevada precipitação destas Regiões, sejam arrastados para as lagoas causando drásticas alterações na Biocenose.

Muitos trabalhos têm sido feitos, especialmente na última década com fim de determinar a toxidade dos produtos fitossanitários, mas, frequentemente, utilizando como material a testar mamíferos, aves, peixes e insectos.

Os estudos feitos para analisar o efeito desses produtos no fitoplankton, elo primário da cadeia alimentar de vários animais, tem sido objecto de menor número de publicações. Com o

presente estudo, realizado em 1983, iniciamos um conjunto de experiências de Fisiologia Vegetal, que pretende investigar a acção de produtos fitossanitários no crescimento de algumas espécies de clorofíceas fitoplanctónicas de água doce existentes nas lagoas de S. Miguel.

A ilha de S. Miguel, situa-se na parte oriental do arquipélago dos Açores, com uma área aproximada de 757 km<sup>2</sup> e nela existem diversas lagoas instaladas em crateras ou caldeiras de origem vulcânica.

Na região ocidental, na caldeira das Sete Cidades, está contida a Lagoa das Sete Cidades. O conjunto constituído pelas Lagoas Azul e Verde, que comunicam entre si, e têm uma área aproximada de 3,6 e 0,8 km<sup>2</sup> respectivamente.

Na zona central, no maciço vulcânico do Fogo, existe outra lagoa, a Lagoa do Fogo, com uma área de 1,5 km<sup>2</sup>. A oriente, numa zona de elevada precipitação (média dos últimos 5 anos — 2350 mm), a Lagoa das Furnas, ocupando o que parece ser uma cratera contida na caldeira de um vulcão activo (última erupção 1630), com uma área de 1,89 km<sup>2</sup> e 14 metros de profundidade. Foi nesta lagoa que se fizeram as primeiras colheitas de fitoplancton, por ter melhor acesso, e, por nela existirem as espécies com melhor capacidade de sobrevivência às condições laboratoriais da altura.

Nesta fase inicial do trabalho, estudámos a curva de crescimento de duas clorofíceas fitoplanctónicas de água doce, isoladas da Lagoa das Furnas e mantidas em cultura no Laboratório de Ecologia Aplicada.

Existindo fortes evidências da diferente sensibilidade que apresentam diversas espécies de algas à acção de variados produtos fitossanitários, estudámos o efeito de um desses produtos, um insecticida piretróide, na curva de crescimento destas culturas.

O piretróide utilizado foi a permetrina, por ser um insecticida de uso na agricultura local, nas concentrações de 125 e 500 mg/l.



## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

As duas espécies de algas clorofíceas fitoplanctónicas usadas no presente trabalho foram *Scenedesmus protuberans* e *Chlorococcum humicola*.

A primeira espécie (*Scenedesmus protuberans*) foi recolhida por uma rede cónica de plancton por arrasto, atravessando a lagoa em vários sentidos.

A colheita da segunda espécie (*Chlorococcum humicola*) foi feita a partir de raspagens em pedras das margens da lagoa.

Das amostras de fitoplancton colhidas inicialmente, uma parte foi fixada com formol a 40 % para estudos posteriores de sistemática e outra parte observada ao microscópio e, quando possível, identificada. Desta parte isolamos as espécies utilizadas neste trabalho, por meio de uma pipeta estirada e, após várias passagens em água esterilizada, as espécies foram postas a crescer em meio de cultura próprio.

As células foram cultivadas em meio mineral líquido, esterilizado a 1,5 atmosferas durante 30 minutos, em Erlenmeyers de 250 ml de capacidade contendo cada 100 ml de meio, durante 9 a 16 dias, com arejamento constante.

A permetrina foi adicionada no início da fase exponencial de crescimento das culturas, com concentrações de 125 e 500 mg/litro nas amostras testes.

Os Erlenmeyers contendo as culturas foram colocados numa câmara com iluminação contínua de 1000 lux fornecida por quatro lâmpadas fluorescentes e mantidos a uma temperatura de  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

O crescimento do controlo e das culturas foi determinado por contagens diárias das células numa câmara de Thoma, após agitação.

2.1. — *Meio de cultura mineral*

## Solução de macronutrientes

$\text{KNO}_3$ .....	505 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .....	493 »
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	137 »
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .....	59 »
Solução de micronutrientes I .....	1 ml
Solução de micronutrientes II .....	2 ml
Água destilada q.b. ....	1000 ml

## Solução de micronutrientes I

$\text{Na}_2\text{EDTA}$ .....	186 mg
Água destilada q.b. ....	100 ml

C/ NaOH N levar a pH.7

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .....	270 mg
---	--------

Guardar em frasco escuro no frigorífico

## Solução de micronutrientes II

$\text{H}_3\text{BO}_3$ .....	60 mg
$\text{Mn Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .....	40 »
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{41} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .....	37 »
$\text{ZnCl}_2$ .....	4 »
$\text{Cu Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .....	4 »
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .....	1,5 »
Água destilada p.b. ....	100 ml

## 3 - RESULTADOS

O efeito da permetrina nas duas clorofíceas estudadas, pode observar-se nas figuras 1, 2, 3.

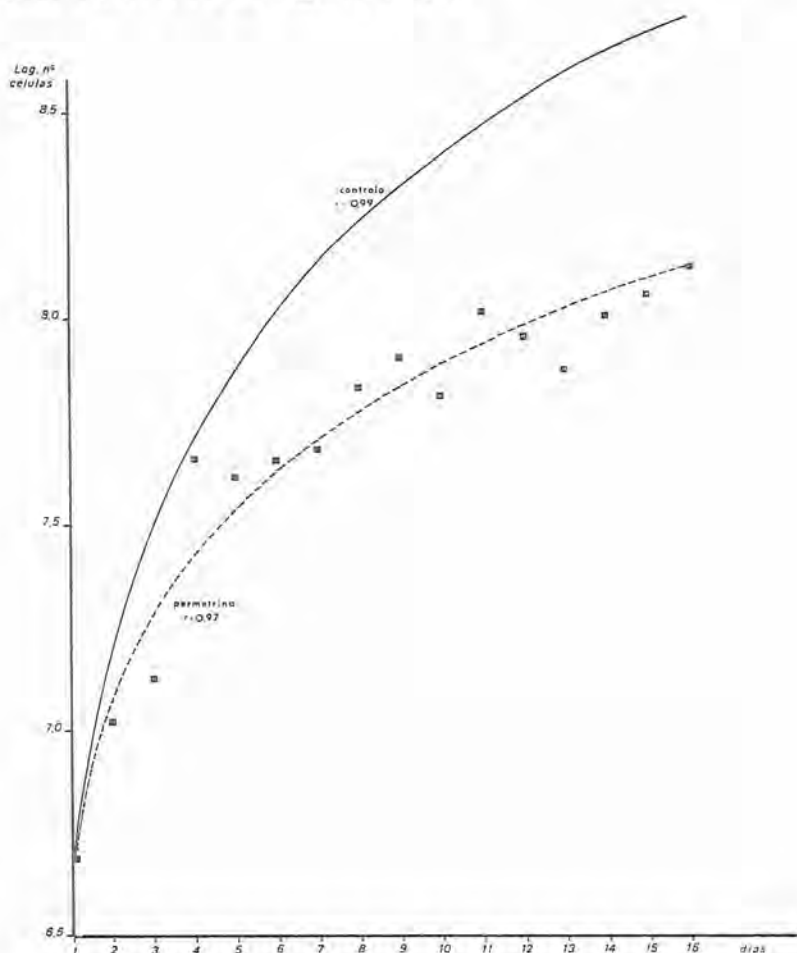


Fig. 1 — Crescimento da alga de água doce *Scenedesmus protuberans* a 1000 lux sem e com permetrina (125 mg/l) no meio.

Na figura 1 observámos o efeito da permetrina em *S. protuberans* quando aplicada numa concentração de 125 mg/l, no 1.º dia de cultura.

Verificamos que a cultura controlo apresenta uma taxa de crescimento bastante mais elevada do que a cultura tratada, no decurso da experiência.

A cultura tratada revela um crescimento muito mais lento que não deverá atingir o nível do controlo, uma vez que é assintótico, pois foi feito o tratamento matemático dos dados obtidos experimentalmente, construindo uma função logarítmica, do logaritmo do número de células, obtida por regressão logarítmica — pelo método dos mínimos quadrados — em relação aos dias de crescimento, considerando estes como variável independente. A curva relativa à cultura tratada, apresenta um coeficiente de correlação de  $-0,97$  — significativamente mais baixo do que o coeficiente de correlação da curva controlo  $-0,99$  — o que indica que o crescimento foi afectado pelo produto aplicado.

Nas figuras 2 e 3 em *Chlorococcum humicola* verificamos a actuação da permetrina nas doses de 125 mg/l (fig. 2) e 500 mg/l (fig. 3).

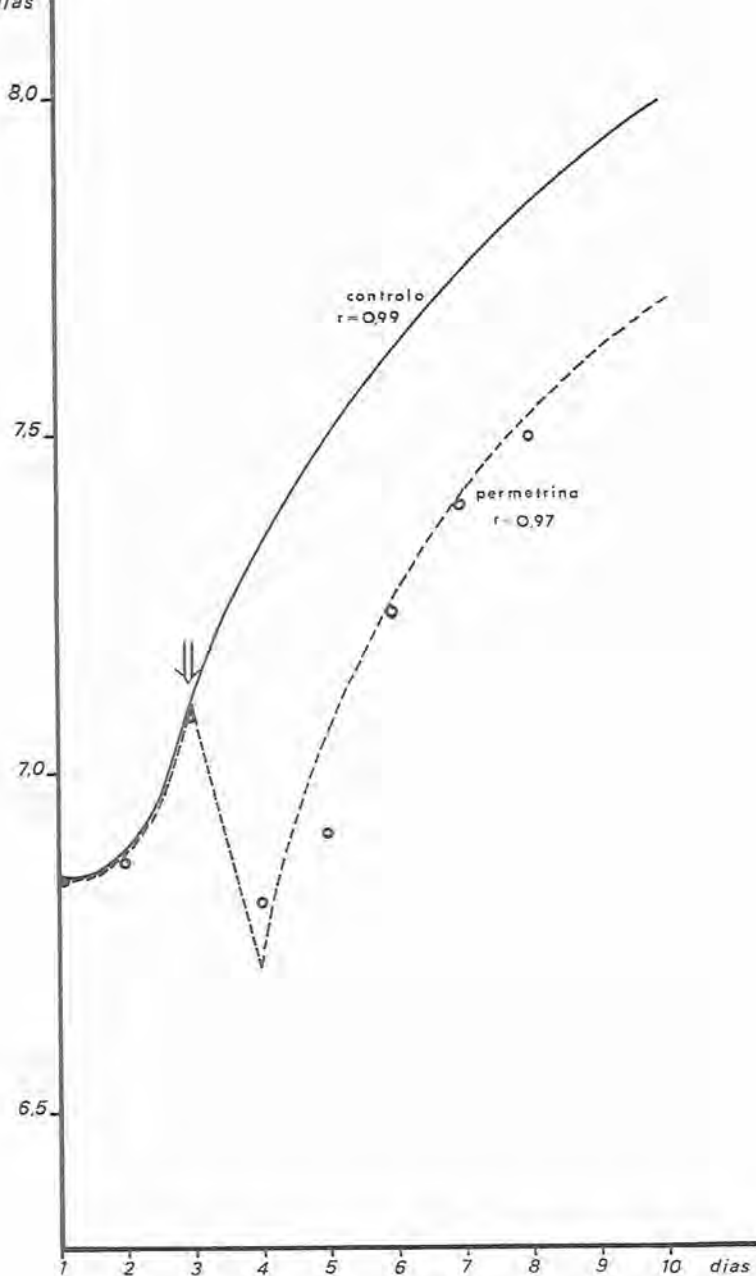


Fig. 2 — Crescimento da alga sub-aérea *Chlorococcum humicola* a 1000 lux, com 125 mg/l de permetrina no meio e respectivo controle. A seta indica o dia de aplicação do pesticida.



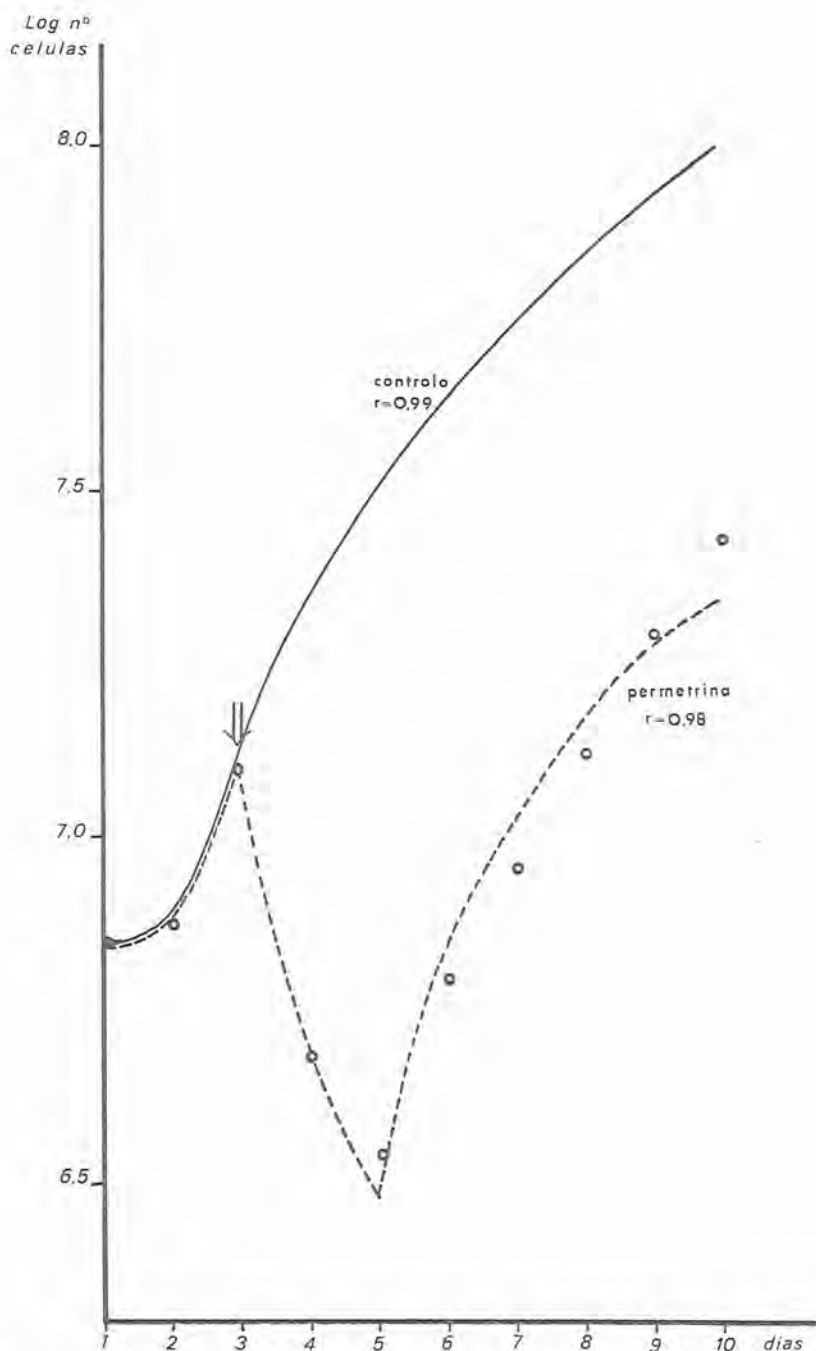


Fig. 3 — Crescimento da alga sub-aérea *C. humicola* a 1000 lux, com 500 mg/l de permetrina no meio e respectivo controlo. A seta indica o dia de aplicação do pesticida.

O comportamento desta espécie, em termos de taxa de crescimento ao fim de 10 dias de cultura, tendo sido aplicada a permetrina no 3.º dia, assemelha-se nos dois casos.

Nota-se após aplicação, um decréscimo do número de células sendo este muito mais acentuado na concentração mais elevada, mas observa-se no entanto a partir do 4.º dia um crescimento rápido destas, inversamente relacionado com a dose aplicada.

Verifica-se, porém, que no tempo em que decorreu a experiência, as culturas tratadas não atingiram a taxa de crescimento do controlo.

O tratamento matemático aplicado foi idêntico ao que já se indicou para a fig. 1, mas nestes dois últimos casos, somente o calculamos após o decréscimo observado no 4.º dia. Verifica-se ainda que os coeficientes de correlação — 0,97 e 0,98 — são significativamente mais baixos no caso das culturas tratadas do que no controlo — 0,99 —, o que também indica que as culturas são gravemente afectadas pela aplicação do produto.

### 3.1. — *Observações morfológicas*

3.1.1. — *Scenedesmus protuberans* — Uma comparação entre as culturas tratadas e não tratadas mostra que, durante a experiência, as primeiras apresentam células deformadas, mais pequenas e descoradas do que o controlo, denotando incapacidade de formar cenóbios como acontece no controlo, embora também eventualmente estes possam aparecer numa percentagem de 4 a 5 % nas culturas tratadas, mesmo quando as observações são feitas 30 dias após o início da experiência.

Durante 6 meses, dos quais 4 sem arejamento e sem luz, a mesma espécie, cultivada como descrito em Material e Métodos, em presença de 125 mg/l de permetrina, não perdeu a sua capacidade de produzir clorofila na escuridão, nem atingiu a taxa de crescimento do controlo ao longo dos seis meses.

3.1.2. — *Chlorococcum humicola* — Nesta espécie as culturas tratadas ao longo da experiência, também apresentam células mais pequenas e descoradas.

No entanto, essas características vão atenuar-se rapidamente, mas o seu crescimento, não atinge nunca a taxa de crescimento do controlo (figs. 2 e 3).

#### 4. — CONCLUSÃO

Poderemos concluir que estas espécies são afectadas pelo insecticida aplicado, recuperando no entanto lentamente sem atingir a taxa de crescimento que apresentavam antes da aplicação do mesmo.

Uma vez que estes ensaios foram efectuados em laboratório e as reacções no habitat natural são imprevisíveis, os efeitos observados poderão provavelmente ser retardados ou acelerados, pois neste caso o material testado estará no seu meio natural — a água das lagoas.

A leitura dos resultados obtidos dá uma ideia do efeito deste insecticida no crescimento das algas fitoplanctónicas, como era objecto deste trabalho.

Sendo este o primeiro duma série de trabalhos de estudo da acção de produtos fitossanitários no fitoplankton, e considerando a falta de meios específicos para o realizar, as conclusões obtidas estão parcialmente condicionadas por ulteriores estudos, provavelmente utilizando outras espécies e outros produtos fitossanitários. Os resultados seguintes deverão ser complementados nomeadamente com o doseamento das clorofilas e a medição da taxa de fotossíntese aparente.

## BIBLIOGRAFIA

- BEDNARZ, T. — *The effect of pesticides on the growth of green and blue-green algae cultures*. «Acta Hydrobiol», Kraków, Polish Academy of Sciences, 23 (2), 1981, 155-172.
- *The effect of 2,4-D acid on green and blue-green algae in unialgal and mixed culture*. «Acta Hydrobiol», Kraków, Polish Academy of Sciences, 23 (2), 1981, 173-182.
- BOURRELY, P. — *Les algues d'eau douce*. Vol. 1, Paris, N. Boubée & Cie, 1972.
- BROWN, A. W. A. — *Ecology of Pesticides*. New York, John Wiley & Sons. 1978. ISBN 0-471-10790-5.
- FOGG, G. E. — *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*, 2.<sup>a</sup> ed., Wisconsin, The University of Wisconsin Press, 1975. ISBN 0-299-06760-2.
- FOGG, G. E.; SMITH, W. E. E.; MILLER, J. D. A. — *An apparatus for the culture of Algae under controlled conditions*. London, vol. 1 (1), 1959, 59-69.
- FRITSCH, F. E. — *The structure and reproduction of the algae*, 8.<sup>a</sup> ed., Vol. 1, Cambridge, Cambridge University Press, 1977. ISBN-0-521-05041-3.
- HIROSHI, Tamiya — *Synchronous culture of algae*. «Ann Rev. Plant Physiol», Palo Alto, Annual Reviews, inc., Vol. 17, 1966, 1-26.
- KAREN, Conway; FRANCIS, R. Trainor — *Scenedesmus morphology and Flotation*. «J. Phycol», 8, 1972, 138-143.
- LEWIN, Ralph A. — *Physiology and Biochemistry of algae*. New York, Academic Press, inc., 1964.
- LUARD, Elizabeth J. — *Sensitivity of Dunaliella and Scenedesmus (chlorophyceae) to chlorinated hydrocarbons*. «Phycol», S. Diego, Vol. 12 (1/2), 29-33, 1973.

EFEITO DUM INSECT. PIRETRÓIDE-PERMETRINA SOBRE CLOROFICEAS

MORRIS, I. — *The physiological ecology of phytoplankton*. «Studies in ecology», Vol. 7, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1980.

SYLVIA, B. (Sleeper) Derby; RUBER, E. — *Primary Production Depression of Orogen. Evolution in Algal Cultures by Organophosphorus Insecticides*. «Bull. Environ. Contam. Toxicol», Boston, se, Vol. 5, 1970, 553-558.

U.S.A.-A.P.H.A.; A.W.W.A.; W.P.C.P. — *Standard Methods for the examination of water and wastewater*, 14.<sup>a</sup> ed., Washington, 1975.



