

**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL****DISSIPATION AND ENVIRONMENTAL RISK OF FIPRONIL ON AQUATIC ENVIRONMENT****DISSIPAÇÃO E RISCO AMBIENTAL DO FIPRONIL NO MEIO AQUÁTICO**Wilson G. Manrique¹; Mayra A.P.Figueiredo¹ & Joaquim G. Machado-Neto²

¹Departamento de Patologia Animal, FCAV - Campus Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, CEP 14884-900, SP-Brazil. ²Departamento de Fitossanidade da FCAV - Campus Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, CEP 14884-900. SP-Brazil. wilsongomezmanrique@yahoo.es

The Biologist (Lima), 2013, 11(1), jan-jun: 107-117.

ABSTRACT

Pesticides have been used in agriculture to avoid productivity losses caused by various organisms. However, the indiscriminate use of these chemicals has resulted in negative impacts on the environment, such as residues in soil, water, air, plants and animals. Fipronil is a phenylpyrazole insecticide widely used in agricultural management to control pests of sugar cane in Brazil, and it can be leached into aquatic ecosystems. The present study aimed to evaluate the environmental risk of toxic concentrations and dissipation of fipronil to *Poecilia reticulata*, based on the 96-h median lethal concentration (LC₅₀) value estimated at 0.08 ± 0.01 mg/L without sediment and 0.09 ± 0.01 mg/L with sediment of fipronil in the aquatic environment. These values of fipronil were classified as extremely toxic to *P. reticulata* in both cases, which showed high environmental risk of poisoning to a shallow film of water of 1 ha and 0.30 m deep, with and without sediment. On the other hand, in bodies of water 1 ha and 2.0 m deep, it was of moderate toxicity. Dissipation of fipronil in the water was not affected by temperature, sediment or photoperiod. The minimum time to which fipronil caused 50% acute mortality (0.08 mg/L) after dilution of 0.75 mg/L was 242 days; the withdrawal period, after which no mortality occurs (0.025 mg/L), was 263 days.

Key words: chromatography, environmental risk, fish, intoxication, phenylpyrazole.

RESUMO

Os produtos defensivos tem sido utilizados em grande escala para garantir a produtividade de diversas culturas. O uso indiscriminado destes produtos tem resultado em impactos negativos ao ambiente, principalmente com resíduos tóxicos na água, solo, ar, plantas e animais. O fipronil é um inseticida que pertence ao grupo dos fenilpirazóis utilizado amplamente na cultura de cana-de-açúcar, que por lixiviação ou encorreamento aumenta as possibilidades de atingir o ecossistema aquático. O presente estudo objetivou avaliar o risco ambiental ecotoxicológico a partir da concentração letal 50 durante 96 h (CL₅₀-96h) para *Poecilia reticulata*, em ausência e presença de sedimento, valor que foi estimado em 0,08 ± 0,01 mg/L para o primeiro e 0,09 ± 0,01 mg/L para o segundo. A partir destes valores, o fipronil foi classificado como extremadamente tóxico para *P. reticulata* em ambas circunstâncias e de alto risco ambiental em um espelho de água de 1 há a 0,30 m de profundidade e moderadamente tóxico em 1 ha a 2,0 m. A dissipação do fipronil no meio aquático não foi afetada pela temperatura, presença ou ausência de sedimento e/ou luz. No cálculo da dissipação parcial (50%) e total (100%) após da diluição de 0,75 mg/L foi determinado em 242 dias para o primeiro e de 263 para o segundo, onde não ocorrerá mortalidade na concentração de 0,025 mg/L

Palavras-chave: cromatografia, fenilpirazol, intoxicação, peixe, risco ambiental.

INTRODUÇÃO

A cultura de cana-de-açúcar no Brasil, que data do período colonial (século XVI) tem vindo representando um segmento importante na economia dos estados produtores de cana-de-açúcar. Esta importância é devida particularmente ao programa de combustível de etanol conhecido como “Pro-álcool”, que foi estabelecido em 1975 para resolver a dependência externa de energia. Entretanto, este programa ganhou uma nova atenção de importância nos últimos anos, como adotar o uso de um combustível ambiental seguro para os automóveis que são construídos para funcionar em qualquer proporção de gasolina e metanol, conhecidos como carros “flex” (Pereira 2007). A produção de cana-de-açúcar de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB 2011), a área plantada no Brasil em 2011 foi estimada em 8.368,4 mil has, sendo a região Centro-Sul a maior produtora, e deste, o Estado de São Paulo com 52,2% (4.370 mil has). No que se refere à produção de açúcar em todo o território foi de 36,9 milhões de toneladas e 22.857,6 bilhões de L de etanol. Assim, com a alta produção de cana-de-açúcar é necessário o amplo uso de inseticidas, dentre os que se destaca o fipronil, usado para o controle de insetos daninhos nesta cultura. Estima-se que atualmente o fipronil é aplicado em aproximadamente 1,7 milhões de has de cana-de-açúcar para o controle de cupim, besouros e broca da cana. Além disso, a aplicação do fipronil é eficaz em baixa dosagem no controle de grande variedade de insetos foliares em cultivos de arroz (Balança & De Visscher 1997), verduras e frutas (Zhao *et al.* 1995; Stevens *et al.* 1998), sendo utilizado também como terapêutico na veterinária (Hainzl & Casida 1996).

O grande uso deste inseticida deve-se à alta eficácia no controle de insetos resistentes aos inseticidas piretróides, organofosforados e

carbamatos (Bobé *et al.* 1997). Com o uso intenso na agricultura, espera-se a presença de resíduos na rede hidrográfica próxima às áreas de aplicação. Existe carência de informações locais sobre os possíveis impactos que os agrotóxicos podem causar nos sistemas aquáticos, mas sabe-se que o risco de transporte nas áreas de aplicação próximas à rede hidrográfica pode resultar numa ação direta sobre organismos não alvos ou indireta pela alteração do seu hábitat ou interferência na cadeia trófica (Nakagome *et al.* 2007).

O guaru (*Poecilia reticulata*, Peters, 1859) foi introduzido no Brasil para o controle biológico de mosquitos, aproveitando o comportamento alimentar das larvas (Kohnem 1991). Segundo, Svobodova & Opperhuizen (1996) esta espécie é muito utilizada em estudos de toxicidade devido à sua capacidade de adaptação às condições de laboratório, sendo indicada pela APHA (2012) como organismo para realizar este tipo de estudos.

O objetivo deste trabalho foi determinar o tempo que leva o fipronil em se dissipar no meio aquático e determinar o risco ambiental para o guaru (*P. reticulata*) no meio aquático.

MATERIAIS E MÉTODOS

Determinação da Concentração letal 50 (CL₅₀-96h)

Para determinar a CL₅₀-96h foram utilizados 105 exemplares de guaru (*P. reticulata*) entre machos e fêmeas com peso médio 0,42 ± 0,06 g, comprimento médio total 1,36 ± 0,21 cm, obtidos de culturas do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP) (Aprovado pelo comitê de ética CUEA-Unesp). Após aclimatação foram transferidos para aquários de vidro com 3,0 L de água e fipronil em uma sala climatizada mantida a 23 ± 1°C e fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h escuridão. As concentrações de

exposição durante 96 h foram 0; 0,025; 0,050; 0,075; 0,100; 0,125 e 0,150 mg/L de fipronil (Regent® 800WG). Cada concentração teve três replicas (5 peixes por aquário). A CL_{50} -96h foi estimada com uso do software Trimmed Spearman – Karber (Hamilton *et al.* 1977). As variáveis físico-químicas da água (temperatura, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, pH com sonda multiparamétrica YSI 556) foram diariamente monitorados às 14:00 h.

Sedimento

Amostras de solo foram coletadas na Universidade Estadual Paulista, campus de Jaboticabal, em um campo livre de aplicações de agrotóxicos. Seguido da coleta, o sedimento foi secado ao ar livre e peneirado (diâmetro de peneira 2 mm), uma parte foi enviada para análise físico-químico (Tabela 1), seguindo a metodologia utilizada pela Embrapa (1997). A outra parte foi estocada a 4°C até início do experimento.

Tabela 1. Análise físico-química do solo usado como sedimento na dissipação do fipronil no ambiente aquático.

Composição química	Valores	Composição física	Valores
pH (em $CaCl_2$)	5,5	Argila (g/kg)	425
MO (%)	3,8	Limo (g/kg)	166
K ($mmol_c/dm^3$)	4,8	Areia fina (g/kg)	197
Ca ($mmol_c/dm^3$)	59,0	Areia grossa (g/kg)	212
Mg ($mmol_c/dm^3$)	20,0	Classe textural	Argilosa
H+ Al ($mmol_c/dm^3$)	34,0		
T ($mmol_c/dm^3$)	117,8		
V (%)	71,0		

MO = Matéria Orgânica; H + Al = Hidrogênio + Alumínio; SB = Soma de Bases; T = Capacidade de Troca de Cátions; V = Porcentagem de saturação de bases.

Classificação do fipronil pela toxicidade aguda e risco ambiental

A classificação de toxicidade foi calculada referente ao seu potencial tóxico para *P. reticulata* baseado na CL_{50} , de acordo com Zucker (1985). Para o cálculo da concentração ambiental estimada (CAE) nas proporções 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12% e 1,56% da maior dosagem (400 g ia/ha) recomendada para uso agrícola (Andrei 1999) foi considerado o cenário em que o inseticida se encontra uniformemente distribuído no

espelho de água de um reservatório de um ha e com 0,3 m de profundidade (Boock & Machado-Neto 2000) e 2,0 m de profundidade (Solomon 1996).

A classificação do risco de intoxicação ambiental ou quociente de risco (QR) foi realizada de acordo com USEPA (1996a), resultado da divisão da CAE pela CL_{50} do fipronil. Este resultado é um número puro e as unidades se anulam na divisão ($QR = CAE/CL_{50}$) (Tabela 2).

Tabela 2. Classes de risco de intoxicação ambiental.

Classificação	Descrição	QR (mg/L)
Baixo Risco	É recomendada cautela no uso do produto	< 0,05
Médio Risco	Produto com uso restrito	0,05 > < 0,5
Alto Risco	É recomendada a revisão da permissão de uso ou cancelamento	> 0,5

Dissipação do fipronil na água

Para avaliar a dissipação do fipronil na água realizou-se a diluição 0,75 mg/L no volume de 2 L. Foram considerados os fatores ausência e presença de sedimento que foram analisados em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Para o estudo com sedimento o volume final foi de 2,0 L de água e 1,0 kg de sedimento. Os aquários de vidro foram cobertos com filme plástico para evitar a evaporação.

A dureza da água utilizada nos testes foi 53 mg/L em termos de CaCO₃, classificando-se como mole (Tavares 1994).

Foi coletado 30 mL de água por recipiente às 8 h e 1, 3, 7, 12, 18, 25 e 33 dias após a diluição do fipronil na água, com registro diário dos parâmetros físico-químicos (Tabela 3).

Análise Cromatográfica

A determinação do fipronil foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Thermo Finnigan Surveyor) detector UV/Vis, coluna ACE 5 C18 de fase reversa, 150 x 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel foi uma solução de acetonitrila (grau CLAE) e água ultra pura (Elga® Purelab UHA) (80:20 v/v), em sistema isocrático, fluxo de 1,0 mL/min, comprimento de onda de 280 nm e temperatura da coluna de 35°C (Hadjmohammadi *et al.* 2006).

A curva analítica foi construída com as áreas dos picos dos cromatogramas da solução-

padrão de 0,0625; 0,125; 0,25; 0,50; 0,75 mg/L. O padrão analítico foi da BASF (98,9%), diluído em acetonitrila grau CLAE. O tempo de retenção do analito foi 2,6 min, o limite de detecção 0,006 mg/L e quantificação 0,03 mg/L.

A recuperação foi realizada em médio aquoso com adição de 50 mL de diclorometano (DCM), agitadas manualmente por aproximadamente dois min, até a separação das fases orgânica e aquosa, cada uma com quatro partições com DCM. A fração aquosa foi descartada e a fração orgânica, filtradas (papel filtro Qualy®, 0,47 µm de porosidade) com sulfato de sódio anidro e coletadas em balão de fundo redondo. O balão contendo as quatro partições (200 mL) do solvente foi levado ao rotaevaporador a vácuo (Fisatom®) a 35 °C. Após a secagem completa, foram ressuspensas em 5,0 mL de acetonitrila. Para facilitar o descolamento do eluato da parede dos balões, utilizou-se ultra-som (Cleaner, Odontobrás®, 40 KHz) durante três min e transferido para o vial e leitura.

Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando-se a análise de variância com o teste F, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, quando o F foi significativo.

Tabela 3. Média dos valores diários das variáveis físico-químicas da água dos ensaios de dissipação do fipronil na água na temperatura controlada e ambiente.

Sedimento	Temperatura da água (°C)	Condutividade (µS/cm)	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	pH
Presença	30,25 ± 0,8	200,58 ± 26,7	6,02 ± 0,2	7,16 ± 0,1
Ausência	30,05 ± 0,4	199,31 ± 17,2	6,03 ± 0,3	7,12 ± 0,2

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Toxicidade aguda para *P. reticulata*

O valor médio da CL₅₀-96 h do fipronil estimado para *P. reticulata* nos experimentos sem sedimento e com sedimento estão contidos na Tabela 4.

Estes valores são iguais aos encontrados por Gómez *et al.* (2008) onde foi determinada a CL₅₀ em 0,08 mg/L, valores muito próximos aos determinados para outras espécies de peixes como *Lepomis macrochirus* (Rafinesque, 1819) (0,08 mg/L) e *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (0,25 mg/L) (USEPA 1996b), valor que caracteriza este inseticida como três vezes mais tóxico para *O. niloticus* do que para *P. reticulata*.

Nos bioensaios os peixes começaram a expressar sinais de intoxicação após 12 h de exposição nas maiores concentrações (0,1; 0,125 e 0,15 mg/L), observou-se principalmente hiper-excitação, flexão lateral e nado errático. Após 24 h de exposição, estes sinais também foram observados com menos intensidade nas menores concentrações (0,025 e 0,050 mg/L). Após 96 h os sinais ainda foram observados nos peixes expostos em todas as concentrações, resultantes do fechamento dos canais de cloreto localizados nos neurônios refletindo a inibição do GABA (Bobé *et al.* 1998), que se expressa mediante tetania, contração muscular e flexão lateral (Stehr *et al.* 2006).

Outros estudos demonstraram que a exposição do *Danio rerio* (Hamilton, 1822) ao fipronil na concentração de 333 µm/L na água durante o desenvolvimento embrionário, apresentou degeneração da notocorda causado pelo encurtamento das fibras musculares, com isto, diminuindo a transmissão interneural na medula espinal resultando em morte por tetania (Stehr *et al.* 2006). Isto explica a maior excitação com flexão lateral nos peixes expostos às concentrações de 0,1 até 0,15 mg/L.

Classificação do fipronil quanto à toxicidade aguda e ao risco ambiental.

Em corpos de água com profundidade de 0,30 m (Tabelas 5 e 6), na ausência e presença de sedimento o fipronil classifica-se como de alto risco de intoxicação ambiental para *P. reticulata*, entre as concentrações 0,133 e 0,066 mg/L, baseadas da maior dosagem de uso agrícola recomendada (400 g i.a/ha). Nestes cenários, o índice RQ encontra-se em concentrações superiores 0,5 mg/L, o que recomenda revisão da permissão do seu uso ou cancelamento do mesmo (Tabela 4).

O fipronil classifica-se como de risco médio entre as concentrações 0,033 e 0,008 mg/L, onde o RQ encontra-se entre 0,05 e 0,5 mg/L, intervalo que recomenda o produto com uso restrito. O fipronil classifica-se como de baixo risco nas concentrações de 0,04 e 0,002 mg/L, onde o valor do RQ é inferior a 0,05 mg/L, o que recomenda seu uso com cautela (Tabela 4).

Em corpos de água com profundidade de 2,0 m com ausência e presença de sedimento

(Tabelas 5 e 6) o inseticida classifica-se como de risco médio entre as concentrações 0,02 e 0,005 mg/L. Neste cenários, o RQ está entre 0,05 e 0,5 mg/L e o classifica com uso restrito. O fipronil classifica-se de baixo risco de intoxicação ambiental em concentrações inferiores a 0,05 mg/L, o que recomenda cautela no uso do inseticida.

Dissipação do fipronil na água

Na Tabela 7 estão contidas as concentrações do fipronil (Regent® 800WG) nas amostras de água coletadas após a fortificação com 0,75 mg/L de fipronil, sob as condições variáveis dos três fatores ambientais em estudo. A solubilidade do fipronil na água é de 2,4 mg/L

em pH 5 e 2,2 mg/L em pH 9 (USEPA 1996b). Para temperatura, observou-se que a dissipação foi maior na temperatura ambiente (25,41,7°C) com dissipação de 18,8% que na controlada (30°C) 17,3%, ao final das coletas 33° dia após aplicação (DAA). Verifica-se que a dissipação na temperatura ambiente foi significativamente menor que na controlada aos 25 e 33 DAA. A dissipação, com temperatura controlada (30°C) foi 4,0% a partir do primeiro até o terceiro DAA, não diferindo estatisticamente com a temperatura ambiente (25,41,7°C). A partir do terceiro ao 12° DAA, a dissipação foi de 5,3% e do 13° até o 25° DAA foi significativamente maior, com 10,6% de redução da concentração inicial na água.

Tabela 4. Valores da CL_{50} , limites superior e inferior, equação e R^2 , dos testes de toxicidade aguda realizados com *P. reticulata* sem e com sedimento

Condições	CL_{50} (mg/L)	Limites (mg/L)		Equação (Mortalidade)	R^2
		Inferior	Superior		
Sem sedimento	0,08	0,07	0,09	$y = 676,03x - 3,10$	0,96
Com sedimento	0,09	0,08	0,10	$y = 723,54x - 7,62$	0,98

Tabela 5. Concentração ambiental estimada (CAE) para *P. reticulata* com ausência de sedimento nas diferentes colunas de água em função da contaminação.

Coluna de água de 0,30 m de profundidade				Coluna de água de 2,0 m de profundidade			
Dosagem (%)	CAE (mg/L)	RQ (mg/L)	Risco	Dosagem (%)	CAE (mg/L)	RQ (mg/L)	Risco
100,0	0,133	1,66	Alto	100,0	0,0200	0,25	Médio
50,0	0,066	0,83	Alto	50,0	0,0100	0,125	Médio
25,5	0,033	0,41	Médio	25,0	0,0050	0,0625	Médio
12,5	0,016	0,20	Médio	12,5	0,0025	0,0312	Baixo
6,2	0,008	0,10	Médio	6,2	0,0012	0,0156	Baixo
3,1	0,004	0,05	Baixo	3,1	0,0006	0,0078	Baixo
1,5	0,002	0,02	Baixo	1,5	0,0003	0,0039	Baixo

(%): Porcentagens decrescentes da maior dosagem recomendada (400 g ia/ha), RQ: Quociente de risco.

Tabela 6. Concentração ambiental estimada (CAE) para *P. reticulata* com presença de sedimento nas diferentes colunas de água em função da contaminação.

Dosagem (%)	Coluna de água de 0,30 m de profundidade			Coluna de água de 2,0 m de profundidade			
	CAE (mg/L)	RQ (mg/L)	Risco	Dosagem (%)	CAE (mg/L)	RQ (mg/L)	Risco
100,0	0,133	1,47	Alto	100,0	0,0200	0,2200	Médio
50,0	0,066	0,73	Alto	50,0	0,0100	0,1110	Médio
25,0	0,033	0,36	Médio	25,0	0,0050	0,0555	Médio
12,5	0,016	0,17	Médio	12,5	0,0025	0,0277	Baixo
6,2	0,008	0,08	Médio	6,25	0,0012	0,0138	Baixo
3,1	0,004	0,04	Baixo	3,12	0,0006	0,0070	Baixo
1,5	0,002	0,02	Baixo	1,56	0,0003	0,0035	Baixo

(%): Porcentagens decrescentes da maior dosagem recomendada (400 g ia/ha), RQ: Quociente de risco.

Colunas do mesmo fator seguidas pela mesma letra em minúsculo não diferem significativamente entre si. Médias na mesma linha nos dias das coletas, seguidos pela mesma letra maiúsculo nas duas colunas do mesmo fator não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A dissipação do fipronil em ausência de sedimento observou-se a partir do primeiro dia onde teve diminuição de 4,0% até o terceiro dia; esta diminuição não foi estatisticamente significativa na variável, mas sim, com presença do sedimento. No intervalo entre o sétimo e o 18° DAA não apresentou diferença significativa sendo a dissipação de 5,3%. No

25° DAA, a dissipação foi significativamente maior que nos valores anteriores e com a redução do fipronil na água de 12,0%. Para a última coleta a concentração final foi de 0,63 mg/L e a dissipação de 14,6%. Já com a presença do sedimento, a diferença começou a partir do sétimo DAA, com dissipação de 4,0% até 12° DAA. No 18° DAA, a dissipação foi de 6,7%, e não diferiu dos dias de coleta anteriores. Aos 25 DAA ocorreu dissipação de 9,3% do fipronil, que é significativamente menor que as outras coletas. Na coleta aos 33° DAA a dissipação total foi de 16,0% que é significativamente superior às coletas anteriores, com a concentração final de 0,64 mg/L.

Tabela 7. Concentrações médias \pm desvio padrão, equação e valor do R^2 das coletas após fortificação de 0,75 mg/L de fipronil na água nos diferentes fatores.

Coletas (dias)	Fator Sedimento	
	Presente	Ausente
0	0,75 \pm 0,03 ^{aA}	0,75 \pm 0,05 ^{aA}
0,33	0,74 \pm 0,09 ^{bA}	0,73 \pm 0,07 ^{bB}
1	0,74 \pm 0,12 ^{bA}	0,72 \pm 0,08 ^{bB}
3	0,73 \pm 0,09 ^{bA}	0,72 \pm 0,12 ^{bA}
7	0,72 \pm 0,08 ^{cA}	0,71 \pm 0,14 ^{cA}
12	0,71 \pm 0,04 ^{cA}	0,70 \pm 0,17 ^{cA}
18	0,71 \pm 0,05 ^{cA}	0,70 \pm 0,14 ^{cA}
25	0,66 \pm 0,15 ^{dA}	0,68 \pm 0,22 ^{dA}
33	0,64 \pm 0,45 ^{eA}	0,63 \pm 0,26 ^{eA}
Equação y=	-0,0031x+0,75	-0,0027x+0,73
R^2	0,95	0,87

Para a condição com sedimento, apesar das diferenças significativas entre algumas coletas e entre a presença e ausência não foram observadas diferenças significativas na última coleta. Nestes dados de dissipação do fipronil foram ajustados às seguintes equações: $y = -0,0031x + 0,75$, para ausência de sedimento e $y = -0,0033x + 0,74$ na presença de sedimento. A meia vida do fipronil na água que é o tempo para que ocorra a dissipação de 50% (0,375 mg/L) da concentração inicial, foi calculada em 119 dias com sedimento e 133 dias sem sedimento. Para o 100% dissipação do fipronil na água com presença de sedimento foi calculado em 240 dias e na ausência em 272 dias.

As concentrações que poderiam causar 100% de mortalidade dos peixes (0,150 mg/L) se mantêm até aos 192 dias em presença de sedimento e aos 216 dias em ausência de sedimento. A concentração tóxica, que poderia causar 50% de mortalidade dos peixes (0,08 mg/L), se mantêm até o dia 214 em presença de sedimento e 232 na ausência de sedimento.

O período de carência ou intervalo de segurança para o fipronil, com a concentração de 0,025 mg/L, começa a partir de 232 dias após a diluição em presença de sedimento e 263 em ausência de sedimento. Para Connelly (2001), a transformação do fipronil no meio aquático em desulfenil, subproduto que possui ação tóxica aos organismos expostos, ação semelhante à molécula original do fipronil. Ngim & Crosby (1995) citam que a degradação do fipronil na água é influenciada pela fotólise, e que a redução a fipronil sulfeto foi a principal rota de degradação em presença de solo.

Em estudos de degradação do fipronil em solos tropicais no Brasil em condições de laboratório (não autoclavado e autoclavado), foi constatado que a vida média do fipronil na concentração de 0,098 mg/kg foi de 83 dias a na de 0,67 mg/kg, 200 dias. Foi constatado

também que ocorreu a formação de fipronil sulfona, originado por oxidação (Masutti & Mermut 2007). Verifica-se neste estudo a alta importância da presença dos microorganismos na dissipação do fipronil; atividade que se acredita que não ocorreu no presente trabalho. A fotólise é a reação mais importante de degradação do fipronil no meio aquoso, e a hidrólise torna-se importante se o meio aquoso tem pH básico, devido ao fato de que a molécula é estável em água com pH ligeiramente ácido (5,0 - 6,0) a neutro, sem presença de luz (Connelly 2001).

As médias dos valores de pH ao longo das coletas, no fator temperatura controlada (30°C) e ambiental (25,4±1,7°C) das diluições do presente trabalho foi próximo de 7,0. Este resultado explica-se pela estabilidade que tem a molécula na água com pH neutro, onde a luz não foi um fator influente na dissipação. A degradação do fipronil no sedimento ocorre em taxas moderadas. Raveton *et al.* (2007) determinaram que os metabólitos predominantes produzidos no sedimento foram fipronil sulfeto e fipronil amina. Em contraste, o metabólito fipronil desulfenil, que é originado pela ação da luz, foi apenas detectado. Estes resultados são determinados pela quantidade de matéria orgânica e pela composição físico-química do solo.

Em estudos de campo e de laboratório em diferentes tipos de solo, sob diversas condições ambientais, foram estabelecidas as rotas de degradação do fipronil em água e em solo. Onde o composto pode ser metabolizado via redução ao sulfeto, via oxidação a sulfona, e via hidrólise à amida. Em presença de luz solar, o fipronil é fotodegradado e forma o desulfenil fipronil (Fenet *et al.* 2001).

A estabilidade do pH está relacionada à concentração de carbonato de cálcio contido na água (53 mg/L) fazendo que o pH permaneça estável, atuando como uma solução

tampão devido à dissociação do carbonato na água. Harrys (1995) determinou que o valor do pH na água pode interferir no equilíbrio de dissociação ou grau de ionização dos inseticidas, modifica a atividade biológica dos compostos, assim como a presença de sais minerais como o cálcio e o magnésio, pode alterar as características físico-químicas de alguns compostos químicos.

A dissipação observada neste trabalho foi em taxas moderadas, pois aos 33 DAA a dissipação não superou 20%; que possibilitam a suposição de que a matéria orgânica não foi um fator influente na dissipação do fipronil. Aajoud *et al.* (2003) estudaram, durante três meses, a dissipação do fipronil no meio aquoso, e constataram que durante este período foram formados subprodutos como fipronil amida e destio-fipronil. Citam que estes subprodutos tóxicos foram reduzidos pelos microorganismos e originaram fipronil sulfeto e fipronil sulfona, cujo grupo de base fraca (CN) da molécula faz com que sejam transformadas em grupos hidrofílicos não tóxicos.

Nas condições avaliadas, o fipronil persistiu na água provavelmente devido ao fato da molécula ser não-iônica ou pela baixa capacidade de retenção do sedimento. A baixa capacidade de adsorção do sedimento utilizado pode ser constatada nos parâmetros físico-químicos com a matéria orgânica de 38% e textura do solo argiloso (425 g/kg) condições que aumentam a capacidade de troca catiônica (117,8 mmol/dm³) (Brady 1989).

Piasarolo *et al.* (2008) determinaram que a sorção de compostos não-iônicos entre eles o fipronil, é influenciada pela polaridade e partição hidrofóbica na matéria orgânica. Em contraste, neste trabalho, a baixa adsorção pode estar relacionada à alta capacidade de intercâmbio catiônico e ao fato de que a molécula do fipronil é pouco polar, que

proporcionou baixa adsorção do fipronil no sedimento utilizado (Carvalho *et al.* 2002).

Lima & Rigitano (2008) determinaram que a meia vida do fipronil na água avaliada por médio da cinética de sorção pelo método de incubação foi 433 dias, e explica este longo período de tempo pela baixa polaridade que tende a manter-la em equilíbrio no meio.

Baseado na interação dos valores apresentados no presente estudo, o fipronil classifica-se como extremamente tóxico para *P. reticulata* na presença e ausência de sedimento sob as condições estudadas. Quanto à classificação cataloga-se como de alto risco ambiental em concentrações superiores a 0,066 mg/L e de baixo risco em concentrações inferiores a 0,004 mg/L em um espelho de água de um ha e com 0,3 m de profundidade, de risco ambiental médio em concentrações superiores a 0,005 mg/L e de baixo risco em concentrações inferiores a 0,0025 mg/L no espelho de água de um ha com 2,0 m de profundidade.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aajoud, A.; Ravanel, P. & Tissuit M. 2003. Fipronil metabolism and dissipation in simplified aquatic ecosystem. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 1347-1353.
- Andrei, E. (Ed.). 1999. *Compêndio de defensivos agrícolas: Guia prático de produtos fitossanitários*. 6^{ta}. ed. São Paulo. 672 p.
- APHA. 2012. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 22nd Ed. American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation. Washington. D.C. 1496 p.
- Balança, G. & De Visscher, M. 1997. Impacts on non-target insects of a new insecticide compound used against the desert locust

- Schistocerca gregaria* (Forsk. 1775). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 32: 58-62.
- Bobé, A.; Coste, C.M. & Cooper, J. 1997. Factors influencing the adsorption of fipronil on soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: 4861-4865.
- Bobé, A.; Cooper, J.F.; Coste, C.M. & Muller, M.A. 1998. Behavior of fipronil in soil under sahelian plain field conditions. Pesticide Science, 52: 275-281.
- Boock, M.V. & Machado-Neto J.G. 2000. Estudos toxicológicos do oxicloreto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.). Arquivo Instituto de Biologia, 67: 215-221.
- Brady, N.C. 1989. *Natureza e propriedades dos solos*. 7 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos. 878 p.
- Carvalho, R.F.; Rigitano, R.L. & Lima, J.L. 2002. Sorção e degradação do fungicida triadimenol em solos representativos do município de Lavras – M.G. Ciência. Agrotecnica, 26: 332-341.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2011. *Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2011*. Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília: Conab 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_12_08_11_00_54_08.pdf> Leído em 25 de marzo de 2013.
- Connelly, P. 2001. *Environmental fate of fipronil*. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation. 2001. Disponível em: <<http://www.pw.ucr.edu/textfiles/fipronil.pdf>>. Leído em 26 de marzo de 2013.
- EMBRAPA. (Centro Nacional de Pesquisa de Solos.) 1997. *Manual de métodos de análise de solo*. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. – 2 ed. Rio de Janeiro, 1997, 212 p.
- Ngim, K.K. & Crosby, D.G. 2001. Abiotic processes influencing fipronil and desulfiofipronil dissipation in California, USA, rice fields. Environmental Toxicology and Chemistry, 20: 972-977.
- Fenet, H.; Beltran, E.; Gadji, B.; Cooper, J.F. & Coste, C.M. 2001. Fate of a phenylpyrazole in vegetation and soil under tropical field conditions. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49: 1293-1297.
- Gómez, M.W. & Machado-Neto, J.G.M. 2008. Toxicidad aguda y riesgo ambiental del fipronil para guppy (*Poecilia reticulata*). The Biologist (Lima), 6: 85-93.
- Hadjmohammadi, M.R.; Nikou, S.M. & Kamel, K. 2006. Determination of fipronil residue in soil and water in the rice fields in north of Iran by RP – HPLC method. Acta Chimica Slovenica, 53: 517-520.
- Hainzl, D. & Casida, J.E. 1996. Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 93: 12764-12767.
- Hamilton, M.A.; Russo, R.C. & Thurston, V. 1977. Trimmed Spearman – Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays. Environmental Science Technology, 7: 714-719.
- Harrys, D.C. 1995. *Quantitative chemical analysis*. 4 ed., New York: W.H. Freeman.
- Kohnem, U.P. 1991. *O guppy - criação e desenvolvimento*. 2th ed. São Paulo: Nobel, 1991, p. 9-26.
- Lima, M.A. & Rigitano, O.L. 2008. Influencia do tempo sobre a sorção de pesticidas não-iônicos em um argissolo. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, 18:95-106.

- Masutti, C.S.M. & Mermut, A.R. 2007. Sorption of fipronil and its sulfide derivative by soils and goethite. *Geoderma*, 140: 1-7.
- Nakagome, F.K. Noldin, J.A. & Resgalla, Jr. C. 2007. Toxicidade aguda e análise de risco de herbicidas e inseticidas utilizados na lavoura do arroz irrigado sobre o cladóceros *Daphnia magna*. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 16:93-100.
- Ngim, K.K. & Crosby, D.G. 1995. Abiotic processes influencing fipronil and desethiofipronil of several insecticides for resistance monitoring in *Plutella xylostella*. *Pesticide Management*, 7: 13-14.
- Pereira, C. 2007. *Combustível do Futuro São José é o 'berço' do motor a álcool. Disponível em: <http://www.ita.br/online/2007/itanamida07/mar07/vale8mar07.htm>* Acesso em 23 de maio de 2013.
- Piasarolo, L.; Oliveira, R.R.L. & Guerreiro, M.C. 2008. Influência da polaridade de pesticidas não-iônicos sobre sua sorção em um latossolo. *Ciência Agrotécnica*, 32: 1802-1809.
- Raveton, M.; Aajoud, A.; Willison, J.; Cherifi, M.; Tissut, M. & Ravanel, P. 2007. Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. *Chemosphere*, 69: 1124-9, 2007.
- Solomon, K.R. 1996. *Avaliação de riscos ecotoxicológicos dos produtos fitossanitários*. Relatório técnico. Centro de Toxicologia. Universidade de Guelph, Canadá. 52 p.
- Stehr, C.M.; Limbo, T.; Incardona, J.P. & Scholz, N.L. 2006. The developmental neurotoxicity of fipronil: notochord degeneration and locomotor defects in zebrafish embryos and larvae. *Toxicological Sciences*, 92: 270-278.
- Stevens, M.M.; Helliwell, S.S. & Warren, G.N. 1998. Fipronil seed treatments for the control of chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in aerially-sown rice crops. *Field Crops Research*, 57: 195-207.
- Svobodova, Z. & Opperhuizen, A. 1996. Bioaccumulation and body burden of four triorganotin compounds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57: 146-154.
- Tavares, L.H.S. 1994. *Limnologia aplicada à aquicultura*. Ed. Afiliada. 71p.
- USEPA (Environmental Protection Agency). 1996a. *Proposed guidelines for ecological risk assessment*. Washington, DC, Risk Assessment Forum (EPA 630-R95-002B).
- USEPA (Environmental Protection Agency). 1996b. *New Pesticide Fact Sheet. PB96-181516.EPA737-F-96-005*. U.S. EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, p. 1-10.
- Zhao, J.Z.; Wu, S.C. & Zhu G.R. 1995. Bioassays with recommended field concentrations of several insecticides for resistance monitoring in *Plutella xylostella*. *Pesticide. Management*, 7: 13-14.
- Zucker, E. 1985. *Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure-Acute toxicity test for freshwater fish*. (USEPA Publication 540/9-85-006).

Received April 22, 2013.
Accepted June 13, 2013.