

## ESTUDO PRELIMINAR DA SENSIBILIDADE DE MOSCAS *DROSOPHYLA MELANOGASTER* A DIVERSOS PESTICIDAS ORGANOCORADOS \*

Henry JOSEPH Jr. \*\*  
Márcia G. KNOBEL \*\*

RIALA6/497

JOSEPH Jr., H. & KNOBEL, M.G. — Estudo preliminar da sensibilidade de moscas *Drosophyla melanogaster* a diversos pesticidas organoclorados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(1):43-47, 1980.

RESUMO: Os autores verificaram que as moscas *Drosophyla melanogaster* machos são mais sensíveis aos pesticidas organoclorados do que as fêmeas e que a menor concentração possível de ser detectada, através de teste biológico em placa de petri, de 15 pesticidas organoclorados, é: Aldrin, Dieldrin, Endrin, Heptacloro e Lindano, até 0,2 µg/ml; BHC e Clordano, até 0,5 µg/ml; Endosulfan, até 1,0 µg/ml; DDT, TDE e Toxafeno, até 10,0 µg/ml; Metoxiclolo, até 30,0 µg/ml; DDE, Mirex e Strobane não são detectados até 500,0 µg/ml.

DESCRIPTORES: *Drosophyla melanogaster*, sensibilidade a pesticidas organoclorados; pesticidas organoclorados, sensibilidade da mosca *Drosophyla melanogaster*; moscas, *Drosophyla melanogaster*.

### INTRODUÇÃO

Tendo em vista os trabalhos realizados por QADRI<sup>2</sup> em 1971, BAKUNIAK *et alii*<sup>1</sup> em 1968, ROTHERD<sup>3</sup>, em 1967 e KARLOG & WEIHE<sup>4</sup>, em 1963, aventamos a possibilidade de utilizar moscas drosófilas para a triagem de alimentos contaminados por pesticidas, em concentração pequena, mas acima do valor residual.

Nosso objetivo consistiu em identificar os pesticidas organoclorados, aos quais as moscas são sensíveis, e suas concentrações mínimas detectáveis, nas condições de trabalho. Verificamos também a diferença de sensibilidade entre moscas machos e fêmeas para um mesmo pesticida numa mesma concentração e concluímos sobre a eficiência deste teste, perante o número de pesticidas detectáveis e não detectáveis.

### MATERIAL E MÉTODO

#### Material

- Moscas *Drosophyla melanogaster*, criadas no laboratório em estufa a 25°C;
- Frascos de vidro branco, de 500 ml de capacidade e de boca larga;
- Placas de petri, com tampa, tamanho 50 x 25 mm;
- Baldes volumétricos de 5; 10; 50; 100 e 250 ml de capacidade;
- Pipetas sorológicas de 1; 2; 5 e 10 ml de capacidade;
- Papel de filtro qualitativo, cortado em forma de disco, com o diâmetro igual ao diâmetro interno da placa de petri;
- Acetona p.a.;
- Éter etílico p.a.

\* Realizado na Seção de Toxicologia do Laboratório de Controle de Alimentos Dr. Ignácio Proença de Gouvêa, da Secretaria de Higiene e Saúde, da Prefeitura do Município de São Paulo, SP. Apresentado no 4.º Encontro de Analistas de Resíduos de Pesticidas, efetuado no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, de 19 a 21 de setembro de 1979.

\*\* Do Laboratório de Controle de Alimentos Dr. Ignácio Proença de Gouvêa.

#### Meio de cultura para as moscas

Água desmineralizada .....	1.000 ml
Ágar técnico .....	35 g
Açúcar .....	60 g
Levedura em pó .....	100 g
Solução fungicida (água desmineralizada, 1.120 ml; ácido ortofosfórico, 80 ml e ácido propiônico, 800 ml) .....	15 ml

#### Padrões de pesticidas organoclorados

Aldrin, BHC a 12% (técnico), Clordano, DDE, DDT, Dieldrin, Endosulfan, Endrin, Heptacloro, Lindano, Metoxicloro, Mirex, Strobane, TDE, Toxafeno, usados diluídos em acetona p.a.

#### Método

As moscas drosófilas foram mantidas em estufa a 25°C, em frascos de vidro contendo aproximadamente 50 ml de meio de cultura, colocado ainda quente e deixado esfriar. Diariamente as moscas nascidas eram transferidas para outro frasco de vidro com novo meio de cultura, datado para o controle de idade das moscas.

Na primeira parte do experimento, verificouse a diferença de sensibilidade de moscas machos e fêmeas para uma mesma concentração de um mesmo pesticida. Para isto, foram preparadas soluções de alguns pesticidas, já preliminarmente testados para os quais as moscas apresentavam boa sensibilidade. Estas soluções foram preparadas com os seguintes pesticidas: Heptacloro, Aldrin, Endosulfan, BHC, Dieldrin, Endrin, Lindano e Clordano, nas concentrações de 5,0 µg/ml, 1,0 µg/ml, 0,5 µg/ml e 0,2 µg/ml, respectivamente para cada pesticida.

Foram utilizadas placas de petri, forradas com um disco de papel de filtro sobre o qual foi depositado 1,0 ml de cada solução.

Para uma mesma concentração de um mesmo pesticida, foram preparadas quatro placas, sendo que em duas foram colocados os machos e, nas restantes, as fêmeas, de modo que para cada pesticida havia uma bateria de dezesseis placas.

As placas, contendo a solução de pesticida, foram expostas ao ar, até a completa evaporação do solvente, sendo então nelas colocadas as moscas (25 moscas por placa, com idade de 3 a 6 dias) anestesiadas com éter etílico. Também foram colocados meios de cultura (cerca de 1,5 g) que serviriam de alimento às moscas, caso houvesse sobrevivência por 24 horas. Esperava-se então que elas acordassem, para certificar-se de que nenhuma havia morrido devido ao anestésico. Foi utilizada, também, uma placa controle, na qual só se colocava

solvente (sem pesticida), meio de cultura e moscas. As placas assim preparadas eram então levadas para a estufa a 25°C.

A contagem de moscas mortas foi realizada 24 horas após a aplicação.

Na segunda parte do experimento, sabendo-se já que as moscas machos apresentavam uma maior sensibilidade que as moscas fêmeas, foram testados os outros pesticidas não utilizados na primeira parte, os quais provaram, devido aos testes preliminares, não serem tão ativos para as moscas drosófilas. Nesta segunda parte, então, foram usados somente machos, de 3 a 6 dias de idade, em número de 25 por placa.

Foram preparadas soluções dos seguintes pesticidas: DDE, DDT, Metoxicloro, Mirex, Strobane, TDE e Toxafeno, nas concentrações de 0, 2 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1,0 µg/ml, 5,0 µg/ml, 10,0 µg/ml, 20,0 µg/ml, 30,0 µg/ml, 50,0 µg/ml, 100,0 µg/ml e 500,0 µg/ml respectivamente para cada pesticida.

Para cada uma das concentrações acima descritas de pesticidas, foram usadas duas placas, preparadas de modo idêntico ao já descrito para a primeira parte do experimento, e uma placa de controle.

A contagem de moscas mortas foi realizada 24 horas após a aplicação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira parte dos experimentos foram testados oito pesticidas organoclorados com moscas drosófilas machos e fêmeas (tabela 1); os machos apresentaram maior sensibilidade a cinco dos oito pesticidas testados. Estes pesticidas foram: BHC que, na concentração de 0,5 µg/ml, causou uma mortalidade de 99% para os machos e 75,5% para as fêmeas; Clordano, na concentração de 1,0 µg/ml, causou uma mortalidade de 98% para os machos e 64% para as fêmeas e, na concentração de 0,5 µg/ml, uma mortalidade de 86% para os machos e de 24% para as fêmeas; Dieldrin que, na concentração de 0,2 µg/ml, causou uma mortalidade de 100% para os machos e de somente 32,5% para as fêmeas; Endosulfan que, na concentração de 1,0 µg/ml, causou uma mortalidade de 74,4% para os machos e de 56% para as fêmeas; Endrin que, na concentração de 0,5 µg/ml, causou uma mortalidade de 100% para os machos e de somente 32% para as fêmeas e, na concentração de 0,2 µg/ml, causou uma mortalidade de 72% para os machos e de apenas 2,5% para as fêmeas. Nas outras concentrações utilizadas, a mortalidade ou era de 100% para machos e fêmeas, ou era de zero por cento para machos e fêmeas. Os outros três pesticidas, também testados nesta primeira parte do experimento, apresentaram mortalidade de 100% para as moscas machos e fêmeas, até a concentração mínima utilizada. Assim, vemos que, para este

tipo de teste biológico, o mais indicado é usar sempre moscas drosófilas machos pois, para os pesticidas testados, obteve-se uma melhor resposta, evidenciando uma maior sensibilidade.

Na segunda parte do experimento, já então utilizando-se somente moscas machos, testamos mais sete pesticidas organoclorados, para os quais, devido a testes preliminares, sabíamos que as moscas drosófilas são menos sensíveis e, portanto, aumentamos o número de concentrações de cada pesticida (tabela 2). Mesmo assim, três pesticidas não causaram resposta nas concentrações usadas. Foram eles: DDE, Strobane e Mirex. Os quatro pesticidas que foram detectados pelo teste biológico, com moscas drosófilas machos, foram: DDT, detectado até a concentração de 10,0 µg/ml, na qual causou uma mortalidade de 9%; Metoxicloro, detectado até a concentração de 30,0 µg/ml, na qual causou uma mortalidade de 26%; TDE, detectado até a concentração de 10,0 µg/ml, na qual causou uma mortalidade de 8%; Toxafeno, detectado até a concentração de 10,0 µg/ml, na qual causou uma mortalidade de 26%.

Assim, unindo-se os resultados da primeira parte (somente os resultados das moscas drosófilas machos) e da segunda parte do experimento (tabela 2), observamos que, através deste teste biológico, os pesticidas organoclorados Aldrin, Dieldrin, Endrin, Heptacloro e Lindano podem ser detectados até a concentração de 0,2 µg/ml; os pesticidas organoclorados BHC e Clordano podem ser detectados até a concentração de 0,5 µg/ml; o pesticida organoclorado Endosulfan pode ser detectado até a concentração de 1,0 µg/ml; os pesticidas organoclorados DDT, TDE e Toxafeno podem ser detectados até a concentração de 10,0 µg/ml; o pesticida organoclorado Metoxicloro pode ser detectado até a concentração de 30,0 µg/ml; os pesticidas organoclorados DDE, Mirex e Strobane não podem ser detectados até a concentração de 500,0 µg/ml.

Verificou-se ainda para este teste que, mesmo uma porcentagem baixa de mortalidade (8% para o TDE a 10,0 µg/ml, 9% para o DDT e 10,0 µg/ml e 26% para o Toxafeno a 10,0 µg/ml) é significativa, pois mantém-se aproximadamente constante, repetindo-se o teste, indicando a presença de pesticida organoclorado.

TABELA 1

Comparação entre a porcentagem de machos e fêmeas mortos por vários pesticidas, em diversas concentrações

Pesticida	Porcentagem de mortos					Sexo
	Concentração (µg/ml)					
	10	5	1	0,5	0,2	
Aldrin	100	100	100	100	100	Macho
	...	...	100	100	100	Fêmea
BHC	...	100	100	99,0	...	Macho
	...	100	100	75,5	...	Fêmea
Clordano	100	100	98,0	86,0	0,0	Macho
	...	100	64,0	24,0	0,0	Fêmea
Dieldrin	100	100	100	100	100	Macho
	..	...	100	100	32,5	Fêmea
Endosulfan	100	100	74,4	0,0	0,0	Macho
	..	100	56,0	0,0	0,0	Fêmea
Endrin	100	100	100	100	72,0	Macho
	...	...	100	32,0	2,5	Fêmea
Heptacloro	100	100	100	100	100	Macho
	100	100	100	100	100	Fêmea
Lindano	100	100	100	100	100	Macho
	...	...	100	100	100	Fêmea

(...) Ausência de dados.

TABELA 2

Porcentagem de machos mortos por vários pesticidas, testados em diversas concentrações

Pesticida	Porcentagem de mortos									
	Concentração ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	500	100	50	30	20	10	5	1	0,5	0,2
Aldrin	...	...	...	...	...	100	100	100	100	100
BHC	...	...	...	...	...	...	100	100	99,0	...
Clordano	...	...	...	...	...	100	100	98,0	86,0	0,0
DDE	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DDT	100	100	100	96,0	...	9,0	2,0	0,0	0,0	0,0
Dieldrin	...	...	...	...	...	100	100	100	100	100
Endosulfan	...	...	...	...	...	100	100	74,4	0,0	0,0
Endrin	...	...	...	...	...	100	100	100	100	72,0
Heptacloro	...	...	...	...	...	100	100	100	100	100
Lindano	...	...	...	...	...	100	100	100	100	100
Metoxicloro	48,0	24,0	22,0	26,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mirex	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Strobane	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
TDE	100	100	100	80,0	40,0	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Toxafeno	100	100	100	100	100	26,0	0,0	0,0	0,0	0,0

(...) Ausência de dados.

### CONCLUSÃO

O trabalho realizado não pretendeu dar uma resposta final ao problema proposto como objetivo, dado o número restrito de moscas empregadas em cada experimento, e levando em conta que, quanto menor este número, maior será o erro devido a variações individuais, principalmente quanto à resistência aos pesticidas. Com um maior número de moscas, este erro seria diminuído e, fazendo um tratamento estatístico dos resultados, poderíamos chegar a conclusões mais precisas. Dado às condições disponíveis, o presente trabalho forneceu-nos uma idéia bastante clara dos pesticidas e das respectivas concentrações mínimas para as quais as moscas são sensíveis, permitindo o emprego destes resultados na análise de alimentos, com um maior conhecimento sobre o comportamento das moscas.

Finalmente podemos dizer que, como dos 15 pesticidas testados, apenas três não foram detectados nas concentrações utilizadas, o teste demonstrou possuir uma eficiência bastante

satisfatória. Com base nestes resultados, a utilização de moscas *Drosophyla melanogaster* para triagem de alimentos, possivelmente contaminados por pesticidas, parece-nos bastante válida, principalmente pela rapidez e baixo custo do teste, aliado à facilidade de poder ser executado mesmo por laboratórios precários, desprovidos de aparelhagem e instrumental sofisticados, havendo entretanto necessidade de, no futuro, ampliarem-se estes resultados, com testes com outros pesticidas, incluindo-se também os organofosforados.

### Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Durval de Mello e ao Dr. Flávio Rodrigues Puga, do Instituto Biológico, da Secretaria de Estado de Negócios de Agricultura e Abastecimento de São Paulo, pela orientação dada ao trabalho, e à Sr.<sup>ª</sup> Maria Idília B. dos Santos, pelo auxílio prestado.

RIALAG/497

JOSEPH, Jr., H. & KNOBEL, M. G. — Preliminary study of the sensitivity of *Drosophyla melanogaster* flies for several organochlorine pesticides. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(1):43-47, 1980.

**ABSTRACT:** The sensitivity of male *Drosophyla melanogaster* flies to organochlorine pesticides is greater than that of the female. The least detectional concentrations (by Petri dish biological test) of 15 organochlorine pesticides were: Aldrin, Dieldrin, Endrin, Heptachlor and Lindane up to 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; HBC and Chlor-dane up to 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; Endosulfan up to 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; DDT, TDE and Toxaphen up to 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; Methoxichlor up to 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; DDE, Mirex and Strobane were not detected up to 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**DESCRIPTORS:** *Drosophyla melanogaster*, sensitivity to organochlorine pesticides; organochlorine pesticides, sensitivity of *Drosophyla melanogaster*; flies, *Drosophyla melanogaster*.

---

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKUNIAK, E.; KROCZYNSKI, J. & LASKA, P. — Biological methods for determining insecticide residues using *Drosophyla melanogaster*. *Agrochemia (Bratislava)*, Czech., 8(3):89-92, 1968.
2. QADRI, S.S.H. — Estimation of lindane and DDT residues on wheat under storage by bioassay using *Drosophila*. *Pesticides*, Eng., 5(7):19-20, 1971.
3. ROTHERD, H. — Untere Nachweisgrenze für einige Insektizide bei Verwendung optimal ernährter Essigfliegen (*Drosophyla melanogaster*) als Testorganismen. *Deut. Lebensm.-Rundsch.*, 63(3):81-5, 1967.
4. KARLOG, O. & WEIHE, M. — Biologisk påvisning af insekticidrester ved hjælp af bananflure (*Drosophyla melanogaster*). *Nord. Veterinaermed.*, 15:637-44, 1963.

Recebido para publicação em 17 de março de 1980.

