

## Toxicidad aguda y efecto bioacumulativo del fungicida Tebuconazol en el pez cebra (*Danio rerio*)

O. Andreu-Sánchez<sup>1</sup>, L.C. Paraíba<sup>2</sup>, C.M. Jonsson<sup>2</sup> y J.M. Carrasco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Plaguicidas, Departamento de Biotecnología, ETSIA, Universidad Politécnica de Valencia, C.º de Vera, s/n. 46022 Valencia. e-mail: osansan@btic.upv.es

<sup>2</sup> Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP 340, km 125,5, CxP. 69, CEP 13370-000 Tanquinho Velho, Jaguariúna, São Paulo, Brasil. e-mail: lourival@cpma.embrapa.br

### Abstract

The aim of this work was to investigate the bioconcentration factor (BCF) of tebuconazole [(+)-a-[2-(4-chlorophenyl)ethyl]-a-(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)-1H-1,2,4-triazole-1-ethanol] fungicide in zebrafish (*Danio rerio*) under laboratory conditions and a first-order kinetic pesticide dissipation in the water. The concentrations of tebuconazole fitted to an equivalent non-linear kinetic type model which allowed the calculation of the following parameters: bioconcentration factor (38,80 l kg<sup>-1</sup>), time to reach maximum fish concentration (6 days), maximum concentration in fish (0,0075 µg mg<sup>-1</sup>), half-life in fish (24 days) and time needed for the fish to eliminate 95% of the maximum concentration (105 days). These calculations permitted the establishment of theoretical reference limit values for human consumption of fish and the establishment of safe limits for the water pesticide concentration.

### Justificación

El uso de plaguicidas en cultivos asociados a zonas húmedas, como el caso del arroz en las proximidades del Lago de la Albufera de Valencia puede tener serias consecuencias para los organismos acuáticos que allí viven. Si, además, estos organismos tienen un interés comercial para el consumo humano como es el caso de la anguila (*Anguilla anguilla*) o de la lisa (*Mugil cephalus*), es necesario estudiar el efecto acumulativo de estos compuestos plaguicidas y su potencial para acumularse a través de la cadena trófica. En este trabajo hemos seleccionado el compuesto tebuconazol como uno de los fungicidas empleados en el arrozal mediterráneo contra *Pyricularia oryzae* causante del añublo del arroz.

### Material y Métodos

El estudio se ha llevado a cabo empleando un organismo modelo como es el pez cebra (*Danio rerio*). Previamente al ensayo de bioacumulación (BFC) se realizó un ensayo de toxicidad para comprobar la LC50-96 h de este organismo y poder establecer la concentración segura que no producirá la muerte de los organismos durante la exposición al tóxico, el ensayo de toxicidad se realizó según la norma de OECED. A tenor de la LC50-96 h, para el cálculo del BFC se seleccionó una concentración de 0,2 mg/l de tebuconazol (1/125 de la LC50-96 h). El ensayo se realizó por triplicado en tanques de 150 L con agua del grifo previamente decolorada en una cámara climatizada (a 22°C y fotoperiodo 12:12) más un tanque control (sin tóxico). Se introdujo el tóxico (pureza < 99%) disuelto en 10 ml de acetona para favorecer la disolución, tras un tiempo de equilibrio se introdujeron los peces en los tanques. Posteriormente, se fueron sacando los organismos a diferentes tiempos de exposición para su posterior análisis, se anestesiaron con MS-222 y se congelaron a -80°C hasta su análisis. La cuantificación de la concentración de tebuconazol en los peces se realizó según el procedimiento descrito por Andreu 2008, para ello las muestras de pez fueron introducidas en un tubo de ultracentrifuga con 35 ml de una mezcla de acetona: diclorometano (1:1) y homogenizadas sobre hielo en un dispersor ultratrurrax<sup>®</sup> durante 3' a 18.000 rpm, seguidamente se centrifugó y el sobrenadante se purificó mediante una extracción líquido-líquido (LLE). La cuantificación de las muestras se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Para el cálculo de la disipación y cinética de transferencia del tebuconazol entre el agua y los peces, se ajustaron los datos al siguiente modelo de ecuaciones diferenciales:

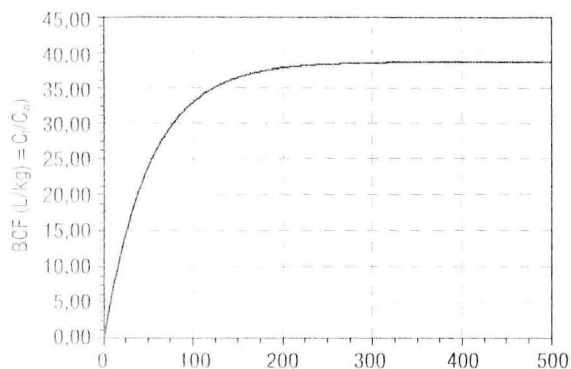
$$\frac{dC_f}{dt} = k_1 C_w - k_2 C_f \quad [1] \quad \frac{dC_w}{dt} = -k_3 C_w \quad [2] \quad C_f(0) = 0 \text{ y } C_w(0) = C_{w0} \quad [3]$$

donde t (h) es el tiempo, C<sub>w0</sub> (µg mg<sup>-1</sup>), C<sub>w</sub> (mg l<sup>-1</sup>) y C<sub>f</sub> (µg mg<sup>-1</sup>) son la concentración inicial de tebuconazol en el tanque de exposición, la concentración de tebuconazol y la concentración de tebuconazol en el pez cebra, respectivamente.

### Resultados y Discusión

Los valores residuales de tebuconazol se ajustaron a bien a una cinética no lineal que dio como resultados los siguientes parámetros: factor de bioconcentración (BCF) (38,80 l kg<sup>-1</sup>), tiempo empleado para la máxi-

Figura 1. Concentración residual del fungicida estudiado en *D. rerio* expuestos a una concentración nominal de  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  de tebuconazol



ma concentración en pez (6 días), máxima concentración de Tebuconazol en pez ( $0,0075 \mu\text{g mg}^{-1}$ ), vida media en pez (24 días) y tiempo medio requerido para eliminar el 95% de la máxima concentración de Tebuconazol acumulada por el pez (105 días). La Figura 1 muestra el ajuste de los datos obtenidos experimentalmente según el modelo matemático planteado. Estos valores indican que el Tebuconazol tiene un potencial bioacumulativo importante, lo que debe de ser tenido en cuenta a la hora de plantear programas de tratamiento con esta materia activa. Los valores de tebuconazol predecibles en las aguas de la Albufera son muy bajos, del orden de  $\mu\text{g/l}$  (Andreu y Carrasco, 2007), por ello no es de esperar un efecto tóxico de este compuesto para la fauna acuática a tenor de los valores de la  $\text{LC}_{50-96 \text{ h}}$  calculados, pero visto el potencial bioacumulativo de este compuesto y su lenta eliminación si que parece necesario extremar el uso de esta materia activa, por su posible efecto a largo plazo.

#### Agradecimientos

OA agradece al Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) la concesión de una beca predoctoral FPI (BES-2003-0163).

#### Bibliografía

- Andreu Sánchez O. 2008. *Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo del arroz en zonas húmedas mediterráneas*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Andreu Sánchez O., Carrasco J.M. 2007. Surface water monitoring of the fungicides tebuconazole and tricyclazole in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). En: *Book of abstracts of 14th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region*. Mediterranean Scientific Association of Environmental Protection (MESAEP). Sevilla, Spain.