



STUDIO ECOTOSSICOLOGICO DI ALCUNI AGROFARMACI

*L. Scrano^a, F. Lelario^a, T. Trabace^b, G. Filippo^b e S. A.
Bufo^a*

*^a Dipartimento Scienze dei Sistemi Colturali, Forestali e
dell'Ambiente, Università degli Studi della Basilicata, Potenza*

^b Sezione di Bio-Tossicologia, Metapontum Agrobios, Metaponto

Stato dell'Arte

**Prodotti organici di uso fitofarmaceutico efficaci
a basse e bassissime dosi**

```
graph TD; A([Prodotti organici di uso fitofarmaceutico efficaci a basse e bassissime dosi]) --> B([selettività]); A --> C([riduzione delle dosi]);
```

selettività

riduzione delle dosi

Stato dell'Arte


Impatto ambientale non trascurabile



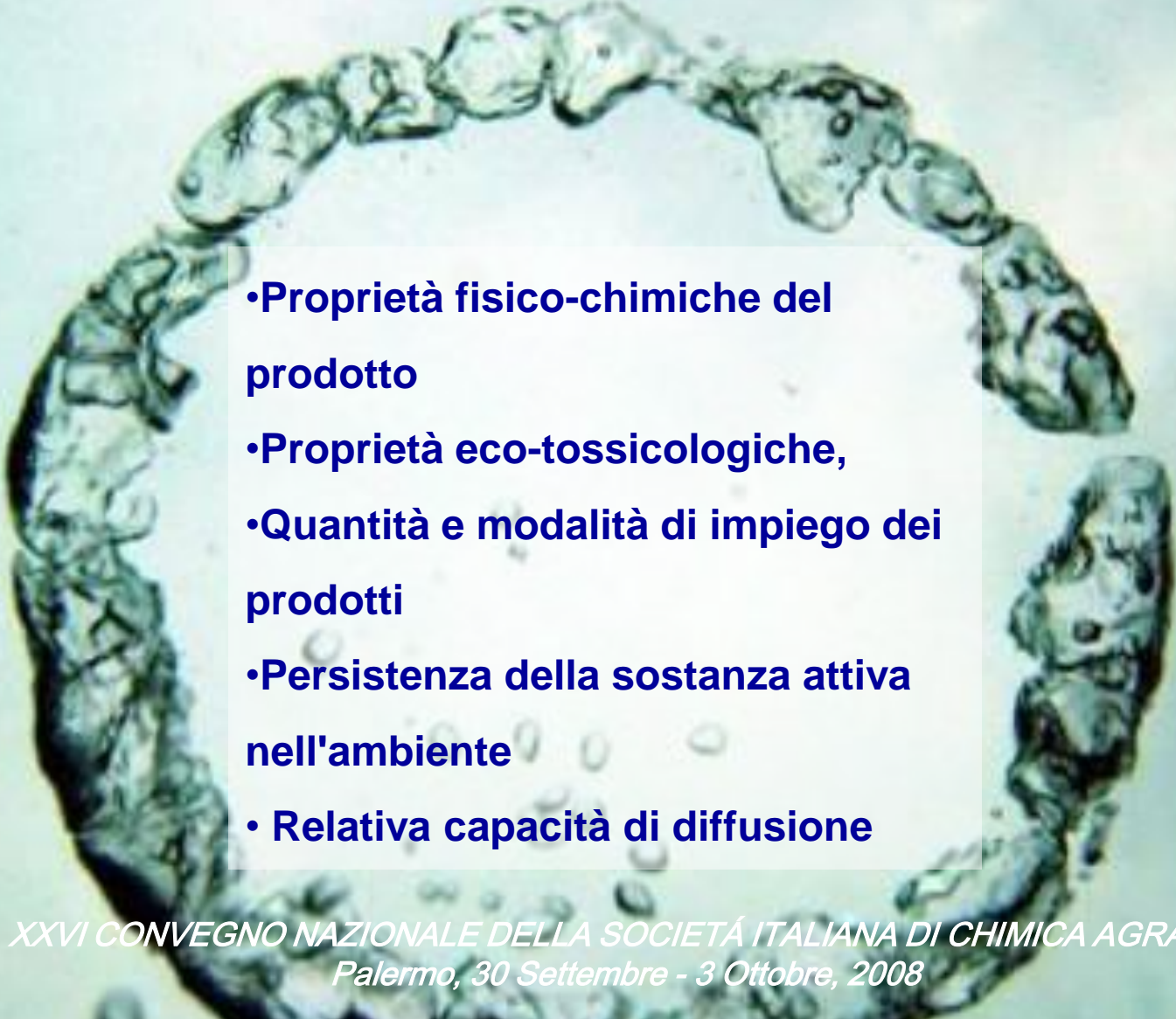
**Non si conosce
il livello di tossicità**



somma della tossicità delle sostanze madri e di quella dei loro metaboliti.



Le norme attualmente in vigore prevedono che l'autorizzazione all'immissione in commercio di un agrofarmaco sia preceduta da una approfondita valutazione del rischio ambientale

- 
- A microscopic image of a plant stem cross-section, showing various cellular structures and tissues. The stem is arranged in a circular pattern, forming a ring around the central text. The cells are stained, showing different shades of green and brown, highlighting the internal structure of the plant tissue.
- **Proprietà fisico-chimiche del prodotto**
 - **Proprietà eco-tossicologiche,**
 - **Quantità e modalità di impiego dei prodotti**
 - **Persistenza della sostanza attiva nell'ambiente**
 - **Relativa capacità di diffusione**

La normativa in vigore comporta

l'esame delle modalità di distribuzione delle sostanze attive e dei loro prodotti di degradazione e/o metaboliti nei diversi comparti ambientali

una valutazione dei danni che tali preparati possono determinare sulle popolazioni animali e vegetali "non-bersaglio" (pesci, alghe, uccelli, organismi del suolo, insetti utili, ecc.)..

I test ecotossicologici permettono di definire una relazione causa-effetto

I risultati ottenuti, validi per le condizioni sperimentali utilizzate, non consentono di estendere le conclusioni ad altre specie o a sistemi naturali complessi

Non possono tenere conto delle complesse interazioni fra biota ed ambiente.

Nessun biotest è in grado di coprire da solo l'intera varietà di risposte ai diversi tipi ed ai vari intervalli di concentrazione di ciascun xenobiotico

organismi differenti evidenziano una diversa sensibilità alle componenti attive ed ai coformulati presenti negli agrofarmaci

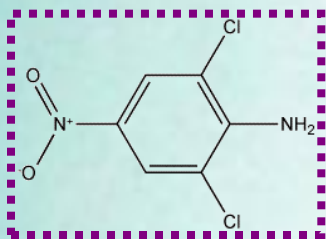
è opportuno implementare test multispecie in cui gli ambiti di sensibilità non si sovrappongano ma, piuttosto, siano complementari

Gli organismi da utilizzare nei test multispecie sono scelti in base alla loro rappresentatività (un procariote, un vegetale, un animale superiore) ed in base alle loro relazioni con la catena trofica.

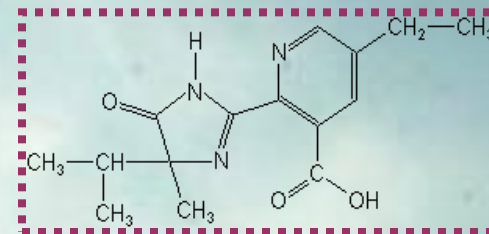
Motivazioni

Scopo del nostro lavoro è stato quello di testare dal punto di vista tossicologico quattro agrofarmaci appartenenti a diverse classi chimiche sottoposti a degradazione fotochimica per comprendere se le miscele ottenute siano più tossiche del prodotto di partenza.

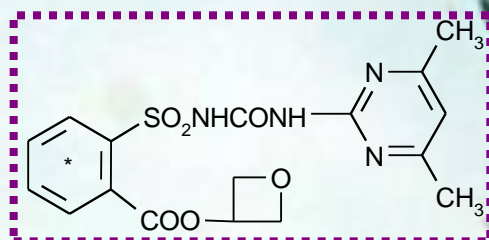
Materiali e Metodi



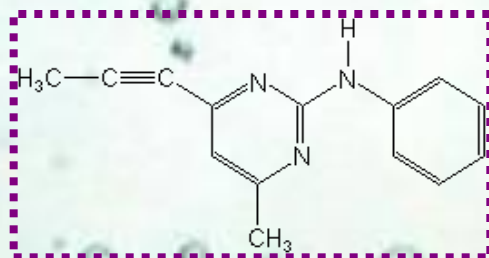
Dichloran



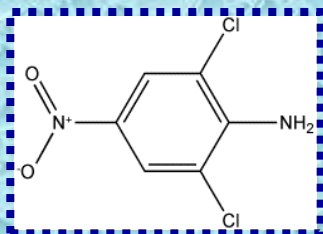
Imazethapyr



Oxasulfuron



Mepanipyrim



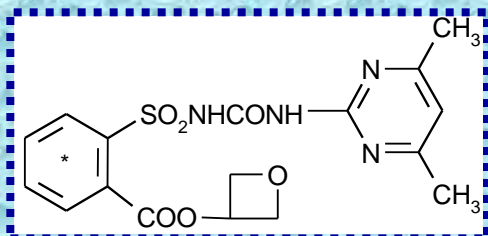
Dichloran

Fungicida ,

Classe chimica: nitroaniline
CAS RN 99-30-9

Formula : $C_6H_4Cl_2N_2O_2$

| | | | |
|--|-------------------------|--------------------------------|----------|
| Mammiferi - Orale acuta LD50 (mg kg ⁻¹) | | Ratto | Moderato |
| Mammiferi - NOEL a breve termine | (mg kg ⁻¹): | Ratto | Elevato |
| | (ppm dieta): | | - |
| Uccelli - Acuto LD50 (mg kg ⁻¹) | | <i>Anas platyrhynchos</i> | Moderato |
| Pesce - Acuto LC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Oncorhynchus mykiss</i> | Moderato |
| Invertebrati acquatici - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Daphnia magna</i> | Moderato |
| Sediment dwelling organisms 28 giorno chronic NOEC static, water (mg l ⁻¹) | | <i>Chironomus riparius</i> | Moderato |
| Alghe - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Scenedesmus subspicatus</i> | Moderato |
| Api - LD50 (µg ape ⁻¹) | | Contatto | Moderato |
| Lombrichi - Acuto LC50 (mg kg ⁻¹) | | <i>Eisenia foetida</i> | Moderato |
| Earthworms - Reproduction NOEC (mg kg ⁻¹) | | <i>Eisenia foetida</i> | Moderato |



Oxasulfuron

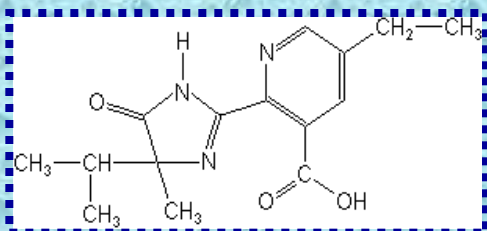
Erbicida,

Classe chimica: solfoniluree

CAS RN 144651-06-9

Formula : $C_{17}H_{18}N_4O_6S$

| | | |
|---|--|----------|
| Mammiferi - Orale acuta LD50 (mg kg ⁻¹) | Ratto | Basso |
| Uccelli - Acuto LD50 (mg kg ⁻¹) | <i>Anas platyrhynchos</i> | Basso |
| Pesce - Acuto LC50 (mg l ⁻¹) | <i>Lepomis macrochirus</i> | Basso |
| Invertebrati acquatici - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | <i>Daphnia magna</i> | Moderato |
| Piante acquatiche - EC50 (mg l ⁻¹) | <i>Lemna gibba</i> | Moderato |
| Alghe - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | <i>Raphidocelis subcapitata</i> , 72 ora | Moderato |
| Api - LD50 (µg ape ⁻¹) | Orale | Basso |
| Lombrichi - Acuto LC50 (mg kg ⁻¹) | | Moderato |



Imazethapyr

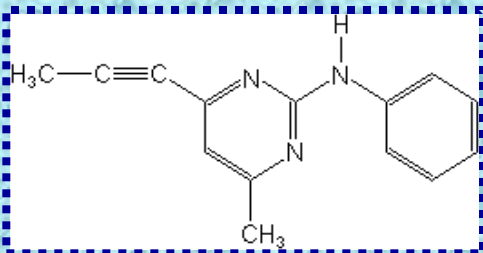
Erbicida,

Classe chimica: Imidazolinone

CAS RN 81335-77-5

Formula : $C_{15}H_{19}N_3O_3$

| | | | |
|---|-------------------------|---------------------------------|----------|
| Mammiferi - Orale acuta LD50 (mg kg ⁻¹) | | Ratto | Basso |
| Mammiferi - NOEL a breve termine | (mg kg ⁻¹): | Ratto | Moderato |
| | (ppm dieta): | | - |
| Uccelli - Acuto LD50 (mg kg ⁻¹) | | <i>Anas platyrhynchos</i> | Basso |
| Pesce - Acuto LC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Oncorhynchus mykiss</i> | Basso |
| Invertebrati acquatici - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Daphnia magna</i> | Basso |
| Piante acquatiche - EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Lemna gibba</i> | Elevato |
| Alghe - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Raphidocelis subcapitata</i> | Basso |
| Api - LD50 (µg ape ⁻¹) | | | Elevato |
| Lombrichi - Acuto LC50 (mg kg ⁻¹) | | | Basso |



Mepanipyrim

Fungicida, Battericida

Classe chimica :Anilinopyrimidine

CAS RN 110235-47-7

Formula $C_{14}H_{13}N_3$

| | | | |
|---|-------------------------|---------------------------------|----------|
| Mammiferi - Orale acuta LD50 (mg kg ⁻¹) | | Ratto | Basso |
| Mammiferi - NOEL a breve termine | (mg kg ⁻¹): | Ratto | Moderato |
| | (ppm dieta): | | - |
| Uccelli - Acuto LD50 (mg kg ⁻¹) | | <i>Anas platyrhynchos</i> | Basso |
| Pesce - Acuto LC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Oncorhynchus mykiss</i> | Basso |
| Invertebrati acquatici - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Daphnia magna</i> | Basso |
| Piante acquatiche - EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Lemna gibba</i> | Elevato |
| Alghe - Acuto EC50 (mg l ⁻¹) | | <i>Raphidocelis subcapitata</i> | Basso |
| Api - LD50 (µg ape ⁻¹) | | | Elevato |
| Lombrichi - Acuto LC50 (mg kg ⁻¹) | | | Basso |

**Irradiazione UV: lampada UV HPK
125W (Philips), a vapori di mercurio**

Determinazioni analitiche:

**LCQ Thermo-Finnigann, San José,
CA, USA**

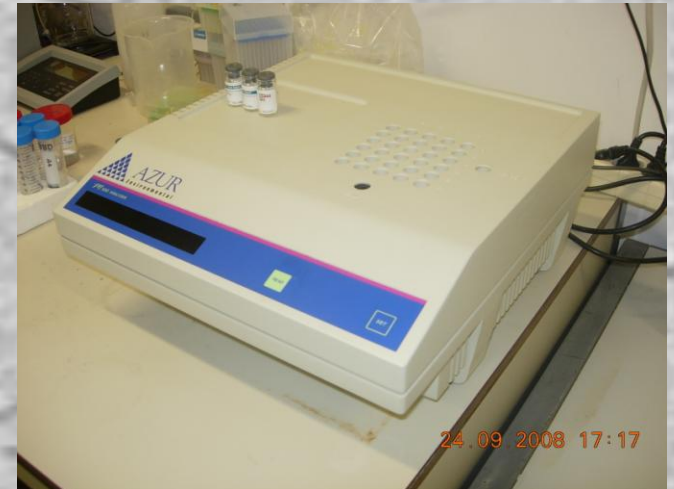


TEST ECOTOSSICOLOGICI

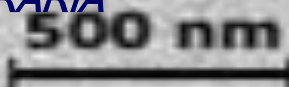


- *VIBRIO FISCHERI*
- *DAFNIA MAGNA*
- *LACTUCA SATIVA*

TEST DI TOSSICITÀ ACUTA CON *Vibrio fischeri*



Microtox M500, AZUR – Microbics Corp.



TEST DI TOSSICITÀ ACUTA CON *Daphnia Magna*



TEST DI TOSSICITÀ CON *Lactuca Sativa*



Seme germinato nella
soluzione di agrofarmaco

Seme germinato in soluzione di
controllo

Risultati

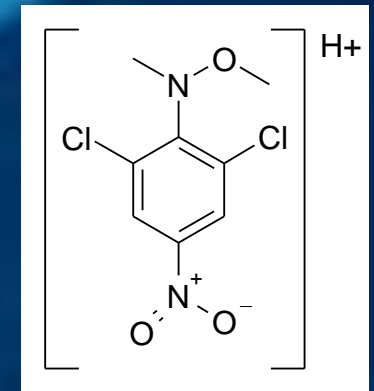
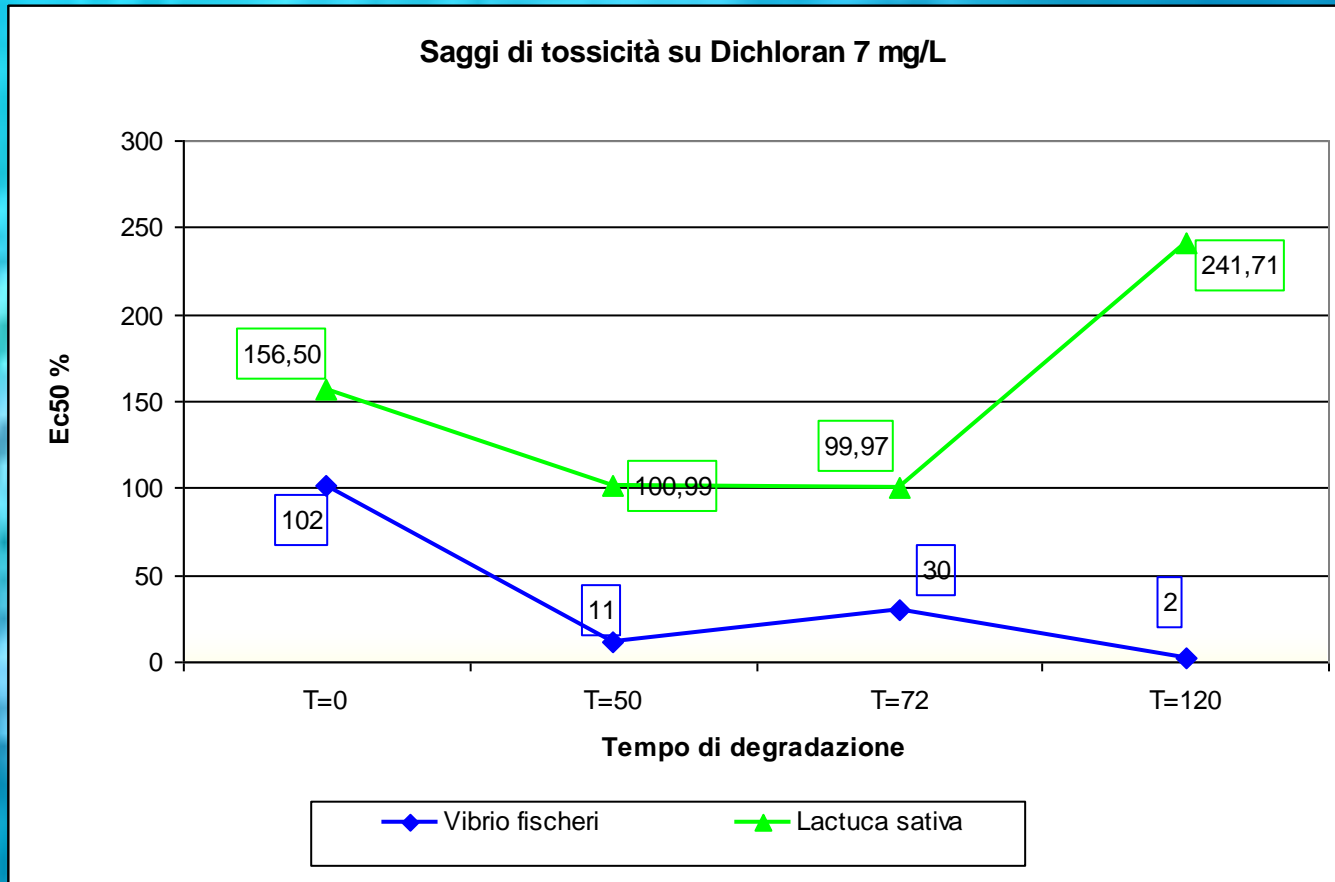
| Specie test | End-point | Risultati |
|------------------------|--|-------------------------------|
| <i>Vibrio fischeri</i> | Bioluminescenza | % effetto EC ₅₀ |
| <i>Daphnia magna</i> | Immobilizzazione | % effetto EC ₅₀ |
| <i>Lactuca sativa</i> | Germinazione e allungamento radicale | EC ₅₀ |

Effetto di tossicità (% effetto) degli agrofarmaci testati su *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna*

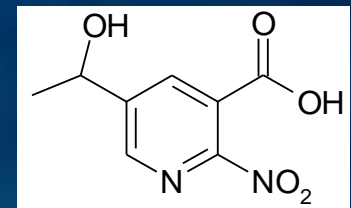
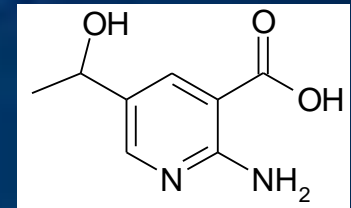
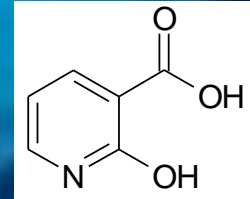
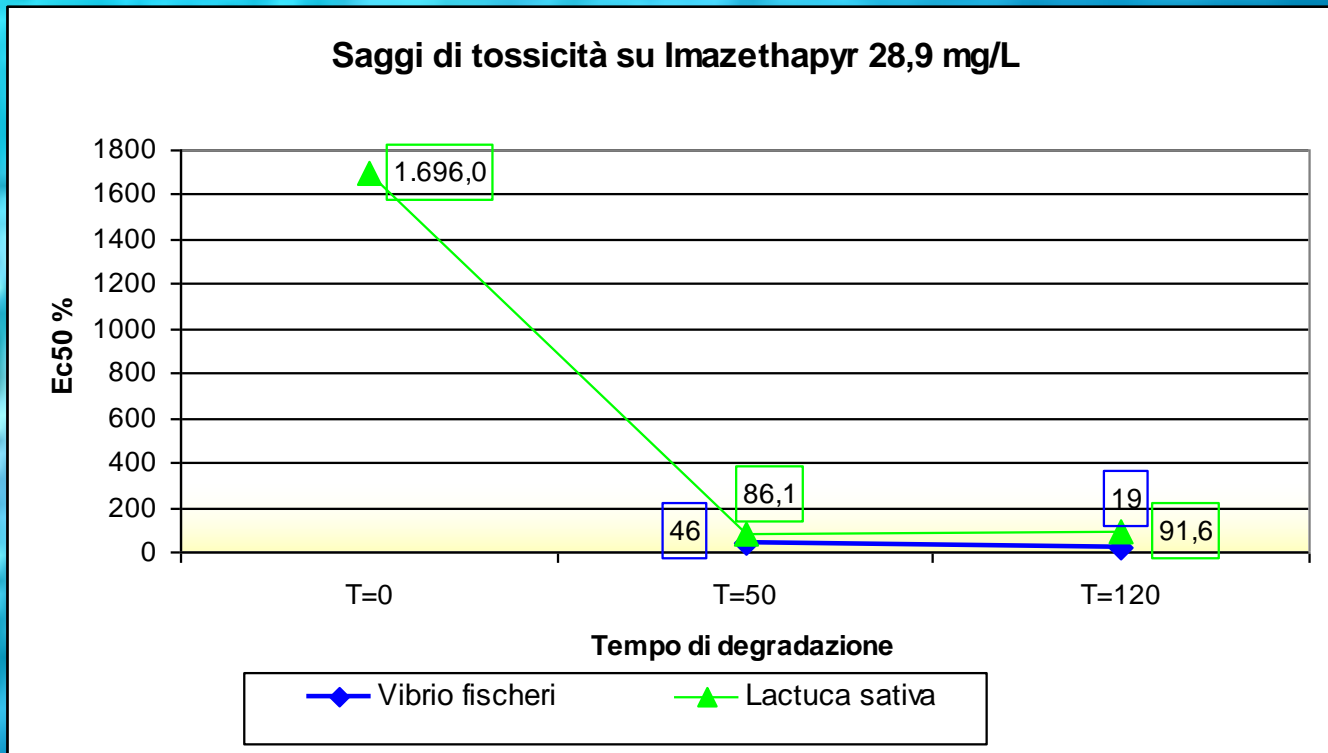
| Agrofarmaco | tempo di esposizione | <i>Vibrio fischeri</i> | | | <i>Daphnia magna</i> | |
|----------------------|----------------------|--------------------------------|------|------|----------------------|-------------|
| | | Test protocol: Inhibition Test | | | Effetto % | |
| | | 5' | 15' | 30' | 24 h | 48 h |
| | T=0 | 46% | 55% | 57% | 0% | 30% |
| Diclorann 7mg/L | T=50 | 61% | 67% | 67% | 15% | 45% |
| | T=72 | 45% | 56% | 60% | 5% | 20% |
| | T=120 | 35% | 41% | 48% | 0% | 100% |
| | T=0 | 10% | 10% | 7% | 5 | 35% |
| Oxasulfuron 10mg/L | T=50 | 8% | 10% | 11% | 0 | 5% |
| | T=72 | 27% | 25% | 27% | 0 | 5% |
| | T=120 | 19% | 19% | 22% | 0 | 5% |
| | T=0 | 34% | 63% | 81% | 65% | 60% |
| Mepanipyrin 22mg/L | T=50 | 50% | 57% | 63% | non testato | non testato |
| | T=72 | 79% | 76% | 72% | non testato | non testato |
| | T=120 | 89% | 93% | 95% | 25% | 60% |
| | T=0 | 8% | -22% | -22% | non testato | non testato |
| Imazetapyr 28,9 mg/L | T=50 | 44% | 55% | 67% | non testato | non testato |
| | T=120 | 76% | 85% | 78% | non testato | non testato |

Effetto di tossicità (% EC 50) degli agrofarmaci testati su *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* e *Lactuca sativa*

| Agrofarmaco | Tempo di degradazione | <i>Vibrio fischeri</i> Test protocol: Basic test 81.9 % Ec50 % | | | <i>Daphnia magna</i> Ec50 % | | <i>Lactuca sativa</i> Ec50 % |
|----------------------|-----------------------|--|-----------------|-----------------|--------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| | | 5' | 15' | 30' | 24 h | 48 h | 120 h |
| Diclorann 7mg/L | T=0 | - | 81 [6-988] | 102 [5-2064] | non calcolabile | non calcolabile | 156,5% [109,8-729] |
| | T=50 | 17 [5-60] | 9 [2-30] | 11 [3-36] | non calcolabile | non calcolabile | 101% [71,8-167,9] |
| | T=72 | 121 [46-315] | 53 [38-75] | 30 [17-55] | non calcolabile | non calcolabile | 100 % [n.c.] |
| | T=120 | 4 [2-8] | 2 [1-5] | 2 [1-3] | non testato | non testato | 241,7% [128,3-743,3] |
| Oxasulfuron 10mg/L | T=0 | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | 40,1 % [28,4-67,1] |
| | T=50 | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | 249,8 % [113,5-...] |
| | T=72 | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | 95,2 % [63,5-182] |
| | T=120 | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | non calcolabile | 99,9 % [n.c.] |
| Mepanipyryn 22mg/L | T=0 | 99 [n.c.] | 68 [n.c.] | 45 [n.c.] | 30,54 % [15,23-61,36] | 20,32 % [10,82-38,09] | 106,2 % [92,4-137,4] |
| | T=50 | 104 [20-523] | 64 [51-81] | 58 [44-78] | non testato | non testato | 77,6 % [n.c] |
| | T=72 | 20 % [12-32] | 27% [13-55] | 36% [17-78] | non testato | non testato | 3,1% [n.c.] |
| | T=120 | 12 [6-21] | 8 [5-13] | 6 [4-9] | non calcolabile | 40,41%[28,5-57,27] | 39,5 % [32,3-50,2] |
| Imazetapyr 28,9 mg/L | T=0 | - | - | - | non testato | non testato | 1696 % [214-...] |
| | T=50 | 89 [42-186] | 59 [38-90] | 46 [10-199] | non testato | non testato | 86,1 % [68-124,4] |
| | T=120 | 23 [14-38] | 21 [15-30] | 19 [12-32] | non testato | non testato | 91,6 % [73,5-132,3] |



Caso del Dichloran: il campione a T=50 e a T=120 risultano più tossici nei confronti del Vibrio fischeri che fra i tre test risulta il più sensibile



Caso dell'Imazetapyr: il campione a T=120 è il più tossico ed il test con Vibrio fischeri è il test più sensibile

Conclusioni

Il nostro lavoro ci ha permesso di confermare che:

- I test di tossicità rispondono in maniera differente agli agrofarmaci presenti nell'ambiente,
- I prodotti di degradazione in alcuni casi risultano più tossici della molecola madre.

In particolare:

- Il Dichloran, il Mepanipyrin e l' Imazetapyr sono tossici per il *Vibrio fischeri* e per la *Lactuca sativa*
- L'Oxasulfuron, come molecola madre, è tossico solo per la *Lactuca sativa* mentre i metaboliti ai tempi 50 h, 72 h, e 120 h evidenziano una minore tossicità



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

