

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental



ISSN 1517-3135

Março, 2008

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 58

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Ricardo Lopes
Luadir Gasparotto
Lucinda Carneiro Garcia
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Marinice Oliveira Cardoso
Nelcimar Reis Sousa*
Editores Técnicos

Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3621-0300
Fax: (92) 3621-0320
www.cpa.embrapa.br/sac/

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*
Membros: *Carlos Eduardo Mesquita Magalhães*
Cheila de Lima Bojink
Cintia Rodrigues de Souza
José Ricardo Pupo Gonçalves
Luis Antonio Kioshi Inoue
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Maria Augusta Abtibol Brito
Paula Cristina da Silva Ângelo
Paulo César Teixeira
Regina Caetano Quisen

Revisor de texto: *Carlos Eduardo M. Magalhães/Sígla Regina dos Santos Souza*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Fotos da capa: *Maria José Tupinambá*

1ª edição

1ª gravação em CD-Room (2008): 50

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Cip-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Amazônia Ocidental.**

Lopes, Ricardo et al.

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa
Amazônia Ocidental / (editado por) Ricardo Lopes et al.
- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.
154 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 58).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Toxicidade Aguda do Herbicida Glifosato 480 Agripec® para *Danio rerio* em Condições Tropicais

Cíntia Castro Quaresma

Marcos Vinicius Bastos Garcia

Terezinha Batista Garcia

Resumo

O glifosato é um herbicida de amplo espectro, usado para eliminar plantas indesejáveis nos setores agrícolas e não-agrícolas. Vários produtos comerciais à base de glifosato são formulados com surfatantes, substâncias que facilitam sua absorção pelas plantas. Diagnósticos sobre o uso de herbicidas nas várzeas mostraram que estes têm sido usados de modo inadequado. Embora alguns herbicidas à base de glifosato não sejam recomendados para tal fim, têm sido utilizados diretamente no ambiente aquático para controle de plantas aquáticas emergentes. Diante disso, é necessário conhecer o potencial toxicológico de herbicidas para o ambiente. Testes de toxicidade aguda do herbicida Glifosato 480 Agripec® foram feitos em laboratório para a espécie de peixe *Danio rerio*, considerada como um dos organismos indicadores em ensaios toxicológicos para água. Resultados dos ensaios de toxicidade mostraram que a letalidade de formulações à base de glifosato para peixes pode variar muito conforme as condições do teste, espécie usada no ensaio, temperatura e características físico-químicas da água. Além disso, os diferentes níveis de toxicidade entre formulações comerciais podem estar relacionados ao tipo de adjuvante que é adicionado pelo fabricante.

Termos para indexação: ecotoxicologia, pesticidas, risco ambiental.

Introdução

A avaliação ecotoxicológica de pesticidas, realizada por meio de testes de toxicidade aguda em laboratórios, é de grande utilidade para a elaboração de uma análise de risco ambiental. No Brasil, a toxicidade de pesticidas para o ambiente aquático, e principalmente para peixes, tem sido investigada em estudos recentes (Cruz et al., 2004; Resgalla Junior et al., 2002; Patrício et al., 2002). Embora os pesticidas sejam usados principalmente em áreas agrícolas, aplicados diretamente sobre plantas ou no solo, o potencial de risco de contaminação de rios, lagos e águas subterrâneas tem motivado preocupações. No Brasil, os herbicidas representam 40 % do total de pesticidas comercializados em 2004 (SINDAG, 2007). Em algumas regiões da Amazônia os herbicidas respondem por 88,6 % do total de pesticidas aplicados (Oliveira e Toniato, 1995). Dentre os herbicidas, o glifosato (N-(fosfonometil) glicina) é um dos mais aplicados em cultivos agrícolas e atualmente representa 60 % do mercado mundial de herbicidas não-seletivos (Amarante Junior et al., 2002). O uso de glifosato tem sido crescente em áreas de várzeas da Amazônia nas proximidades de Manaus (Waichman et al., 2002), e em recente diagnóstico realizado nessas áreas foi observado que equipamentos de aplicação e outros utensílios usados com herbicidas e outros defensivos são lavados diretamente nos rios e igarapés por 70 % dos produtores (Waichman et al., 2003).

O glifosato tem sido citado como de baixo risco para o ambiente aquático devido a sua baixa mobilidade no solo, sendo este fortemente absorvido pelas partículas do solo, o que restringe sua lixiviação para águas subterrâneas. Entretanto, o glifosato pode ser carreado para o ambiente aquático por meio de partículas de solo. Estudos sobre a toxicologia de produtos formulados (e não apenas do ingrediente ativo) raramente são desenvolvidos. A influência dos fatores ambientais sobre a toxicidade tem sido pouco considerada nos estudos. Nas regiões tropicais, fatores como baixo pH, alta temperatura, presença de ácido húmico e baixa dureza da água são fatores que provavelmente influenciam a toxicidade de substâncias químicas para peixes. Além disso, é possível que as formulações comerciais de glifosato apresentem diferentes níveis de toxicidade para o ambiente dependendo do tipo de surfatante adicionado pelo fabricante.

Neste trabalho foi estudada em laboratório a toxicidade aguda da formulação do herbicida Glifosato 480 Agripec® para espécie de peixe *Danio rerio* em condições tropicais.

Material e Métodos

Seleção da espécie e procedimentos de cultivo

A espécie *D. rerio* Hamilton-Buchanan, 1822, um peixe tropical originário da Índia, é conhecido como “paulistinha” no Brasil e “zebra fish” no exterior. Atualmente é utilizado em vários países como organismo modelo em estudos toxicológicos. Neste estudo foram utilizados exemplares de *D. Rerio* criados em um tanque escavado no setor de piscicultura da Embrapa em Manaus – AM, provenientes de lotes adquiridos no comércio da cidade. Os peixes foram retirados do tanque, selecionados por comprimento de 2 a 3 cm e aclimatados em aquários com água natural (coletada no rio Solimões, próximo a Iranduba).

Seleção do herbicida

Glifosato 480 Agripec® – Herbicida pós-emergente não seletivo, sistêmico, indicado para o controle de plantas infestantes anuais e perenes, sejam monocotiledôneas ou dicotiledôneas. Sua formulação contém 480 g/L do ingrediente ativo (i.a.) glifosato (N-fosfonometil glicina). O fabricante não informa se há adição de surfatante.

Procedimento experimental

A determinação da toxicidade aguda de herbicidas para *D. rerio* foi baseada em protocolos nacionais NBR 15088 (ABNT, 2004) e internacionais OECD no. 203 (OECD, 1992) e ISO 7346-1/2 (ISO, 1996a, b). Neste estudo foi utilizado o ensaio estático, no qual os organismos são expostos a diferentes concentrações da substância, sem renovação da solução. Os indivíduos utilizados mediam entre 2,5 a 3,5 cm, conforme a norma ISO 7346. O teste foi realizado em laboratório com temperatura ambiente, sob iluminação normal de laboratório, durante 12 horas por dia. As avaliações das características físico-químicas da água foram feitas a cada 24 horas, com aparelhos medidores de pH, oxigênio e temperatura (Tabela 1). Para se definir a faixa de concentrações, testes preliminares foram feitos com cinco concentrações mais o controle, sendo três indivíduos por concentração. A mortalidade variou de 0 a 100 % e no resultado dos testes preliminares foi definida a faixa de concentrações a ser usada no teste definitivo. Antes do início do ensaio os peixes foram coletados no tanque de criação e aclimatados por cinco a sete dias nas mesmas condições do teste (água do Rio Solimões, temperatura entre 26 °C e

29 °C) em aquário de vidro (70 L), na relação de massa do organismo/volume de água de 1 g/L. Durante a aclimatação os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, pela manhã e ao final da tarde, cessando-se a alimentação 24 horas antes do ensaio. Utilizou-se, após processo de trituração fina, ração comercial para crescimento de tambaqui (*Colossoma macroporum*) com 28 % de proteína bruta. O teste definitivo foi feito com cinco tratamentos (concentrações de 180, 230, 280, 330 e 380 mg/L) e o controle em três repetições. Foram utilizados recipientes contendo 2 litros da solução teste, seis peixes por concentração e exposição durante 96 horas. A transferência dos peixes para os recipientes de testes foi feita com puçás, iniciando no controle, em ordem crescente de concentração das soluções-teste, colocados cuidadosamente nos recipientes de teste para minimizar o estresse. O oxigênio foi mantido por pipetas Pasteur conectadas a um sistema de aeração (cerca de três bolhas/segundo) com a função de fornecer oxigênio dissolvido para os peixes e promover a estabilização do pH.

O ensaio foi acompanhado por um formulário com as seguintes informações: data e identificação da amostra, OD (oxigênio dissolvido), pH, temperatura, dureza e sólidos totais.

Desenho experimental e análises estatísticas

Os experimentos definitivos foram feitos inteiramente em delineamento. Para a estimativa da concentração letal mediana (CL_{50}) foi utilizado o método Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al., 1977). Foram calculados os intervalos de confiança a 95 % (IC-95 %) associados a CL_{50} . O programa Spearman-Kärber foi obtido no servidor Internet da U.S. EPA (<http://www.epa.gov/nerleerd/stat2.htm>).

Resultados e Discussão

A formulação do herbicida Roundup®, segundo Folmar (1979), tem sido relatada como 20 a 70 vezes mais tóxica para peixes que o seu próprio ingrediente ativo (glifosato) puro. A alta toxicidade desse produto se deve principalmente à presença do surfatante poli-oxi-etilamina (POEA) adicionado durante sua produção. A toxicidade aguda (LC_{50}) do Roundup para peixes varia de 2 a 55 mg/L (WHO, 1994). Segundo Araújo et al. (2005), a toxicidade do Roundup Original® para *Danio rerio* em água natural foi estimada em 71 mg/L (IC-95 % = 69,4 a 72,4). Nesse estudo, a toxicidade de Glifosato 480 Agripec® para *D. rerio* em

condições naturais foi estimada em 325,5 mg/L (IC-95 % = 306 a 346) (Fig. 1). Comparando com a toxicidade desse herbicida obtida em ensaios com espécies de peixes oriundas de regiões temperadas, verificou-se toxicidade mais baixa para as condições tropicais (Tabela 2). Aparentemente, as características físico-químicas da água do Rio Solimões (dureza, pH, temperatura, argila em suspensão) aliadas à sensibilidade de cada espécie-teste influenciaram na toxicidade do herbicida testado. A diferença de toxicidade entre as duas formulações de glifosato indica que não somente o ingrediente ativo deve ter seu potencial ecotoxicológico avaliado, mas também as formulações comerciais. Embora a espécie-padrão para testes toxicológicos (*Danio rerio*) seja de origem tropical, não é nativa da Região Amazônica. Portanto, sugere-se que a sensibilidade de espécies de peixes nativos da fauna amazônica, seja avaliada para estes herbicidas.

Conclusões

Dados obtidos neste estudo indicam que as informações toxicológicas produzidas para espécies de clima temperado não devem ser extrapoladas para a avaliação de risco ambiental nas regiões tropicais. As formulações comerciais de herbicidas à base de glifosato podem apresentar diferentes níveis de toxicidade para o ambiente, dependendo do tipo de adjuvantes adicionados pelo fabricante.

Agradecimentos

Os autores são gratos à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq, pelo suporte financeiro ao projeto, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM, pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Tabela 1. Características físico-químicas da água de teste durante o ensaio de toxicidade aguda.

Características	Controle	180 mg	230 mg	280 mg	330 mg	380 mg
pH	6,6 – 7,3	6,5 – 7,0	5,9 – 6,9	5,9 – 6,7	5,6 – 7,1	5,9 – 6,9
Temperatura (°C)	26,6 – 29,2	26,5 – 29,2	26,6 – 29,2	26,7 – 29,2	26,6 – 29,2	26,7 – 28,9
Oxigênio (mg/L)	4,9 – 7,6	5,9 – 6,9	2,0 – 7,2	2,50 – 7,3	0,23 – 7,03	1,83 – 7,25
Dureza: 38 mg/L CaCO3						
Sólidos totais: 4,8 mg/L						

Tabela 2. Toxicidade aguda de herbicidas para *Danio rerio* (tropical) comparada a espécies originárias de outras regiões.

Espécie	Origem (clima)	pH	Dureza (mg/L)	Temp °C	Herbicida ⁽¹⁾	CL50 (mg/L)	Referência
<i>Lepomis</i>	Temperado	6,4 – 7,5	40	22	RO	46	WHO (1994)
<i>Salmo</i>	Temperado	6,6 – 7,6	40	12	RO	36	WHO (1994)
<i>Pimephales</i>	Temperado	6,7 – 7,7	39 – 44	22	RO	31	WHO (1994)
<i>Oncorhynchus</i>	Temperado	5,5 – 6,4	4,5	11	RO	22	WHO (1994)
<i>Ictalurus</i>	Subtropical	6,3 – 7,2	24 – 40	22	RO	52	WHO (1994)
<i>D. rerio</i>	Tropical	7,0 – 7,6	38 – 40	26	RO	71	ARAUJO et al, (2005)
<i>D. rerio</i>	Tropical	5,6 – 7,2	38	27	G480	325	Este trabalho

⁽¹⁾ RO - Roundup Original®, G480 - Glifosato 480 Agripec®.

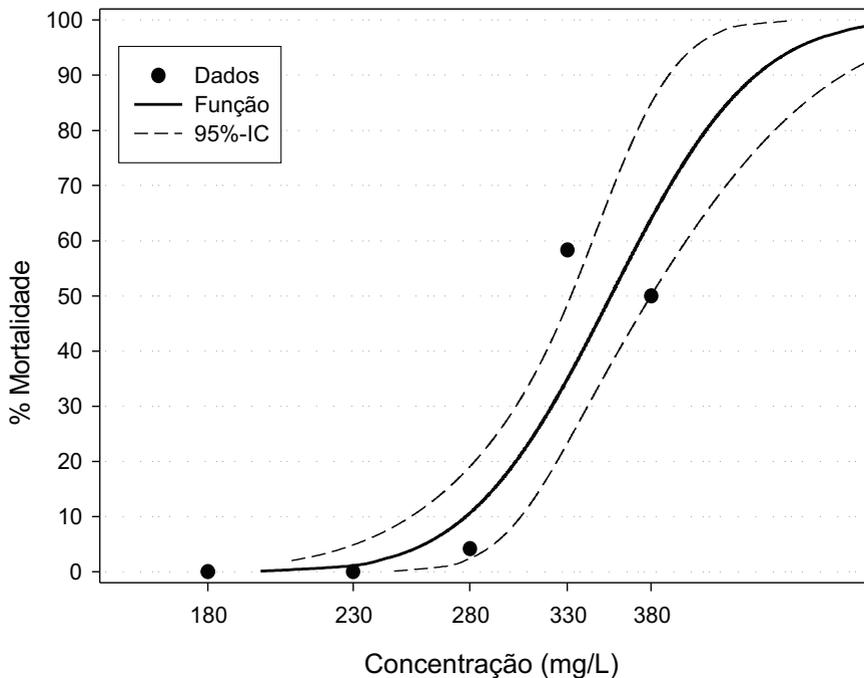


Figura 1. Curva dose-resposta de toxicidade aguda de Glifosato 480 Agripec® para *Danio rerio*.

Referências

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15088: Ecotoxicologia aquática: Toxicidade aguda Método de ensaio com peixes**. Rio de Janeiro, 2004.

AMARANTE JUNIOR, O.P.; SANTOS, T.C.R.; BRITO, N.M.; RIBEIRO, M.L. Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim. Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ARAÚJO, R. S. Toxicidade aguda do herbicida Glifosato para *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae), em condições tropicais. 2005. Trabalho apresentado na Jornada de Iniciação Científica/Programa PIBIC/CNPq - Embrapa Amazônia Ocidental 2005 (no prelo).

CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J.; MENEZES, M.L. Toxicidade aguda do inseticida paration metílico e do biopesticida azadiractina de folhas de neem (*Azadirachta indica*) para alevino e juvenil de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 14, p. 93-102, 2004.

FOLMAR, L.C., H.O. SANDERS, and A.M. JULIN. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 8:269-278. 1979.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: Monsanto do Brasil; 2005. 60 p.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v.11, p.714-719, Correction (1978) 12, 417, 1997.

ISO International Organization for Standardization. ISO-7346-1: **Water quality: determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachidanio rerio Hamilton: Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]: part 1: static method**. Geneve, Switzerland. 1996a.

ISO International Organization for Standardization. ISO-7346-2: **Water quality: determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachidanio rerio Hamilton: Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]: part 2: semi-static method**. Geneve, Switzerland. 1996b.

OECD Organisation for Economic Cooperation and Development: **Guideline for testing of chemicals No. 203 "Fish, Acute Toxicity Tests"**, Paris, 1992.

OLIVEIRA, J.N.A.; TONIATO, A.O. The alarming use of agrochemicals in Rondonia, Brazil. **Pesticide News**, n. 27, p. 4-7, 1995.

PATRÍCIO, F.C.; RIGITANO, R.L.O.; GOUVÊA, A.V.; FRANCO, A.A. Toxicidade do inseticida-nematicida aldicarbe às espécies de peixes *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan, 1822) e *Orthospinus franciscensis* (Eigenmann, 1929). **Ciênc. Agrotec.**, v. 26, n. 2, p. 385-391, 2002.

RESGALLA JUNIOR, C.; NOLDIN, J.A.; SANTOS, A.L.; SATO, G.; EBERHARDT, D.S. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticida utilizados na cultura do arroz irrigado sobre juvenis de carpa (*Cyprinus carpio*). **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 12, p. 59-68, 2002.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. Dados de mercado vendas - classe [acessado Nov 2007]. Disponível em: http://www.sindag.com.br/dados_mercado.php, 2007.

WAICHMAN, A. V.; RÖMBKE, J. & NINA, N. C. S. Agrotóxicos: elemento novo na Amazônia. **Ciência Hoje**, v. 32, n. 190, p. 70-73, 2003.

WAICHMAN, A.V.; RÖMBKE, J.; RIBEIRO, M.O.A.; NINA, N.C.S. Use and fate of pesticides in the Amazon state, Brazil: Risk to human health and the environment. **ESPR - Environmental Science and Pollution Research**, v. 9, n. 6, p. 423-428, 2002.

WHO (1994) Environmental Health Criteria 159: Glyphosate. World Health Organization, Geneva, Switzerland.