

## **QUAL O IMPACTO DO USO DE HERBICIDAS PARA ANFÍBIOS? AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE ANFÍBIOS AOS EFEITOS LETAIS DE HERBICIDAS**

ALEXANDRE FOLADOR<sup>1</sup>, CAMILA F. RUTKOSKI<sup>2</sup>, GILCINEIA DOS SANTOS<sup>2</sup>,  
VRANDRIELI J. SKOVRONSKI<sup>1</sup>, MARILIA T. HARTMAMM<sup>3</sup>.

### **1 Introdução/Justificativa**

Agrotóxicos da classe dos herbicidas, utilizados para controle de plantas daninhas e otimização da produção agrícola (GAAIED et al., 2019), são a classe mais vendida no Brasil. Contudo, o uso excessivo de herbicidas eleva a probabilidade de eles atingirem ambientes aquáticos e alterar o equilíbrio ecológico (GAAIED et al., 2019). Como o tempo de meia-vida é relativamente longo e as aplicações são frequentes, é alta a probabilidade de ocorrer agrotóxicos em habitats aquáticos, como de anfíbios. Anfíbios são um grupo de vertebrados considerados bioindicadores ambientais por estarem sujeitos ao contato com contaminantes durante o seu ciclo de vida bifásico (aquático e terrestre) (BRANDÃO *et al.*, 2011).

### **2 Objetivos**

Avaliar e comparar a tolerância/ sensibilidade de duas espécies de anfíbios sul americanas aos efeitos letais da formulação comercial de dois herbicidas, testando dois grupos distintos: (1) girinos que se desenvolveram na natureza em locais contaminados por agrotóxicos e os (2) criados em condições controladas de laboratório, livre de agrotóxicos.

### **3 Material e Métodos/Metodologia**

Os agrotóxicos testados foram as formulações comerciais dos herbicidas 2,4-D Nortox (670 g.L<sup>-1</sup> de equivalente ácido e 526,6 g.L<sup>-1</sup> de ingredientes inertes) e Aclamado BR (500 g.L<sup>-1</sup> de

- 
- 1 Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal da Fronteira Sul vinculado ao grupo de pesquisa Biodiversidade e Ecotoxicologia, bolsista PIBIC-UFFS, alexandre\_folador@hotmail.com.
  - 2 Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, pela Universidade Federal da Fronteira Sul campus Erechim.
  - 3 Docente Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Erechim, vinculada ao grupo de pesquisa Biodiversidade e Conservação da Fauna.  
Laboratório de Ecotoxicologia e Conservação, ERS 135 - Km 72, 200, Caixa Postal 764, CEP 99700-970, Telefone: (54) 3321-7050

ingrediente ativo atrazina e 620 g.L<sup>-1</sup> de outros ingredientes). Foram utilizados girinos de *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) como organismo-teste. Para a obtenção dos girinos, foram utilizadas desovas totais, com menos de 24 horas de oviposição, coletadas em um lago localizado na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS, Latitude: 27°43'46,11" Sul; Longitude: 52°16'54,40" Oeste), considerada área referência.

Foram realizados ensaios de toxicidade aguda (estático) com girinos provenientes de dois métodos de coleta, para fins de comparação: (1) desovas coletadas com menos de 24 horas de oviposição e criadas em laboratório até o estágio de desenvolvimento 25 de Gosner (1960), quando foram expostas ao ensaio; (2) desovas criadas no lago de coleta até o mesmo estágio de desenvolvimento acima descrito, em armadilhas.

Para o método de coleta 1 as desovas coletadas foram colocadas em sacos plásticos e posteriormente dispostas em aquários de 15 litros com água de poço artesiano atendendo os padrões de potabilidade e desclorada. Os indivíduos foram alimentados com ração comercial para peixes (Alcon Basic MEP 200 Complex).

Para o método de coleta 2, foram confeccionadas duas armadilhas com tecido, medindo um volume de 0,14 m<sup>3</sup>. Essas armadilhas foram colocadas na água, contendo desovas totais, com menos de 24 horas de oviposição, com uma desova por armadilha. O monitoramento no lago foi feito a cada 48 horas para verificar em qual estágio de desenvolvimento os girinos estavam. Ao atingirem o estágio 25 de Gosner (1960) os indivíduos foram aclimatados por 48 horas em laboratório e posteriormente colocados no ensaio, com água potável e sem cloro (mesmos parâmetros do método de coleta 1).

Os ensaios foram realizados em triplicata, em recipientes de vidro, contendo 500 ml de água desclorada, a concentração a ser testada e 10 girinos por frasco. Também, foi feito um controle negativo, somente com água desclorada. A cada 24 horas foi monitorada a mortalidade, sendo os mortos computados e retirados dos frascos.

Os ensaios de toxicidade aguda tiveram duração de 96 horas e foram realizados com a finalidade de determinar a concentração letal média (CL<sub>50;96h</sub>). Foram testadas as mesmas concentrações para cada agrotóxico nos girinos provenientes dos dois métodos de coleta. Para 2,4-D foram testadas cinco concentrações: 7000, 11000, 20000, 30000 e 50000 µg.L<sup>-1</sup> e, para atrazina seis concentrações: 1000, 3000, 12000, 24000, 35000 e 55000 µg.L<sup>-1</sup>.

A avaliação de risco ecológico foi realizada utilizando-se o quociente de risco agudo (HQ). A avaliação de risco ecológico aguda é dada pela divisão da concentração encontrada no

ambiente (CEA) pela  $CL_{50;96h}$  do agrotóxico testado (). O resultado foi comparado a um valor de referência 0,5 definido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Logo, se o resultado encontrado for superior ao valor de 0,5 existe risco agudo para a espécie em questão.

Para avaliação de risco ecológico foram utilizadas concentrações encontradas em território brasileiro. Para 2,4-D a CEA utilizada foi de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  e para atrazina  $47,21 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Para o cálculo da  $CL_{50;96h}$ , utilizou-se o método de *Trimmed Spearman-Kärber*, através do programa *GBasic*.

#### 4 Resultados e Discussão

A  $CL_{50;96h}$  de 2,4-D para girinos de *P. cuvieri* criados em laboratório foi de  $12660 \pm 95\% = 9900 - 16170 \mu\text{g.L}^{-1}$  e para os criados no lago foi de  $31440 \mu\text{g.L}^{-1} \pm 95\% = 28410 - 34800 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Para atrazina, a  $CL_{50;96h}$  para os girinos criados em laboratório foi de  $9860 \pm 95\% = 5800 - 16520 \mu\text{g.L}^{-1}$  e para os criados no lago de  $6800 \pm 95\% = 4850 - 9530 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Isso mostra que para 2,4-D os girinos criados no lago apresentaram maior resistência ao herbicida. Já para atrazina, a sensibilidade dos girinos para a toxicidade aguda foi semelhante, se for analisado dentro do intervalo de confiança de 95% da  $CL_{50;96h}$ , entre 5800 e 9530  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . De acordo com a classificação de toxicidade do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos nenhum desses dois agrotóxicos analisados separadamente são muito tóxicos: a formulação comercial de 2,4-D apresentou baixa toxicidade ( $CL_{50;96h} > 10.000 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e a formulação comercial de atrazina apresentou toxicidade moderada ( $CL_{50;96h}$  entre 1.000 e 10.000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), tanto para girinos de *P. cuvieri* criados no laboratório e no lago.

O quociente de risco agudo para girinos expostos ao 2,4-D e criados em laboratório foi de 0,008 e, para os criados no lago de 0,003. Já para atrazina, o quociente de risco agudo para girinos criados em laboratório foi de 0,005 e para os criados no lago de 0,007. Logo, não houve risco ecológico agudo, visto que, o valor de HQ foi inferior ao nível de preocupação (0,5).

Em geral, tanto 2,4-D quanto atrazina apresentam baixa toxicidade aguda para organismos aquáticos. Para 2,4-D isso foi demonstrado em *Physalaemus albonotatus* ( $CL_{50;96} = 350000 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; CURI et al., 2019) e em atrazina para *Physalaemus cuvieri* ( $CL_{50;96} = 19690 \mu\text{g.L}^{-1}$ ; WRUBLESWSKI et al., 2018). Vendo esses dados e os resultados do estudo aqui apresentado, é possível afirmar que a atrazina é mais tóxica que 2,4-D em termos de letalidade aguda para anfíbios e outros organismos aquáticos estudados.

Estudos de toxicidade aguda oferecem a melhor forma de comparação da influência dos contaminantes (KERBI, 2009), por isso utilizou-se esse parâmetro para comparação no presente

estudo. No entanto, o quanto isso mostra sobre anfíbios serem tolerantes a toxicidade aguda de pesticidas em seu hábitat ainda é uma pergunta a ser respondida.

## 5 Conclusão

Neste estudo, girinos de *P. cuvieri* coletados de ambiente natural demonstraram maior resistência a exposição a concentrações letais de 2,4-D, apesar de a sensibilidade ter sido similar para a exposição a atrazina. Os resultados desse estudo reforçam a necessidade de haver um controle maior nos modos de aplicação e na quantidade desses herbicidas presentes em ambientes naturais, a fim de evitar a contaminação da água e efeitos deletérios em anfíbios.

**Palavras-chave:** Agrotóxicos; Letalidade;  $CL_{50-96h}$ ; Risco ecológico

**Financiamento:** BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - PROBIC/FAPERGS

## Referências

- BRANDÃO, F. P.; MARQUES, S.; RODRIGUES, S.; SANTOS, B.; TRAVASSO, R.; VENÂNCIO, C.; PEREIRA, R.; ORTIZ-SANTALIESTRA, M.; SOARES, A. M. V. M.; GONÇALVES, F. LOPES, I. Influência da temperatura na toxicidade de cobre em girinos de rã verde *Pelophylax perezii*. **Captar**, v. 3, p. 66–77, 2011. DOI: <http://hdl.handle.net/10773/16410>.
- CURI, L. M.; PELTZER, P. M.; SANDOVAL, M. T.; LAJMANOVICH, R. C.; Acute Toxicity and Sublethal Effects Caused by a Commercial Herbicide Formulated with 2,4-D on *Physalaemus albonotatus* Tadpoles. **Water, Air, & Soil Pollution**, [s.l.], v. 230, n. 1, p.1-345, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-018-4073-x>.
- GAAIED, S.; OLIVEIRA, M.; DOMINGUES, I.; BANNI, M. 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid herbicide effects on zebrafish larvae: development, neurotransmission and behavior as sensitive endpoints. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-11, 2019. DOI: 10.1007/s11356-019-04488-5.
- KERBI, J. L.; RICHARDS-HRDLIČKA, K. L.; STORFER, A.; SKELLY, D. K. An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries? **Ecology Letters**, v. 13, n. 1, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01399.x>
- WRUBLESWSKI, J.; REICHERT, W. Jr.; GALON, L.; HARTMANN, P. A. Acute and chronic toxicity of pesticides on tadpoles of *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae). **Ecotoxicology**, v. 27, n. 3, p.360-368, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-018-1900-1>.