

## AGROTÓXICOS NA ÁGUA - QUAIS SÃO E QUAL SUA TOXICIDADE PARA ORGANISMOS NÃO ALVO: UM ESTUDO SOBRE O EFEITO DE CONCENTRAÇÕES RELEVANTES DE AGROTÓXICOS EM ANFÍBIOS

BRUNA CAPRINI<sup>1,2</sup>, ALEXANDRE FOLADOR<sup>3</sup>, GUILHERME FELICIONI FERREIRA<sup>4</sup>, PAULO AFONSO HARTMANN<sup>2,5</sup>, MARILIA HARTMANN<sup>2,5</sup>

### 1 Introdução

O Brasil é um grande produtor agrícola e, conseqüentemente, um grande consumidor de agrotóxicos. O consumo anual dessas substâncias já ultrapassou a marca de 300 mil toneladas por ano (SPADOTTO; GOMES, 2021). Estes produtos são usados para matar pragas e controlar ervas daninhas usando ingredientes químicos; portanto, também podem ser tóxicos para outros organismos (TUDI et al., 2021).

Na ecotoxicologia, anfíbios são excelentes organismos teste por uma série de características: sua pele fina, que otimiza a respiração cutânea e o balanço osmótico; um metabolismo mais lento, quando comparado aos mamíferos; e a existência de fase juvenil aquática, onde o organismo é mais sensível (JONES-COSTA et al, 2018). Eles são encontrados em quase todos os continentes do planeta e possuem algumas das espécies mais ameaçadas por estressores de origem antrópica (FASOLA et al, 2015).

Para a realização dos ensaios toxicológicos foi utilizada a rã-cachorro (Anura, Leptodactilydae): *Physalaemus cuvieri*, que ocorre e nas regiões nordeste, central e sul do Brasil, chegando ao adjacente norte do Uruguai; na região das Misiones, na Argentina; nas regiões leste e norte do Paraguai; em Beni e Santa Cruz na Bolívia; e nas planícies do sul da Venezuela (FROST, 2023). A espécie não é mencionada na listagem oficial de espécies ameaçadas divulgada pelo Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2022).

A substância testada, escolhida a partir da análise da água, foi o herbicida Imazetapir, utilizado principalmente em culturas de soja e arroz irrigado. No Brasil ainda não foi

1 Graduanda em Ciências Biológicas - bacharelado, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Erechim*. Contato: brunacaprini89@gmail.com

2 Grupo de Pesquisa: Biodiversidade e conservação da fauna

3 Mestrando em ciência e tecnologia ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim

4 Graduando em Ciências Biológicas - bacharelado, Universidade federal da Fronteira Sul, campus Erechim

5 Biólogo(a), Docente na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim, Orientador(a).

estabelecida uma concentração limite permitida em corpos de água (CONAMA 357, 2005) ou em água destinada ao consumo (PORTARIA GM/MS Nº 888, 2021). Seu uso é proibido no Reino Unido, na Turquia e em 27 estados dos Estados Unidos da América (PAN, 2022).

## 2 Objetivos

Avaliar os efeitos crônicos do herbicida Imazetapir, identificado a partir análises da água em ambiente natural, em girinos do anfíbio bioindicador *Physalaemus cuvieri*, analisando sobrevivência, comprimento, peso, atividade natatória e anormalidades nucleares em eritrócitos.

## 3 Metodologia

Para a escolha do agrotóxico foram utilizados os dados da análise realizada pelo Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas da Universidade Federal de Santa Maria para a dissertação de mestrado de Caio Bagnolo, defendida em dezembro de 2022, no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, ligada ao Laboratório de Ecologia e Conservação. A análise de resíduos de agrotóxicos foi realizada em riachos no Parque Natural do Municipal de Sertão (PNMS) (28°02'27.6"S, 52°12'58.1"W) e seu entorno, em Sertão, Rio Grande do Sul (RS). O Parque foi escolhido por ser uma Unidade de Conservação, servindo como indicador da situação de agrotóxicos em uma situação controle (interior), intermediária (borda) e de exposição (entorno).

A análise detectou resíduos em todas as áreas amostrais. O mais encontrado foi o herbicida Imazetapir identificado em todos os pontos. Nos riachos do interior do PNMS foram detectadas concentrações de 0,059 µg/L, 0,062 µg/L e 0,145 µg/L, na borda concentrações de 0,034 µg/L, 0,296 µg/L e 0,415 µg/L, e no entorno 0,043 µg/L, 0,077 µg/L e 0,129 µg/L. A partir desses dados foi realizado um ensaio ecotoxicológico, utilizando Imazetapir Nortox, MAPA sob nº 16620. Sua formulação é composta por Imazetapir na concentração 212,0 g/L, equivalente ácido na concentração 200,0 g/L e outros ingredientes em concentração 874,0 g/l.

As desovas de *Physalaemus cuvieri* foram coletadas em uma lagoa do campus da UFFS - Erechim (27°43'46,11"S; 52°16'54,40"W). As desovas foram levadas ao laboratório de Ecologia e Conservação da UFFS e colocadas em solução FETAX (ASTM 1439-12) Os girinos foram alimentados com alface orgânica e ração completa para peixes (Alcon Basic®).

A água foi mantida em temperatura controlada e sob aeração constante, sendo trocada a cada três dias.

Os girinos foram mantidos nos aquários até atingirem a fase 25 de desenvolvimento larval, de acordo com Gosner (1960). Após isso, foram movidos para recipientes de vidro com capacidade para 500ml, em grupos de 10 indivíduos, onde foram expostos às concentrações do agrotóxico. Os testes foram realizados em triplicata tendo, além do controle, as seguintes concentrações em  $\mu\text{g/L}$ : 1; 13 e 57. A duração do teste foi de 14 dias, com troca da água a cada 3 dias. A mortalidade foi verificada diariamente e anotada. A atividade natatória foi verificada em três momentos, nos dias 1, 7 e 14, onde foram feitos vídeos de 30 segundos e a água foi movimentada para incentivar a natação.

Com o auxílio de um microscópio (OLYMPUS) foi observada a presença de malformações nos indivíduos (danos na morfologia), que foram fotografadas e anotadas. Durante o processo, os girinos foram anestesiados com cloridrato de lidocaína (Pharmalab). Ao fim, foi coletada uma gota de sangue de cada girino, utilizado para montagem de lâminas de microscopia para avaliação de anomalias nucleares nos eritrócitos. As amostras foram coradas com o kit panótico rápido de hematologia e analisadas.

#### 4 Resultados e Discussão

A mortalidade dos girinos de *P. cuvieri* expostos a Imazetapir foi significativa nas concentrações de 13 e 57  $\mu\text{g/L}$  ( $F_{(3,52)} = 3,027$ ,  $p = 0,03$ ). Na análise da atividade natatória, girinos expostos a 57  $\mu\text{g/L}$  apresentaram hiperatividade no dia 1 e 14º. dia de ensaio. O resultado indica a possibilidade de efeitos neurotóxicos deste herbicida, relacionado a alterações no sistema nervoso central (COSTA et al, 2008). Foram observadas malformações corporais na região da boca, com ausência de keratodontes, e no intestino. Mais de 50% dos girinos avaliados apresentaram malformações (Tabela 1).

Tabela 1: Número de malformações identificadas em girinos de *Physalaemus cuvieri* expostos a Imazetapir.

	Controle	1 µg	13 µg	57 µg
Boca	0	5	3	5
Intestino	1	4	3	3
Indivíduos avaliados	10	10	10	10

Fonte: Autora (2023)

Na análise de anormalidades nucleares nos eritrócitos foram encontrados núcleos entalhados, lobados, brotos e micronúcleos. Todos foram significativos em relação ao controle. Foram encontrados maior número de células com núcleos entalhados ( $F_{(3,32)} = 54,43$ ,  $p < 0,0001$ ), brotos ( $F_{(3,32)} = 34,86$ ,  $p < 0,0001$ ) e lobados ( $F_{(3,32)} = 53,7$ ,  $p < 0,0001$ ), nas três concentrações de imazetapir. A presença de micronúcleos foi significativa em 1 e 57 µg/L ( $F_{(3,32)} = 5,7$ ,  $p = 0,003$ ). Isso demonstra que a integridade genética foi afetada pela substância, e danos genotóxicos a médio prazo podem impactar a sobrevivência desses animais (BENVINDO-SOUZA, 2020).

## 5 Conclusão

A detecção de danos significativos em girinos, tanto morfológicos como genéticos, demonstra a necessidade de mais estudos sobre o impacto de Imazetapir em organismos não-alvo. Esse é um primeiro estudo sobre esse herbicida em girinos de *Physalaemus* e a toxicidade desse herbicida ainda precisa ser desvendada em anfíbios.

## Referências Bibliográficas

- BAGNOLO, M. E. C. **Conservação de anfíbios de riachos do parque natural municipal de Sertão**. Erechim: Universidade Federal da Fronteira Sul, 2022.
- BENVINDO-SOUZA, M. et al. Micronucleus test in tadpole erythrocytes: trends in studies and new paths. **Chemosphere**, v. 240, p. 124910, 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, edição 85, seção 1, pg. 127. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Acesso em: 19 jun. 2023.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Portaria MMA N° 148, de 7 de junho de 2022**.

Atualiza a Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. Disponível em: <https://in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733>.

Acesso em: 14 jun. 2023.

BRASIL. **Resolução CONAMA N° 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: [http://conama.mma.gov.br/?option=com\\_sisconama&task=arquivo.download&id=450](http://conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=450). Acesso em: 19 jun. 2023.

COSTA, M. J. et al. Oxidative stress biomarkers and heart function in bullfrog tadpoles exposed to Roundup Original. **Ecotoxicology**, vol. 17,pg. 153-163, 2008.

FASOLA, E.; RIBEIRO, R.; LOPES, I. Microevolution due to pollution in amphibians: A review on the genetic erosion hypothesis. **Environmental Pollution**, v. 204, p.181-190, 2015.

FROST, D. R. 2023. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Version 6.1. Disponível em: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. Acesso em: 17 jun. 2023.

JONES-COSTA, M. et al. Cardiac biomarkers as sensitive tools to evaluate the impact of xenobiotics on amphibians: the effects of anionic surfactant linear alkylbenzene sulfonate (LAS). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 151, p.184-190, abr. 2018.

PESTICIDE ACTION NETWORK INTERNATIONAL (PAN). **Pan International Consolidated List of Banned Pesticides**. Online, atualizado em maio de 2022. Disponível em: <https://pan-international.org/paninternational-consolidated-list-of-banned-pesticides/>. Acesso em: 19 jun. 2023.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Agrotóxicos no Brasil**. Website: Embrapa, temáticas, Agricultura e Meio Ambiente, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil>. Acesso em: 15 jun. 2023.

TUDI, M. et al. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 3, p. 1112, 2021.

**Palavras-chave:** *Physalaemus cuvieri*, Imazetapir, ecotoxicologia.

**N° de Registro no sistema Prisma:** PES-2022-0378

**Financiamento:** FAPERGS