



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA E LIMNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOECOLOGIA AQUÁTICA
FONTE FINANCIADORA: CNPq

DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E
CARACTERIZAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL DO HERBICIDA
ROUNDUP (GLIFOSATO) SOBRE TRÊS ESPÉCIES DE PEIXES.

EMERSON EDUARDO SILVA DE MOURA

NATAL
2009

**DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CARACTERIZAÇÃO DE
RISCO AMBIENTAL DO HERBICIDA ROUNDUP (GLIFOSATO) SOBRE
TRÊS ESPÉCIES DE PEIXES.**

por

EMERSON EDUARDO SILVA DE MOURA

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Bioecologia Aquática, do Departamento de Oceanografia e Limnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Mestre em Bioecologia Aquática.**

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Fulgêncio de Medeiros

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Carlos Cunha Martins

Fonte financiadora: CNPq

Natal, RN, Brasil.

2009

Divisão de Serviços Técnicos

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN / Biblioteca Central Zila Mamede

Moura, Emerson Eduardo Silva de.

Determinação da toxicidade aguda e caracterização de risco ambiental do herbicida Roundup (glifosato) sobre três espécies de peixes / Emerson Eduardo Silva de Moura. – Natal, RN, 2009.

45 f. : il.

Orientador: Guilherme Fulgêncio de Medeiros.

Co-orientador: Pedro Carlos Cunha Martins.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Bioecologia Aquática.

1. Impacto ambiental – Dissertação. 2. Toxicidade – Dissertação. 3. Peixes – Poluição aquática – Dissertação. I. Medeiros, Guilherme Fulgêncio de. II. Martins, Pedro Carlos Cunha. III. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BCZM

Emerson Eduardo Silva de Moura

Título: DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CARACTERIZAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL DO HERBICIDA ROUNDUP (GLIFOSATO) SOBRE TRÊS ESPÉCIES DE PEIXES.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profº Dr. Guilherme Fulgêncio de Medeiros

Presidente e Orientador

Departamento de Oceanografia e Limnologia

UFRN – CB – DOL - Natal

Profº Dr. Eduardo Bertoletti

Membro

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CETESB – SP.

Profª Dra. Valéria Aparecida Prósperi

Membro

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CETESB – SP.

Profª Dra. Aline Schwarz

Membro

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

DEDICO

Aos meus grandes pais, Eduardo e Cirineusa, por está sempre presente em minha vida, por não medir esforços, pelo amor incondicional e por sempre incentivar-me a jamais desistir dos meus ideais. Obrigado, obrigado...

A minha irmã, “Dadinha”, quero dar um muito obrigado pelo incentivo, carinho, verdade e compreensão.

Ao meu grande amor Régia, obrigado pela paciência, amor, compreensão e força, pois ao teu lado entendi melhor o sentido da vida e que a felicidade depende apenas de nós.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar minha sincera gratidão, a “DEUS” por ter me dado forças nos momentos em que os obstáculos pareciam intransponíveis.

Gostaria de deixar um agradecimento àqueles que me apoiaram e me auxiliaram no mestrado, assim como na minha dissertação.

A minha tia, Lucinha, ao meu tio João e a minha sogra, Terezinha, obrigado pelo incentivo, apoio, animação e tudo mais.

Aos meus Primos Sales, Joana D’arc, Jancele, Janiel e Júlio César pela presença, amizade, companheirismo incondicional e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao meu sobrinho-irmão, Rafael, por sua alegria e sinceridade.

A todos os meus colegas do mestrado pela paciência e companheirismo.

A todos que fazem parte da assessoria de aqüicultura da EMPARN, meu respeito e admiração pelos conhecimentos e experiência transmitidos.

Meus sinceros agradecimentos a Dudé e a Fátima do DNOCS/Caicó/RN, pela paciência, pela grande ajuda e pela força.

Registro aqui também meus mais expressivos agradecimentos ao meu co-orientador Dr. Pedro Carlos Cunha Martins e ao meu orientador Dr. Guilherme Fulgêncio de Medeiros, pela orientação. Meus sinceros agradecimentos às suas dedicações e os seus exemplos de profissionalismo e competência.

As minhas companheiras de laboratório Paula e Karline, obrigado pela paciência e pela força.

A todos que fazem parte do DOL (Departamento de Oceanografia e Limnologia), em especial a seu Antonio, seu Wellington, seu Everaldo e a Cleide.

A todos que fazem parte do CSAq (Centro de Saúde da Aqüicultura), meus sinceros agradecimentos.

Àqueles que por ventura não tenham sido citados, quero mencionar os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| LISTA DE FIGURAS..... | vii |
| LISTA DE TABELAS..... | viii |
| RESUMO..... | x |
| ABSTRACT..... | xi |
| 1.0 INTRODUÇÃO..... | 01 |
| 1.1 Pesticidas..... | 03 |
| 1.2 Origens, destino e movimentação de pesticidas em sistemas aquáticos..... | 04 |
| 1.3 Ocorrências de pesticidas em ambientes aquáticos..... | 05 |
| 1.4 Biodisponibilidade e ecotoxicidade..... | 06 |
| 1.5 Organofosforados – Roundup - Glifosato..... | 08 |
| 1.6 Espécies estudadas..... | 10 |
| 1.6.1 <i>Oreochromis niloticus</i> (Tilápia do Nilo)..... | 11 |
| 1.6.2 <i>Cyprinus carpio</i> (Carpa-comum)..... | 12 |
| 1.6.3 <i>Colossoma macropomum</i> (Tambaqui)..... | 13 |
| 1.8 Risco de contaminação ambiental por Roundup..... | 14 |
| 2.0 OBJETIVOS..... | 16 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 16 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 16 |
| 3.0 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 17 |
| 3.1 Local de realização dos experimentos..... | 17 |
| 3.2 Caracterização física e química da água de manutenção e testes..... | 17 |
| 3.3 Conduções dos testes ecotoxicológicos..... | 17 |
| 3.3.1 Procedência da água e dos organismos utilizados nos testes..... | 18 |
| 3.3.2 Execução dos ensaios..... | 19 |
| 3.4 Herbicida utilizado..... | 20 |
| 3.5 Análises estatísticas..... | 21 |
| 3.6 Caracterização do risco de contaminação ambiental por Roundup.... | 21 |
| 4.0 RESULTADOS..... | 24 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.1 | Toxicidade Aguda do Herbicida Roundup para <i>Oreochromis niloticus</i>..... | 24 |
| 4.1.1 | Parâmetros físico-químicos observados durante a realização dos testes com a <i>Oreochromis niloticus</i> | 25 |
| 4.2 | Toxicidade Aguda do Herbicida Roundup para <i>Cyprinus carpio</i>..... | 26 |
| 4.2.1 | Parâmetros físico-químicos observados durante a realização dos testes com a <i>Cyprinus carpio</i> | 27 |
| 4.3 | Toxicidade Aguda do Herbicida Roundup para <i>Colossoma macropomum</i>..... | 28 |
| 4.3.1 | Parâmetros físico-químicos observados durante a realização dos testes com a <i>Colossoma macropomum</i> | 29 |
| 4.4 | Classificações da toxicidade do Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui..... | 30 |
| 4.5 | Avaliação dos riscos de contaminação ambiental por Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui..... | 31 |
| 4.6 | Análise dos Quocientes de Riscos (QR) para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui..... | 33 |
| 5.0 | DISCUSSÃO..... | 35 |
| 6.0 | CONCLUSÕES..... | 39 |
| 7.0 | REFERÊNCIAS..... | 40 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Figura 01 | Movimentos dos agrotóxicos em ecossistema aquático. Nimmo (1985), modificado..... | 02 |
| Figura 02 | Fórmula estrutural do glifosato..... | 08 |
| Figura 03 | Estrutura química molecular do primeiro metabólito do glifosato.. | 09 |
| Figura 04 | Principais espécies de água doce cultivadas no Brasil..... | 10 |
| Figura 05 | Exemplar de alevino de <i>Oreochromis niloticus</i> (Tilápia do Nilo).... | 11 |
| Figura 06 | Exemplar de alevino de <i>Cyprinus-carpio</i> (carpa-comum)..... | 13 |
| Figura 07 | Exemplar de alevino de <i>Colossoma macropomum</i> (Tambaqui)..... | 14 |
| Figura 08 | Aquário de manutenção dos peixes..... | 18 |
| Figura 09 | Realização dos testes definitivos..... | 20 |
| Figura 10 | Concentração Letal Mediana(CL50; 96h) de três testes realizados com a Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)..... | 25 |
| Figura 11 | Concentração Letal Mediana (CL50; 96h) de três testes realizados com a Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)..... | 27 |
| Figura 12 | Concentração Letal Mediana (CL50; 96h) de três testes realizados com o Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)..... | 29 |
| Figura 13 | CL50; 96 h dos organismos testados com o herbicida Roundup para as diferentes espécies de peixes. Letras iguais indicam que não houve diferenças expressivas entre as espécies. | 30 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabela 01 | Classificação de risco de contaminação ambiental proposto por Kokta & Rothert (1992)..... | 22 |
| Tabela 02 | Dados gerais dos testes realizados com a <i>O. niloticus</i> para determinação da CL50 em 96 horas..... | 24 |
| Tabela 03 | Valores de CL50;96h do herbicida Roundup para <i>O. niloticus</i> obtidos em 3 testes..... | 24 |
| Tabela 04 | Valores dos parâmetros limnológicos quantificados no início e no final do teste definitivo de toxicidade aguda com <i>Oreochromis niloticus</i> | 25 |
| Tabela 05 | Dados gerais dos testes realizados com a <i>Cyprinus carpio</i> para determinação da CL50 em 96 horas..... | 26 |
| Tabela 06 | Valores de CL50;96h do herbicida Roundup para <i>Cyprinus carpio</i> , obtidos em 3 testes..... | 26 |
| Tabela 07 | Valores dos parâmetros limnológicos quantificados no início e no final do teste definitivo de toxicidade aguda com <i>Cyprinus carpio</i> | 27 |
| Tabela 08 | Dados gerais dos testes realizados com a <i>Colossoma macropomum</i> para determinação da CL50 em 96 horas..... | 28 |
| Tabela 09 | Valores de CL50;96h do herbicida Roundup para <i>Colossoma macropomum</i> . Dados obtidos em 3 testes..... | 28 |
| Tabela 10 | Valores dos parâmetros limnológicos quantificados no início e no final do teste definitivo de toxicidade aguda com <i>Colossoma macropomum</i> | 29 |

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabela 11 | Classificação da toxicidade proposto por Helfrich <i>et al.</i> (1996), com base nos valores de CL50..... | 30 |
| Tabela 12 | Valores das concentrações ambientais estimadas (CAEs) e classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para a tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)..... | 31 |
| Tabela 13 | Valores das concentrações ambientais estimadas (CAEs) e classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para a carpa-comum (<i>Cyprinus carpio</i>)..... | 32 |
| Tabela 14 | Valores das Concentrações Ambientais Estimadas (CAEs) e classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para o Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)..... | 33 |
| Tabela 15 | Quociente de Risco para a tilápia, a carpa e o tambaqui..... | 34 |

Moura, E.E.S. **Determinação da toxicidade aguda e caracterização de risco ambiental do herbicida Roundup (glifosato) sobre três espécies de peixes.** Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática – Área de concentração: Ecotoxicologia). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2009.

RESUMO

Determinação da toxicidade aguda e caracterização de risco ambiental do herbicida Roundup (glifosato) sobre três espécies de peixes.

Considerando a importância comercial, por se tratarem das espécies de água-doce mais comercializadas no Brasil, por ocorrerem em diversos tipos de ambientes aquáticos (lagos, rios e açudes) e ainda por serem tolerantes a um amplo espectro de variação de diversos parâmetros físicos e químicos da água, as espécies de peixes *Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio* e *Colossoma macropomum* foram escolhidas para este estudo com a finalidade de testar a toxicidade do herbicida roundup. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo determinar a toxicidade aguda e avaliar o risco de contaminação ambiental dessas três espécies de peixes pelo herbicida Roundup. Os alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Carpa-comum (*Cyprinus carpio*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*) foram submetidos ao herbicida roundup nas seguintes concentrações: 0,0 (controle); 18,06; 19,10; 20,14; 21,18 e 22,22 mg.L⁻¹, 0,0 (controle); 13,89; 14,86; 15,83; 16,81 e 17,78 mg.L⁻¹ e 0,0 (controle); 18,06; 19,10; 20,14; 21,18 e 22,22 mg.L⁻¹, respectivamente, os três por 96 horas. A CL50 – 96h para *O. niloticus*, *C. carpio* e *C. macropomum* foi de 21,63, 15,33 e 20,06 mg.L⁻¹ do herbicida roundup, respectivamente. Os resultados obtidos demonstram que esse herbicida está classificado como levemente tóxico para as três espécies. Os valores de oxigênio dissolvido, pH e temperatura registrados no aquário controle e nos aquários experimentais das três espécies estudadas mantiveram-se sem variações significativas ao longo dos testes, o que reduz a possibilidade de mortalidade causada por variações bruscas desses parâmetros, durante as 96 horas de experimento. Os valores das CL50 entre as diferentes espécies de peixes foram observadas, constatando que as espécies *Oreochromis niloticus*, *Colossoma macropomum* e *Cyprinus carpio* não apresentaram diferenças expressivas. Os valores de risco ambiental do Roundup foram calculados para a obtenção de parâmetros mais rigorosos na avaliação da periculosidade desses sobre organismos não-alvos. O risco de contaminação ambiental por roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui são baixos para a menor dose de aplicação (1 L.ha⁻¹) e nas profundidades (1,5 e 2,0 m). Na diluição de 100%, na maior dose recomendada (5 L.ha⁻¹) e nas profundidades (1,5 e 2,0 m) o risco é moderado para as três espécies. Os valores de Quociente de Risco (QR) foram maiores que 0,1, indicando que os valores da relação CAE e CL50 estão acima dos níveis aceitáveis, havendo a necessidade de um refinamento nas análises ecotoxicológicas.

Palavras chaves: Roundup; CL50; Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*); Carpa-comum (*Cyprinus carpio*); Tambaqui (*Colossoma macropomum*); Risco de contaminação ambiental.

Moura, E.E.S **Determination of acute toxicity and environmental risk characterization of the herbicide Roundup (glyphosate) on three species of fish.** Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática – Área de concentração: Ecotoxicologia). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2009.

ABSTRACT

Determination of acute toxicity and environmental risk characterization of the herbicide Roundup (glyphosate) on three species of fish.

Considering their commercial importance, as these are the species of freshwater fish more commercialized in Brazil, their occurrence in different kinds of aquatic environments (lakes, rivers and dams) and for being tolerant to a wide range of variation of various physical parameters and chemical water, the fish species *Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio* and *Colossoma macropomum* were chosen for this study, furthermore, to test the toxicity we used the herbicide Roundup. The fingerlings of tilapia (*Oreochromis niloticus*), common carp (*Cyprinus carpio*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) were submitted to the herbicide roundup in the following concentrations: 0.0 (control); 18,06; 19,10; 20,14; 21,18 and 22,22 mg.L⁻¹, 0.0 (control); 13,89; 14,86; 15,83; 16,81 and 17,78 mg.L⁻¹, and 0.0 (control); 18,06; 19,10; 20,14; 21,18 and 22,22 mg.L⁻¹, respectively, three for 96 hours. The LC50 - 96h for *O. niloticus*, *C. carpio* and *C. macropomum* was 21,63, 15,33 and 20,06 mg.L⁻¹ of the herbicide roundup, respectively. The results show that this herbicide is classified as slightly toxic to the three species. The values of dissolved oxygen, pH and temperature recorded in the aquarium control and aquarium experimental of the three fish species have remained without significant variations during the tests, which reduces the possibility of death caused by sudden variations of these parameters during the 96 hours the experiment. The values of LC50 between different species of fish were observed, noting that the species *O. niloticus*, *C. carpio* and *C. macropomum* showed no expressive differences. The values of environmental risk of Roundup were calculated to obtain more stringent parameters in assessing the dangerousness of those on non-targets. The risk of environmental contamination by Roundup for the Nile tilapia, common carp, and tambaqui are low for the lowest application rate (1 L.ha⁻¹) and depths (1.5 and 2.0 m). The dilution of 100%, the highest recommended dose (5 L.ha⁻¹) and depths (1.5 and 2.0 m) the risk is moderate for the three species. The values of the Risk Ratio (QR) were greater than 0,1, indicating that the values of the CAE and LC50 are above acceptable levels and there is a need, this study, a refinement in ecotoxicological tests.

Key-words: Roundup; LC50; Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), common carp (*Cyprinus carpio*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) Risk of environmental contamination.

1.0 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, por causa do aumento da população mundial e do rápido desenvolvimento industrial tornou-se necessário aumentar a produtividade agrícola, visando à produção de alimentos. Em consequência, após a 2ª Guerra Mundial (1939-1945), passou-se a utilizar, cada vez mais, não só fertilizantes, como também pesticidas, incluindo os inseticidas, herbicidas e fungicidas, para defender as lavouras de insetos, ervas daninhas e fungos (BONACELLA, 1990). No entanto a presença de tais substâncias contaminantes no meio ambiente, em sua maioria xenobióticos, tornou-se grave problema, provocando a formação e deposição de grandes quantidades de resíduos (CASTRO JÚNIOR et. al., 2006).

Os pesticidas ocupam uma posição singular dentre as substâncias químicas, uma vez que são adicionados intencionalmente ao ambiente para destruir ou controlar algumas formas de vida que são consideradas indesejáveis, ou seja, as chamadas pestes ou pragas que representam um grande problema para a agropecuária tradicional e para a saúde pública. Existem centenas, talvez milhares, de poluentes que afetam o ambiente aquático e cujos efeitos são preocupantes. Segundo Martinez e Cólus (2002), esse número cresce a cada ano, considerando que novos compostos e formulações são sintetizados. Muitos são os argumentos usados em favor do uso de pesticidas, tais como: aumento da produção agrícola, aumento da produção de carne e leite na pecuária, diminuição das perdas de alimentos armazenados, erradicação de vetores de doenças, entre outros. Entretanto, também muitas são as consequências indesejáveis que advêm do uso de pesticidas, quer como contaminação ambiental que, em última instância, atinge a população em geral, quer na saúde ocupacional (DORES, 2005).

A poluição aquática está comumente associada a descarga de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas. Em áreas agrícolas, a lixiviação de águas superficiais e a infiltração da água intersticial em rios e lagos podem introduzir nutrientes (a partir de fertilizantes) e agrotóxicos, em quantidades substanciais, nesses corpos d'água (MARTINEZ e CÓLUS, 2002), potencializando a vulnerabilidade natural dessas áreas às contaminações (direta ou indireta) decorrentes das aplicações de agroquímicos. Essas atividades agrícolas são conhecidas como fontes de poluição difusa (não-pontual) de águas superficiais e subterrâneas, dentre as quais pode-se citar a

monocultura da cana-de-açúcar (HIRATA et. al., 1993; MATALLO et. al., 2003). Os agrotóxicos podem alcançar os ambientes aquáticos através da aplicação intencional, deriva e escoamento superficial a partir de áreas onde ocorreram aplicações (Figura 1). A lixiviação dos agrotóxicos através do perfil dos solos pode ocasionar a contaminação de lençóis freáticos cuja descontaminação apresenta grande dificuldade (EDWARDS, 1973). Certas práticas agrícolas ligadas ao modelo de produção agrícola predominante, como o uso excessivo e inadequado de agrotóxicos, a destruição da cobertura vegetal dos solos para plantio, a não-preservação das matas ciliares e das vegetações protetoras de nascentes, dentre outros fatores, são responsáveis por grande parte dos problemas com os recursos hídricos (ROSA, 1998). O conhecimento da influência exercida por essas atividades sobre os recursos naturais é de fundamental importância para assegurar a qualidade da água (PESSOA et. al., 2003). A proteção e conservação da qualidade das águas subterrâneas, bem como as águas superficiais, são partes essenciais de sistemas de produção agrícola sustentáveis. Assim, o impacto por pesticidas na qualidade das águas tem sido assunto de discussão em todo o mundo, especialmente nas áreas em que a água subterrânea e superficial são utilizadas para consumo humano (PARAÍBA et. al., 2003; PESSOA et. al., 2003). Em alguns casos, menos de 0,1% da quantidade de pesticidas aplicados alcançam o alvo, enquanto o restante (99,9%) tem potencial para se mover para outros compartimentos ambientais como as águas superficiais e subterrâneas (SABIK et. al., 2000).

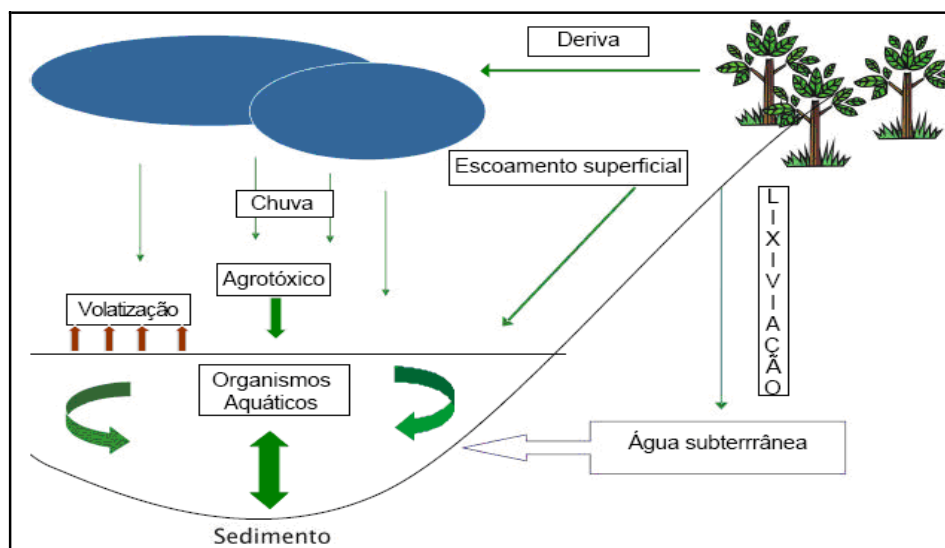


Figura 1. Movimentos dos agrotóxicos em ecossistema aquático. Nimmo (1985), modificado.

1.1 Pesticidas

Para o controle significativo de organismos capazes de prejudicar a produção agrícola ou que podem transmitir doenças aos homens e animais, empregam-se praguicidas (ou pesticidas), denominação esta dada ao grupo de substâncias que servem para matar, controlar ou combater as pragas (insetos, ácaros, roedores, etc.). Praguicidas são utilizados pela humanidade há milhares de anos, desde a queima de enxofre para fumigar os lares gregos por volta de 1000 anos a.C., passando pelos compostos de arsênio, utilizados como inseticidas nas décadas de 1930 e 1940 (BAIRD, 2002). O emprego de praguicidas em escala mundial ocorreu após a Segunda Guerra Mundial, sendo a substância dicloro-difenil-tricloroetano, sintetizada em 1872 por Ottmar Zeidler e com ação inseticida verificada em 1939 por Paul Müller, utilizada para o combate de insetos transmissores de doenças como malária, febre amarela e doença do sono, com a designação de DDT. Esse composto controlou a população de pragas agrícolas, permitindo um salto de produção nunca visto. Posteriormente, notou-se que o DDT, assim como outros praguicidas do grupo dos organoclorados, é altamente lipossolúvel e persiste no meio ambiente por um período muito longo após seu uso. No final da década de 1930, foram também sintetizados os praguicidas organofosforados e, mais tarde, os carbamatos, ambos com alto potencial de toxicidade para seres humanos e animais, sendo que alguns organofosforados foram sintetizados, inclusive para serem utilizados como armas de guerra (sarin, tabun e somam) (OSTI, 2005).

Apesar dos aspectos agressivos apresentados acima, existem algumas vantagens imediatas relacionadas ao uso dos pesticidas, as quais incluem o fato de que milhões de vidas têm sido salvas da morte pela malária, febre amarela, doença do sono, peste negra, febre tifóide, etc., através do controle de populações de animais vetores que transmitem essas doenças e, em relação à agricultura, a redução nas perdas de lavoura após aplicações dos pesticidas. Certamente, nos dias de hoje, estamos vivendo e vivenciando a chamada era do Holocausto Químico, onde toda e qualquer substância produzida pelo homem é contestada quanto aos seus efeitos nocivos ao mesmo e ao ambiente. Sem dúvida nenhuma, um dos grupos mais contestados no momento é o dos pesticidas, que tem levantado as maiores polêmicas e controvérsias, quase todas elas, sem base científica e sendo alvo de especulações.

O glifosato, pesticida da classe dos herbicidas, apresenta elevada eficiência na eliminação de ervas daninhas, pode ser usado tanto em áreas agrícolas como não-agrícolas em todo o mundo. Trata-se de produto não-seletivo, sistêmico e pós-emergente, cuja venda contabiliza o total de US\$ 1,2 bilhão/ano (AMARANTE & SANTOS, 2002). Com a implementação dos transgênicos, resistentes a herbicidas, o glifosato tornou-se produto imprescindível à agricultura, tendo seu consumo aumentado significativamente (CUNHA, 2005). Segundo Liu et al. (1991), a principal via de biodegradação do glifosato envolve a clivagem da molécula, produzindo o ácido aminometilfosfônico (AMPA) e em seguida água, dióxido de carbono e fosfato (FORLANI et al,1999).

1.2 Origens, destino e movimentação de pesticidas em sistemas aquáticos

As formas de aplicação dos pesticidas utilizados na agricultura podem ter diferentes rotas. As formas mais usadas são a aplicação direta no solo, a pulverização através de trator, pulverizadores manuais ou via aérea (avião). A aplicação de pesticidas com pulverizadores é o meio mais comum, no qual o produto formulado é geralmente diluído (sob forma de emulsão ou solução) abaixo da superfície, não entrando, portanto, diretamente na atmosfera. Produtos granulados podem também ser aplicados utilizando-se este procedimento (HASSET; LEE, 2005).

Uma vez no solo, o pesticida pode ter diferentes destinos: ser adsorvido a partículas do solo, permanecer dissolvido na água presente no solo, volatilizar-se, ser absorvidos pelas raízes das plantas ou por organismos vivos, ser percolado ou carreado pela água das chuvas ou sofrer decomposição química ou biológica (DORES, 2005). O carreamento superficial pode ocorrer com o pesticida dissolvido na água, associado ao material em suspensão na água ou ambos. O movimento superficial da água começa quando a intensidade da chuva excede a taxa de infiltração (LEONARD, 1989). De acordo com Brown et al. (1995), apesar da porcentagem do pesticida aplicado no campo que é perdida por carreamento ser pequena, esta representa, provavelmente a rota principal através da qual os pesticidas agrícolas atingem rios ou lagos. O carreamento superficial, quando ocorrem poucos dias após a aplicação do pesticida, remove em torno de 1% da quantidade presente no solo (WAUCHOPE, 1996).

A movimentação do pesticida do solo para a atmosfera, que pode ocorrer por volatilização direta, co-vaporização com a água e associação ao material particulado carregado pelo vento, é também importante para a distribuição destes produtos no ambiente e sua entrada nos ambientes aquáticos, uma vez que, pesticidas na atmosfera podem reentrar no ambiente aquático por deposição da poeira ou precipitação, o que em geral ocorre em um local distante do ponto de emissão. O transporte de pesticidas na atmosfera é considerável e pode ser uma das principais formas através da qual estes produtos podem atingir os oceanos, rios e lagos (HASSET; LEE, 2005).

1.3 Ocorrências de pesticidas em ambientes aquáticos

Atualmente, com tanta interferência do homem na natureza, a poluição e a contaminação do meio ambiente vêm aumentando devido à crescente carga de efluentes lançados no ar, na água e nos solos. O ecossistema aquático é considerado o mais suscetível à poluição e contaminação (BERTOLETTI, 1990). A poluição aquática está comumente associada com a descarga de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas (MANSON, 1996) e pode ocorrer de forma intencional ou acidental, a partir de fontes naturais ou em decorrência da atividade humana (JOBILING, 1995). Existe uma enorme quantidade de poluentes que afetam o ambiente aquático e cujos efeitos são preocupantes, a compreensão detalhada dos efeitos destes diferentes tipos de efluentes nos corpos d'água receptores é essencial para o controle da poluição (MARTINEZ & CÓLUS, 2002).

Além dos fatores naturais, as atividades humanas têm gerado grandes alterações nos ecossistemas aquáticos. O modelo de desenvolvimento humano tem se mostrado altamente impactante principalmente devido a grande produção de resíduos e a introdução de compostos tóxicos na água (GUERESCHI, 2004). A entrada de poluentes no ambiente aquático ocorre principalmente através das águas superficiais (rios, riachos, enxurradas, etc) devido à lixiviação química e física efetuada pela água sobre a litosfera, na bacia de drenagem ou provenientes do ar e podem eventualmente atingir o meio aquático em sua forma original ou como produto de transformação (ZAGATTO, 2000 apud AGUIAR, 2002).

Nas últimas décadas a degradação dos ecossistemas aquáticos tem ocorrido de forma continuada devido aos múltiplos impactos ambientais provenientes das atividades antrópicas como a mineração, os despejos de efluentes domésticos e industriais sem tratamento e uso inadequado do solo em regiões ripárias e planícies de inundação e várzeas (GUERESCHI, 2004). Alguns corpos de água recebem diretamente os resíduos altamente tóxicos lançados pelas indústrias dos centros urbanos e, em áreas rurais, são os agrotóxicos provenientes do desenvolvimento da agricultura altamente tecnificada os causadores de contaminação do ambiente aquático. Na água, os metais e os resíduos de pesticidas podem ser adsorvidos ao material em suspensão, depositados no sedimento ou absorvidos por organismos, podendo ser metabolizados, desintoxicados e/ou acumulados (AGUIAR, 2002). Além disso, a contaminação direta das águas superficiais ocorre também devido ao uso de metais e pesticidas em sistemas de cultivo de peixes para o controle de algas e parasitas (ROMÃO *et al.*, 2006).

No Brasil, o uso de agrotóxicos é muito intenso tanto para o controle de ervas daninhas quanto para o controle de insetos. Nos últimos anos, o Brasil passou de 5º para o 4º lugar entre os países que mais utilizam agrotóxicos (ZAVATTI *et al.*, 1999; AGUIAR, 2002; MOREIRA *et al.*, 2002). Apesar de apresentarem alta eficiência no controle de pragas, a contaminação do solo e ambientes aquáticos por esses compostos pode causar efeitos deletérios aos organismos que vivem nesses ambientes.

1.4 Biodisponibilidade e ecotoxicidade

A biodisponibilidade de um produto aos organismos aquáticos está principalmente relacionada à concentração real deste produto na água. A sorção de pesticidas às partículas de sedimento diminui a sua disponibilidade para os peixes e outros organismos aquáticos. Quanto mais dissolvida a substância estiver em água, mais biologicamente disponível ela estará. Alguns compostos são transportados pela água com relativa facilidade enquanto outros são rapidamente adsorvidos tão fortemente a partículas do solo que, mesmo que essas sejam levadas para dentro de rios, a suspensão resultante apresentará pouca ou nenhuma toxicidade sobre os organismos aquáticos (DORES, 2005).

Os testes de toxicidade possibilitam estabelecer limites permissíveis para várias substâncias químicas, além de avaliar o impacto de misturas de poluentes sobre os organismos aquáticos dos corpos hídricos receptores (BERTOLETTI, 1990). Segundo Lombardi (2004), os testes de toxicidade aguda são experimentos de curta duração, que proporcionam rápidas respostas em estudos sobre efeitos tóxicos letais, em que o objetivo é determinar a Concentração Letal Mediana (CL50) de uma certa substância sobre os organismos aquáticos, em um tempo de 24 a 96 horas de exposição. Muitas vezes, mesmo em concentrações aquáticas não letais, os agrotóxicos afetam a estrutura e a função das comunidades naturais. No ambiente aquático, os agrotóxicos provocam impactos em múltiplos níveis, incluindo moléculas, tecidos, órgãos, indivíduos, populações e comunidades (GRISOLIA, 2005). Os peixes são relativamente sensíveis a mudanças no ambiente e efeitos tóxicos de poluentes podem ser evidentes em nível celular e tecidual, antes que mudanças significativas no comportamento ou na aparência externa possam ser identificadas (VAN DYK, 2005).

Testes de toxicidade durante o ciclo de vida de uma espécie são considerados fundamentais para a maioria dos toxicologistas, para determinação das concentrações ambientais de elementos químicos tóxicos para populações aquáticas. Estudos têm demonstrado que as fases mais sensíveis do ciclo de vida são os estágios embrionários, larvais ou juvenis de várias espécies de peixes, permitindo a estimativa da concentração tóxica máxima admissível (PICKERING, GAST, 1972; EATON, 1978).

Para a realização dos testes ecotoxicológicos devem ser observadas algumas características básicas em relação aos organismos-testes (RAND e PETROCELLI, 1985):

- Dar preferência às espécies abundantes e facilmente disponíveis;
- Sempre que possível, estudar espécies nativas, ou representativas dos sistemas que irão receber o impacto;
- Dar preferência às espécies economicamente e ecologicamente importantes;
- As espécies utilizadas devem ser facilmente adaptáveis às condições de laboratório; e
- Preferencialmente utilizar espécies de comportamento, fisiologia e genética conhecidas.

1.5 Organofosforados – Roundup - Glifosato

Os pesticidas organofosforados (OP) possuem em sua estrutura um átomo central de fósforo pentavalente ligado a um átomo de oxigênio ou enxofre, por uma dupla ligação. Tais como os organoclorados, os organofosforados são lipossolúveis, sendo contaminantes potenciais para diversos tipos de alimentos. Possuem efeito tóxico mais agudo para seres humanos e outros mamíferos, porém são menos persistentes no ambiente e possuem menor capacidade de bioacumulação que os organoclorados. O principal efeito tóxico é a inibição da enzima acetilcolinesterase, essencial para a transmissão de impulsos nervosos nas sinapses colinérgicas e placas motoras (BARD, 2000 *apud* GALLI *et al.*, 2006).

O herbicida glifosato, sal de isopropilamina de N-(fosfonometil)-glicina, $C_3H_8NO_5P$ (Figura 2), é um dessecante sistêmico, pós-emergente, de largo espectro e não-seletivo. Em contato com ervas daninhas indesejadas é rapidamente absorvido pelas folhas, interrompendo a biossíntese de ácidos aminoaromáticos essenciais. Assim, compromete a produção de clorofila e carotenóides, causando danos celulares irreversíveis. Entre os danos mais comumente observados, a ruptura parcial do cloroplasto e a perda de água do retículo endoplasmático rugoso são os mais importantes (KUKLINSK-SOBRAL *et al.*, 2001). No plantio direto, em que o solo não sofre movimentação, o glifosato é usado nas dessecações de coberturas vegetais e no controle de plantas invasoras.

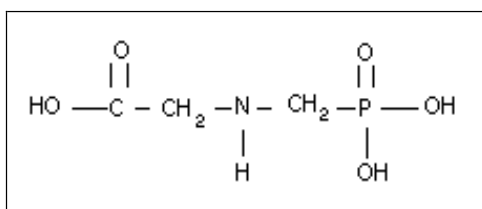


Figura 2. Fórmula estrutural do glifosato

No solo, o herbicida glifosato é fortemente adsorvido aos colóides. Classificado como químico de persistência média permanece no ambiente de 30 a 90 dias dependendo da fração mineral, do teor de argila, do teor de fósforo, do teor de matéria orgânica e da atividade microbiana (MONSANTO, 1980; MATTOS *et al.*, 2002), e

possui grande solubilidade em água (15,700 mg.L⁻¹ a 25°C e pH 7) (RODRIGUÊS & ALMEIDA, 2005). Os microrganismos são os principais responsáveis pela degradação do glifosato. Segundo a literatura, aproximadamente 50% das moléculas originais são metabolizadas em 28 dias, atingindo 90% em 90 dias (MONSANTO, 1980; RODRIGUÊS & ALMEIDA, 1995).

O ácido aminometilfosfônico (AMPA) (Figura 3) é o primeiro e o principal produto da degradação do herbicida glifosato no solo. Glifosato e AMPA são altamente solúveis em água e podem entrar em ambientes aquáticos por meio de escoamento superficial, ou transporte de massa nas áreas em que o herbicida é aplicado (MOGADATI et al., 1996).

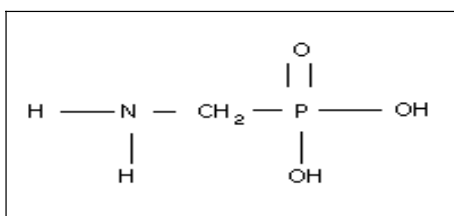


Figura 3. Estrutura química molecular do primeiro metabólito do glifosato.

Glifosato é hoje, de longe, o principal herbicida utilizado no mundo. É responsável por 10% do total de defensivos agrícolas consumidos. É um produto usado em um grande número de culturas, seja como dessecante; como pós-emergente nas entrelinhas de culturas perenes como café; como pós-emergente em culturas tolerantes como soja ou ainda em pré-colheita no caso de cereais (CHEMINOVA, 2002).

O glifosato apresenta persistência variável no ambiente, embora seja degradado pelos microrganismos (NEWTON et al., 1994). Os fatores que influenciam a persistência do glifosato estão relacionados com sua adsorção ao solo e disponibilidade para biodegradação. Em estudo sobre biodegradação de glifosato (fase adsorvida e fase não-adsorvida), Eberbach (1998) observou que houve rápida degradação no primeiro dia, seguida de diminuição até o quadragésimo dia. Segundo o referido autor, a influência da adsorção restringiu a disponibilidade do glifosato para biodegradação ao longo do tempo. Assim, a meia-vida da molécula depende das fases, sendo a da parte não-adsorvida de 6 a 9 dias e da parte adsorvida de 222 a 835 dias.

1.6 Espécies estudadas

Nas últimas décadas, uma das atividades aquícolas que mais cresceram no país foi o cultivo intensivo e semi-intensivo de peixes, consolidando-se como um setor de grande importância econômica (NEWMAN, 1993). Dentre as espécies comumente cultivadas, podemos destacar a tilápia do Nilo, o tambaqui e a carpa-comum, como as espécies mais importantes para consumo humano em muitos países, e o seu cultivo têm crescido exponencialmente na aquíicultura, inclusive no Brasil (Figura 4). A aquíicultura nos últimos anos vem sofrendo sérios danos devido ao aumento da poluição por agrotóxicos e metais pesados, como consequência do grande volume desses, lançados no ambiente aquático, causando assim grandes danos aos organismos aquáticos.

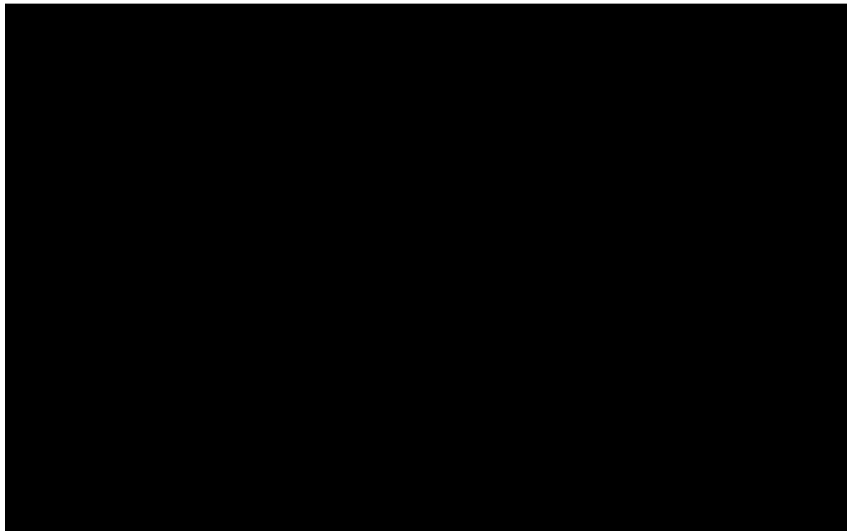


Figura 4. Principais espécies de água doce cultivadas no Brasil.

Fonte: IBAMA, 2007.

1.6.1 *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo)

A tilápia do nilo ocupa a seguinte posição sistemática (LINNAEUS,1758):

Reino: ANIMALIA

Filo: CHORDATA

Classe: OSTEICHTHYES

Ordem: PERICIFORMES

Família: CICHLIDAE

Subfamília: PSEUDOCRENILABRINAE

Gênero: *Oreochromis*

Espécie: *niloticus*

A Tilápia é um nome comum que se aplica a várias espécies de peixes. As espécies de tilápia são nativas da África e Médio Oriente, e são compostas por um grupo de mais de 100 espécies, relacionadas a vários gêneros e espécies que originalmente foram classificadas no gênero *Tilápia*, na família Cichlidae. Na reclassificação desenvolvida por Trewavas (1983) centenas de espécie de *Tilápia* foram separadas em três gêneros: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilápia*. As espécies *Oreochromis* são mais comuns na aquicultura. Entre elas está a Tilápia do Nilo, *O. niloticus* (Figura 5); a tilápia azul, *O. aureus*; a tilápia de Moçambique, *O. mossabicus* e a espécie *O. urolepis hornorum*.



Figura 5. Exemplo de alevino *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo)

No final dos anos 80, quando se considerou que a tilápia tinha potencial para a aquicultura, várias espécies foram introduzidas em quase todos os países de clima tropical e também em regiões subtropicais. A tilápia tem importância na aquicultura

porque pode reproduzir-se em cativeiro e adapta-se a uma grande variedade de condições de água, nas quais podem desenvolver-se. Várias espécies podem crescer em amplas faixas de salinidade, desde água doce até água do mar (35 ppt), em água que podem flutuar entre ácida (pH 5) e alcalina (pH 9), sobreviver a baixos níveis de oxigênio ($< 2 \text{ mg.L}^{-1}$) e altos níveis de amônia (50 mg.L^{-1}) por longos períodos de tempo. No entanto, deve-se evitar condições extremas nos parâmetros físico-químicos da água, pois, qualquer dos parâmetros mencionados pode originar lesões em órgãos e tecidos, o que dá lugar a redução no crescimento e eventual mortalidade.

As tilápias adaptadas na aquicultura são, principalmente, incubadoras de ovos e larvas na boca materna. As fêmeas da tilápia podem produzir centenas a milhares de larvas por desova, no qual constituem uma vantagem para alcançar milhares de juvenis. Outra vantagem (em termos de produção) é que os adultos alcançam a maturação sexual em menos de seis meses, em um tamanho relativamente pequeno. As larvas de tilápia são onívoras e se alimentam de uma grande variedade de alimentos, incluindo perifiton, fitoplâncton, zooplâncton e alimentos balanceados. Isto permite ao aquicultor manipular a desova, podendo retirar as larvas da fêmea e criá-las independentemente.

1.6.2 *Cyprinus carpio* (Carpa-comum)

A Carpa-comum ocupa a seguinte posição sistemática (LINNAEUS, 1758):

Reino: ANIMALIA

Filo: CHORDATA

Classe: ACTINOPTERYGII

Ordem: CYPRINIFORMES

Família: CYPRINIDAE

Gênero: *Cyprinus*

Espécie: *carpio*

A carpa-comum, *Cyprinus carpio* (Figura 6), é a espécie mais utilizada em cultivo em todo o mundo, é um peixe de água doce originária da China, largamente difundida na Europa e na Ásia. Ela foi introduzida no Brasil em 1882, proveniente dos Estados Unidos, que por sua vez a importava da Alemanha em 1782. A sua biologia é

bastante conhecida, sendo peixe rústico, que suporta água com teor relativamente baixo de oxigênio e excelente para ser criada em águas fechadas (NOMURA, 1978). Sua procriação é fácil e seu crescimento é rápido podendo em um ano atingir de 0.8 a 1kg, com população densa no tanque, cujo desenvolvimento se verifica à uma temperatura entre 24° e 28° C. A carpa-comum é um peixe teleósteo da família Cyprinidae, de coloração cinza prateado, possui boca pequena, sem dentes verdadeiros, rodeada de barbilhões curtos; a alimentação natural é o zooplâncton (estágio larval) e organismos bentônicos (fundo), como minhocas, larvas de insetos e pequenos moluscos. É uma espécie onívora e aceita bem alimentos artificiais. Pode ter até 100 centímetros de comprimento.



Figura 6. Exemplar de alevino *Cyprinus-carpio* (carpa-comum).

A carpa-comum é de grande interesse para a piscicultura, criação em lagoas para pesca esportiva e "pesque-e-pague". No entanto podem causar grandes prejuízos às espécies nativas causando turbidez excessiva na água e alimentando-se de larvas e ovos, diminuindo a diversidade da fauna nativa.

1.6.3 *Colossoma macropomum* (Tambaqui)

O tambaqui ocupa a seguinte posição sistemática (CUVIER, 1818):

Reino: ANIMALIA

Filo: CHORDATA

Classe: ACTINOPTERYGII

Ordem: CHARACIFORMES

Família: CHARACIDAE

Subfamília: SERRASALMINAE

Gênero: *Colossoma*

Espécie: *macropomum*

O Tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Figura 7), oriundo da América do Sul, bacias do Amazonas e Orinoco, é um peixe de escamas com corpo romboidal, nadadeira adiposa curta com raios na extremidade e rastros branquiais longos e numerosos. Boca prognata pequena e forte com dentes molariformes. Sua coloração geralmente é parda na metade superior e preta na metade inferior do corpo, mas pode variar para mais clara ou mais escura dependendo da cor da água. Os alevinos são cinza claro com manchas escuras espalhadas na metade superior do corpo. O tambaqui alcança cerca de 90 cm de comprimento total. Há algum tempo eram capturados exemplares com até 45 quilos. Hoje, por causa da sobre-pesca, praticamente não existem indivíduos desse porte. Trazidos para estudos, foi introduzido no Nordeste em 1972, pelo Centro de pesquisas Ictiológicas “Rodolpho Von Ihering”, do DNOCS, em Pentecoste-CE, essa espécie tem mostrado um ótimo potencial para a criação intensiva em viveiros com alto valor comercial (SILVA et al, 1978).



Figura 7. Exemplar de alevino *Colossoma macropomum* (Tambaqui)

O Tambaqui é uma espécie que realiza migrações reprodutivas, tróficas e de dispersão. Durante a época de cheia entra na mata inundada, onde se alimenta de frutos ou sementes. Durante a seca, os indivíduos jovens ficam nos lagos de várzea onde se alimentam de zooplâncton e os adultos migram para os rios de águas barrentas para desovar. Na época de desova não se alimentam, vivendo da gordura que acumularam durante a enchente.

1.8 Risco de contaminação ambiental por Roundup

Em função do enriquecimento nutricional das águas, causado principalmente pelo lançamento de esgotos domésticos e fertilizantes agrícolas, aliado às condições ambientais favoráveis, como temperatura, pH, luminosidade, dentre outros, as

macrófitas aquáticas, que proliferam rapidamente, têm causado sérios danos ambientais, como problemas em hidrovias e hidroelétricas. Embora não seja recomendado a aplicação de herbicidas aquáticos, muitas vezes, é necessário para solucionar um problema ambiental específico. No entanto, é importante conhecer quais os efeitos colaterais do uso desse medicamento sobre organismos não-alvo (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

A caracterização do risco é uma das etapas da análise de risco ambiental, representa a integração das etapas anteriores – identificação do risco, avaliação da exposição e avaliação da dose-resposta, para a determinação da estimativa do risco, combina todas as informações disponíveis sobre a exposição dos receptores aos compostos químicos com as informações a respeito da toxicidade e efeitos causados pelos químicos. A caracterização de risco pode utilizar dados de testes de toxicidade, resultados obtidos por meio de modelos de simulação de exposição e risco e resultados das medidas de biomarcadores ou de bioindicadores.

A concentração ambiental estimada (CAE) depende diretamente da quantidade de produto que atinge o ecossistema aquático, após o processo de degradação e carreamento para fora do local de aplicação. Estes fatores, por sua vez, dependem de outras variáveis como propriedades físico- químicas do produto, características do solo, cobertura vegetal, regime pluviométrico e outras (SETAC, 1994).

Procedimentos em etapas foram propostos por Kokta & Rothert (1992) visando avaliar o risco de contaminação ambiental por agrotóxicos para organismos terrestres “não-alvo” (minhocas), na qual se tomou como base a primeira etapa, CAE. Este procedimento foi adaptado para organismos aquáticos por Ferreira (1998) e por Miyazaki (1998), que estudaram os efeitos de diversos inseticidas e herbicidas sobre peixes e microcrustáceos.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo geral determinar a toxicidade aguda e avaliar o risco de contaminação ambiental dessas três espécies de peixes pelo herbicida Roundup.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a concentração letal capaz de matar 50% dos peixes do teste de toxicidade aguda (CL50-96h) do herbicida Roundup para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a carpa-comum (*Cyprinus carpio*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*);
- Verificar se há diferença expressiva entre os valores da CL50-96h do herbicida Roundup para os alevinos de tilápia do Nilo, carpa-comum e Tambaqui;
- Classificar a toxicidade do Roundup com base nos valores da CL50-96h;
- Caracterizar o risco de contaminação ambiental por Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui;
- Determinar o quociente de risco (QR) do Roundup para as três espécies de peixes.

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a execução dos testes de ecotoxicidade e obtenção dos resultados, foram utilizados os materiais e adotados os métodos descritos a seguir.

3.1 Local de realização dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos na sala de bioensaios de agrotóxicos do Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Oceanografia e Limnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – NATAL.

3.2 Caracterização física e química da água de manutenção e testes

Foram realizadas análises físicas e químicas da água de manutenção dos peixes, tais como: temperatura, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido e dureza, e, para água utilizada nos testes foram realizadas leituras dos parâmetros: oxigênio dissolvido, pH e temperatura.

A água de manutenção se manteve a temperatura de 25 °C (± 2 °C), oxigênio dissolvido $\geq 5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($\geq 60\%$ de saturação) e um fotoperíodo de 12 horas/luz. A água foi aerada por meio de compressores de ar com saídas conectadas a pedra porosa para evitar o estresse dos peixes e 25 % do volume total da água foi substituída a cada cinco dias.

3.3 Condições nos testes ecotoxicológicos

Para a realização dos testes de ecotoxicidade em boas condições, foram adotadas as técnicas de manutenção de acordo com o tamanho e hábitos conhecidos de cada espécie. A metodologia adotada para os testes de ecotoxicidade aguda com peixes em sistema estático baseou-se no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA-American Public Health Association, 1998).

3.3.1 Procedência dos organismos e da água utilizados nos testes

Das espécies utilizadas nos testes ecotoxicológicos a tilápia foi obtida da estação de piscicultura Santa Bárbara (Ceará Mirim-RN) e o tambaqui e a carpa-comum da estação de piscicultura do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra a Seca) - Caicó/RN. Esses peixes, em laboratório, foram dispostos inicialmente em aquário com capacidade total de 50 litros, onde utilizaram apenas 80% (40 litros) da sua capacidade (Figura 08). A água utilizada tanto nos aquários de manutenção dos peixes quanto nos testes foi obtida do poço da CAERN (Companhia de Água e Esgoto do Rio Grande do Norte) e mantida por aeração intensa durante 24 horas antes de serem colocados os peixes. Após o período de aclimatação de 10 dias, os organismos que não apresentaram sinais de doença ou comportamento anormal foram transferidos para aquário com capacidade de 5 litros, onde continham apenas 2 litros de água. Em cada aquário foram colocados uma quantidade de organismos que manteve uma relação entre massa dos organismos e volume da água de manutenção, que segundo a norma da American Public Health Association (APHA, 1998), recomenda 1 (um) grama por litro.



Figura 08. Aquário de manutenção dos peixes.

A alimentação dos peixes foi feita com ração destinada a essa finalidade, contendo pelo menos 40% de proteína bruta. Foi fornecida diariamente uma média de 5% de ração por massa fresca dos peixes e ministrada por duas vezes ao dia conforme recomenda a APHA (1998). A ração utilizada foi Poli-Peixe[®], por corresponder às exigências nutricionais das espécies em questão, já que essa vem sendo adotada pelos

piscicultores com grande êxito quando alimentadas com esse produto. A alimentação foi suspensa 24 horas antes de iniciar os testes.

3.3.2 Execução dos ensaios

Para os testes ecotoxicológicos foram utilizados os organismos de tamanho homogêneo e de mesma idade provenientes de lotes das estações citadas acima. Os testes foram realizados em aquário com capacidade total de 5 litros. Em cada recipiente foram colocados 2 litros de água e 5 peixes com 0,4 g em média, para a tilápia e tambaqui, e para a carpa-comum foram colocados 4 peixes com cerca de 0,5 g, desse modo foram utilizados três recipientes para cada solução-teste de modo que cada concentração seja testada com 15 e 12 organismos respectivamente (Figura 09). Os papéis alumínio utilizados nos frascos tiveram o objetivo de evitar o estresse dos peixes quando o observador se aproximava para fazer a leitura dos parâmetros físicos e químicos da água e verificar a mortalidade. Os testes tiveram duração de 96 horas com cinco concentrações espaçadamente, mais um controle, sendo mantidos na mesma temperatura de manutenção dos organismos. Durante o período de testes, os peixes não foram alimentados e as variáveis de pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram analisadas no início e no fim (96 horas) de cada teste. A letalidade ocorrida durante o teste foi anotada após 24, 48, 72 e 96 horas de exposição, retirando os peixes mortos dos aquários. Foram considerados mortos os peixes que não demonstraram reação após serem tocados no pedúnculo caudal.



Figura 09. Realização dos testes definitivos.

Com a finalidade de estabelecer o intervalo de concentração para o teste de toxicidade definitivo, foram realizados testes agudos preliminares de 96 horas a fim de conhecer a faixa de toxicidade do Roundup. Foram utilizados 5 exemplares (tilápia do Nilo e tambaqui) e 4 exemplares (carpa-comum) por aquário que foram expostos em 5 diferentes concentrações mais um controle, determinando-se o intervalo entre a menor concentração que causou mortalidade a 100% dos organismos e a maior concentração que não causou mortalidade nos organismos. O sistema de condução dos testes definitivos foi do tipo estático (sem substituição e sifonagem de água durante o período de exposição) e foram realizados em triplicatas.

3.4 Herbicida utilizado

Em todos os testes realizados utilizou-se o herbicida com formulação comercial Roundup Original[®], produto comercial à base de glifosato, produzido pela empresa Monsanto e registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Na composição, estão presentes 480 g.L⁻¹ de sal de isopropilamina de N-(fosfometil) glicina, 360 g.L⁻¹ de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina (glifosato) e 684 g.L⁻¹ de ingredientes inertes. No Brasil, o Roundup está enquadrado na classe toxicológica IV – pouco tóxico e classe III – perigoso ao meio ambiente.

3.5 Análises estatísticas

Para o cálculo da CL50; 96 horas, ou seja, a concentração de agente tóxico que causa imobilidade para 50% dos organismos expostos no período de 96 horas (CETESB,1992), foi utilizado o método Trimmed Spearman-Kärber através do programa computacional “LC50 Programs” (HAMILTON *et al*,1977). Para determinar se houve diferenças expressivas entre as espécies foi utilizado um fator de duas vezes, para isso, divide-se a CL50 mediana entre as espécies, caso esse fator for maior que dois, há diferença expressiva entre as espécies, se o fator for menor que 2, não existe diferença expressiva. Para plotagem dos gráficos e tabelas utilizou-se o recurso gráfico do programa computacional Microsoft Office Excel 2007.

3.6 Caracterização do risco de contaminação ambiental por Roundup

Os riscos de envenenamento dos peixes devido à contaminação ambiental com o herbicida Roundup foram estimados de acordo com o procedimento proposto por Kokta e Rothert (1992) para minhocas e adaptados para organismos aquáticos por Ferreira (1998) e Miyazaki (1998). As CL50-96h determinadas para a tilápia do Nilo, para a carpa-comum e para o tambaqui foram comparadas com a Concentração Ambiental Estimada (CAE), para a maior (5,0 L.ha⁻¹) e menor (1,0 L.ha⁻¹) doses recomendadas do Roundup. Para os dados de caracterização de risco ambiental apresentados neste presente estudo foi considerada uma simulação do herbicida Roundup sendo lançado integralmente no ambiente para eliminar uma determinada macrófita e o quanto essa herbicida afetaria os organismos não-alvos em diferentes diluições.

Para se estimar a Concentração Ambiental Estimada (CAE) são adotados alguns critérios:

- O herbicida estudado, Roundup, estaria uniformemente distribuído por todo o espelho de água de reservatórios de um hectare (10.000 m²) de área e com diferentes profundidades, onde neste estudo foram adotadas as profundidades de 1,5 e 2,0 metros, padrão de profundidade média usualmente encontrada em reservatórios e lagos (padrão EPA/USA);
- Densidade média da água de 1,0 g.cm⁻³;

- A quantidade do herbicida estudado diluída no reservatório seria equivalente às diluições de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,125% da maior ($5 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) e da menor ($\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$) dose recomendada do Roundup.

Para a avaliação do risco de envenenamento através da contaminação ambiental, Kokta & Rothert (1992) propuseram o seguinte critério de classificação:

Tabela 01: Classificação de risco de contaminação ambiental proposto por Kokta & Rothert (1992)

| Alto risco de envenenamento | Risco moderado de envenenamento | Baixo risco de envenenamento |
|------------------------------------|--|-------------------------------------|
| Se a $CL50 < 10 \times CAE$ | Se $10 \times CAE < CL50 < 100 \times CAE$ | Se a $CL50 > 100 \times CAE$ |

Para calcular a Concentração Ambiental Estimada (CAE) é utilizada a seguinte fórmula: (CAE em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

$$CAE = \frac{A \text{ (mg}\cdot\text{ha}^{-1})}{B \times C \times D}$$

Onde:

CAE: Concentração Ambiental Estimada ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$);

A: Dose maior ou menor do produto ($\text{mg}\cdot\text{ha}^{-1}$);

B: Área do espelho d'água (m^2);

C: Profundidade (m);

D: Densidade da água.

Após a determinação da CAE, estimam-se os Quocientes de Riscos (QR's) considerando-se o valor mais crítico de toxicidade aguda. O Método do Quociente é um procedimento simples para integrar exposição e perigo (SOLOMON, 1996), no qual divide-se a concentração ambiental estimada (CAE) pelo dado toxicológico agudo ou crônico e em seguida multiplica-se pelo fator de segurança de 100. O Quociente de

Risco (QR) obtido é então comparado ao nível aceitável e ao nível crítico. Quando o QR for $< 0,1$ não são necessárias análises adicionais (nível aceitável), mas quando o valor da QR for $\geq 0,1$ (nível crítico) é necessário um refinamento das análises ambientais. Para calcular o quociente de risco é utilizada a seguinte fórmula:

$$QR = \frac{CAE}{CL50} \times 100$$

Onde:

QR: Quociente de risco;

CAE: Concentração Ambiental Estimada;

CL50: Concentração Letal capaz de matar 50% de uma população.

4.0 RESULTADOS

4.1 Toxicidade Aguda do Herbicida Roundup para *Oreochromis niloticus*

Os dados gerais dos testes de toxicidade aguda do herbicida Roundup para a tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estão apresentados na Tabela 02. A CL50 mediana 96 horas do Roundup estimada pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977) foi de 21,63 mg de Roundup por litro de água, com um intervalo de confiança de 95% médio de 20,94 mg.L⁻¹ até 22,34 mg.L⁻¹ (Tabela 03 e Figura 10).

Tabela 02. Dados gerais dos testes realizados com a *O. niloticus* para determinação da CL50 em 96 horas.

| Nº de concentrações | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentração (mg. L ⁻¹) | 0,0 | 18,06 | 19,10 | 20,14 | 21,18 | 22,22 |
| Número de peixes expostos em três aquários (n= 5 peixes/aquário) | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |

Tabela 03. Valores de CL50;96h do herbicida Roundup para *O. niloticus* obtidos em 3 testes.

| Número de testes | CL50;96h (mg.L ⁻¹) | Intervalo de Confiança |
|---------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| 1 | 21,22 | 20,28 – 22,00 |
| 2 | 21,83 | 21,11 – 22,56 |
| 3 | 21,94 | 21,44 – 22,47 |
| CL50;96h médio | 21,63 | |
| Faixa de toxicidade | 20,28 – 22,56 | |
| Desvio-padrão | 0,451 | |
| Coefficiente de Variação | 2,08% | |

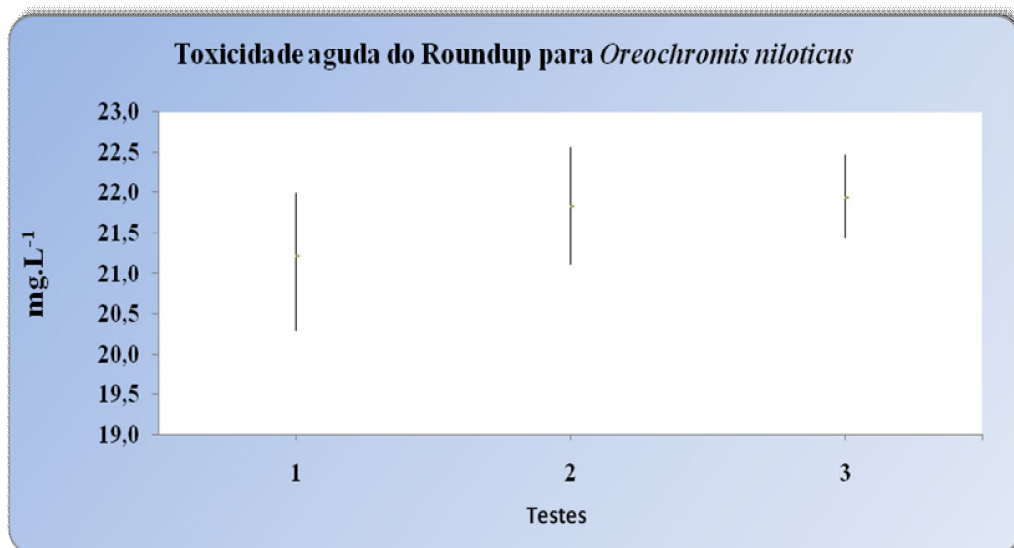


Figura 10. Concentração Letal Mediana (CL50; 96h) de três testes realizados com a Tilápia (*Oreochromis niloticus*)

4.1.1 Parâmetros físico-químicos observados durante a realização dos testes com a *Oreochromis niloticus*.

Tabela 04. Valores dos parâmetros limnológicos quantificados no início e no final do teste definitivo de toxicidade aguda com *Oreochromis niloticus*.

| Concentrações (mg.L ⁻¹) | OD (mg.L ⁻¹) | | pH | | Temperatura (°C) | |
|-------------------------------------|--------------------------|------|--------|-----|------------------|------|
| | Início | Fim | Início | Fim | Início | Fim |
| Controle | 11,3 | 10,1 | 7,5 | 7,7 | 22,1 | 24,5 |
| 6.5 | 11,0 | 9,9 | 7,2 | 7,5 | 22,3 | 24,5 |
| 6.875 | 11,4 | 10,3 | 7,1 | 7,5 | 22,2 | 24,5 |
| 7.25 | 10,8 | 9,9 | 7,0 | 7,4 | 22,2 | 24,6 |
| 7.625 | 12,0 | 10,5 | 7,0 | 7,4 | 22,2 | 24,5 |
| 8.0 | 11,7 | 8,8 | 6,7 | 6,5 | 22,0 | 24,6 |

4.2 Toxicidade Aguda do Herbicida Roundup para *Cyprinus carpio*

Os dados gerais dos testes de toxicidade aguda do Roundup para os alevinos de carpa-comum estão apresentados na Tabela 05. A CL50;96h mediana calculada pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al*, 1977) foi de 15,33 mg de Roundup por litro de água para *Cyprinus carpio* com um intervalo médio de confiança de 95% de 14,57 mg.L⁻¹ até 16,12 mg.L⁻¹ (Tabela 06 e Figura 11).

Tabela 05. Dados gerais dos testes realizados com a *Cyprinus carpio* para determinação da CL50 em 96 horas.

| Nº de concentrações | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentração (mg.L ⁻¹) | 0.0 | 13,89 | 14,86 | 15,83 | 16,81 | 17,78 |
| Número de peixes expostos em três aquários (n= 4 peixes/aquário) | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Tabela 06 – Valores de CL50;96h do herbicida Roundup para *Cyprinus carpio*, obtidos em 3 testes.

| Número de testes | CL50;96h (mg.L ⁻¹) | Intervalo de Confiança |
|---------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| 1 | 15,83 | 15,28 – 16,42 |
| 2 | 15,17 | 14,53 – 15,81 |
| 3 | 15,00 | 13,92 – 16,14 |
| CL50;96h médio | 15,33 | |
| Faixa de toxicidade | 13,92 – 16,42 | |
| Desvio-padrão | 0,438 | |
| Coefficiente de Variação | 2,86% | |

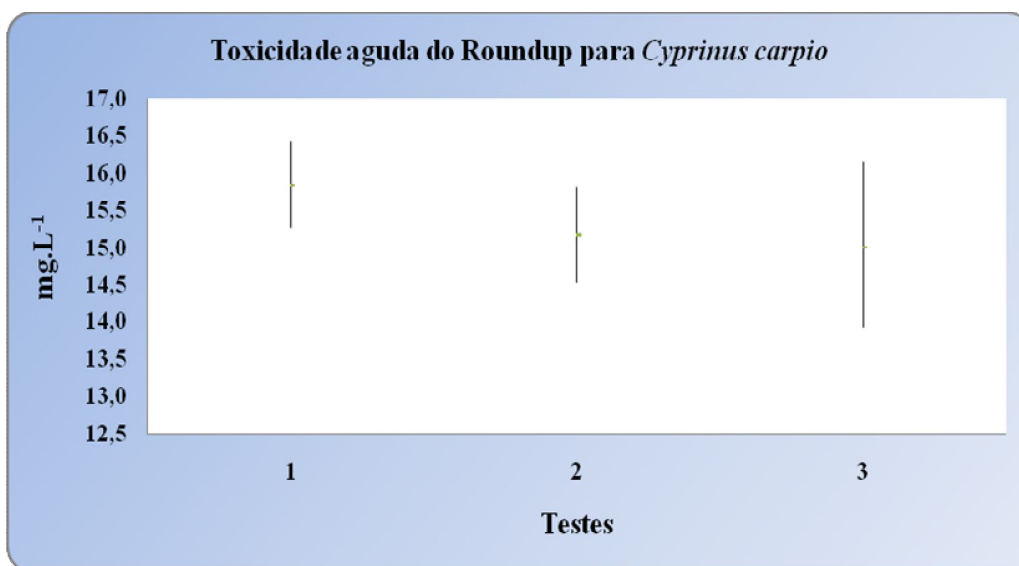


Figura 11. Concentração Letal Mediana (CL50; 96h) de três testes realizados com a Carpa (*Cyprinus carpio*).

4.2.1 Parâmetros físico-químicos observados durante a realização dos testes com a *Cyprinus carpio*.

Tabela 07. Valores dos parâmetros limnológicos quantificados no início e no final do teste definitivo de toxicidade aguda com *Cyprinus carpio*.

| Concentrações (mg.L ⁻¹) | OD (mg.L ⁻¹) | | pH | | Temperatura (°C) | |
|-------------------------------------|--------------------------|-----|--------|-----|------------------|------|
| | Início | Fim | Início | Fim | Início | Fim |
| Controle | 5,9 | 6,1 | 7,0 | 6,8 | 24,9 | 25,5 |
| 5.0 | 5,8 | 6,0 | 6,7 | 6,7 | 25,0 | 25,5 |
| 5.35 | 5,7 | 5,7 | 6,5 | 6,8 | 25,1 | 25,5 |
| 5.70 | 5,9 | 6,2 | 6,5 | 6,7 | 25,1 | 25,5 |
| 6.05 | 5,9 | 6,0 | 6,4 | 6,7 | 25,0 | 25,5 |
| 6.40 | 5,8 | 6,5 | 6,4 | 6,8 | 25,0 | 25,5 |

4.3 Toxicidade Aguda do Herbicida Roundup para *Colossoma macropomum*

Os dados gerais dos testes de toxicidade aguda do Roundup para o tambaqui estão apresentados na Tabela 08. A CL50;96h mediana calculada pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al*, 1977) foi de 20,06 mg de Roundup por litro de água para *Colossoma macropomum* com um intervalo de confiança médio de 95% de 19,44 mg.L⁻¹ até 20,70 mg.L⁻¹ (Tabela 09 e Figura 12).

Tabela 08. Dados gerais dos testes realizados com a *Colossoma macropomum* para determinação da CL50 em 96 horas.

| Nº de concentrações | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentração (mg.L ⁻¹) | 0,0 | 18,06 | 19,10 | 20,14 | 21,18 | 22,22 |
| Número de peixes expostos em três aquários (n= 5 peixes/aquário) | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |

Tabela 09. Valores de CL50;96h do herbicida Roundup para *Colossoma macropomum*. Dados obtidos em 3 testes.

| Número de testes | CL50;96h (mg.L ⁻¹) | Intervalo de Confiança |
|---------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| 1 | 18,56 | 17,67 – 19,53 |
| 2 | 20,53 | 20,11 – 20,97 |
| 3 | 21,08 | 20,56 – 21,61 |
| CL50;96h médio | 20,06 | |
| Faixa de toxicidade | 17,67 – 21,61 | |
| Desvio-padrão | 1,325 | |
| Coefficiente de Variação | 6,61% | |

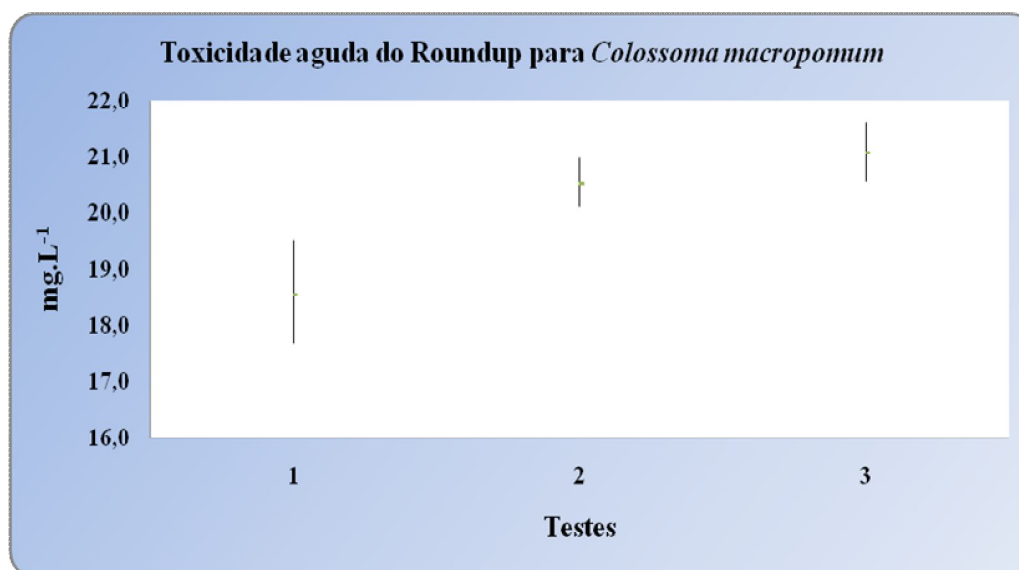


Figura 12. Concentração Letal Mediana (CL50; 96h) de três testes realizados com o Tambaqui (*Colossoma macropomum*).

4.3.1 Parâmetros físico-químicos observados durante a realização dos testes com a *Colossoma macropomum*.

Tabela 10. Valores dos parâmetros limnológicos quantificados no início e no final do teste definitivo de toxicidade aguda com *Colossoma macropomum*.

| Concentrações (mg.L ⁻¹) | OD (mg.L ⁻¹) | | pH | | Temperatura (°C) | |
|-------------------------------------|--------------------------|-----|--------|-----|------------------|------|
| | Início | Fim | Início | Fim | Início | Fim |
| Controle | 5,1 | 7,6 | 7,1 | 6,9 | 26,5 | 25,9 |
| 5.0 | 5,0 | 7,7 | 6,7 | 6,8 | 26,5 | 25,9 |
| 5.35 | 5,1 | 7,9 | 6,5 | 6,8 | 26,5 | 25,9 |
| 5.70 | 5,0 | 8,0 | 6,4 | 6,8 | 26,5 | 25,9 |
| 6.05 | 5,2 | 6,6 | 6,3 | 6,7 | 26,5 | 25,8 |
| 6.40 | 5,2 | 7,7 | 6,3 | 6,7 | 26,5 | 26,0 |

A figura 13 mostra os valores obtidos da CL50; 96 h entre as diferentes espécies de peixes, podendo-se observar que não houve diferenças expressivas do ponto de vista

ecotoxicológico, isto é, as CL50 para as três espécies foram menores do que um fator de duas vezes.

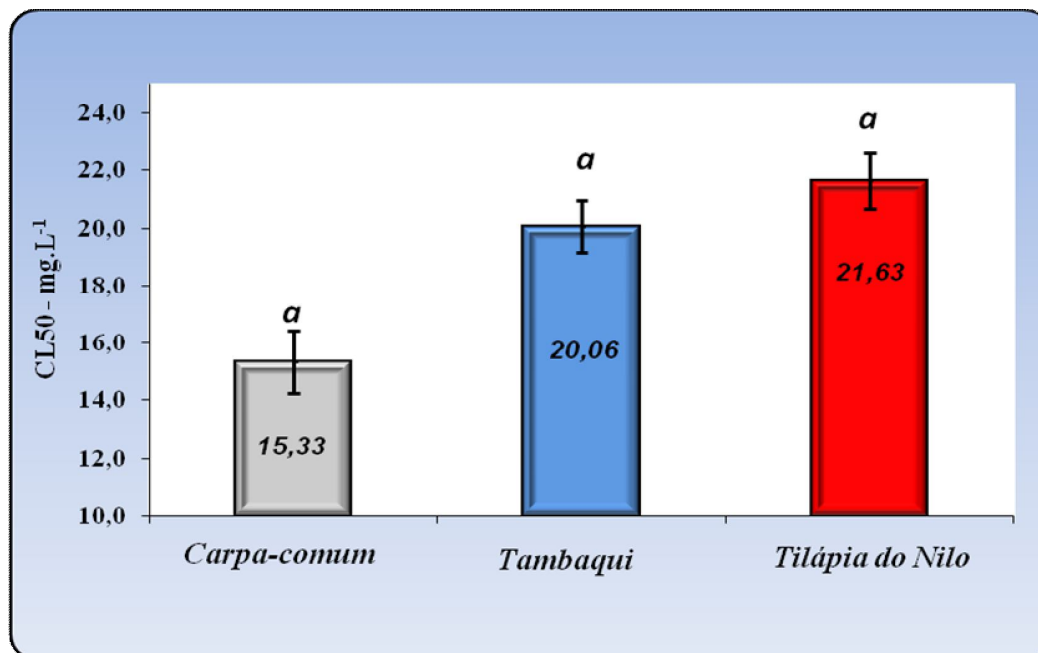


Figura 13. CL50; 96 h dos organismos testados com o herbicida Roundup para as diferentes espécies de peixes. Letras iguais indicam que não houve diferenças expressivas entre as espécies.

4.4 Classificações da toxicidade do Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui.

Segundo o critério proposto por Helfrich et al. (1996), que classificaram a toxicidade dos agroquímicos (mínima a super-extrema), com base nos valores de CL50 em mg.L⁻¹ (Tabela 11), o Roundup apresentou toxicidade leve para tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui.

Tabela 11. Classificação da toxicidade proposto por Helfrich *et al.* (1996), com base nos valores de CL50.

| Mínima | Leve | Moderada | Alta | Extrema | Super-extrema |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| >100 mg.L ⁻¹ | 11 a 100 mg.L ⁻¹ | 1,1 a 10 mg.L ⁻¹ | 0,11 a 1,0 mg.L ⁻¹ | 0,01 a 0,1 mg.L ⁻¹ | <0,01 mg.L ⁻¹ |

4.5 Avaliação dos Riscos de Contaminação Ambiental por Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui.

Nas Tabelas 12, 13 e 14 são apresentadas respectivamente as CAEs e a classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui, de acordo com as dosagens máximas ($5 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) e mínimas ($1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) recomendadas pelo fabricante e as profundidades (1,5 e 2,0 m) padronizadas pela EPA.

Tabela 12. Valores das concentrações ambientais estimadas (CAEs) e classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

| Profundidade 1,5 metros | | | | Profundidade 2.0 metros | | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------|
| % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC | % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC |
| 1 L/ha | | | | | | | |
| 100% | 0,0667 | 21,63 | Baixo | 100% | 0,050 | 21,63 | Baixo |
| 50% | 0,0333 | 21,63 | Baixo | 50% | 0,025 | 21,63 | Baixo |
| 25% | 0,0167 | 21,63 | Baixo | 25% | 0,013 | 21,63 | Baixo |
| 12,5% | 0,0083 | 21,63 | Baixo | 13% | 0,006 | 21,63 | Baixo |
| 6,25% | 0,0042 | 21,63 | Baixo | 6% | 0,003 | 21,63 | Baixo |
| 3,125% | 0,0021 | 21,63 | Baixo | 3,125% | 0,002 | 21,63 | Baixo |
| Profundidade 1,5 metros | | | | Profundidade 2.0 metros | | | |
| % da dose | CAE | CL50 | RC | % da dose | CAE | CL50 | RC |
| 5 L/ha | | | | | | | |
| 100% | 0,3330 | 21,63 | Moderado | 100% | 0,250 | 21,63 | Moderado |
| 50% | 0,1670 | 21,63 | Baixo | 50% | 0,125 | 21,63 | Baixo |
| 25% | 0,0830 | 21,63 | Baixo | 25% | 0,063 | 21,63 | Baixo |
| 12,5% | 0,0420 | 21,63 | Baixo | 13% | 0,031 | 21,63 | Baixo |
| 6,25% | 0,0210 | 21,63 | Baixo | 6% | 0,016 | 21,63 | Baixo |
| 3,125% | 0,0100 | 21,63 | Baixo | 3,125% | 0,008 | 21,63 | Baixo |

Tabela 13. Valores das concentrações ambientais estimadas (CAEs) e classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para a carpa-comum (*Cyprinus carpio*).

| Profundidade 1,5 metros | | | | Profundidade 2.0 metros | | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------|
| % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC | % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC |
| 1 L/ha | | | | | | | |
| 100% | 0,0667 | 15,33 | Baixo | 100% | 0,050 | 15,33 | Baixo |
| 50% | 0,0333 | 15,33 | Baixo | 50% | 0,025 | 15,33 | Baixo |
| 25% | 0,0167 | 15,33 | Baixo | 25% | 0,013 | 15,33 | Baixo |
| 12,5% | 0,0083 | 15,33 | Baixo | 13% | 0,006 | 15,33 | Baixo |
| 6,25% | 0,0042 | 15,33 | Baixo | 6% | 0,003 | 15,33 | Baixo |
| 3,125% | 0,0021 | 15,33 | Baixo | 3,125% | 0,002 | 15,33 | Baixo |
| 5 L/ha | | | | | | | |
| Profundidade 1,5 metros | | | | Profundidade 2.0 metros | | | |
| % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC | % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC |
| 100% | 0,3330 | 15,33 | Moderado | 100% | 0,250 | 15,33 | Moderado |
| 50% | 0,1670 | 15,33 | Moderado | 50% | 0,125 | 15,33 | Baixo |
| 25% | 0,0830 | 15,33 | Baixo | 25% | 0,063 | 15,33 | Baixo |
| 12,5% | 0,0420 | 15,33 | Baixo | 13% | 0,031 | 15,33 | Baixo |
| 6,25% | 0,0210 | 15,33 | Baixo | 6% | 0,016 | 15,33 | Baixo |
| 3,125% | 0,0100 | 15,33 | Baixo | 3,125% | 0,008 | 15,33 | Baixo |

Tabela 14. Valores das Concentrações Ambientais Estimadas (CAEs) e classificação do Risco de Contaminação (RC) do Roundup para o Tambaqui (*Colossoma macropomum*).

| Profundidade 1,5 metros | | | | Profundidade 2.0 metros | | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------|
| % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC | % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC |
| 1 L/ha | | | | | | | |
| 100% | 0,0667 | 20,06 | Baixo | 100% | 0,050 | 20,06 | Baixo |
| 50% | 0,0333 | 20,06 | Baixo | 50% | 0,025 | 20,06 | Baixo |
| 25% | 0,0167 | 20,06 | Baixo | 25% | 0,013 | 20,06 | Baixo |
| 12,5% | 0,0083 | 20,06 | Baixo | 13% | 0,006 | 20,06 | Baixo |
| 6,25% | 0,0042 | 20,06 | Baixo | 6% | 0,003 | 20,06 | Baixo |
| 3,125% | 0,0021 | 20,06 | Baixo | 3,125% | 0,002 | 20,06 | Baixo |
| 5 L/ha | | | | | | | |
| Profundidade 1,5 metros | | | | Profundidade 2.0 metros | | | |
| % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC | % da dose | CAE mg.L ⁻¹ | CL50 mg.L ⁻¹ | RC |
| 100% | 0,3330 | 20,06 | Moderado | 100% | 0,250 | 20,06 | Moderado |
| 50% | 0,1670 | 20,06 | Baixo | 50% | 0,125 | 20,06 | Baixo |
| 25% | 0,0830 | 20,06 | Baixo | 25% | 0,063 | 20,06 | Baixo |
| 12,5% | 0,0420 | 20,06 | Baixo | 13% | 0,031 | 20,06 | Baixo |
| 6,25% | 0,0210 | 20,06 | Baixo | 6% | 0,016 | 20,06 | Baixo |
| 3,125% | 0,0100 | 20,06 | Baixo | 3,125% | 0,008 | 20,06 | Baixo |

4.6 Análise dos Quocientes de Riscos (QR) para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui.

A tabela 15 mostra a determinação do quociente de risco para a tilápia (*Oreochromis niloticus*), carpa-comum (*Cyprinus carpio*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*). O resultado do quociente de risco apresentado na tabela a seguir é adimensional.

Tabela 15 – Quociente de Risco para a tilápia, a carpa e o tambaqui.

| | | Tilápia do Nilo | Carpa-comum | Tambaqui |
|--|------|-----------------|-------------|----------|
| | | QR | QR | QR |
| Profundidade (m) | 1,50 | 0,31 | 0,44 | 0,33 |
| Dose recomendada (L.ha ⁻¹) | 1,00 | | | |
| Profundidade (m) | 1,50 | 1,54 | 2,17 | 1,66 |
| Dose recomendada (L.ha ⁻¹) | 5,00 | | | |
| Profundidade (m) | 2,00 | 0,23 | 0,33 | 0,25 |
| Dose recomendada (L.ha ⁻¹) | 1,00 | | | |
| Profundidade (m) | 2,00 | 1,16 | 1,63 | 1,25 |
| Dose recomendada (L.ha ⁻¹) | 5,00 | | | |

5.0 DISCUSSÃO

O uso extensivo e crescente de agrotóxicos pode aumentar de forma grave a contaminação dos ambientes aquáticos, onde, Jiraungkoorskul *et al.* (2002) relatam que o risco de contaminação ambiental por agrotóxicos é maior com aplicações nas proximidades de rios ou em áreas alagáveis, resultando assim, na diminuição da qualidade das águas pelo aumento da sua toxicidade atingindo muitas espécies não-alvo, incluindo os peixes.

Durante os testes, os peixes submetidos às diversas concentrações do herbicida Roundup, nas horas iniciais, apresentaram comportamento diferente daqueles do grupo controle, observando-se: natação errática e presença freqüente na superfície do recipiente-teste, mudança na coloração, letargia, além da formação de muco, o que se sabe tornaria os peixes sobreviventes vulneráveis a doenças e predadores em seus habitats.

Embora existam espécies usualmente utilizadas como padrão em testes toxicológicos como o *Danio rerio*, por exemplo, é importante que se conheça a ação de agentes tóxicos para outras espécies, afim de que se possa comparar com espécies padronizadas.

Os valores médios de CL50; 96h do Roundup obtidos nos testes com os peixes tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui estão apresentados nas tabelas 03, 06 e 09 respectivamente. Levando-se em consideração o critério proposto por Helfrich *et al.* (1996), a toxicidade do herbicida Roundup para os peixes neste estudo, foi considerada leve. Nakagome *et al* (2007), testaram diferentes tipos de herbicidas (2,4-D , metsulfurom-metílico, carfentrazone-etílica, bentazona, quincloraque, clomazona, oxadiazona, oxifluorfem, bispiribaque-sódico, pirazossulfurom-etílico) e encontraram uma toxicidade variável de mínima a moderada para o peixe *Danio rerio*.

As espécies estudadas neste trabalho reagiram ao Roundup de forma diferente. A *O. niloticus*, como era de se esperar, por viver muitas vezes em ambientes contaminados, apresentou-se mais resistente que *C. macropomum* e *C. carpio*.

Embora os organismos tenham sido do mesmo lote, nos testes realizados com cada espécie, as CL50-96hs apresentaram valores diferentes entre si, o que pode ser explicado pela sensibilidade diferenciada de cada indivíduo no que concerne a fatores genéticos e saúde. Apesar dessa variabilidade nos testes entre as espécies, pode-se observar que não houve diferenças expressivas (Figura 13).

Através dos pré-testes realizados neste estudo com os alevinos de T. do Nilo e tambaqui em várias concentrações do Roundup verificou-se que a CL100-96h (concentração capaz de matar 100% dos animais) esteve acima de 22,2 mg.L⁻¹, enquanto que, para os alevinos da carpa-comum a CL100 - 96h foi superior a 17,8 mg.L⁻¹. Utilizando alevinos de T. do Nilo no presente trabalho encontrou-se uma CL50-96 horas de Roundup de 21,63 mg.L⁻¹, por outro lado, Jiraungkoorskul *et al.*(2002), trabalhando com formas juvenis e adultas dessa mesma espécie encontraram uma CL50-96 horas do glifosato de 16,8 e 36,8 mg.L⁻¹, respectivamente.

Neskivick *et al.*(1993), trabalhando com o herbicida antrazina encontraram para o adulto de carpa-comum uma CL50 – 96h de 18,8 mg.L⁻¹, enquanto que no presente estudo utilizando alevinos da mesma espécie encontrou-se uma CL50-96h de 15,33 mg.L⁻¹ do Roundup, valor superior a seis vezes ao detectado por ABC Inc (1990) que foi de 2,4 mg.L⁻¹ de glifosato utilizando alevinos da mesma espécie.

Kreutz *et al* (2008) determinaram a CL50-96 horas para o glifosato em Jundiá (*Rhamdia quelen*), obtendo 7,3 mg.L⁻¹, que foi muito próximo ao encontrado neste estudo para a *C. macropomum* e *O. niloticus* ((7,22 e 7,79 (360 mg i.a.L⁻¹), respectivamente)), enquanto que Soso (2007), obteve a CL50-96h de 3,6 mg.L⁻¹ de glifosato para *R. quelen*.

Estudo realizado por Miyazaki (1998) com alevinos de tambaqui e tambacu (*Colossoma macropomum* e *Piaractus mesopotamicus*) utilizando o glifosato foi observado uma CL50 – 96h de 19,94 e 24,90 mg.L⁻¹ respectivamente, valor próximo ao encontrado no presente trabalho para o tambaqui que foi 20,06 mg.L⁻¹.

Trabalho realizado por Langiano & Martinez (2008) com *Prochilodus lineatus* e Albinati *et al* (2007) com *Leporinus macrocephalus* foram obtidas CL50-96 horas de 13,69 mg.L⁻¹ e 15,8 mg.L⁻¹ de glifosato.

Segundo a W.H.O. (1994), o valor da CL50 96 horas para o glifosato varia de 2 a 55 mg.L⁻¹ de acordo com as diferentes espécies de peixes e condições dos testes. Conforme foi observado neste trabalho, as CL50-96h médios de peixes estão inseridos nesta faixa.

Alguns estudos (GLUSCZAK, 2008) revelam que duas formulações comerciais do glifosato variaram o valor da CL50 – 96h para a mesma espécie. A primeira foi do Roundup[®], onde a CL50 em 96 horas para a truta arco-íris foi de 2,6 mg.L⁻¹, enquanto que para o Glyphosate[®] foi de 140 mg.L⁻¹. Podendo-se observar que os ingredientes adicionados nas formulações de cada produto podem contribuir para potencializar sua ação tóxica.

Os parâmetros físico-químicos registrados no aquário controle e nos aquários experimentais da *O.niloticus*, *C. carpio* e *C. macropomum* mantiveram-se sem grandes variações ao longo dos testes, o que reduziu a possibilidade de mortalidade causada pelas mesmas, durante as 96 horas de experimento (Tabela 04, 07 e 10). A qualidade da água avaliada durante o período experimental não diferiu muito, mantendo-se o oxigênio dissolvido sempre superior a 5,0 mg.L⁻¹ como recomenda a APHA (1998) e o pH manteve-se sempre superior no controle, mas não variou muito com relação aos demais tratamentos. Segundo BOYD (1990), as águas com valores que compreendem a faixa de 6,5 a 9,0 são mais adequadas para os peixes, portanto os valores máximo e mínimo do pH encontrado nestes testes foram de 7,7 e de 6,3 respectivamente, onde o valor mínimo manteve-se um pouco abaixo do recomendado por BOYD (1990). Para os testes realizados com a tilápia a temperatura aumentou 2 °C do início ao término permanecendo conforme a APHA (1998), que permite variações de ±2°C durante o experimento.

Os valores de risco ambiental do Roundup foram calculados para a obtenção de parâmetros mais rigorosos na avaliação da periculosidade desses sobre organismos não-alvo. Esses valores podem representar a toxicidade real do Roundup porque em seus cálculos são consideradas as concentrações de aplicação do produto nas doses recomendadas (maior e menor).

Neste estudo, observa-se que o risco de envenenamento de contaminação ambiental por Roundup para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui são baixos para a menor dose (1 L.ha^{-1}) nas profundidades 1,5 e 2,0 m .

Na maior dose (5 L.ha^{-1}) na profundidade de 1,5 m o risco é moderado para a carpa-comum nas diluições 100 e 50% (Tabela 13). É igualmente moderado para a T. do Nilo e tambaqui, se o produto for lançado integralmente (100%) no ambiente aquático (Tabelas 12 e 14).

Na profundidade 2,0 m o risco é considerado moderado para as três espécies, se o produto for lançado integralmente (100%) no ambiente aquático (Tabelas 12, 13 e 14). Na realidade em campo, se 100% da menor dose recomendada do produto atingisse um lago, açude ou mesmo um viveiro de cultivo de peixes, com as especificações consideradas, o risco de envenenamento para as três espécies seria baixo. O mesmo não ocorre com a maior dose recomendada, se a diluição acima de 50% do herbicida atingir o ambiente aquático, como ocorreu com a carpa-comum (Tabela 13), o risco será considerado moderado. Diante disto, das três espécies estudadas, a mais adequada como organismo-teste é a carpa-comum (*C. carpio*) devido à maior sensibilidade ao glifosato, indicando que a mesma pode ser indicada para o biomonitoramento de ambientes aquáticos com o herbicida a base de Roundup.

Como visto anteriormente, na caracterização do risco o que se faz é a comparação dos resultados da exposição com os dados dos efeitos adversos sobre as diferentes espécies de peixes. Um procedimento simples para integrar ambos (exposição e perigo) é o Método do Quociente de Risco (SOLOMON, 1996), no qual se divide a concentração ambiental estimada (CAE) pelo dado toxicológico agudo ou crônico e em seguida multiplica-se pelo fator de segurança de 100 considerando o “pior cenário”. O Quociente de Risco (QR) obtido é então comparado ao nível aceitável e ao nível crítico. No presente estudo o Quociente de Risco (QR) (Tabela 15) mostra valores superiores a 0,1, onde os maiores valores ocorrem principalmente na maior dose indicando que os valores da relação CAE e CL50 não estão nos níveis aceitáveis, havendo a necessidade de um refinamento nas análises ambientais.

6.0 CONCLUSÕES

Considerando-se os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- ✓ As três espécies estudadas apresentaram sensibilidades próximas quanto a exposição do herbicida Roundup;
- ✓ As CL50 – 96 horas do Roundup em mg.L^{-1} de água calculada para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui foram de 21,63, 15,33 e 20,06 mg.L^{-1} , respectivamente;
- ✓ A espécie *Cyprinus carpio* demonstrou maior sensibilidade ao herbicida Roundup em relação à *Oreochromis niloticus* e *Colossoma macropomum*;
- ✓ As aplicações do herbicida a base do glifosato na agricultura, proporcionam baixo risco de contaminação para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui na menor dose recomendada pelo fabricante;
- ✓ O herbicida Roundup, de acordo com os valores de CL50, apresentou toxicidade leve para a tilápia do Nilo, carpa-comum e tambaqui;
- ✓ Para a utilização do glifosato em sistemas de cultivo de peixes, seja na sua aplicação direta na água ou em locais que possa atingir o meio aquático, mais estudos são necessários para que sejam estabelecidos critérios seguros para os animais. Os valores dos quocientes de risco superiores a 0,1 vêm confirmar a necessidade de análises complementares para este herbicida.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABC Inc. (1990) Acute toxicity of MON 8755 to common carp (*Cyprinus carpio*). Columbia, Missouri, Analytical Biochemistry Laboratories, Inc. (Unpublished report No. 38256 submitted by Monsanto Ltd. *In: International programme on chemical safety. Environmental health criteria 159: Glyphosate.* Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm>> acesso em: 14 ago. 2008.

AGUIAR, L.H. **Efeitos do inseticida organofosforado metil paration (FOLIDOL 600[®]) sobre o teleosteo de água doce, matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869): aspecto do metabolismo intermediário.** 2002. 96 f. Tese de Doutorado – Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos. São Carlo – SP. 2002,

ALBINATI, A. C. L. et al. **Toxicidade aguda do herbicida roundup[®] para piaçu (*Leporinus macrocephalus*).** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. Salvador-BA, v.8, n.3, p. 184-192, jul/set, 2007.

AMARANTE, O.P.; SANTOS, T.C. **Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação.** Química Nova, São Paulo – SP. v. 25, n. 4, p. 589-593, jul/ago. 2002.

APHA - American Public Health Association; AWWA – American Water Works Association; WPCF – Water Pollution Control Federation. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20 ed. Washington DC. 1998. 1085p.

BAIRD, C. **Química Ambiental.** 2.ed. Porto Alegre, Bookman, 2002. 622p.

BERTOLETTI, E. **Ensaio biológicos com organismos aquáticos e sua aplicação no controle da poluição.** São Paulo: Cetesb, 1990.

BONACELLA, P. H. **A poluição das águas.** Coleção Desafio. São Paulo: Ed. Moderna - 1990. p 28-30.

BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture,** Alabama: Birmingham, 1990.

BROWN, C.D. et al. Movement of pesticides to surface water from a heavy clay soil. **Pesticide Science.** v. 43, n. 2, p. 131-140, 1995.

CASTRO JÚNIOR, J.V.; SELBACH, P.A.; SÁCHIAAYUB, M.A. Avaliação do efeito do herbicida glifosato na microbiota do solo. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e meio ambiente.** Curitiba, v. 16, p. 21-30, jan/dez, 2006.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Métodos para avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos.** São Paulo: CETESB, 1992. v. 2. 25p.

CHEMINOVA, 2002. **Glifos**. Disponível em: < <http://www.cheminova.com.br/pt/herbicidas/glifos/> > Acesso em: 12/03/08 às 16:04.

CUNHA, L.F. **Transgênicos**: enfim, aprovados. Globo Rural, n. 234, p. 38-44, 2005.

DORES, E.F.G.C. **Contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas em Primavera do Leste, Mato Grosso**. 2005. 282 f. Tese (Doutorado em química). Universidade Estadual Paulista. Araraquara-SP. 2005.

EATON, J.G. Chronic malation toxicity to the blue-gill (*Lepomis macrochirus*. Rafinesque). In. VASCONCELOS, M.G.; VERANI, N.F.; REGOLIN DE SÁ, O. **Avaliação dos efeitos toxicológicos crônicos do herbicida roundup (glifosato) sobre a diferenciação gonadal do bragre rhamdia hilarii (Valenciennes, 1840)**. [S.l.: s.n., 199-].

EBERBACH, P.L. Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-phosphonomethyl) glycine in four soils. **Pesticide Science**, v.52, n. 3, p.229-240, mar. 1998.

EDWARDS, C.A. **Persistent pesticides in the environment**. 2. ed. New York - U.S.A.: CRC Press, 1973, 170p.

FERREIRA, A.C. **Toxicidade aguda e risco de contaminação ambiental de inseticidas para peixes (*Poecilia reticulata*) e microcrustáceos (*Daphnia magna*)**. 67f. Monografia. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998

FORLANI, G. et al. Degradation of the phosphonate herbicide glyphosate in soil: evidence for a possible involvement of unculturable microorganism. **Soil Biology e Biochemistry**, v.31, p.991-997, jul. 1999.

GALLI, A. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**. v. 29, n. 1, p. 105- 112, jan/fev. 2006.

GLUSCZAK, L. **Parâmetros toxicológicos em piavas (*Leporinus obtusidens*) e jundiás (*Rhamdia quelen*) após exposição a uma formulação comercial de glyphosate**. 2008. 94 f. Tese (Doutorado em Bioquímica Toxicológica), Universidade Federal de Santa Maria. RS, 2008.

GUERESCHI, R.M. **Macroinvertebrados bentônicos em córregos da Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antonio, SP: subsídios para monitoramento ambiental**. 2004. 82f. Tese (doutorado em Ecologia e Recursos naturais), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2004.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos** : mutações, câncer e reprodução. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2005. 392p.

HAMILTON, M.A., RUSSO, R.C., THURSTON, R.V. Trimed Spearman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science Technology**, v.7, n. 7, p.714-719, jul. 1977.

HASSEST, J.P.; LEE, G. F. Modeling of pesticides in the aqueous environment. In: DORES, E.F.G.C. **Contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas em Primavera do Leste, Mato Grosso**. 2005. 282 f.Tese (Doutorado em química). Universidade Estadual Paulista. Araraquara-SP. 2005.

HELFRICH, L.A. et al. **Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems**. 1996. Disponível em: < www.ext.vt.edu/pubs/waterquality/420-013/420-013.pdf > Acesso em: Julho, 2008.

HIRATA, R. et al. Groundwater contamination risk from agricultural activity in São Paulo State (Brazil). In: CHILTON. J. **Groundwater and agriculture: the inter-relationship**. Wallingford: British Geological Survey, p. 91-93, 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. Estatística da Pesca 2005: Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Brasília. 2007.

JIRAUNGKOORSKUL, W. et al. Histopathological effects of roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Science Asia**, v.28, p.121-127, nov. 2002.

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 455.

KOKTA, C., ROTHERT, H. A hazard and risk assessment scheme for evaluating effects on earthworms: the approach in the Federal Republic of Germany. In: GREIG SMITH, P.W. *Ecotoxicol Earthworms*. Newcastle: Intercept., 1992. p.169-184. In: BOOCK, M. V. **Estudo toxicológico comparativo da toxicidade do oxicloreto de cobre em tilápia vermelha (*Oreochromis spp*) e Guarú (*Poecilia reticulata*)**. Dissertação de mestrado. Jaboticabal-SP. 60p. 1999.

KUKLINSKY-SOBRAL, J. et al. Efeito do Glifosato sobre a comunidade endofítica de soja. In: II WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 2001, Campinas. **Anais**. Jaguariúna, SP: Embrapa-CNPMA, 2001. p. 361-364.

KREUTZ, L.C. et al. Acute toxicity test of agricultural pesticides on silver catfish (*Rhamdia quelen*) Fingerlings. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p.1050-1055, jul, 2008

LANGIANO, V.C.; MARTINEZ, C.B.R. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Comparative. **Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 147, n. 2, p. 222-231, mar. 2008.

LEONARD, R.A. Herbicides in surface Waters. In: GROVER, R. **Environmental chemistry of herbicides**. Boca Raton: CRC Press, 1989. V. 1, p. 45-87.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A.; SOOKDEO, C.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. **Applied Environmental Microbiology**, v.57, p.1799-1804, jun. 1991.

LOMBARDI, J.V. Fundamentos de toxicologia aquática. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M. de los A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. p.263-272.

KOKTA, C., ROTHERT, H. A hazard and risk assessment scheme for evaluating effects on earthworms: the approach in the Federal Republic of Germany. In: GREIG-SMITH, P.W. **Ecotoxicol Earthworms**. Newcastle: Intercept., 1992. p.169-84.

MASON, C. F. **Biology of freshwater pollution**. 3.ed. Londres: Longman, 1996.

MARTINEZ, C.B.R.; CÓLUS, I. M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: MOACYR, E. et al. **A bacia do Rio Tibagi**. Londrina: MC Gráfica, 2002. p.551-577.

MATALLO, M. B. Lixiviação dos herbicidas tebutiuron e diuron em colunas de solo. **Pesticidas**: revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 13, p. 83-90, 2003.

MATTOS, M.L.T. Monitoramento ambiental do Glifosato e de seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) em águas de lavouras de arroz irrigado. **Pesticidas**: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v.12, p.145-154, 2002.

MIYAZAKI, D.M.Y. **Toxicidade aguda e risco de intoxicação ambiental de triclofon, paration-metilico e glifosato para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e tambacu (*Colossoma macropomum X Piaractus mesopotamicus*)**. 1998. 67f. Monografia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP.

MOGADATI, P.S.; LOUIS, J.B.; ROSEN, J.D. Determination of glyphosate and its metabolite, (aminomethyl)phosphonic acid, in river water. **Journal of AAOC International**, v.79, n.1, p.157-162, 1996.

MONSANTO DO BRASIL. **Herbicida Roundup**: manual técnico. São Paulo, 1980. 16p.

MOREIRA, J. C., et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, Rio de Janeiro. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 7, n. 2, p. 299 -311.2002.

NAKAGOME, F.K.; NOLDIN, J.A.; RESGALLA JR, C. Toxicidade aguda de alguns herbicidas e inseticidas utilizados em lavouras de arroz irrigado sobre o Peixe *danio rerio*. **Pesticidas: revista. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 17, jan./dez. 2007.

NESKIVICK, N.K. et al. Acute toxicity of atrazine to carp (*Cyprinus carpio* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.25, n. 2, p.173-182, abr. 1993.

NEWMAN, S.G. Bacterial vaccines for fish. **Annual review of fish diseases**. New York – USA, v. 3, p. 145-185. 1993

NEWTON, M. et al. Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in North American forest. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.42, p.1795-1802, ago. 1994.

NIMMO, D.R. Pesticides. In: RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R., (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**, New York: Hemisphere, 1985. p. 335-373.

NOMURA, H. **Ictiologia e piscicultura**. 3ª edição. São Paulo: Nobel. 1978. 118 pg.

OSTI, S. C. **Toxicidade aguda, comportamento e análises anatomopatológicas em diferentes espécies de peixes expostos à formulação comercial contendo deltametrina**. 2005. 112 f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PARAÍBA, L. C. Evaluation of soil temperature effect on herbicide leaching potential into groundwater in the Brazilian Cerrado. **Chemosphere**, v. 53, n. 9, p. 1087- 1095, dez. 2003.

PESSOA, M. C. P. Y. Identificação de áreas de exposição ao risco de contaminação de águas subterrâneas pelos herbicidas atrazina, diuron e tebutiuron. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p.111-122, 2003.

PICKERING, Q.H.; GAST.M.H. Acute and chronic toxicity of cadmium to the fathead minnow *Pimephales promelas*. In. VASCONCELOS, M.G.; VERANI, N.F.; REGOLIN DE SÁ, O. **Avaliação dos efeitos toxicológicos crônicos do herbicida roundup (glifosato) sobre a diferenciação gonadal do bragre rhamdia hilarii (Valenciennes, 1840)**. [S.l.: s.n., 199-].

RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington: ____ ed., 1985. 665p.

RODRIGUÊS, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 3.ed. Londrina: IAPAR, 1995. 696 p.

ROMÃO, S. Blood Parameter analysis and Morphological Alterations as Biomarkers on the Health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v. 49, n. 3, p. 441-448, mai. 2006.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas**, 5ª Ed. Londrina: IAPAR, 2005, 648p.

ROSA, A.V. **Agricultura e meio ambiente**. São Paulo: Ed. Atual, 1998. 95p.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 217-236, jul. 2000.

SETAC **Report of the aquatic risk assessment and mitigation dialogue groupe**: Pensacola, FL: SETAC Foundation for Education, 1994. 44p.

SILVA, A. B. da, et al. Mono e policultivo intensivo de tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, e da pirapitinga, *Colossoma bidens* Spix, 1829, com o híbrido macho das tilápias *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus) e *Sarotherodon hornorum* (Trewavas. In: SIMPOSIO DE LA ASSOCIACION LATINO-AMERICANA, 2. México, nov. 1978. **Anais...**México, 1978. 16p.

SOLOMON, K.R. **Ecotoxicological risk assessment of pesticides**. Guelph:University of Guelph, 1996. 76p.

SOSO, A. B. Chronic exposure to sub-lethal concentration of glyphosate-based herbicid alters hormone profiles and effects reproduction of female Jundiá (*Rhamdia quelen*). **Environmental Toxicology Pharmacology**, v. 23, n. 3, p. 308-313, maio. 2007.

TREWAVAS, E., **Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia***. British Mus. Nat. Hist., London, UK. 583 p. 1983.

VAN DYK, J.C. **Fish histopathology as a monitoring tool for aquatic health: a preliminary investigation**. 2005. Tese. (Mestrado) - University of Johannesburg, Johannesburg. Wallingford: British Geological Survey, 1993. p. 91-93.

WAUCHOPE, R.D. Pesticides in runoff: measurement, modeling, and mitigation. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 31, n. 3, p. 337-344, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Glyphosate. Environmental Health Criteria**. Publication No 159, Geneva, Switzerland. (1994)

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Ed. Rima, 2006, 478.

ZAVATTI, L.M.S., ABAKERLI, R.B. Resíduos de agrotóxicos em frutos de tomate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n 3, p. 473 -480, mar. 1999.