

Katia Kiyomi Iseki

Centro Universitário Anhanguera
unidade Leme

katia.iseki@aedu.com

Thayssa Duarte Costa

Centro Universitário Anhanguera
unidade Leme

thayssa.costa@aedu.com

Heliana Clara Salles

Faculdade Anhanguera de Piracicaba

heliana.salles@gmail.com

Glauce Ribeiro Gouveia

Faculdade Anhanguera do Rio Grande

glaugouveia@hotmail.com

Cláudio Mantovani Martins

Centro Universitário Anhanguera
de Santo André

claummar@uol.com.br

João Alfredo Carrara

Faculdade Anhanguera de Bauru

joao.carrara@aedu.com

João Alberto Negrão

Universidade de São Paulo
FZEA/USP

jnegrao@usp.br

Anhanguera Educacional Ltda.

Correspondência/Contato
Alameda Maria Tereza, 4266
Valinhos, São Paulo
CEP 13.278-181
rc.ipade@anhanguera.com

Coordenação
Instituto de Pesquisas Aplicadas e
Desenvolvimento Educacional - IPADE

Artigo Original
Recebido em: 27/11/2012
Avaliado em: 28/11/2012

Publicação: 22 de dezembro de 2011

TOXICIDADE AGUDA DO HERBICIDA AMETRINA PARA ALEVINOS DE TILÁPIA, *OREOCHROMIS NILOTICUS* (LINNAEUS, 1758)

RESUMO

A intensa atividade agrícola existente no estado de São Paulo resulta em um aumento na utilização de agrotóxicos. Dentre os agrotóxicos mais utilizados destaca-se a ametrina que pode, quando utilizada inadequadamente ser lixiviada pelas chuvas, atingindo cursos d' água contaminando todo o ecossistema aquático. Assim, testes de toxicidade aguda foram realizados por um período de 96 horas a fim de determinar a CL50 da ametrina em alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados 140 alevinos com peso médio de $0,36 \pm 0,12$ g e comprimento médio de 1,93 cm, distribuídos nas seguintes concentrações: 0 (controle); 2,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 mg L⁻¹. Constatou-se que a CL50-96h para a ametrina foi de 5,38 mg L⁻¹ demonstrado que a substância estudada apresenta grau moderado de toxicidade a alevinos de tilápia.

Palavras-Chave: CL50; ametrina; *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

The intense agricultural activity in the state of São Paulo results in an increase in the use of pesticides. Among the most widely used pesticides stands out ametryn that can when used inappropriately be leached by rain, reaching waterways contaminating the entire aquatic ecosystem. Thus acute toxicity tests were conducted for a period of 96 hours to determine the LC50 of ametryn in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Thus, 140 fingerlings with mean body-weight and length 0.36 ± 0.12 g and $1.93 \pm 0,29$ cm, respectively were submitted in the following concentrations: 0 (control), 2.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 mg L⁻¹. It was found that the LC50-96h for ametryn was 5.38 mg L⁻¹ demonstrated that the substance has studied, at low concentration, moderate toxicity to tilapia.

Keywords: LC50; ametryn; *Oreochromis niloticus*.

1. INTRODUÇÃO

A água é um dos elementos essenciais para a sobrevivência dos organismos nos ecossistemas, portanto se esta estiver contaminada por agrotóxicos pode-se considerar que os demais componentes bióticos e abióticos do sistema também estarão. Sabe-se que a contaminação do ambiente aquático por agrotóxicos pode ocorrer de diversas formas, sendo as vias mais comuns: a) aplicação direta visando o controle de insetos e plantas aquáticas; b) aplicação de pulverizações em áreas agrícolas; c) carreamento de partículas de solo contaminado; d) lixiviação; e) limpeza de embalagens e equipamentos utilizados nas aplicações (BAPTISTA, 1988). Assim, há uma maior preocupação quanto à utilização de grandes quantidades de herbicidas agrícolas no Estado de São Paulo, como sendo um risco potencial à contaminação do solo, das águas subterrâneas e das águas superficiais (JACOMINI, 2006). Neste sentido, Os testes de toxicidade aquática têm sido cada vez mais utilizados para a determinação de efeitos deletérios dos agrotóxicos em organismos aquáticos (FERREIRA, 2002).

Embora, a EPA (Environmental Protection Agency), órgão de proteção ambiental americano, tenha classificado a ametrina como moderadamente tóxica para peixes, ele é o herbicida comercializado em maior volume no Estado de São Paulo. A eficiência da ametrina, um herbicida triazínico, deve-se ao fato deste herbicida ser absorvido rapidamente pelas folhas e raízes, sendo translocado pelo xilema, acumulando no meristema apical da planta impedindo desta forma a fotossíntese e outros processos enzimáticos essenciais a sobrevivência da planta (ROBERTS, 1998). Entretanto, existem poucos dados sobre a toxicidade da ametrina em peixes tropicais, sendo que a maioria dos testes foram realizados em espécies de regiões temperadas apresentando toxicidade moderada para a espécie *Cyprinodon variegatus* e toxicidade baixa para a espécie *Oncorhynchus mykiss* (EPA, 2005)

Deste modo, a tilápia (*Oreochromis niloticus*), uma espécie cosmopolita, rústica, precoce, muito consumida no Brasil (CASTAGNOLLI, 1992; SCORVO-FILHO et al., 2010) vem sendo muito utilizada em estudos de toxicidade por ser uma espécie frequentemente criada em açudes e reservatórios sujeitos ao aporte de agrotóxicos utilizados em atividades agrícolas (TOMITA & BEIRUTH, 2002). Além disso, a tilápia apresenta uma notável capacidade de adaptação às condições de laboratório e possui uma extensa literatura sobre seu comportamento, fisiologia e requerimentos ambientais, informações relevantes para avaliar os efeitos biológicos de substâncias químicas tóxicas (ISHIKAWA et al., 2007; MOHAMMED E SAMBO, 2008; RAND, 2008; FRANÇA et al.; 2011).

Neste contexto este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da ametrina, através de testes de toxicidade aguda em tilápias *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Estudos Aquáticos (LEA) localizado no Centro Universitário Anhanguera - Unidade Leme/SP. Os alevinos utilizados na pesquisa foram tilápias sexualmente revertidas (100% macho), *Oreochromis niloticus*, com peso médio $0,36 \pm 0,12$ g e comprimento médio $1,93 \pm 0,29$ cm, adquiridos da piscicultura comercial Santa Cândida, localizada no município de Santa Cruz da Conceição/SP. Cerca de 350 peixes foram divididos e acondicionados em dois tanques de 100 litros de água. Os alevinos foram alimentados, *ad libitum*, com ração comercial e permaneceram em observação por 7 dias. Após esse período, 140 alevinos foram transferidos para aquários com capacidade para 5 L de água, com sistema de aeração individual e revestidos internamente com sacos plásticos transparentes. A densidade utilizada foi de 0,7g L⁻¹ (20 peixes por concentração) e foi usado o sistema semi-estático onde 1,5 L da água dos aquários era substituída a cada 24 horas. O período total do teste de toxicidade aguda foi de 96 horas (APHA, 2005).

O produto químico utilizado foi a ametrina (Metrimex® SIPCAM ISAGRO, Uberaba-MG, Brasil). Testes preliminares foram realizados para determinar as concentrações que seriam utilizadas no experimento. Assim, 3 concentrações foram testadas: 0; 10 e 20 mg L⁻¹. Como a mortalidade nas concentrações 10 e 20 mg L⁻¹ foi de 100%, foi determinada as concentrações a serem testadas resultando nas seguintes concentrações de ametrina: 0 (controle); 2,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0 mg L⁻¹.

A água utilizada no experimento era tratada e previamente declorada. A temperatura da água dos experimentos se manteve, em média, em 16°C e foi monitorada diariamente com um termômetro de mercúrio. No início e ao final do experimento foi medida a concentração de oxigênio dissolvido (OD) e pH de todos os aquário. O valor médio de OD e pH inicial foi de 8,5 mg L⁻¹ e 6,0 respectivamente. O valor médio de OD final foi de 8,2 mg L⁻¹ e o pH da água dos aquários controle foi de 5,5 e para os aquários com ametrina o pH foi de 7,0.

O comportamento dos animais foi monitorado durante o experimento e foram avaliados 04 parâmetros comportamentais: 1) mudança de coloração - escuros, levemente escuros e claros; 2) frequência respiratória-- abertura e fechamento da boca e opérculo na

superfície (dispneia) e normal; 3) equilíbrio – perda e normal e 4) movimentação – imobilidade (perda de reação ao toque), hipoatividade (movimentação lenta) e normal.

A taxa de mortalidade foi registrada após 24, 48, 72 e 96 horas de exposição ao produto. Os dados das mortalidades foram submetidos à análise estatística através do método Trimmed Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977), determinando-se a concentração letal média (CL50-96h).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na concentração de 0 (controle) mg L⁻¹, os alevinos permaneceram, durante todo o experimento, sem nenhum sinal clínico e/ou alteração comportamental.

Em relação aos sinais comportamentais observados 24 horas após o início do teste, na concentração de 2,0 mg L⁻¹, os alevinos apresentavam-se levemente escurecidos, permanecendo assim até o final do experimento. Nas concentrações de 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0 mg L⁻¹ os alevinos estavam escuros. Também foi observado hipoatividade nas concentrações de 7,0 e 8,0 mg L⁻¹ e perda de equilíbrio nas concentrações de 8,0 e 9,0 mg L⁻¹. Na concentração de 9,0 mg L⁻¹ já era possível observar sinais de imobilidade, ou seja, alguns alevinos não reagem ao toque quando estimulados.

Após 48h, observou-se que os alevinos das concentrações de 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0 mg L⁻¹ permaneciam escuros. Nas concentrações de 5,0, 6,0 e 7,0 mg L⁻¹ era possível observar que a frequência dos movimentos operculares estava aumentada e os peixes buscavam a superfície (dispnéia). Nas concentrações de 7,0, 8,0 e 9,0 mg L⁻¹ os alevinos estavam inclinados caracterizando a perda de equilíbrio. Praticamente todos os alevinos que estavam nas concentrações de 8,0 e 9,0 mg L⁻¹ estavam imobilizados no fundo do aquário.

Após 72h os alevinos dos tratamentos com ametrina continuavam escuros. Os alevinos da concentração de 6,0 mg L⁻¹ começaram a apresentar sinais de perda de equilíbrio e nas concentrações de 7,0 e 8,0 mg L⁻¹ os alevinos estavam imóveis. Na concentração de 9,0 mg L⁻¹ todos os alevinos estavam mortos.

Ao final de 96h de experimento, os alevinos sobreviventes das concentrações de 5,0 e 6,0 mg L⁻¹ apresentavam-se imobilizados e os alevinos das concentrações de 7,0 e 8,0 mg L⁻¹ estavam todos mortos.

O aumento dos movimentos branquiais e a busca da superfície (dispneia) observados no presente experimento, foi também observado para *Cyprinus carpio* exposto

a simazine (OROPESA et al., 2009) sendo considerado um comportamento característico de toxicidade do ambiente (MARIGOUDAR et al., 2009).

Como no presente estudo, a perda de equilíbrio foi observada para várias espécies de peixes de água doce (*Labeo rohita*, *Mystus vittatus*, e *Cirrhinus mrigala*) expostos a simazina e cianazina (DAD; TRIPATHI, 1980). A perda de equilíbrio associada ao aumento da frequência respiratória foi relatada para *Oreochromis niloticus* e *Chrysichthyes auratus* (HUSSEIN et al., 1996) e *Carassiu sauratus* (SAGLIO; TRIJASSE, 1998) expostos a atrazina.

Foi relatado para o *Danio rerio* após 96 h de exposição à ametrina, uma letargia (hipoatividade) e imobilidade caracterizado pela permanência dos peixes no fundo do aquário (MOURA et al., 2011) comportamento semelhante ao que foi observado no nosso experimento.

Com relação à porcentagem de mortalidade de alevinos observou-se que esta aumentou à medida que as concentrações de ametrina e o tempo de exposição aumentavam (Tabela 1). Na concentração de 9,0 mg L⁻¹, a mais elevada, observou-se 100% de mortalidade após 72 horas de exposição à ametrina. Já nas concentrações intermediárias 7,0 e 8,0 mg L⁻¹, a mortalidade de 100% foi observada somente ao final do período experimental. Nas concentrações de 2,0; 5,0 e 6,0 mg L⁻¹ a porcentagem de mortalidade média ao final do período de experimentação foi de 45, 40 e 95% respectivamente.

Tabela 1. Porcentagem cumulativa de alevinos mortos em 24, 48, 72 e 96 horas de acordo com as diferentes concentrações de ametrina usadas no teste de toxicidade aguda.

Tratamentos	Mortalidade cumulativa em %							
	24		48		72		96	
Duplicatas	A	B	A	B	A	B	A	B
Controle	0	0	0	10	20	10	30	20
2,0 mg L ⁻¹	10	0	10	0	40	0	60	30
5,0 mg L ⁻¹	0	0	0	0	10	20	20	60
6,0 mg L ⁻¹	10	0	10	20	50	50	100	90
7,0 mg L ⁻¹	20	10	40	30	70	60	100	100
8,0 mg L ⁻¹	10	20	50	60	50	90	100	100
9,0 mg L ⁻¹	40	30	100	70	100	100	100	100

Com os dados de mortalidade obtidos no período de 96 horas, foi possível determinar, o valor da concentração letal média (CL50-96h) de ametrina para alevinos de tilápia que foi de 5,38 mg L⁻¹ (intervalo de confiança de 5,10-5,68 mg L⁻¹) feito pela Teste de Trimmed Spearman Karber.

Comparando a CL50-96h do presente estudo, outros autores encontraram valores inferiores de CL50-96h para ametrina em alevinos de *Oncorhynchus mykiss* (3,6 mg L⁻¹), (EPA, 2005) e para atrazina em embriões da mesma espécie (1 mg L⁻¹) (OULMI et al., 1995). Valores similares de CL50-96h foram relatados para ametrina em sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus variegatus*) (5,8 mg L⁻¹) (EPA, 2005) e para atrazina em *Oreochromis niloticus* (5,02 mg L⁻¹) (BOTELHO et al., 2009). Por outro lado, valores superiores de CL50-96h foram estabelecidos para ametrina em *Pimephales promelas* (16 mg L⁻¹) (EPA, 2005) e para o *Lepomis macrochirus* (8,5 mg L⁻¹) (FISQ, 2003) e para atrazina em truta (8,8 mg L⁻¹) (PRASAD; REDDY, 1994) e *cyprinus carpio* (18,8 mg L⁻¹) (NESKOVIC et al., 1993).

Assim, de acordo com os nossos resultados a ametrina para alevinos de tilápia pode ser classificada como moderadamente tóxica segundo a United States Environmental Protection Agency, ou seja classificação toxicológica III (EPA,2005).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, existem indícios de que a ametrina é tóxica para peixes e mais estudos que possibilitem um melhor entendimento da toxicidade da ametrina devem ser conduzidos, uma vez que este composto é amplamente usado nas lavouras canavieiras do estado de São Paulo.

AGRADECIMENTO

À Funadesp e a Anhanguera Educacional Ltda. pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- APHA; AWWA; WPCF. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 21.ed. Washington, D.C: APHA – American Public Health Association, AWWA – American Water Works Association, and WPCF – Water Pollution Control Federation, 2005. 1085 p.
- BAPTISTA, G.C. Introdução e ocorrência de defensivos agrícolas no meio ambiente. In: _____. Curso de defensivos agrícolas, inseticidas e acaricidas – módulo 4. Brasília: MEC/ ABEAS, 1988. p.17.
- BOTELHO, R.G.; SANTOS, J.B.; OLIVEIRA, T.A.; BRAGA, R.R.; BYRRO, E.C.M. Toxicidade aguda de herbicidas a tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 621-626, 2009.
- CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- DAD, N.K.; TRIPATHI, P.S. Acute toxicity of herbicides to freshwater fish and midge larvae, *Chironomus tentans*. **Environ. Int.** 4, 435–437. 1980.

- EPA (Environmental Protection Agency). Reregistration Eligibility Decision (RED) for Ametryn. Set. 2005. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/status.htm>>. Acesso em: 21 nov. 2012.
- FRANÇA, J.G.; PAIVA, M.J.T.R.; CARVALHO, S.; MIASHIRO, L.; LOMBARDI, J.V. Toxicity of the therapeutic potassium permanganate to tilapia *Oreochromis niloticus* and to non-target organisms *Ceriodaphnia dubia* (microcrustacean cladocera) and *Pseudokirchneriella subcapitata* (green microalgae). **Aquaculture**, v.322-323, p. 249-254. Dez. 2011.
- FERREIRA, C.M. **Avaliação da toxicidade do cobre e do uso de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) como animais sentinelas**. São Paulo: USP, 2002. 109p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, Iowa, v.11, n.7, p. 714-719, jul.1977.
- HUSSEIN, S.Y.; EL-NASSER, M.A.; AHMED, S.M. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut. Egypt. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 57, 503-510, 1996.
- ISHIKAWA, N.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; LOMBARDI, J.V.; FERREIRA, C.M. Hematological parameters in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to sub-lethal concentrations of mercury. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n. 4, p. 619-626, jul. 2007.
- JACOMINI, A.E. **Estudo comparativo da presença do herbicida ametrina em águas, sedimentos e moluscos, nas bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. Ribeirão Preto: USP, 2006. 113p.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.
- MARIGOUDAR, S.R.; NAZEER, A.R.; DAVID, M. Impact of cypermethrin on behavioural responses in the freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). **World J. Zool.** 4, 19-23. 2009.
- MOHAMMED, A.K.; SAMBO, A.B. Haematological assessment of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to sublethal concentrations of Portland cement powder in solution. **International Journal of Zoological Research**. v.4, n.1, p.48-52, 2008.
- MOURA, M.A.M.; DOMÍNGUES, I.; OLIVEIRA, R.; JONSSON, C.M.; NOGUEIRA, A.J.A. Efeitos subletais da ametrina em paulistinha (*Danio rerio*). *O Biológico*, São Paulo, SP, v. 73, n. 2, p. 154, jul./dez. 2011. Edição dos resumos da 24ª Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo, nov. 2011. Resumo 051.
- NESKOVIC, N.K. et al. Acute and subacute toxicity of atrazine to carp. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, v.25, n. 2, p. 173-182, 1993.
- OULMI, Y.; NEGELE, R.D.; BRAUNBECK, T. Segment specificity of the cythological response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) renal tubules following prolonged exposure to sublethal concentrations of atrazina. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v. 32, n. 1, p. 39-50, 1995.
- OROPESA, A.L.; GARCIA-CAMBERO, J.P.; GOMEZ, L.; RONCERO, V.; SOLER, F. Effect of long-term exposure to simazine on histopathology, hematological, and biochemical parameters in *Cyprinus carpio*. **Environ. Toxicol.** 24, 187-199. 2009.
- PRASSAD, T.A.V.; REDDY, D.C. Atrazina toxicity on hydromineral balance of fish, *Tilapia mossambicus*. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, v. 28, n. 3, p. 313-316, 1994.
- RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R., *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Washington: Hemisphere Publishing, 1985. 665p
- ROBERTS, T.R.; HUTSON, D.H; LEE, P.W.; NICHOLLS, P.H.; ROBERTS, M.C.R. *Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part 1: Herbicides and Plant Growth Regulators*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1998. 870 p.
- SCORVO-FILHO, J.D.; FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.; ALVES, J.C.; SOUZA F.R.A. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, p.112-118, 2010 (supl. especial).

SAGLIO, P.; TRIJASSE, S. Behavioural responses to atrazine and diuron in goldfish. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 35, 484-491. 1998.

TOMITA, R.Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **Biológico**, v. 64, n.2, p.135-142, 2002.

Katia Kiyomi Iseki

Graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá (1992), Mestrado em Biologia e Agronomia - Université de Rennes I (1995), Mestrado em Élevage d'animaux d'interêt zootechnique - École Nationale Supérieure Agronomique de Rennes (1996) e Doutorado em Ciências (Fisiologia Geral) pela Universidade de São Paulo (2002). Atualmente é professora titular - horista do Centro Universitário Anhanguera. Tem experiência didática na área biológica e da saúde, principalmente nos cursos de enfermagem, ciências biológicas e medicina veterinária, ministrando principalmente as disciplinas de fisiologia e biologia. Na área profissional atua nos temas relacionados a fisiologia de peixes.