



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014  
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

## ACÚMULO DA MISTURA DOS HERBICIDAS AMETRINA E TEBUTIUROM EM TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)

Victor Colotti **Chalupe**<sup>1</sup>, Sônia Claudia Nascimento de **Queiroz**<sup>2</sup>, Vera Lucia **Ferracini**<sup>3</sup>, Mônica A. M. de Moura e **Mello**<sup>4</sup>, Claudio M. **Jonsson**<sup>5</sup>.

Nº14410

**Resumo**-A prática de uso intensivo de herbicidas na atividade canavieira há elevado risco de comprometimento da qualidade das águas e dos organismos que aí habitam devido às perdas de herbicidas por escoamento superficial, lixiviação ou outros processos. Apesar de não permitido, o herbicida tebutiurom é usado pelas usinas de cana-de-açúcar em mistura com a ametrina na dose de 1,2 e 2,0 kg.ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo (i.a.), respectivamente. No presente trabalho avaliou-se a dinâmica de uma associação dos herbicidas ametrina e tebutiurom quanto à sua incorporação e eliminação do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas a doses subletais. A maior relação “Concentração no peixe/Concentração na água” (14 dias de exposição), adotada para o cálculo de análise de risco quanto a consumo de músculo de peixe como alimento, foi de 2,96 e 2,14 para ametrina e tebutiurom, respectivamente. Os riscos de prejuízo à população consumidora de filé de tilápia, via contaminação por herbicidas estudados decorrente do uso no cultivo de cana-de-açúcar, podem ser considerados muito reduzidos com base na injeção básica diária aceitável de cada herbicida.

**Palavras-Chaves:** Resíduo, alimento, peixe, bioconcentração.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Jaguariúna, Jaguariúna- SP victorchalupe@gmail.com

2 Colaborador, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP

3. Colaborador, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP

4 Colaborador, Pesquisador Instituto Biológico, Campinas- SP

5 Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP claudio.jonsson@embrapa.br



**8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014  
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo**

**Abstract**-The intensive use of herbicides in the sugarcane production, there is a serious risk in the impairment of water quality and the organisms inhabiting the system due to the loss of herbicide y runoff, leaching or other processes. Despite not allowed, the herbicide tebutiuron is used and mixed with herbicide ametryne on the dose of 1.2 and 2.0 kg ha<sup>-1</sup> of active ingredient (ai), respectively. In this work was evaluated the dynamics of ametryne + tebutiuron mixture in muscle tissue of tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to sublethal doses of the herbicides. The highest rates “fish concentration / water concentration” (14 days of exposure) were respectively 2.96 and 2.14 for ametryne and tebutiuron, respectively. This parameter was calculated from a 14 days of exposure and was adopted for the calculation of risk analysis as the consumption of fish muscle as food. According to the agricultural practices in sugar cane crops, the risks of injury to the population the tilapia fillet via contamination by the herbicides can be considered very low, based on normal daily intake for each herbicide.

**Key-words:** Residue, food, fish, bioconcentration

## **1. INTRODUÇÃO**

Segundo fontes do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), a produção de cana-de-açúcar da safra 2013-2014 deve chegar a 653,81 milhões de toneladas no Brasil. Dado a essa prática agrícola intensiva, ocorre um sério risco no comprometimento da qualidade das águas e dos organismos que aí habitam devido às perdas de herbicidas por escoamento superficial, lixiviação ou outros processos (Armas et al., 2007; Marchesan et al. 2007).

Apesar de ser uma prática comum, a mistura de agrotóxicos em tanques previamente à sua aplicação é proibida segundo Instrução Normativa n. 46 de julho de 2002 publicada pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Entretanto, o herbicida tebutiuron é usado pelas usinas de cana-de-açúcar em mistura com a ametryne na dose de 1,2 e 2,0 kg.ha<sup>-1</sup> de ingrediente ativo (i.a.), respectivamente, num volume de calda de aplicação de 300 L.ha<sup>-1</sup>. Segundo os produtores o uso em mistura é vantajoso devido à redução do custo de pulverização, dose recomendada e aumento do número de espécies controladas.

Xenobióticos como os herbicidas, em que os organismos aquáticos tem contato, possuem certa afinidade pelos componentes de seus tecidos (Ramesh e Maheswari, 2004; Tsuda et al., 1989) . Quando a velocidade de absorção do composto excede a velocidade de eliminação do mesmo ocorre o acúmulo, processo este conhecido como bioacumulação. Tais fenômenos são considerados de grande importância na manifestação de efeitos subletais nos organismos



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

aquáticos e especialmente na proteção da qualidade de fontes protéicas de consumo humano (Lopes et al., 2006).

No presente trabalho foi avaliada a dinâmica de uma associação dos herbicidas ametrina e tebutiurum quanto à sua incorporação e eliminação do tecido muscular de tilápias submetidas a doses subletais. Este peixe é amplamente distribuído no território nacional e criado nos mais diversos sistemas de produção graças ao seu relevante interesse comercial (Santos et. al., 2007). Os dados permitem estimar o risco de consumo de filé de peixe para a população quando esses organismos são expostos a esses herbicidas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E AMOSTRAGEM

Foi avaliada a mistura de herbicidas Gesapax 500® (500 g L<sup>-1</sup> ametrina i.a.) + Combine 500 SC (500 g L<sup>-1</sup> de tebutiurum). Como organismos-teste foram utilizadas tilápias (*Oreochromis niloticus*) pesando em média 33,48 ± 6,15 g e medindo em média 9,98 ± 0,56 cm. Estas foram distribuídas em seis tanques de polietileno com volume útil de 115 litros. Os peixes foram alimentados *ad libitum* com ração comercial duas vezes ao dia e o excedente de alimento e excretas, sifonados. A água ou soluções-teste foram repostas a cada dois/três dias. As unidades experimentais foram mantidas em sala climatizada com fotoperíodo de 16h:8h (claro-escuro) e temperatura (26 ± 2 °C) controlados e aeração constante. A água utilizada foi proveniente de poço artesiano, com as seguintes características: pH = 7,7; oxigênio dissolvido = 6,2 mg L<sup>-1</sup> e condutividade elétrica = 3.800 µS cm<sup>-1</sup>. Após uma aclimação prévia de pelo menos uma semana, os peixes foram expostos aos tratamentos controle (0,0 mg L<sup>-1</sup>) e duas concentrações-teste subletais de cada mistura, que correspondiam a 1/100 e 1/10 da concentração letal média de exposição por 96 h (CL50-96h), determinada a partir dos testes agudos para cada componente individual. Assim sendo, as concentrações-teste da mistura ametrina+tebutiurum foram de 0,107 e 1,076 mg L<sup>-1</sup>, correspondentes respectivamente a 1/100 e 1/10 da CL50-96h. De cada tanque, contendo a concentração-teste em duplicata, foram amostrados três peixes aos 7 e 14 dias da exposição (fase de assimilação). Após o término desta fase, os peixes foram mantidos durante 14 dias em água isenta dos xenobióticos, sendo que as amostragens foram realizadas no sétimo e no último dia (14º dia) desta fase de depuração. Os animais foram sacrificados utilizando-se uma dose letal de benzocaína (>190 µg.L-1) e realizou-se imediatamente a necropsia para a retirada de



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

tecido muscular (filé). As amostras foram armazenadas em ultrafreezer (-80°C) até o seu processamento.

### 2.2 ANÁLISE DE RESÍDUOS

#### 2.2.1 ÁGUA

Amostras de água (~500ml) foram analisadas com auxílio de cromatógrafo líquido de ultra-alta performance acoplado a um espectrômetro de massas tipo triploquadropolo e interface electrospray (UPLC-ESI-MS/MS) modelo Quattro Premier XE, Waters.

#### 2.2.2 PEIXE

A determinação da concentração de resíduos de herbicidas em músculo de tilápia foi realizada com a pesagem de 5,0 g de amostra, adição de acetonitrila e agitação. Para a etapa de *salting out* utilizou-se sulfato de magnésio, cloreto de sódio, citrato de sódio e hidrogenocitrato de sódio, com agitação. Na etapa de purificação adicionou-se 125 mg do adsorvente *PSA (primary secondary amine)* e 750 mg de MgSO<sub>4</sub> a uma alíquota do extrato orgânico previamente refrigerada a 5°C, seguido pelas etapas de agitação e centrifugação. As separações cromatográficas foram realizadas utilizando-se um sistema Varian 1200L dotado de uma fonte de eletronebulização tipo *electrospray*.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Praticamente não se constataram alterações da concentração de resíduos na água entre os períodos de renovação das soluções-teste. Isto supõe que os valores determinados como reais, que foram ligeiramente inferiores aos nominais, não sejam decorrentes de uma degradação do composto durante os períodos das renovações.

Na Figura 1 estão apresentados os níveis de resíduos no músculo de tilápias expostas às misturas dos herbicidas durante duas semanas, a duas concentrações subletais. São apresentados também os dados sobre as concentrações dos herbicidas nesse tecido durante a fase de depuração pela exposição dos peixes à água isenta dos herbicidas.

Observa-se que num período de uma semana, na maior concentração testada, os peixes acumularam em média 0,76 e 0,25 µg/g de ametrina e tebutiurum, respectivamente. Após este período registrou-se um pequeno declínio na concentração de resíduo no peixe, embora a fase de



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

exposição aos ingredientes ativos não tenha sido interrompida. Este fenômeno também foi evidenciado pela exposição de algas a inseticidas e provavelmente se deve a uma ativação mais marcante dos mecanismos de metabolização e eliminação dos xenobióticos (Lal et al., 1987; Jonsson et al., 2001).

Cessada a fase de assimilação de 14 dias, observa-se um rápido decaimento dos níveis do xenobiótico nos tecidos. De um modo geral houve mais de 90% de eliminação dos herbicidas num período de uma semana, estando de acordo com o relatado por Velisek et al. (2011) a respeito da meia-vida em peixes, inferior a 7 dias, do herbicida triazinico simazina.

De acordo com as características físico-químicas dos produtos estima-se que no 14º dia de exposição tenha-se atingido o estado de equilíbrio (OECD, 2012).

Para cada herbicida foi calculada a relação entre a concentração do herbicida em tecido e a concentração real na solução-teste ( $C_{\text{peixe}}/C_{\text{água}}$ ) para o 7º e 14º dias de assimilação, nas duas doses avaliadas. Os dados são de semelhante ordem de grandeza aos relatados por Gunkel e Streit (1980), que determinaram esse parâmetro para a ametrina com valores de 3 a 4 para moluscos (*Ancylus fluviatilis*), e de 1 a 5 para peixes (*Coregonus fera*).

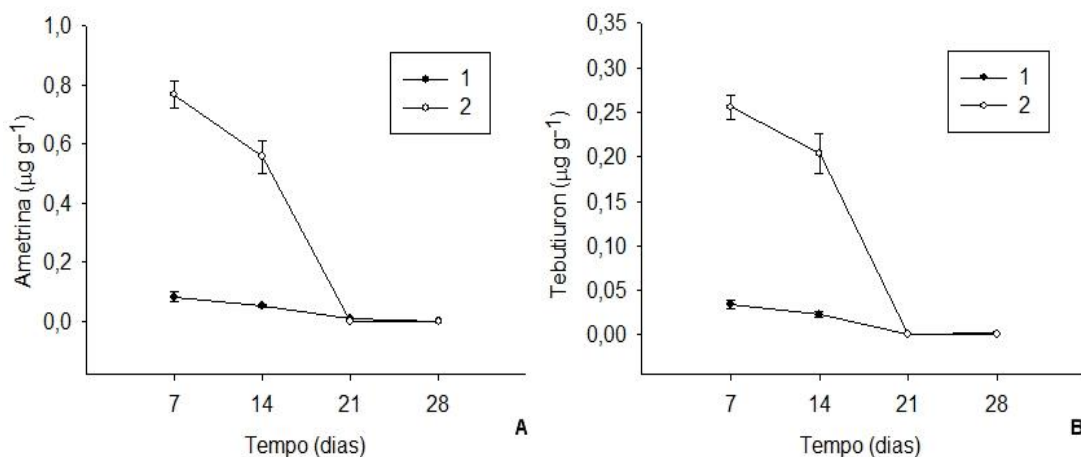
A maior relação  $C_{\text{peixe}}/C_{\text{água}}$  foi adotada para o cálculo de análise de risco quanto a consumo de músculo de peixe como alimento. Estes valores são apresentados na Tabela 1 assim como a estimativa de risco de consumo de peixe pela população com base na Ingestão Diária Aceitável (IDA) de cada herbicida (Australian Government, 2005).

A Tabela 1 também mostra a concentração máxima estimada de cada herbicida de acordo com o proposto por SETAC (1994) e Zagatto e Bertolotti (2006), que considera a aplicação direta (dose máxima de aplicação) do herbicida (Kg/ha) em uma lâmina de água de 2 metros de profundidade (profundidade adotada nos EUA). A concentração esperada, hipoteticamente, de resíduo de herbicida em músculo de peixe ( $CE_{\text{peixe}}$ ) exposto nesta situação foi calculada multiplicando-se  $C_{\text{peixe}}/C_{\text{H}_2\text{O}}$  por  $CE_{\text{H}_2\text{O}}$ . Com esses dados foi calculada a ingestão máxima de músculo de peixe para um indivíduo adulto com peso corpóreo de 70 Kg, que não se ultrapassa o valor da IDA.

Os resultados indicam que a maior restrição seria realizada para o herbicida ametrina, já que o indivíduo deveria consumir aproximadamente 4,7 Kg de peixe no dia, para se alcançar o valor da IDA. Devemos levar em consideração que esta estimativa foi calculada numa situação de risco máximo pela aplicação direta de uma dose do agroquímico, sem levar em consideração a diminuição da concentração na água pela adsorção no sedimento ou qualquer tipo de degradação

do composto que possa ocorrer numa situação de campo. Deve-se considerar também que o acúmulo em tecido obtido na nossa situação experimental, foi decorrente de sucessivas trocas das soluções-teste, fato que muito provavelmente não ocorreria nas condições de campo.

Segundo Sartori e Amâncio (2012), o consumo por pessoa de peixe na região Sudeste do Brasil no período 2008/2009 foi em média de 5,4 kg/ano. O maior consumo registrou-se na região Norte (38 kg/ano), considerando que esta região não é estritamente canavieira. Assim, confrontando-se estes dados com os da Tabela 1, conclui-se que os riscos de prejuízo à população consumidora de peixe, via contaminação por herbicidas estudados decorrente do uso na agricultura canavieira, podem ser considerados muito reduzidos.



**Figura 1.** Valores médios ( $\pm$  erro padrão) de resíduos de ametryn (A) e tebutiuron (B) em músculo de *O. niloticus* expostos a 1/100 CL50-96h (1) e 1/10 CL50-96h (2) da mistura destes herbicidas em 14 dias de exposição, seguido da fase de depuração (14 dias).

**Tabela 1.** Valores estimados de consumo seguro de peixe calculados a partir da relação concentração em peixe /concentração na água, dose de aplicação do herbicida em campo, concentração estimada (CE H<sub>2</sub>O) do herbicida em coluna de água (2,0 m) após aplicação em campo (SETAC, 1994; Zagatto e Bertoletti, 2006); concentração estimada do herbicida em músculo de peixe (CE peixe) e Ingestão Diária Aceitável do herbicida – IDA- (Australian Government, 2005).

Herbicida	C <sub>peixe</sub> /C <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	Dose (kg/ha)	CE H <sub>2</sub> O (mg/L)	CE peixe (mg/kg)	IDA (mg/kg p.c.**/dia)	IDA 70 kg (mg/dia)	Consumo seguro (kgpeixe/indivíduo 70 kg/dia)
Ametryn	2,9661*	2,00	0,100	0,2966	0,020	1,4	4,720
Tebutiuron	2,1453*	1,20	0,060	0,1287	0,070	4,9	38,073

\* Maiores valores determinados. \*\* p. c.: peso corpóreo



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

### 4. CONCLUSÃO

A concentração de ametrina e tebutiuram em filé de tilápia decai rapidamente quando cessa a fonte de exposição. Esses herbicidas são acumulados em músculo de tilápias em uma relação concentração no tecido/concentração na água, relativamente baixa. Portanto, os riscos de prejuízo à população consumidora de filé de tilápia, via contaminação por herbicidas estudados decorrente do uso na atividade canavieira, mostraram ser baixos.

### 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Embrapa Meio Ambiente pela oportunidade de estágio e ao CNPq pela bolsa PIBIC. A Fapesp pelo projeto financiado

### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMAS, E.D.; MONTEIRO, R.T.R.; ANTUNES, P.M.; SANTOS, M.A.P.F.; CAMARGO, P.B. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do rio Corumbataí e principais afluentes. **Quim. Nova**, v. 30, n.5, p.1119-1127, 2007.

AUSTRALIAN GOVERNMENT. Department of Health and Ageing Office of Chemical Safety. ADI List – Acceptable Daily Intakes for Agricultural and Veterinary Chemicals. **The Office of Chemical Safety**, Canberra, 2005. 114p.

GUNKEL, G.; STREIT, B. Mechanisms of bioaccumulation of a herbicide (atrazine, s-triazine) in a freshwater mollusc (*Ancylus fluviatilis müll.*) and a fish (*Coregonus fera jurine*). **Water Research**, v.14, p.1573 -15841, 1980.

JONSSON, C.M.; PARAIBA, L.C.; MENDOZA, M.T.; SABATER, C.; CARRASCO, J.M. Bioconcentration of the insecticide pyridaphenthion by the green algae *Chlorella saccharophila*. **Chemosphere**, v.43, p.321325, 2001

LAL, S.; LAL, R.; SAXENA, D.M. Bioconcentration and metabolism of DDT, fenitrothion and chlorpyrifos by the blue-green algae *Anabaena sp.* and *Aulosira fertilissima*. **Environ Pollut.** v.46, n.3, p.187-96, 1987.

LOPES, R.B.; PARAIBA, L.C.; CECCARELLI, P.S.; TORNISIELO, V.L. Bioconcentration of trichlorfon insecticide in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Chemosphere**, v.64, n.1, p.56-62, 2006.

MARCHESAN, E.; ZANELLA, R.; AVILA, L.A.; CAMARGO, E.R.; MACHADO, E.L.O.; MACEDO, V.R.M. RICE herbicide monitoring in two brazilian rivers during the rice growing season. **Sci. Agric.**, v.64, n.2, p.131-137, 2007.

OECD. Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure – 305. **Organisation for the Economic Cooperation and Development**, Paris, 2012, 55p.

PORTAL BRASIL. Pesquisadores avaliam expansão da cana-de-açúcar em São Paulo Disponível em:



**8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014**  
**12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo**

<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2013/09/pesquisadores-avaliam-expansao-da-cana-de-acucar-em-sao-paulo>  
Acesso em: 25 maio de 2014]

RAMESH, A.; MAHESWARI, S.T. Dissipation of alachlor in cotton plant, soil and water and its bioaccumulation in fish. **Chemosphere**, v.54, n.5, p.647–652, 2004.

SANTOS, V.B.; DE FREITAS, T.F.R.; LOGATO, P.V.R.; FREATO, T.A.; ORFÃO, L.H.E; MILLIOTI, L.C. Rendimento do processamento de linhagens de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do peso corporal. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.554-562, 2007.

SARTORI, A.G.O.; AMÂNCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.19, n.2, p.83-93, 2012.

SETAC. Society of Environmental Toxicology and Chemistry. **Final report**: Aquatic risk assessment and mitigation dialogue group. Pensacola, USA, 1994, 220 p.

TSUDA, T; AOKI, S.; KOJIMA, M.; HARADA, M. Bioconcentration and excretion of benthocarb and simetryne by carp. **Water Research**, v.23, n.4, p.529–531, 1989.

VELISEK, J.; STARA, A.; SVOBODOVA, Z. The effects of pyrethroid and triazine pesticides on fish physiology. In: STOYTICHEVA, M. **Pesticides in the modern world-pests control and pesticides exposure and toxicity assessment**: Rijeka, InTech, 2011; 622p.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática-Princípios e Aplicações**. São Carlos: Editora Rima, 2006. 478p.