

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA  
COM TURMA FORA DE SEDE TIPO \* MINTER \*

MORFOLOGIA DO FÍGADO E DAS BRÂNQUIAS DO GUARU  
( POECILIA VIVIPARA ) EXPOSTOS À CONCENTRAÇÕES  
AGUDAS DO HERBICIDA ROUNDUP ( R ) ORIGINAL  
( GLIFOSATO ( N - ( FOSFONOMETIL ) GLICINA ) ) .

MICHELLE FURQUIM LEÃO

GOIANIA - GO

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA  
TURMA FORA DE SEDE TIPO "MINTER"

**Morfologia do fígado e das brânquias do guaru  
(*Poecilia vivipara*) expostos às concentrações  
agudas do herbicida Roundup® original  
(glifosato(N-(fosfonometil) glicina)).**

**Michelle Furquim Leão**

**Goiânia – GO**

**2007**

**Michelle Furquim Leão**

**Morfologia do fígado e das brânquias do guaru (*Poecilia vivipara*) expostos às concentrações agudas do herbicida Roundup original (glifosato (N-(fosfonometil) glicina)).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Biologia. Área de Concentração em: Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia. Curso com turma especial fora de sede tipo “MINTER”.

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais.**

Aos meus pais, Luiz Carlos e Vera Lúcia pelo  
seu exemplo de coragem e de luta...

Pelo seu amor e sua fé...

Sempre, meus eternos agradecimentos...

As minhas irmãs, pela possibilidade de aprender  
o que é o verdadeiro amor... Vocês...

Ao meu namorado, grande amigo e meu fiel companheiro, Aurélio, pelo grande incentivo, carinho, dedicação e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos...

Luz em minha vida...

A Universidade Federal de Goiás e à Universidade de Rio Verde (FESURV) por celebrarem convênio que possibilitou a formação de turma especial fora da sede (Goiânia) e por ocasião, deu oportunidade a nossa formação em nível de mestrado.

A Coordenação do MINTER na sede e local nas pessoas da Profa. Dra. Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais-UFG e á Profª Drª Maria Dolores Barbosa Silva-Fesurv.

A Profª Drª Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais pela paciência, sabedoria e dedicação, desde a época da graduação, até hoje ao findar deste curso de pós-graduação em nível de mestrado. Agradeço pela confiança, amizade e pelo exemplo de coragem, à quem também dedico essa vitória.

A todos os professores do mestrado que me propiciaram um conhecimento mais amplo e diverso.

A todos os colegas de laboratório (LCC) e em especial aos colegas estagiários Rodolfo e Thiago, este principalmente, por sua paciência e dedicação em tudo o que faz.

A todos os colegas e amigos da turma de mestrado, que apesar da pouca convivência pude viver momentos alegres e descontraídos.

A todos os meus amigos e familiares a quem pude contar com o apoio e carinho neste período tão especial.

Aos meus avós, Pedro e Geny pelo eterno carinho e amor que vocês sempre me dedicaram, e pelo presente o qual vocês me deram ....Minha mãe...

Ao meu avô Teixeira, pelo seu carinho e por ter posto no mundo meu maior idealizador...Meu pai...

Com saudades extremas e com eternas lembranças, meu agradecimento á minha avó Rosa, que não está mais entre nós, mas que estará sempre em meu coração, pelo apoio dado desde o começo, quando ainda nem tinha idéia do que era um curso de mestrado e que se estivesse aqui, com certeza estaria muito orgulhosa.

Aos meus pais pelo dom da vida. Pelo exemplo de lutas e abnegação, serei sempre grato a vocês.

As minhas irmãs queridas, a quem tanto amo, Ludy e Grazi, por vocês existirem e serem parte muito importante em minha vida.

Ao meu amor, Aurélio, pelo seu companheirismo e sua presença em minha vida.

A meu primo Wilson Ferreira Leão, que sempre me apoiou e me incentivou a iniciar e a terminar este curso de pós-graduação, obrigada pela sua amizade sincera e grande carinho.

A todos os meus amigos e amigas que de uma forma ou de outra me incentivaram ou me apoiaram de uma maneira ou de outra.

Aos meus colegas da Drogamed, que me auxiliaram para que com muito esforço, pudesse conciliar trabalho e o meu curso.

A CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pela criação de programas especiais de pós-graduação que permitem atender a cidades distantes da sede.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para que este trabalho fosse realizado, muito obrigada.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. Introdução .....	17
1.1 Objetivos Gerais.....	20
1.2. Objetivos Específicos.....	20
2. Revisão Bibliográfica.....	21
2.1 Agrotóxicos e o Meio Ambiente.....	22
2.2 O Herbicida Glifosato: Roundup® Original.....	29
2.2.1 Características Gerais.....	29
2.2.2 Estrutura Química do Glifosato e Seus Derivados.....	34
2.2.3 Biotransformação e Toxicidade do Glifosato.....	37
2.3 O uso do <i>Poecillia Vivípara</i> como Modelo Biológico.....	47
2.4 Brânquias e Fígado como Órgãos Alvos.....	48

<b>3. Materiais e Métodos.....</b>	<b>52</b>
<b>3.1 Produto Químico.....</b>	<b>53</b>
<b>3.2 Manutenção dos Modelos Experimentais.....</b>	<b>54</b>
<b>3.3 Testes de Toxicidade.....</b>	<b>54</b>
<b>3.4 Avaliação do Comportamento Animal.....</b>	<b>55</b>
<b>3.5 Análise Anatómo Patológica.....</b>	<b>56</b>
<b>3.6 Exposição Aguda e Obtenção de Tecidos.....</b>	<b>56</b>
<b>3.7 Processamento de Amostras.....</b>	<b>57</b>
<b>4. Resultados.....</b>	<b>58</b>
<b>4.1 Concentração Letal Média.....</b>	<b>59</b>
<b>4.2 Avaliação do Comportamento Animal.....</b>	<b>60</b>
<b>4.3 Exames Macroscópicos: Anatomia Patológica.....</b>	<b>61</b>
<b>4.4 Toxicidade Aguda.....</b>	<b>63</b>
<b>4.4.1 Análise Histológica.....</b>	<b>63</b>
<b>5. Discussão e Conclusão.....</b>	<b>71</b>
<b>6. Referências.....</b>	<b>78</b>
<b>7. Anexo.....</b>	<b>91</b>
<b>7.1 Resolução do CONAMA 357/17 de Março de 2005.....</b>	<b>92</b>
<b>7.2 Tabelas.....</b>	<b>124</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Tabela mostrando o intervalo de segurança entre as aplicações de glifosato. 31
- Figura 2** – Fórmula estrutural do glifosato e seu principal derivado 34,53
- Figura 3** – Grau de dissociação de glifosato. 37
- Figura 4** – Via de degradação do glifosato por bactérias no solo 39
- Figura 5:** Fotografia lateral do guaru *Poecilia vivípara* 47
- Figura 6:** Filamento branquial de peixe teleósteo 50
- Figura 7:** Rótulo do herbicida Roundup® Original. 53
- Figura 8** – Estrutura geral do arco branquial de peixe do grupo controle. Observe em C – cartilagem hialina do filamento; M – músculo do eixo do filamento; O – tecido osteóide do arco branquial; seta larga – lamelas com curvatura normal; seta estreita – células mucosas tipo IV no arco branquial. Técnica: Tricrômico de Masson; Barra de aumento 15 mm = 35 µm. 63
- Figura 9** – Detalhe dos filamentos branquiais de peixe exposto ao Roundup original por 24 horas na concentração de 20 µl/L. Evidencia-se com seta larga a descamação do epitélio de revestimento das lamelas; com seta fina a grande quantidade de células mucosas tipo III. É possível verificar a perda de curvatura nas lamelas (L), a descamação do epitélio interlamelar (\*) e em (O) o tecido osteóide. Técnica: tricrômico de Masson. Barra de aumento 6,8mm = 40 µm 65
- Figura 10** – Fotomicrografia em detalhe das lamelas branquiais de peixe exposto à concentração de 40µl/L por 12 horas. Observou-se a presença de aglomerados celulares (\*), intumescimento que promove em outras regiões aneurismas. As setas estreitas destacam a fusão lamelar e Enquanto a seta larga evidencia hipertrofia e descamação epitelial. Técnica: tricrômico de Masson, Barra de aumento: 10,3mm = 20 µm. 66
- Figura 11** – Fotomicrografia do fígado de peixe que foi exposto à concentração de 20µl/L onde observa-se hepatócitos com citoplasma iniciando processo de vacuolização (seta maior), início de vasodilatação (V) e presença de sinusóides (S). Os hepatócitos possuem núcleo preservado, ou seja, com cromatina pouca condensada com possibilidade de visualização de nucléolo. Técnica: H.E. – Barra de aumento: 15 mm = 35 µm 68

**Figura 12** – Fotomicrografia do fígado de peixe que foi exposto à concentração de 40µl/L onde observa-se hepatócitos com citoplasma muito vacuolizado (setas estreitas), vasodilatação (V) e traços de processos hemorrágicos (H). Os hepatócitos possuem núcleo picnótico, ou seja, com cromatina muito condensada sem possibilidade de visualização de nucléolo. Técnica: H.E. – Barra de aumento: 5,2 mm = 50 µm. 69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Concentração letal média de Glifosato ( Roundup® original) em <i>Poecilia vivipara</i> . Calculada pelo programa Trimmed Spearman-Kärber.	<b>59</b>
<b>Tabela 2.</b> Alterações Comportamentais observadas nos aquários durante 24 horas de exposição de peixes ao herbicida Roundup® original (glifosato):	<b>60</b>
<b>Tabela 3</b> – Dados anátomo-patológicos averiguados após a exposição dos animais dos grupos experimentais e controle.	<b>62</b>
<b>Tabela 4</b> - Classificação de alterações histológicas observadas em <i>Poecilia vivipara</i> expostos a amostras de glifosato (Roundup® original).	<b>70</b>

## Resumo

**Morfologia do fígado e das brânquias do guaru (*Poecilia vivipara*) expostos às concentrações agudas do herbicida Roundup original (glifosato (N-(fosfonometil) glicina)).**

A toxicidade aguda do herbicida Roundup® original (Glifosato), um dos mais conhecidos e talvez um dos mais utilizados dessecantes em plantio direto nas lavouras na região Centro Oeste e em todo país atualmente, foi investigada através dos efeitos detectados no peixe *Poecilia vivípara*. Os grupos de peixes foram expostos à concentrações variadas deste herbicida, sendo estas nas concentrações de 10, 20 e 40 µl/l de água filtrada, durante 24 horas, onde as brânquias e o fígado foram dissecados e preparados para a análise histológica.

Foram observadas e analisadas as alterações comportamentais apresentadas pelo peixe durante a exposição. A concentração letal média (CL50) do herbicida para a espécie em questão foi de 20,79 µl/l, sendo que este valor foi calculado através do método estatístico Trimmed Spearman Karber, disponível pela US-EPA. Foram realizadas técnicas de colorações como Hematoxilina-eosina (He), Tricrômico de Masson.

A intensa fusão lamelar ocorrida nos filamentos branquiais foi observada nos grupos de 20 e 40 µl/l de Roundup®, o que sugere ser esta um mecanismo de defesa. Os hepatócitos já apresentaram nos grupos de 10 e 20 µl/l um processo de vacuolização, indicando respostas ao estresse celular provocado pelo herbicida.

No grupo de 40 µl/l, observou se além do processo de vacuolização, intensa vasodilatação e uma grande deterioração celular e tecidual do fígado dos peixes,

indicando alto grau de necrose causada pelo herbicida Roundup® (glifosato).

Apesar da determinação do CONAMA (Resolução nº357, 2005) na qual a concentração máxima permitida de glifosato é de 65 mg/L, obtivemos uma concentração letal média (CL50) do herbicida Roundup® (glifosato) para o peixe *Poecilia vivipara* de 20,79 µL/L de glifosato. Convertendo se para unidades compatíveis, observou se que a dose letal de 40 µL/L para 100 % dos peixes, tínhamos um valor de 0,42 mg/L, que seria um valor muito aquém do permitido pelo CONAMA.

**Palavras chaves:** Roundup®, glifosato, *Poecilia vivipara*, herbicida, tecido epitelial, brânquia e fígado.

### ABSTRACT

**Morphology of the liver and of the gills of the guaru (viviparous *Poecilia*) exposed to the sharp concentrations of the herbicide original Roundup (glifosato (N-(fosfometil) glicina)).**

The sharp toxicity of the herbicide original Roundup® (Glifosato), one of the more acquaintances and maybe one of the more used dessecantes in direct planting in the farmings in the area Centro Oeste and in every country now, it was investigated through the effects detected in the fish *Poecilia viviparous*. The groups of fish were exposed to varied concentrations of this herbicide, being these in the concentrations of 10, 20 and 40 µl/l of filtered water, for 24 hours, where the gills and the liver were dissected and prepared for the histological analysis.

They were observed and analyzed the behavioral alterations presented by the fish during the exhibition. The medium lethal concentration (CL50) of the herbicide for the species in subject was of 20,79 µl/l, and this value was calculated through the statistical method Trimmed Spearman Karber, available for US-EPA. Techniques of colorations were accomplished as Hematoxilina-eosina (He), Tricrômico of Masson. The intense fusion lamelar happened in the branchial filaments was observed in the groups of 20 and 40 µl/l of Roundup®, the one that suggests be this a defense mechanism. The hepatocytes already presented in the groups of 10 and 20 µl/l a vacuolização process, indicating answers to the cellular stress provoked by the herbicide.

In the group of 40 µl/l, it was observed besides the vacuolização process, intense vasodilatação and a great cellular deterioration and tecidual of the liver of the fish, indicating high necrosis degree caused by the herbicide Roundup® (glifosato).

In spite of the determination of CONAMA (Resolution nº357, 2005) in the which the allowed maximum concentration of glifosato is of 65 mg/L, was obtained one medium lethal concentration (CL50) of the herbicide Roundup® (glifosato) for the fish viviparous Poecilia of 20,79 µL/L of glifosato. Changing for compatible units, it was observed that the lethal dose of 40 µL/L for 100% of the fish, we had a value of 0,42 mg/L, that would be a value very on this side of the allowed by CONAMA.

**Words chaves:** Roundup®, glyphosate, Poecilia viviparous, herbicide, tissue epitelial, gill and liver.

1. INTRODUÇÃO

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a aplicação de herbicidas de ação residual em culturas de milho e soja, em condições de campo, promoveu o controle eficiente de plantas daninhas, reduzindo a competição por nutrientes e água, e aumentando a produtividade das culturas. A utilização de herbicidas de ação residual é uma estratégia eficaz para o manejo de plantas daninhas em sistemas agrícolas, contribuindo para a sustentabilidade e a produtividade das culturas. No entanto, é importante considerar o impacto ambiental e a resistência das plantas daninhas a longo prazo, adotando práticas de manejo integrado e rotacionando os herbicidas utilizados.

Em conclusão, a aplicação de herbicidas de ação residual em culturas de milho e soja, em condições de campo, promoveu o controle eficiente de plantas daninhas, reduzindo a competição por nutrientes e água, e aumentando a produtividade das culturas. A utilização de herbicidas de ação residual é uma estratégia eficaz para o manejo de plantas daninhas em sistemas agrícolas, contribuindo para a sustentabilidade e a produtividade das culturas. No entanto, é importante considerar o impacto ambiental e a resistência das plantas daninhas a longo prazo, adotando práticas de manejo integrado e rotacionando os herbicidas utilizados.

## 1. INTRODUÇÃO

A introdução de herbicidas de ação residual em culturas de milho e soja, em condições de campo, promoveu o controle eficiente de plantas daninhas, reduzindo a competição por nutrientes e água, e aumentando a produtividade das culturas. A utilização de herbicidas de ação residual é uma estratégia eficaz para o manejo de plantas daninhas em sistemas agrícolas, contribuindo para a sustentabilidade e a produtividade das culturas. No entanto, é importante considerar o impacto ambiental e a resistência das plantas daninhas a longo prazo, adotando práticas de manejo integrado e rotacionando os herbicidas utilizados.

## 1. INTRODUÇÃO

Os seres vivos desenvolvem-se com o suporte nutricional que obtém da natureza. Quando eles buscam harmoniosamente a sua sobrevivência, eles não alteram o equilíbrio ambiental e podem se integrar ao meio. A partir do momento que há muitos a alimentar e o quantitativo natural de alimentos não é suficiente para a sobrevivência, variadas espécies podem ser extintas ou diminuir o número de indivíduos.

No caso do homem, pela sua capacidade intelectual, ele torna-se sedentário em algum período da história e inicia as plantações. Maiores e melhores alimentos fornecem condições ótimas para aumento da prole e crescimento populacional requer maiores extensões territoriais a serem cultivadas. Desta forma, o homem segue desmatando e desequilibrando os ecossistemas e assim as pragas começam a surgir.

Diante disto, observa-se que esses processos contínuos de degradação ambiental em vários ecossistemas se iniciaram desde que as comunidades humanas interagiram com os mesmos, modificando-os, a fim de praticarem a sua agricultura de subsistência, e esta sendo muito dependente dos recursos naturais acaba por exaurir muitos desses recursos, e na busca por mais alimentos, ou seja, uma maior produtividade agrícola, o homem se viu obrigado a desenvolver e utilizar os defensivos agrícolas e outros insumos tais como adubos, herbicidas e outros inseticidas também conhecidos como agrotóxicos, para tentar combater o desequilíbrio por ele mesmo causado, porém estes pesticidas se depositam, formando resíduos que comprometem os meios aquáticos e mananciais de água doce de uso de animais e da própria população humana.

Esses resíduos também se acumulam nos alimentos que são consumidos pelo homem, como por exemplo os espécimes de peixes advindos de vários ecossistemas aquáticos e que poderiam estar contaminados com poluentes agrotóxicos de efeito cumulativo, o que causaria grandes danos aos consumidores, o que evidentemente só colabora para deteriorar ainda mais a qualidade de vida dos seres humanos e de todos os seres vivos envolvidos ou não na cadeia alimentar do homem.

O uso de agrotóxicos se tornou praticamente, uma necessidade, pois as grandes extensões de terra onde se realizam os cultivos agrícolas por meio de plantio direto requerem um controle químico cada vez maior. Isto se deve a resistência das ervas daninhas ser cada vez maior a estes agentes químicos, sendo necessário maiores quantidades de produtos, promovendo obviamente uma maior contaminação ambiental, sendo que apenas novas tecnologias não poluentes poderiam resolver os problemas à saúde humana e à contaminação ambiental.

Os processos que se referem à contaminação da saúde humana estão relacionados ao desencadeamento de reações alérgicas a estes agrotóxicos, desde sutis até as mais extensas podendo levar até mesmo a morte, além de serem igualmente danosos a animais e outras plantas que não sejam daninhas

É importante considerar que os compostos tóxicos, que estão vinculados à atividade humana, também interferem negativamente na vida aquática e na qualidade da água, pois estes agrotóxicos possuem persistência variável no meio onde é introduzido, sendo importante compreender os efeitos desses agrotóxicos,

suas principais propriedades físico químicas dos herbicidas, como eles se comportam em meios aquáticos e seus efeitos residuais no meio ambiente, mecanismos de degradação, se por ventura possuem um efeito bioacumulativos, e assim tentar quantificar e qualificar esses possíveis efeitos na cadeia ecológica, pois faz-se o uso elevado e algumas vezes indiscriminado destes produtos, sem se levar em conta os efeitos deletérios potenciais.

Por isso, deve-se prever que tipos de interações podem ocorrer entre estes agrotóxicos e o solo e também entre eles e a água de recursos hídricos. Uma vez que eles após períodos chuvosos, lixiviações entre outros são levados para as águas, acumulam-se nos sedimentos e podem mesmo adsorvidos no solo dos ambientes aquáticos, podendo ser ingeridos por animais. Considerando-se que as lavouras irrigadas situam próximas a rios e a represas, há também a possibilidade não só de contaminação, como também de transporte destes agrotóxicos.

Considerando que estes herbicidas têm grande potencial de contaminação não apenas em solos como em veios de água, é possível levar em conta a provável contaminação de peixes nos rios onde por ventura encontrem-se amostras destes produtos, e como os peixes são excelentes biomonitores em termos de alterações da qualidade do meio onde vivem, é que se realizou este estudo, onde se avaliou o herbicida Roundup® original (Glifosato) bastante utilizado na agricultura no estado de Goiás e em várias regiões do mundo.

Este trabalho teve o intuito de verificar as ações do Roundup® (Glifosato) sobre os peixes, por meio da determinação da CL 50, e avaliação do comportamento animal, da morfologia geral e as alterações histopatológicas, bem como a severidade destas respostas celulares em diferentes concentrações deste.

### **1.1 Objetivos gerais:**

O presente estudo averiguou os efeitos do Roundup® original (Glifosato) sobre os tecidos epiteliais de revestimento (brânquias) e tecido epitelial glandular (fígado) do guaru (*Poecilia vivipara*).

### **1.2. Objetivos específicos**

- Determinar a CL50 por meio do uso de programa de análise toxicológica de livre acesso (Trimmed Spearman-Kärber Method – Versão 1.5);
- Expor peixes a diferentes concentrações do herbicida Roundup® original (Glifosato) pelo período de 24 horas (exposição aguda);
- Analisar as reações comportamentais dos animais expostos ao Roundup® original (Glifosato) e dos animais do grupo controle;
- Determinar alterações morfológicas macroscópicas por meio de dissecação dos animais expostos;
- Comparar as reações dos peixes dos grupos experimentais com os do grupo controle;
- Averiguar as reações teciduais e celulares dos animais do grupo experimental frente ao herbicida Roundup® original (Glifosato);
- Comparar as reações celulares e teciduais averiguadas entre os grupos experimentais e o controle.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2.1 Os agrotóxicos e o meio ambiente:

Desde que o homem fixou-se na terra, deixando a vida nômade e implantando o hábito de cultivar seu próprio alimento a fim de evitar as surpresas que a natureza poderia lhe causar; quando esta por algum motivo ou outro não lhe fornecesse a caça e a pesca, foi que ele iniciou o processo de cultivo a fim de produzir e armazenar os alimentos para dali retirar seu sustento e o de sua família (Soares & Porto 2007).

Essa busca constante por mais alimentos foi o que tornou a agricultura uma atividade “desbravadora”, o que em consequência levou a derrubada de florestas e a destruição de variados biomas. Os ambientes foram destruídos a fim de ceder lugar a insaciável produção de alimentos, sem que se fosse dada nenhuma orientação conservacionistas desses ecossistemas que estavam e que ainda estão em franco processo de devastação (Barbosa & Nascimento 1994, Lambert 1997).

Devido a essa exploração desordenada para formação de espaços agricultáveis nas últimas décadas, tanto o solo quanto os recursos hídricos foram degradados, num esforço de aumentar a produtividade agrícola. Em resposta a isso, não demoraram a surgir às consequências, tais como: a baixa fertilidade do solo e o aparecimento de agentes nocivos às plantas, tudo isso foi a resultante de um desequilíbrio ecológico fomentado pelo próprio homem (Silveira *et al* 2001; Jacques 2003).

Nessa busca constante para preparar a terra para a sua agricultura de subsistência, o homem pouco a pouco foi desenvolvendo novas possibilidades de "controle ambiental". Entre essas possibilidades ele descobriu o poder dos agrotóxicos cujas funções básicas na agricultura incluem a elevação da produção com aumento da produtividade, a melhoria da qualidade dos produtos e a redução do trabalho e dos gastos com energia (Coutinho *et al* 2005).

A descoberta dos agrotóxicos estimulou o crescimento de seu uso, e a sua aplicação pela comunidade rural e urbana tornou se um fator preocupante, pois nem sempre os usuários dos defensivos agrícolas fazem seu preparo e seu uso do modo correto, como é descrito nas especificações do produto, o que pode trazer conseqüências danosas e até irreversíveis não só a quem manipula tais produtos, como também ao meio ambiente, onde esses agrotóxicos podem ser eliminados (Campagna 2005, Vigário 2005).

Neste sentido, o foco da agricultura moderna passou a ser o emprego de tecnologias não poluentes de controle de insetos, doenças e pragas. A tendência dessas novas tecnologias esta baseada na melhoria da qualidade de vida do trabalhador e das condições do meio ambiente, por isso torna se necessário repensar o conhecimento sobre pesticidas e herbicidas, assim como as ações e os efeitos que danosos que estes possam vir a causar ao meio ambiente e as populações humanas direta ou indiretamente relacionadas à aplicação destes produtos (Spadotto 1996; Lambert 1997; Oliveira-Silva *et al* 2001; Rieder *et al* 2004).

Assim, é preocupante a ação desordenada de ocupação que vêm sendo realizada pelo homem desde os mais remotos tempos até os dias atuais. Um dos exemplos recentes foi o processo de ocupação agropecuária da região Centro-Oeste do Brasil, região cujo principal bioma é o Cerrado, que apesar de muito rico em biodiversidade, possui solo pobre e que necessita de vários tipos de correções para a produção agrícola (Barbosa & Nascimento 1994, Dores & Freire, 2001).

Essa exploração agrícola dos cerrados é dependente de insumos, como calcário, fertilizantes e herbicidas é o atual modelo tecnológico, responsável pela expansão da produção de commodities em grandes áreas de terra, tem provocado sérios problemas ambientais não só como a poluição do meio ambiente, mas também a degradação do solo, redução da quantidade e da qualidade de água, perda da biodiversidade e ocorrência de pragas oportunistas que adquirem caráter endêmico (Barbosa & Nascimento 1994, Rodrigues *et al* 2005).

Assim a produtividade mais baixa provocada pela perda da qualidade do solo implica na ocupação de maiores extensões territoriais para manter a mesma produção agrícola, torna o processo cada vez mais invasivo para o meio ambiente, e ameaça as áreas de reserva ambiental, pois se torna cada vez mais necessário o desmatamento a fim de se obter novas áreas agricultáveis, incorrendo também nos casos mais extremos na degradação das matas ciliares e podendo expandir o processo erosivo para os leitos dos córregos e rios. (Rodrigues *et al* 2005).

Pesquisas realizadas por Stone & Moreira 2000, Rodrigues *et al* 2005, identificaram a necessidade de técnicas de cultivo que em considerassem os impactos ambientais causados por essas plantações, entre as quais se enquadra o sistema do plantio direto – uma técnica que causa menor desgaste do solo,

reduzindo, assim, os efeitos nocivos do processo de erosão dos solos e sedimentação dos recursos hídricos. A técnica de plantio direto – PD – é um processo de semeadura em solo não revolvido, no qual a semente é colocada em sulco, ou em covas, com largura e profundidade suficiente para obter uma adequada cobertura e um adequado contato da semente com a terra. Nesta técnica de plantio direto, o meio ambiente sofreria um menor grau de agressão, pois a palhada que permanece no solo após o processo de dessecação auxilia na prevenção dos processos erosivos, além de ser fonte de nutrientes, aumentando a microbiota do solo. (Stone & Moreira 2000, Silveira *et al* 2001, Jacques 2003).

Apesar destas novas técnicas, o homem ainda é refém dos defensivos químicos uma vez que o controle de pragas, doenças e ervas daninhas nesta técnica (PD) são feitos geralmente com fungicidas e herbicidas como, por exemplo: o 2,4-D, paraquat e também do glifosato. Estes agentes possuem ação dessecante prévia. Não raras são as combinações de vários químicos como ocorre com na formulação da substância de nome Tordon.

Estes produtos, via de regra são associados, com práticas mecânicas e outras culturas específicas. O plantio direto é caracterizado pela semeadura realizada diretamente sobre os restos culturais do cultivo anterior, sem nenhum preparo do solo como a aração e gradagem, porém usando defensivos. A principal vantagem do plantio direto é que os resíduos vegetais advindos da técnica do plantio direto têm maior permanência na superfície do solo, protegendo-o contra o processo erosivo no período entre dois cultivos. (Rodrigues *et al* 2005, Jacques 2003).

A partir dos anos 60 foram desenvolvidos vários estudos que resultaram em um conjunto de métodos tecnológicos que passaram a ser impostos, consolidando a "Revolução Verde". Ela estava fundamentada na tentativa na melhoria do desempenho dos índices de produção agrícola, tentando se utilizar todo e qualquer artifício que implementasse a produção agrícola e se disseminou entre os agricultores, aumentando de fato essa produtividade; porém, criou-se uma estreita dependência a essa tecnologia, fazendo-se aumentar o custo do cultivo agrícola (Stone & Moreira 2000, Rodrigues *et al* 2005).

Do ponto de vista ambiental, esta revolução foi responsável pelos processos erosivos, pela degradação dos solos, pela perda de fertilidade dos solos, pela perda de diversidade genética e pela utilização de matriz energética fóssil considerada altamente poluidora (diesel, gasolina), além da contaminação dos recursos hídricos, solo, alimentos, animais e o próprio homem, pelos químicos agrícolas que são citotóxicos, carcinogênicos e mutagênicos em sua maioria (Li 1988; Peluso 1998; Braguini 2005).

No Brasil, desde o século passado, eram utilizados venenos caseiros, à base de soda cáustica, querosene, carvão mineral, azeite de peixe entre outros produtos. Até a década de 40, deste século, foram muito usados produtos botânicos (piretro, rotenona e nicotina), que eram até exportados. Venenos inorgânicos também foram usados, como o sulfato de tálio, cianeto de cálcio, carbonato de bário e sulfato de cobre que é até hoje utilizado (Amarante *et al* 2002; Dallegrave 2002).

De acordo com Amarante, 2002, esses compostos químicos continuam a surgir até os dias atuais e, de acordo com o seu aparecimento, eles foram classificados, segundo uma sucessão de gerações, existindo os agrotóxicos de 1ª geração, que seriam os primeiros a serem utilizados, sendo obtidos a partir de minerais e de produtos botânicos, sendo classificados como orgânicos e inorgânicos, tendo como exemplo o enxofre, o arsênico, as nicotinas e piretrinas naturais.

Na 1ª geração, podemos encontrar ainda os chamados pesticidas organo minerais, que seriam os óleos minerais. Na 2ª geração, esses pesticidas se dividem em classes tais como os organo sintéticos, que tem como exemplares os fumigantes como a fosfina, os organofosforados, como o paration e o malation e os pesticidas carbamatos como o carbofuran (Furadan) e alguns piretróides como a permetrina.

Foram muito grandes o avanço tecnológico dos defensivos agrícolas e das muitas mudanças e inovações conforme a necessidade do mercado, Uma dessas inovações estaria o advento das culturas transgênicas, resistentes a algumas pragas, as quais por modificação genética favoreceriam a planta para se tornar menos susceptível a química do herbicida, o uso de herbicidas vem sendo cada vez mais disseminado, principalmente em regiões agropastoris (Barbosa *et al.* 1994; Carneiro 1997).

Os defensivos agrícolas compreendem uma categoria especial de insumos que promovem benefícios indiretos à produtividade, uma vez que o objetivo de sua utilização é o de evitar a perda nas safras, provocada pelo ataque prejudicial de pragas e doenças às culturas. Diferem, portanto, das outras categorias de insumos agrícolas, como fertilizantes, corretivos e sementes melhoradas, produtos que, se

bem utilizados, promovem aumentos substanciais de produtividades (Baptista 1999; Stone & Moreira 2000; Aguiar *et al* 2001).

Os herbicidas são os tipos mais utilizados, pois eles são largamente empregados em culturas agrícolas, terrenos florestais, jardins e campos. São muitas vezes, aplicados em ambientes lânticos como lagos para controlar o crescimento exagerado de algas, plantas submersas, flutuantes ou emergentes (Spadoto 1996, Aguiar *et al.* 2001, Brito 2001, Amarante *et al* 2002, Tsui & Chu 2003).

O uso indiscriminado e a combinação de diferentes classes de agrotóxicos tornou-se problema de difícil solução em relação à ecotoxicologia, tanto nos ecossistemas terrestres como aquáticos (Rodrigues *et al* 2005, Vigário 2005), propiciando cada vez mais a contaminação tanto dos seres humanos quanto de animais e do meio ambiente.

Apesar do risco a que estes herbicidas nos remetem, alguns desses compostos herbicidas cuja aplicação é autorizada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) para uso em ambientes aquáticos incluem: glifosato, endotal, fluridona, diquat e o 2,4-D (Cox, 1998, Helfrich *et al.* 2001, Vigário 2005).

## **2.2. O herbicida Glifosato: Roundup® original**

### **2.2.1 Características gerais:**

A molécula do glifosato ou (glifosato(N-(fosfometil) glicina)) , teve sua descoberta na década de 1950, tendo sua propriedade herbicida desenvolvida por cientistas da Monsanto Company no início da década de 1970 e sua comercialização iniciada em 1974, quando seu uso foi aprovado nos Estados Unidos.

Dentre os herbicidas a base de glifosato, o Roundup® original é um dos mais bem aceitos e, utilizados entre os agricultores do mundo todo, inclusive no Brasil. O glifosato ou Roundup®, que é utilizado no Brasil desde 1978 em numerosas condições de agricultura, áreas urbanas, manutenção de estradas e ferrovias, envolvendo inúmeras formulações comerciais, produzidas por empresas com diferentes níveis tecnológicos, e de acordo com dados da Monsanto Co, 2007 de 2007, não há evidências cientificamente comprovadas de impactos importantes no ambiente, porém alguns artigos do IDEC em jornais denunciam vários resultados de pesquisas que ressaltam efeitos deletérios do Roundup tanto em seres humanos quanto em animais.

No ano de 2000, mais de 150 marcas comerciais já eram vendidas em 119 países. No Brasil, há mais de 25 marcas disponíveis comercializadas por cerca de 18 empresas nacionais e multinacionais.(Monsanto Co 2007)

O uso do glifosato e seus congêneres se disseminaram no Brasil com a introdução do advento do Plantio Direto (PD), inicialmente na região Sul do Brasil e posteriormente na região Centro-Oeste.

Como já descrito anteriormente, esta é uma técnica de manejo e conservação de solos onde se utiliza um herbicida com poder dessecante ou seja não é necessário o uso de máquinas a fim de gradear ou arar o solo, apenas utilizando o produto químico adequado, se consegue o efeito desejado, conseguindo exterminar todo e qualquer tipo de erva ou resteva indesejada, e assim procedendo o plantio da semente, se conservando a palhada seca. Contudo, não raras são as consorciações de métodos (Silveira & Stone 2001).

Em 1974 Roundup® original foi registrado pela primeira vez para uso na Malásia e no Reino Unido e dois anos depois nos Estados Unidos, o Roundup® original é uma associação do glifosato mais um agente surfactante, que pode ser variado, sendo o mais comum o POEA, polietoxilamina.

No Brasil a marca Roundup® original se transformou numa família de produtos. São eles: Roundup® Original, o produto pioneiro a base de glifosato que passou a ser designado desta forma em 1999; o Roundup® WG, tecnologia posterior que tem sua apresentação comercial na forma granulada lançada em 1997 e o Roundup® Transorb que com a sua inovadora tecnologia a partir de aprimoramento dos anteriormente citados permite que o produto chegue mais rápido e em maior quantidade aos tecidos das plantas daninhas (Monsanto Co. 2007).

Outra formulação, Rodeo, contém o sal de isopropalamina sem o surfactante e é usado primariamente para controle de meio aquáticos em alguns países, dentre eles os Estados Unidos. No Brasil a Monsanto não mais fabrica a versão Roundup® Rodeo (Tsui & Chu 2003).

Limites de tolerância e intervalos de segurança para glifosato em alimentos, estabelecidos pela ANVISA<sup>22,23</sup>.

Alimentos	Tolerância	Intervalo de segurança
<b>Frutos</b>		
Ameixa, citrus, maçã, nectarina, pêra, pêssego, uva.	0,2 ppm	15 dias
Banana	0,02 ppm	15 dias
<b>Cereais</b>		
Aroz (grão)	0,2 ppm	ND*
Aroz com casca	0,5 ppm	ND*
Aroz (farelo)	1,0 ppm	ND*
Milho	0,1 ppm	ND*
Trigo	0,05 ppm	ND*
<b>Sementes oleaginosas</b>		
Algodão	3,0 ppm	45 dias
Soja	2,0 ppm	45 dias
<b>Outros produtos</b>		
Café (grão)	1,0 ppm	15 dias
Chocolate	0,1 ppm	30 dias
Cana-de-açúcar	1,0 ppm	30 dias
Palmito	0,2 ppm	ND*
Seringueira	Uso não alimentar	ND*
<b>Limite de resíduo não intencional</b>		
Fígado e rim bovinos, caprinos e aves	0,1 ppm	

ND\* = intervalo de segurança não determinado devido a modalidade de emprego, plantio direto e quebra de dormência.

Figura 1: Tabela mostrando o intervalo de segurança entre as aplicações de glifosato.

Fonte: Amarante 2002

Quando o glifosato é aplicado, parte do produto é diretamente absorvida, ficando nas plantas daninhas, e parte é depositada no solo, sendo posteriormente degradada por bactérias presentes neste. A parte do produto que é retida nos tecidos vegetais contribui para reduzir sua disponibilidade no ambiente, e este produto somente irá atingir o solo quando a matéria seca dessas plantas daninhas for decomposta pelos organismos heterotróficos do solo e na maior parte das

vezes não mais como glifosato e sim como seu produto de degradação ( Coutinho *et al* 2005; Castro Junior *et al* 2006).

Por outro lado, o glifosato é um composto orgânico dipolar e, por isso, apresenta rápida e alta taxa de adsorção aos óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio e à matéria orgânica do solo, como evidenciado em diversos estudos, inclusive em solos brasileiros (Wardle & Parkinson 1990, Haney *et al* 2000, Amarante *et al* 2002, Castro Junior *et al* 2006).

Tal fato praticamente elimina o risco de absorção radicular da molécula pelas culturas no mesmo ecossistema nas doses normalmente recomendadas em bula. Devido aos quatro mecanismos de ligação apresentados, que podem inclusive atuar concomitantemente, sendo que o principal deles para solo sob clima tropical é a formação de ligação covalente dativa com os óxidos metálicos do solo que é semelhante à adsorção específica dos fosfatos inorgânicos, a sorção do glifosato torna-se um processo irreversível (Wardle & Parkinson 1990, Amarante *et al* 2002).

Sendo assim, na dinâmica das substâncias dos solos, a sorção do glifosato e de seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), coloca-os na categoria de resíduo-ligado (Amarante *et al* 2002). O resíduo-ligado é a fração do defensivo que não retorna à solução do solo e dessa forma torna-se totalmente indisponível para absorção pelas plantas.

Em condições de campo, a inativação do glifosato é ainda mais rápida, pois ali surgem fatores que não são controlados, tais como uma maior atividade microbiana, o que acarreta aceleração da degradação do glifosato; maiores concentrações de cátions metálicos, principalmente o cálcio proveniente da

calagem e também das fertilizações, os quais formam complexos com o glifosato; uma maior instabilidade da umidade do solo nas camadas superficiais, que normalmente concentra as moléculas na superfície externa dos colóides e, assim, acelera o processo de adsorção na matriz coloidal do solo; e maior variação da temperatura do solo (Araújo *et al* 2005, Campagna 2005).

Estudos em solos brasileiros mostraram que, em argissolo vermelho-amarelo de textura média, a meia-vida do glifosato foi de apenas 8 a 9 dias e não houve influência do histórico de uso do produto. O mesmo se observou em latossolo argiloso, no qual a meia vida do produto foi de 12 dias no solo sem aplicação prévia de glifosato de 22 dias no mesmo solo, após 11 anos de aplicação do produto. Ainda que a meia-vida tenha mostrado pequena variação no solo com o histórico de aplicação do produto, a persistência do glifosato nas condições de solos tropicais em geral é muito curta (Araújo *et al.*, 2005, Castro Junior *et al* 2006).

A degradação do glifosato no solo é muito rápida e realizada por grande variedade de microrganismos que usam o produto como fonte de energia e fósforo, por meio de duas rotas catabólicas, produzindo o ácido aminometil fosfônico (AMPA) como o principal metabólito, e sarcosina como metabólito intermediário na rota alternativa (Wardle & Parkinson 1992, Amarante *et al* 2002, Yu *et al* 2005; Castro Junior *et al* 2006).

### 2.2.2. Estrutura química do glifosato e seus derivados:

O glifosato é o único representante do grupo dos aminoácidos fosfonados com real importância. O glifosato foi sintetizado a partir da substituição de um hidrogênio aminico do aminoácido glicina pelo radical fosfônico (Coutinho *et al* 2005, Aladesanwaa 2005).

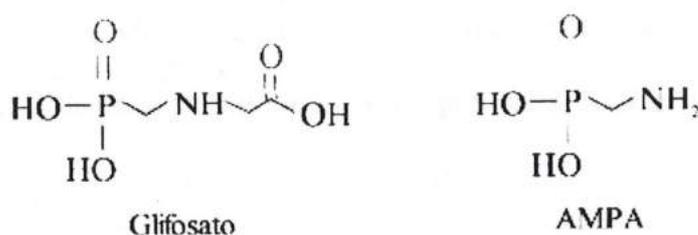


Figura 2 : Fórmula estrutural do glifosato e seu principal metabólito: Acido aminometilfosfônico

Fonte: Amarante 2002.

Atualmente, o herbicida glifosato (N-(fosfonometil) glicina), não seletivo, sistêmico, pós-emergente, contabiliza um total de US\$ 1,2 bilhão/ano em vendas do produto. Este produto vem sendo utilizado desde 1971, quando foi descrito pela primeira vez como herbicida, desde então três tipos de glifosato têm sido comercializados, esses são: o glifosato-isopropilamônio, o glifosato-sesquisódio (patenteado por Monsanto) e o glifosato-trimesium (patenteado por ICI, atual Syngenta), sendo vendido a concentrações de 48% (m/v) e as doses aplicadas são em torno de 1 a 5 l/ha (Cox 1998; Amarante *et al* 2002).

Os alvos do glifosato incluem plantas de folhas largas anuais e perenes, existindo formulações comerciais deste herbicida que podem ser utilizadas nas entrelinhas de cultura de cacau, citrus, soja, algodão e milho; sendo utilizado também, como dessecante em plantio direto; na maturação de cana de açúcar e

também, pode ser aplicado na água para o controle de plantas daninhas aquáticas (Arnaud 1993, Cox 1998, Amarante *et al* 2002).

Seja como sal de amônio ou sódio, glifosato é um organofosfato, e como tal é inibidor da enzima colinesterase de modulação endócrina. O glifosato tem fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$  (m.m.=169,1g/mol) e na forma de sal de isopropilamônio, apresenta-se acrescido do grupo  $(CH_3)_2CHNH_3^+$  (m.m.=228,2g/mol).

Em condições ambientais, tanto glifosato quanto seus sais são sólidos cristalinos muito solúveis em água (12g/L a 25° C, para glifosato) e quase insolúveis em solventes orgânicos comuns tais como acetona e etanol, entre outros. Este herbicida se funde a 200°C, possui densidade aparente de 0,5g/cm<sup>3</sup> e se apresenta bastante estável em presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a 60°C. Em ambientes aquáticos, a toxicidade do glifosato é acentuada com o aumento da temperatura e do pH (Amarante *et al* 2002).

Variados fatores do meio ambiente como pH e diferenças na temperatura foram diagnosticados como fatores modificadores da toxicidade de herbicidas, como por exemplo o glifosato (Chu & Tsui, 2003). Por não conter grupos cromatóforos, o glifosato não absorve a radiação eletromagnética visível, não sendo detectado por métodos colorimétricos ou fluorescência, a não ser de forma indireta ou com devida derivatização. (Smith & Raimond 1988; Amarante *et al.* 2002).

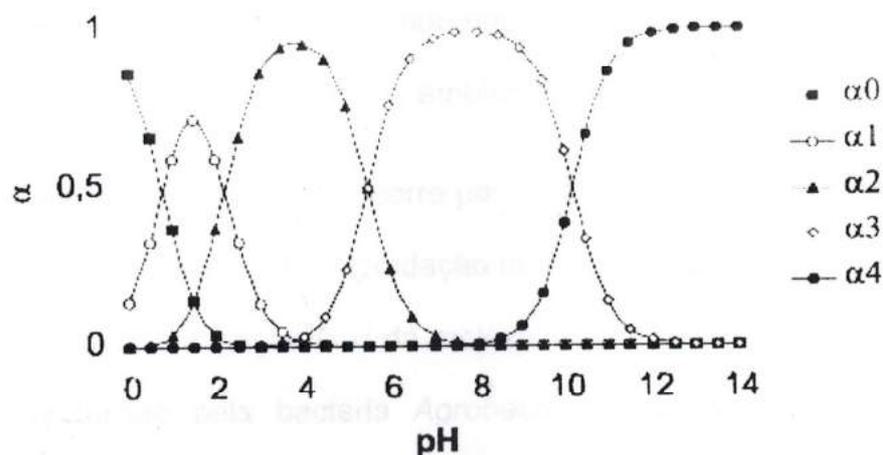
Para aumentar a eficiência na eliminação das plantas daninhas, pode se utilizar glifosato misturado a outros herbicidas, tais como formulados a base de 2,4-D, terbutilazina, simazina, alaclor e diuron, por exemplo, podendo ainda ser e, em consequência, manifestar potencial de desregulação endócrina (Dallegrave, 2005),

Estudos indicam que o glifosato mais o seu surfactante é ainda mais tóxico que apenas o glifosato utilizado sozinho (Cox 1998, Willian 2000, Wane 2002, Tsui 2003, Boon 2005; Gehin *et al* 2006), pois as plantas tratadas com glifosato morrem lentamente em questão de dias ou até semanas, devido ao transporte do glifosato por todo o sistema da planta, nenhuma parte da planta sobrevive (Amarante *et al* 2002; Coutinho *et al* 2002).

O glifosato altera todos os diferentes processos bioquímicos vitais em plantas, como a biossíntese de aminoácidos aromáticos, proteínas e ácidos nucléicos.(Coutinho *et al* 2005).O herbicida é absorvido pelos tecidos vivos da planta e transportado pelo floema para raízes e rizomas, cujo principal mecanismo de atuação é inibir a enzima específica enolpiruvil shikimato 3 fôfato sintase (EPSP), impedindo a síntese de três aminoácidos aromáticos que são precursores de outras substancias como alcalóides, flavonóides e lignina (Amarante *et al* 2002).

Nas plantas o glifosato pode afetar as enzimas não associadas à rota do ácido shiquímico. Na cana de açúcar, ele reduz a atividade de uma das enzimas envolvidas no metabolismo do açúcar. Inibe também uma importante enzima de detoxificação nas plantas.

O Roundup® original afeta as enzimas encontradas nos mamíferos como nos estudos demonstram que nos ratos, o Roundup aumentou a atividade de duas enzimas de detoxificação no fígado e de uma enzima intestinal (Dallegrave 2002, Benedetti 2004, Brake 2004, Dallegrave 2005, Gludczak *et al* 2006).



*Grau de dissociação do glifosato construído a partir dos valores de  $K_a$  ( $\alpha_0$ , composto com uma protonação;  $\alpha_1$ , composto apresentando uma dissociação;  $\alpha_2$ , molécula com duas dissociações;  $\alpha_3$ , molécula com três dissociações;  $\alpha_4$ , composto totalmente dissociado)*

Figura 3 - Grau de dissociação de glifosato.

Fonte: Amarante 2002.

### 2.2.3. Biotransformação e toxicidade do glifosato:

Quando a molécula de um herbicida como por exemplo o glifosato chega ao solo, ela pode sofrer os processos de degradação e sorção, e os resultados destes dois processos podem ser: a absorção da molécula pelas plantas, a lixiviação da molécula para camadas subsuperficiais do solo, podendo até mesmo atingir os cursos de água subterrâneos, ou a formação de resíduos ligados.

De acordo com Campagna 2005, quando qualquer tipo de material orgânico como as palhadas são adicionadas a um solo em que foi aplicado um determinado herbicida, este material pode influenciar de duas maneiras no comportamento da molécula: aumentando a sorção do herbicida, indisponibilizando-o, ou ativando a microbiota do solo e, assim, promovendo um aumento de sua degradação e assim diminuindo a sua persistência no meio ambiente e no solo.

A degradação do glifosato ocorre por meio de microorganismos, sendo que existem duas vias principais de degradação microbiana desse herbicida. A primeira envolve a clivagem da ligação C-P da molécula de glifosato pela ação da enzima C-P liase produzida pela bactéria *Agrobacterium radiobacter* que resulta na produção de sarcosina. A segunda via envolve a clivagem da molécula com produção de ácido amino metilfosfônico (AMPA) a partir de *Flavobacterium sp.* O tempo de meia vida do glifosato no solo pode variar de dias até anos, dependendo do tipo de solo e dos microorganismos presentes, o que também evidencia que tipo de impacto este herbicida poderá a este ecossistema local (Amarante *et al* 2002, Coutinho *et al* 2005, Castro Junior 2006).

As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente em questão de dias ou até semanas, devido ao transporte do glifosato por todo o sistema da planta, nenhuma parte da planta sobrevive (Amarante *et al* 2002; Coutinho *et al* 2002). A ocorrência de glifosato em águas subterrâneas foi citada uma única vez, no estado do Texas, EUA, porém a concentração medida não foi especificada. A aplicação direta como herbicida em águas superficiais pode ser responsável pela presença de glifosato em água de consumo humano (Cox 1998).

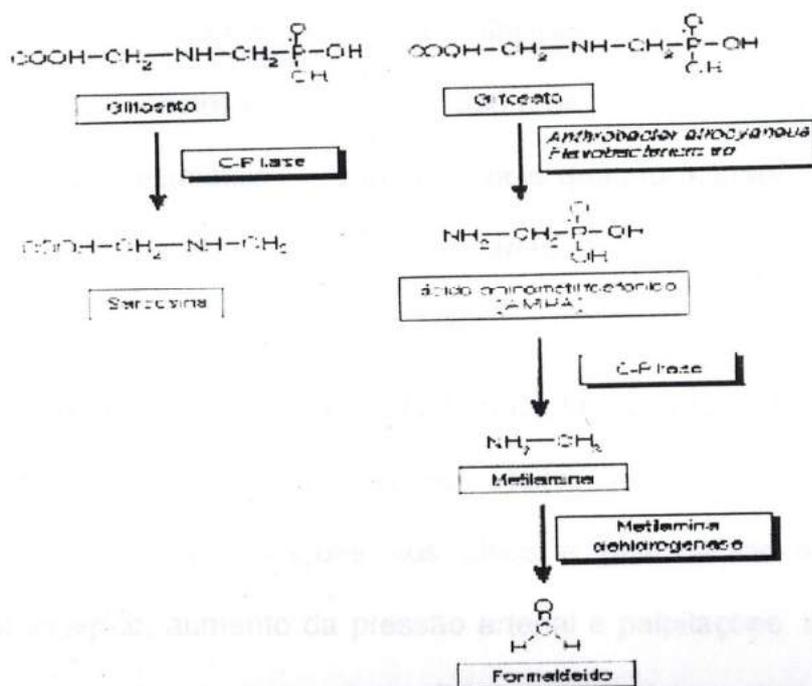


Figura 4 - Via de degradação do glifosato por bactérias no solo.

Fonte: Amarante 2002.

Este potencial de desregulação endócrina já foi descrito em nível de RNA mensageiro em trabalhos que demonstraram o quanto o glifosato é tóxico para vários tipos celulares inclusive células placentárias humanas JEG3, pois se verificou que o Roundup® original se mostrou mais tóxico que o seu próprio precursor glifosato, pois ele interrompe a atividade da aromatase que é uma enzima responsável pela síntese estrogênica, e afeta as células também a nível de RNA mensageiro, que poderia inclusive ter um efeito de bioacumulação em culturas celulares (Dallegrave 2002, Richard *et al* 2005, Boon 2005).

Apesar de o glifosato ser citado como pouco tóxico, há evidências de seus efeitos deletérios ao meio ambiente, principalmente devido à resistência adquirida por algumas espécies de ervas após uso prolongado do herbicida. O glifosato pode inibir a ação enzimática nos animais, pois quando injetado em abdome de ratos causou a diminuição da atividade de várias enzimas (Amarante *et al.* 2002, Boon 2005).

Outros autores já não acreditam nesta baixa toxicidade, como Cox 1998 e Dallegrave 2002, que apregoa vários efeitos deletérios do roundup a homens e animais, tais como irritações nos olhos e pele, dores de cabeça, náuseas, entorpecimento, aumento da pressão arterial e palpitações, todos esses sintomas apresentados por pessoas que aplicaram o produto, sejam em lavouras ou até mesmo em casa, pois nos EUA, o uso do glifosato e seus congêneres em jardins domésticos é muito comum.

Outros estudos realizados com ratos em exposição crônica ao Roundup® original indicaram que ele pode ainda causar efeitos de intoxicação tais como: aumento da massa relativa do fígado e dos rins. Tais dados foram obtidos por meio de investigações que diagnosticaram alterações histológicas nestes órgãos. Verificaram-se também alterações reprodutivas que incluíram a redução na produção diária do número de espermatozóides, aumento no percentual de espermatozóides anormais, a diminuição dos níveis de testosterona e alterações histológicas nos testículos, caracterizadas por congestão dos vasos, degeneração das espermátides e degeneração tubular (Alvarez 2004, Dallegrave, 2005, Boon 2005.).

O National Toxicology Program (NTP), o programa americano que estuda e testa vários tipos de produtos com potencial Tóxico nos EUA, promoveram estudos sobre toxicidade subcrônica a médio prazo, utilizando também ratos e camundongos onde foram detectadas lesões microscópicas nas glândulas salivares de todos ratos testados sob a dosagem de 200 a 3400 mg/kg por dia, e em todos os camundongos testados com uma dose mínima de 1.000 a 12.000 mg/kg por dia onde eles puderam relacionar tais lesões estavam relacionadas com o efeito que o glifosato causa a glândula supra renal e na liberação do hormônio adrenalina (Cox 1998). Os estudos do NTP também relataram vários efeitos deletérios em fígado, pois observou-se o aumento de enzimas hepáticas, além de alterações do tamanho e peso de fígado e rins de ratos e camundongos (Hietanen 1983, Cox 1998).

Apesar da Monsanto Co afirmar que de acordo com seus estudos o glifosato não provoque alterações ou danos genéticos, outros estudos têm demonstrado que tanto o glifosato puro quanto os produtos a base de glifosato como por exemplo o Roundup® original, tem um possível potencial mutagênico (Cox 1998, Peluso 1998, Monroy 2005).

De acordo com artigo de Cox 1998 em testes com drosófilas utilizando Roundup® e Pondmaster® que seria um herbicida aquático composto de glifosato e surfactante comercial secreto de uso mais comum nos Estados Unidos, observaram que estes aumentaram a frequência de mutações letais recessivas associadas ao sexo levando em conta que existem mutações normalmente visíveis apenas nos machos (Li 1988).

Em estudos sobre linfócitos humanos demonstrou um aumento na frequência de trocas de cromátides irmãs, ou seja, as trocas de material genético durante a divisão celular entre membros de um par de cromossomos que resultam de mutações pontuais, após a exposição a uma dose mínima de Roundup® (Cox 1998, Grisolia 2005, Julie 2005).

Em bactérias *Salmonella*, o Roundup® mostrou-se levemente mutagênico sob duas concentrações. Em células das raízes da cebola, o Roundup® aumentou as aberrações cromossômicas, também sob baixas concentrações.

Todas essas informações obtidas por esses estudos se contrapõem ao que preconiza o que a Monsanto Co em seus manuais informativos sobre o glifosato e seus congêneres, que apregoa que o glifosato seria muito pouco tóxico.

A toxicidade aguda deste pesticida é considerada baixa, de acordo com a OMS, a DL50 oral de glifosato puro em ratos é de 4.230 mg/kg, enquanto que o fabricante Monsanto cita DL50 de 5600 mg/Kg. De acordo com dados da Anvisa – Agencia de Vigilância Sanitária – aumentou em 50 vezes os índices de tolerância dos resíduos de glifosato remanescentes. Atualmente, o máximo tolerado é de 10 miligramas por quilo.

Em estudo feito na Universidade de Caén em Ontário - Canadá, cientistas avaliaram os efeitos da formulação de Roundup® e de glifosato sozinho em cultura de células placentárias humanas. De acordo com a pesquisa onde foram feitas exposições de culturas de células placentárias em concentrações de 1 a 2 % de Roundup em água por 18, 24 e 48 horas eles perceberam que o Roundup é mais tóxico que o seu precursor glifosato puro, pois o Roundup® possui em sua formulação um surfactante, ou seja, uma substância que auxilia na sua penetração

nos tecidos celulares vegetais denominados polietoxilato de etilamina (Wanee 2002, Boon, 2005), sendo que alguns destes são irritantes sérios, podendo causar também sérias irritações nos olhos, sistema respiratório e pele de seres humanos (Adam 1997, Amarante *et al*, 2002, Dallegrove 2005.).

Os testes de efeito crônico do glifosato sugeriram que este pode causar defeitos crônicos de nascimento (má-formação) em determinadas espécies de animais quando administrado em doses elevadas e por um longo período de tempo. Tal dado foi obtido em estudos com ratos, os quais após o período experimental demonstraram perda de peso, descarga nasal e morte de matrizes grávidas, além de desordens digestivas.(Cox 1998, Boon 2005, Dallegrove 2005).

Além disso, esse estudo diagnosticou que o Roundup® poderia também interferir nos aparelhos reprodutores dos animais, pois após testar por 18, 24 e 48 horas Roundup® original (glifosato) na concentração de 2% em água em culturas de células placentárias observou se a diminuição da atividade da aromatase, (que é uma enzima que regula a síntese de estrógenos). Essa atividade da aromatase foi mensurada de 1 até 18 horas, sendo verificada sua diminuição, e por isso houve morte de até 90% das células em cultura (Bonn *et al* 2005, Richard 2005).

Apesar dos “benefícios” no controle de plantas “daninhas” que assolam culturas e plantações em todo o mundo, não podemos desconsiderar também os malefícios que o uso descontrolado destes herbicidas pode causar a todo o ecossistema, pois a deposição indiscriminada de resíduos aliada à alteração dos ecossistemas está tornando não confiável o abastecimento de água para as cidades, e em consequência tem sido observada a redução na qualidade do pescado e alterações fisiológicas reprodutivas nos peixes, o que modifica a

quantidade de exemplares disponíveis para o consumo (Helfrich *et al*, 1996).

Por serem usados em larga escala, durante longos anos de cultivos intensos, os agrotóxicos como os herbicidas estão muito presentes no meio ambiente e tem, muitas vezes, o final do seu percurso nas águas dos rios e dos mares e seus efeitos sobre a vida aquática podem ser devastadores, com intoxicações maciças, ou insidiosos permanecendo indetectáveis durante algum tempo, e por isso são muito perigosos para a saúde pública (Helfrich 1996, Aguiar *et al*, 2001, Vigário 2005).

A intensidade do uso de pesticidas e seus efeitos no meio ambiente e à saúde humana exigem estudos de suas principais propriedades físico-químicas. Além disso, devem se prever suas interações com o solo e a possibilidade de contaminação e transporte, quando dissolvidos em água ou associados a sedimentos (Brito *et al*, 2001, Grisolia 2005).

O glifosato presente no meio ambiente tende a ser inativo em contato com o solo, desde que seja adsorvido por este, mas como quase sempre este é rapidamente adsorvido no solo, o glifosato não é facilmente lixiviado, sendo pouco provável a contaminação de águas subterrâneas, o que não impede a contaminação de rios por meio de sedimentos que turvam essas águas (Haney 2000, Amarante *et al* 2002).

Em raras ocasiões, o herbicida tem sido detectado em amostras de água. Mas, em geral, isto ocorre devido à dificuldade de separação deste composto na água, pois o glifosato é um composto altamente polar, sendo extraído de amostras aquosas juntamente com cátions metálicos e anions inorgânicos, o que dificulta ainda mais a sua extração. (Wardle 1990, Amarante *et al* 2005.).

O Glifosato é considerado pouco tóxico em relação à classificação toxicológica e medianamente tóxico quanto à periculosidade ambiental de acordo com a ANVISA. Sua alta solubilidade em água e baixa solubilidade em lipídios não sugerem tendência de bioacumulação, sendo considerado pelos autores mais antigos como pouco tóxico aos vertebrados, e por ser degradado e inativado por bactérias presentes nos solos, ele não permanece ativo no solo, sendo também firmemente adsorvido ao solo logo após a sua aplicação (Amarante *et al* 2002, Grisolia 2005).

O glifosato apresenta características muito específicas, o que dificulta seu monitoramento em solo e água, sua determinação é de grande relevância devido à sua ampla utilização. A extração em amostras de solo tem sido realizada principalmente com reações ácido-base, sendo extremamente afetada pelas propriedades e composição do solo. Bases fracas orgânicas, como trietilamina, são eficazes apenas para extração do composto livre, não sendo capaz de extrair o composto adsorvido (Subramaniam 1988, Rieder *et al* 2004). Solos com maior teor de matéria orgânica apresentaram melhores recuperações, enquanto os minerais e argilosos apresentam recuperações inferiores devido à interação com os sítios iônicos do solo (Amarante *et al* 2002, Rieder *et al* 2004, Rodrigues *et al* 2005).

O glifosato e seus derivados são produtos tóxicos para os peixes e outros organismos aquáticos, como já foi dito em geral o glifosato puro é menos tóxico que seu sub-produto como, por exemplo: o Roundup® original, seus demais subprodutos e metabólitos possuem toxicidade intermediária. Parte desta diferença pode ser explicada pela toxicidade do surfactante (ingrediente similar a detergente) no Roundup. Este é 20 a 70 vezes mais tóxico para os peixes do que

o glifosato propriamente dito (Cox 1998, Amarante *et al* 2002). O índice de toxicidade aguda do glifosato varia substancialmente: concentrações letais médias ( $LC_{50}$ ; concentrações que matam 50% de uma população de animais testados) de 10-200 ppm têm sido reportadas, dependendo da espécie do peixe e condições dos testes.

A atividade genética do glifosato tem sido investigada em diferentes sistema-teste e os resultados de mutagenicidade são contraditórios, pois vários estudos apontam efeitos mutagênicos enquanto outros não. Essas diferenças podem ser explicadas pelos modelos experimentais utilizados e pelo tipo de formulação estudada (Peluso 1998, Rodrigues *et al* 2005).

A toxicidade aguda ( $LC_{50}$ ) do Roundup® pode variar de 2- 55 ppm<sup>2</sup> parte desta variabilidade se deve à idade, quanto mais jovem, mais os peixes serão sensíveis ao Roundup®. Sob condições de água mole, há pouca diferença entre a toxicidade do glifosato e Roundup. Foi observado também, que quando os peixes não eram alimentados recentemente, a toxicidade do glifosato ( $LC_{50} = 2.9$  ppm) é muito similar a do Roundup® (Yu 1979, Cox 1998, Tsui 2003). Observou se que a toxicidade do Roundup® aumenta com o aumento da temperatura da água, logo o tratamento das áreas ribeirinhas com glifosato causa aumento de temperatura da água durante vários dias após o tratamento porque o herbicida elimina a vegetação que produz sombra nos leitos dos rios, o que torna o uso do glifosato ainda mais prejudicial para os peixes e outros organismos aquáticos (Amarante *et al* 2002).

### 2.3. O uso de *Poecilia vivipara* como modelo biológico:

Considerando-se a ampla utilização do glifosato em todo o mundo, torna-se importante um estudo para avaliar suas propriedades físico-químicas, interações com componentes da água e do solo e seus efeitos nas células dos animais aquáticos especificamente em peixes. Neste sentido, o presente estudo se propõe a investigar os efeitos do glifosato sobre as células das brânquias, e hepatócitos de do guaru (*Poecilia vivipara*). Estes peixes pertencem à ordem Cyprinodontiformes e família Poeciliidae, são teleósteos cosmopolitas do continente americano, vivíparos e adaptáveis ao cativeiro onde se reproduzem com facilidade, é um espécime neotropical, de baixo custo de manutenção, fácil manipulação, pequeno porte e que vêm sendo estudado em diversos aspectos pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Comportamento Celular – ICB – UFG.

Tal escolha também se deu pela sensibilidade demonstrada ao herbicida 2,4-D (Vigário, 2005), quando diagnosticaram-se várias alterações celulares em concentrações relativamente baixas e em exposição aguda.



Figura 5 – Fotografia lateral do guaru *Poecilia vivipara* do sexo feminino.

Fonte [www.fish base.com](http://www.fishbase.com)

#### **2.4. Brânquias e fígado como órgãos alvo:**

As brânquias são estruturas vitais para a saúde dos peixes, pois, além de serem o principal local de trocas gasosas, elas estão envolvidas nos processos de osmorregulação, regulação do volume ácido básico, excreção de compostos nitrogenados e recepção de estímulos, desempenhando ainda a função de órgão sensorial da gustação.

Elas são consideradas objetos primários na detecção de perturbações do ecossistema aquático, pois os poluentes estão em contato direto com estas, e através das trocas gasosas e da regulação de íons que obrigatoriamente deverá haver entre os peixes e o meio aquático contaminante, obrigatoriamente estes poluentes irão afetar o tecido branquial.

Portanto, qualquer alteração nessas estruturas certamente comprometerá a sobrevivência dos peixes (Morgan e Tovell, 1973, Sabóia – Morais *et al.* 1996, Fracacio *et al.* 2003, Vigário 2005).

Devido às brânquias serem pontos de contato direto do peixe com a água, apresentam uma superfície epitelial que faz deste o mais conhecido órgão-alvo dos peixes e o principal local de reação com poluentes ambientais.

As brânquias dos guarus são constituídas por um eixo central, o arco branquial, de onde partem prolongamentos longos em direção à cavidade opercular denominados filamentos branquiais, com projeções curtas que seriam as lamelas, e prolongamentos curtos em direção à cavidade bucal, denominados rastelos branquiais (Vigário 2005).

De acordo com Leonardo (2001), os teleósteos possuem cinco pares de arcos branquiais, onde podem ser encontrados músculos estriados esqueléticos e os quais são constituídos de numerosos filamentos branquiais, os quais possuem lamelas secundárias que são essenciais à respiração, osmorregulação e equilíbrio iônico dos peixes e excreta de compostos nitrogenados, além de células secretoras de muco (mucosas), o qual tem importante papel de proteção contra patógenos e substâncias tóxicas (Vigário 2005).

As lamelas estão situadas a um ângulo reto do eixo do filamento e representam a superfície funcional respiratória, por onde o oxigênio é absorvido e difundido aos tecidos e ao sangue. Os rastelos branquiais desempenham nos guarus a função descrita para os teleósteos, que seria a de limpeza. Porém, em outros peixes esta estrutura pode possuir botões gustativos e desempenhar importante papel sensorial. (Jobling, 1995, Leonardo 2001, Vigário 2005). As lamelas são recobertas por células epiteliais, tendo em seu interior células mucosas e, em peixes de ambientes marinhos, as células clorídricas são responsáveis pela remoção de cloretos do sangue (Takashima e Hibiya, 1995, Leonardo 2001).

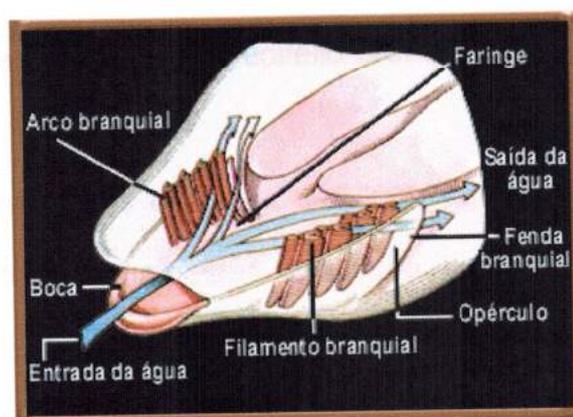


Figura 6 : Filamento branquial de peixe teleosteo.

Fonte: [www.fishbase.com](http://www.fishbase.com)

Muitos agentes patogênicos podem produzir alterações histológicas, como edema e hiperplasia epitelial das lamelas secundárias, infiltração de células epiteliais, fusão lamelar, como também a morte de células mucosas, devido a longos períodos de hipersecreção de muco; alterações estas decorrentes de uma resposta defensiva crônica à infecções parasitárias, bacterianas ou à irritantes químicos (Takashima e Hibiya, 1995, Leonardo 2001).

O fígado dos peixes, e de outros vertebrados, tem importante atuação no controle de várias funções vitais e representa papel primordial no catabolismo e anabolismo geral do indivíduo bem como no metabolismo de xenobióticos. Assim, este órgão é muito sensível a contaminantes ambientais, pois, muitos destes se acumulam no tecido hepático, podendo este órgão ser considerado um bom indicador de saúde para o peixe (Szarek *et al* 2000, Vigário 2005).

A associação entre histopatologias à presença de poluidores aquáticos é direta, pois estudos anteriores já puderam verificar alguns dos efeitos causados pelo Roundup® em peixes tais como lesões histológicas observadas em brânquias

como: hipertrofia e hiperplasia do epitélio branquial, aneurismas lamelares dentre outras (Wanee *et al* 2002).

As lesões hepáticas descritas histo-patologicamente detectadas no fígado de peixes expostos a compostos tóxicos e metais pesados são: hipertrofia, hiperplasia, tumores e aumento do número de hepatócitos, devido ao metabolismo e excreção de xenobióticos (Smith 1992; Szarek *et al* 2000; Wanee *et al* 2002).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Produto químico:

O herbicida Roundup® original (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P) (glifosato) utilizado nos experimentos é fabricado pela Monsanto do Brasil S/A. Registrado no Ministério da Agricultura e do Abastecimento sob o nº898793.

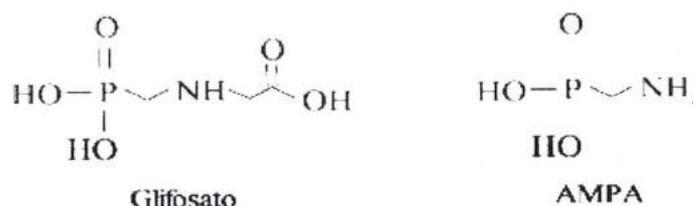


Figura 2: Estrutura química do glifosato e seu principal derivado.

Fonte: Amarante 2002

A formulação utilizada neste trabalho, solução aquosa concentrada é composta por sal de isopropilaminada N(fosfometil) glicina. De glifosato na concentração de 480g/l e o equivalente em glifosato de 360g/l e é de classe toxicológica IV, portanto considerado pouco tóxico para o meio ambiente e cuja classificação de potencial de periculosidade ao meio ambiente é de classe III, ou seja, é considerado perigoso ao meio ambiente. (Monsanto Co, 2007).



Figura 7 : Rótulo com especificações de uso do Roundup® original.

Fonte: [www.Monsantocompany.com](http://www.Monsantocompany.com)

### 3.2. Manutenção dos modelos experimentais:

Os espécimes coletados na represa da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás foram submetidos à aclimação por 24 horas em aquários de 40 litros com oxigenação, temperatura e pH controlados, com ciclo de 12 horas claro / 12 horas escuro e, alimentados uma vez ao dia com ração Alcon Guppies (Alcon Basic Ltda, Santa Catarina, Brasil).

Para se proceder à fase experimental foram utilizados 40 peixes (*Poecilia vivipara*) adultos do sexo feminino os quais foram colhidos aleatoriamente do tanque de manutenção, divididos em cardumes experimentais formados por 5 (cinco) peixes que foram transferidos para aquários os quais continham as concentrações de Roundup® original (glifosato) como descrito abaixo.

### 3.3. Teste de toxicidade:

A concentração letal média (CL50) foi testada a partir da exposição de 5 peixes para cada um dos aquários de manutenção, durante 24 horas, nas concentrações de 10, 20 e 40 µl/L de Roundup® original (Glifosato), sendo que estas concentrações foram escolhidas por serem concentrações crescentes do produto a ser testado.

Foram utilizados 5 (cinco) peixes, também referidos como cardumes experimentais para o procedimento experimental, número de indivíduos este, já preconizados por autores que já trabalham utilizando peixes como modelos biológicos, como por exemplo, Karl Fent. Desta forma, cada grupo era formado por 5 (cinco) peixes.

Estes animais foram coletados aleatoriamente a partir do aquário de manutenção e, em seguida, transferidos aos tanques-testes contendo a substância a ser testada.

O cálculo da CL50 foi realizado pelo programa Trimmed Spearman Karber, disponibilizado pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USA-EPA).

#### **3.4. Avaliação do comportamento animal:**

Desta feita novamente foi replicado o experimento e foi feita a exposição dos animais em aquários com capacidade de 1 litro e foi utilizada água filtrada para a manutenção dos peixes durante a experimentação.

Cada grupo experimental foi composto por 5 animais. Foram montados 4 (quatro) aquários, onde o de número 1 teve água adicionada com 10µl/l de Roundup® original, o de número 2 teve água adicionada com 20µl/l de Roundup® original, o de número 3 teve a água adicionada com 40µl/l de Roundup® original e, o de número 4 constituiu o grupo controle.

Os animais dos grupos experimentais foram expostos ao herbicida Roundup® original (glifosato) nas concentrações supracitadas, durante um período de 24 horas, sendo esta uma exposição aguda.

Os animais foram monitorados por 15 minutos a cada 2 horas (cada grupo) a fim de verificar alterações comportamentais apresentadas por estes. Esse período de observação foi fixado por ser suficiente para avaliar o comportamento dos animais a cada grupo. Os parâmetros utilizados estão reunidos na tabela 1 e para cada concentração era usada uma cópia da tabela e registrado o comportamento dos peixes.

### 3.5. Análise anatómo-patológica:

No término da exposição aguda, de 24 horas, os animais foram observados cuidadosamente a fim de identificar possíveis sinais macroscópicos de alterações anatómo-patológicas. Desta maneira, procedeu-se à dissecação dos animais, os quais foram decapitados e tiveram os órgãos expostos para análise Tabela 2.

### 3.6. Exposição aguda e obtenção de tecidos:

A exposição dos animais foi feita em aquários com capacidade de 1 litro e foi utilizada água potável filtrada para a manutenção dos peixes durante a experimentação. Cada grupo experimental foi composto por 5 (cinco) animais ou seja cada aquário recebeu 5 (cinco) peixes, à água do aquário do grupo 1 foi adicionado 10µl/L de Roundup® original, à do grupo 2 foi adicionado 20µl/L de Roundup® original, a do grupo 3 adicionou-se 40µl/L de Roundup® original e ao grupo 4 se adicionou 40µl/L de água para a determinação da CL50. *Masson. Após*

Depois da determinação da concentração letal média, foram mantidos em análise experimental apenas os grupos 1 e 2 por 24 horas e o grupo 3 era sacrificado na metade do tempo de exposição, ou seja, com 12 horas de exposição, quando os animais já apresentavam todos os sinais de intoxicação.

Os animais dos grupos experimentais foram expostos ao herbicida nas concentrações supracitadas, durante um período de 24 horas, caracterizando a exposição aguda. Os animais foram sacrificados por decapitação, dissecados e em todos os grupos considerados o 2º, 3º e 4º arcos branquiais e o fígado todo foram dissecados preparados para análise morfológica microscópica. Os tecidos foram submetidos à fixação por imersão no fixador de Karnovsky (1% de GTA, 4% de PFA em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2) por 2 horas.

### 3.7. Processamento das amostras:

Após o processo de fixação, os órgãos foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, clarificados em xilol, e posteriormente, inclusos em parafina paraplast (McCormick - USA). Os blocos obtidos foram trimados colados a um suporte de madeira para serem cortados no micrótomo Spencer – Alemanha.

Os cortes obtidos tinham a espessura de 4 $\mu$ m. Essas secções seqüenciais saltadas de tecidos branquiais e hepáticos a serem analisados foram submetidas ao banho-maria na temperatura de 40°C colhidos em lâminas com ponta fosca, já previamente recobertas com Albumina de Mayer.

Após hidratação os cortes foram expostos às técnicas histológicas para análise da morfologia microscópica e, parte deles foram corados com hematoxilina e eosina (H.E.), enquanto outros foram corados com tricrômico de Masson. Após desidratação as lâminas foram montadas com Entelan (Merck - USA). As lâminas de todos os procedimentos histológicos foram analisadas e fotografadas no fotomicroscópio (Olympus-CH 30 - USA).



#### 4.1. Concentração letal média:

A CL 50 foi investigada através da observação dos cardumes expostos (grupo 1, 2 e 3) por 24 horas, onde foi encontrado o valor médio de glifosato (Roundup® original) a ser utilizado para a continuidade do experimento. Averiguou-se que o tempo médio de sobrevivência dos animais do grupo 3, 40µl/L era de 12 horas (Tabela 1).

**Tabela 1 - Concentração letal média de Glifosato ( Roundup® original) em *Poecilia vivipara*.  
Calculada pelo programa Trimmed Spearman-Kärber.**

Concentração µl/L Roundup®	Número de animais expostos	Mortalidade 24 horas
00,00	5	0
10,00	5	1
20,00	5	2
40,00	5	5
<b>CL 50 = 20,79 µl/L de Glifosato ( Roundup® original)</b>		

#### 4.2. Avaliação comportamento animal:

A avaliação do comportamento dos peixes permitiu diagnosticar algumas alterações apresentadas pelos animais expostos as diferentes concentrações do herbicida Roundup® original (glifosato). Os resultados observados durante o experimento estão apresentados na tabela 4, e os parâmetros de análise incluíram a notificação de mortalidade dos peixes nos diferentes grupos e também algumas alterações comportamentais apresentadas pelos peixes avaliados. Assim no grupo 10 µl/l morreu 1 peixe no período de 24 horas, no grupo de 20µl/l morreu apenas 2 peixe no período de 24 horas e, no grupo de 40 µl/l morreram 5 peixes no período de 12 horas.

**Tabela 2. Alterações Comportamentais observadas nos aquários durante 24 horas de exposição de peixes ao herbicida Roundup® original (glifosato):**

AQUÁRIOS	TEMPO (HORAS)				
	0	2	4	8	24
10µL	Normal	Normal	Irritabilidade	Irritabilidade	Irritabilidade
20µL	Irritabilidade	Irritabilidade	Irritabilidade e perda de sentido de direção	Irritabilidade e Perda de sentido de direção	Irritabilidade e Perda de sentido de direção
40µL	Irritabilidade	Irritabilidade Perda de sentido de direção	Irritabilidade Perda de sentido de direção Choques contra a parede do aquário.	Irritabilidade, e perda de sentido de direção e balanço Choques contra a parede do aquário inapetência e perda do mecanismo de fuga	Irritabilidade e Perda de sentido de direção Choques contra a parede do aquário Inapetência, Perda do mecanismo de fuga Midríase
Controle	- Comportamento não alterado (livre natação, socialização, alimentação regular).				

#### 4.3. Exames macroscópicos: Anatomia patológica:

Do início até o final das exposições, os animais foram observados, ainda nos aquários, a cada 2 horas, para detecção de alterações fisiológicas externas ou macroscópicas.

Os peixes apresentaram as seguintes alterações: Após 4 horas de exposição ao Roundup original, todos os peixes apresentaram dilatação pupilar, sendo que os peixes do grupo de 40  $\mu\text{L/L}$ , apresentaram se estáticos, com pouca movimentação. Quanto ao quesito alimentação, apenas o grupo controle permaneceu normal, sendo que os demais grupos, perderam o interesse pela ração.

Os peixes do grupo de 40  $\mu\text{L/L}$  também apresentaram sinais de vasodilatação e hemorragia nas brânquias, se comparado ao grupo controle.

A análise anatômo-patológica detectou vesícula biliar aumentada, com grande volume acumulado de bile, na coloração verde escura, sendo que esta característica foi observada em todos os grupos testados, exceto no grupo controle. Se observou também intensa hemorragia nas brânquias do grupo de 40  $\mu\text{L/L}$ , houve também alterações da pigmentação do tegumento dos peixes de todos os grupos experimentais, havendo também alteração da coloração hepática, apresentando também vasodilatação e aumento do tamanho deste, observou-se que em todos os peixes dos grupos onde se adicionou o herbicida houve midríase pupilar.

**Tabela 3 – Dados anátomo-patológicos averiguados após a exposição dos animais dos grupos experimentais e controle.**

Órgãos / Reações	Hemorragia	Pigmentação	Integridade	Hipertrofia	Midríase
Fígado	Presente	Coloração escura	Órgão edemaciado	Presente	
Brânquias	Presente de forma muito intensa no grupo de 40 µ/L	Sem alteração	Sem alteração	Sem alteração	
Vesícula Biliar	Sem alteração	Coloração verde escura	Órgão edemaciado	Presente	
Tegumento	Sem alteração	Coloração escura	Sem alteração	Sem alteração	
Olho	presente	Sem alteração	Sem alteração	Sem alteração	Presente em todos os grupos

#### 4.4. Toxicidade aguda:

##### 4.4.1. Análise histológica:

##### A. Brânquias:

##### Grupo Controle

Observando-se os aspectos gerais das brânquias do peixe *Poecilia vivípara* do grupo controle, foi possível diagnosticar as seguintes características: As brânquias tinham morfologia geral íntegra com regiões diferenciadas em rastelo, arco e filamentos, sendo que estes últimos eram formados por pequenas expansões muito numerosas, as lamelas (Figura 8).

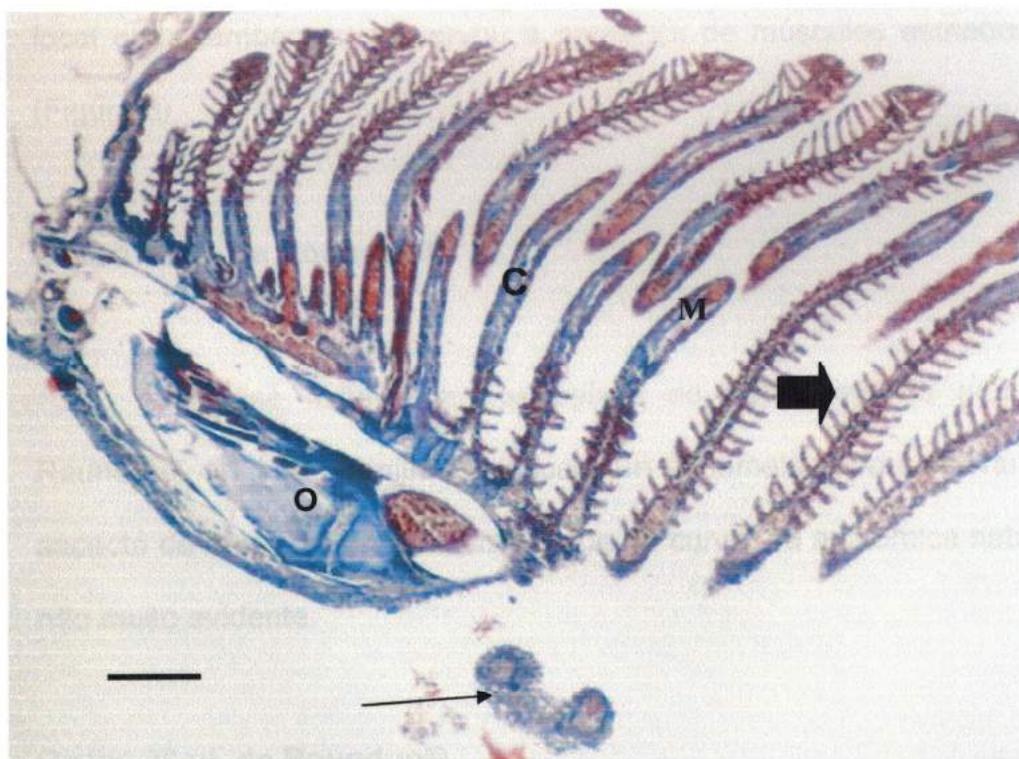


Figura 8 – Estrutura geral do arco branquial de peixe do grupo controle. Observa-se em C – cartilagem hialina do filamento; M – músculo do eixo do filamento; O – tecido osteóide do arco branquial; seta larga – lamelas com curvatura normal; seta estreita – células mucosas tipo IV no arco branquial. Técnica: Tricrômico de Masson; Barra de aumento 15 mm = 35  $\mu$ m.

No epitélio de revestimento do arco e das regiões interlamelares dos filamentos que era do tipo pavimentoso estratificado com micropregas havia a presença de células indiferenciadas em contato com a superfície basal, células neuroepiteliais; células pavimentosas e células mucosas do tipo I no ápice do filamento; tipo II e III na região intermediária e base dos filamentos; e tipo IV no rastelo branquial.

As lamelas mantiveram a curvatura natural, e são recobertas por epitélio pavimentoso simples. O suporte das brânquias é feito por tecido osteóide, iniciando calcificação. Já o eixo dos filamentos é mantido por cartilagem hialina, local onde também se observou a presença de músculos estriados esqueléticos (Figura 8).

#### **Grupo 10 µL de Roundup®**

A análise histológica dos peixes do tratamento do grupo de 10 µL/L Roundup® original permitiu identificar que as lamelas apresentavam um início de aspecto de rigidez e também uma perda da curvatura anatômica natural, apesar de não muito evidente.

#### **Grupo 20 µL de Roundup®**

No tratamento de 20 µL/L com Roundup® original, a análise histológica permitiu observar também pequeno número de alterações, como aspecto de rigidez e perda da curvatura anatômica natural do rastelo (Figura 8).

A alteração morfológica mais evidente é a descamação epitelial e a grande quantidade de células mucosas observadas, demonstrando que já há intensa mudança no comportamento tecidual e celular.

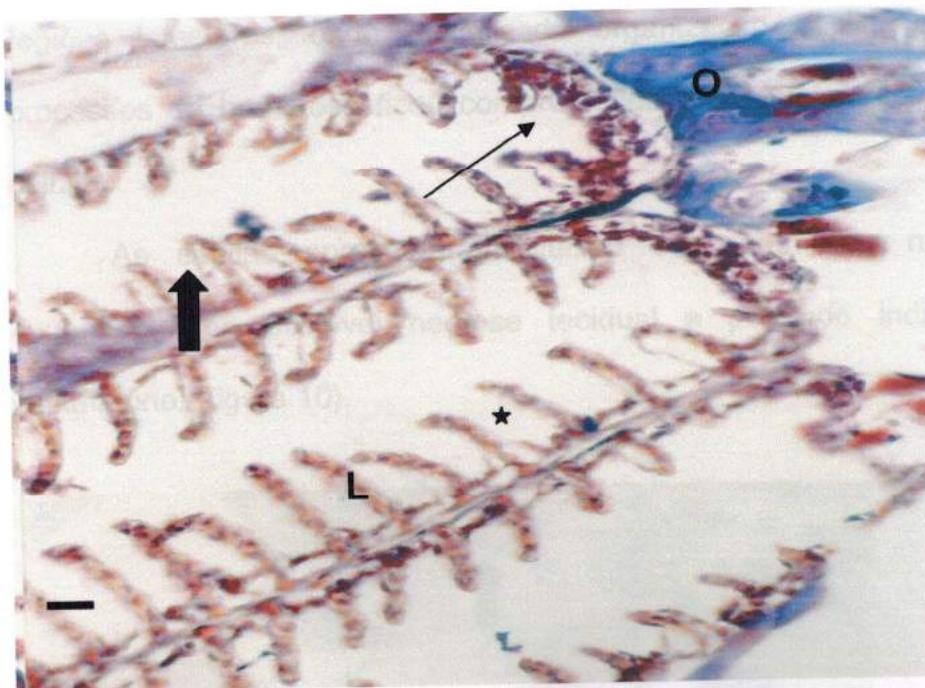


Figura 9 – Detalhe dos filamentos branquiais de peixe exposto ao Roundup original por 24 horas na concentração de 20  $\mu\text{L/L}$ . Evidencia-se com seta larga a descamação do epitélio de revestimento das lamelas; com seta fina a grande quantidade de células mucosas tipo III. É possível verificar a perda de curvatura nas lamelas (L), a descamação do epitélio interlamelar (\*) e em (O) o tecido osteóide. Técnica: tricrômico de Masson. Barra de aumento 6,8mm = 40  $\mu\text{m}$

#### Grupo 40 $\mu\text{L}$ de Roundup®

Foi neste tratamento de 40  $\mu\text{L/L}$  de Roundup® original, que foram observadas com intensas mudanças morfológicas, onde as lamelas aparecem colabadas ou fusionadas, sendo difícil distinguí-las, devido à fusão das mesmas. Os tecidos estavam em hiperplasia, reação esta que pode ser atribuída à formação

de massas celulares com alterações hiperplásicas, as quais levam à hipertrofia. Em muitos locais foi possível verificar infiltração celular com formações de “papos” que constituem os aneurismas. Há sinais de hemorragias principalmente nas regiões lamelares, onde a delicada organização capilar que possibilita os processos de hematose ficou comprometida por rompimentos do epitélio e das células.

As células apresentaram núcleo com cromatina muito condensada, sugerindo uma possível necrose tecidual e podendo indicar um processo inflamatório (Figura 10).

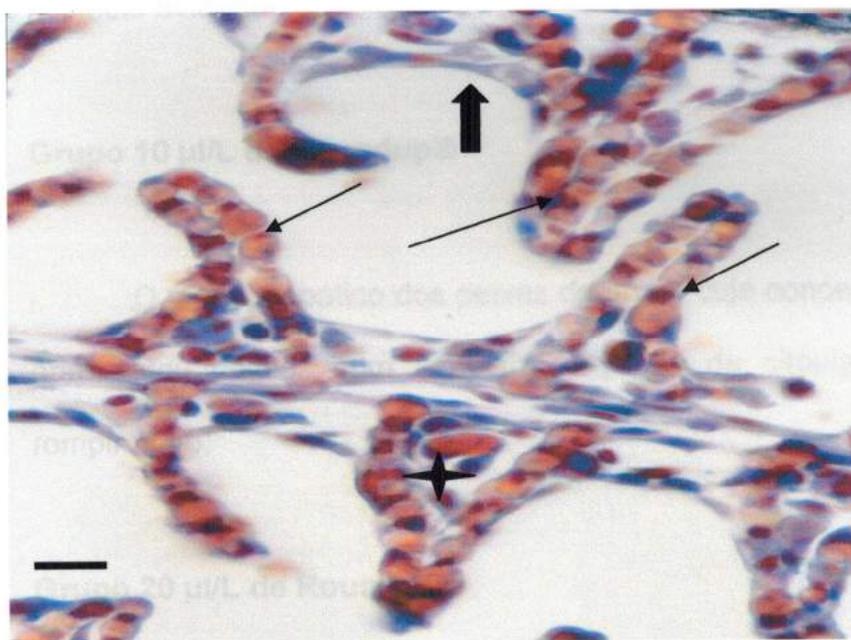


Figura 10 – Fotomicrografia em detalhe das lamelas branquiais de peixe exposto à concentração de glifosato 40  $\mu\text{L}$  por 12 horas. Observou-se a presença de aglomerados celulares (\*), intumescimento que promove em outras regiões aneurismas. As setas estreitas destacam a fusão lamelar e Enquanto a seta larga evidencia hipertrofia e descamação epitelial. Técnica: tricrômico de Masson, Barra de aumento 10,3mm = 20 $\mu\text{m}$ .

## **B) Fígado:**

### **Grupo Controle**

No tecido hepático dos peixes do grupo controle verificou-se a presença de regiões especiais que são estruturas pancreáticas formando conjuntos celulares diferenciados e nas suas proximidades foi identificada a presença de ductos.

Os hepatócitos estavam distribuídos em cordões hepáticos regulares a partir da veia central, sinusóides, com hemácias nucleadas evidentes, citoplasma basófilo com distribuição homogênea, núcleo com cromatina descondensada e nucléolo evidente.

### **Grupo 10 µl/L de Roundup®**

O tecido hepático dos peixes do grupo cuja concentração de 10 µL, o tecido apresentou células com aspecto de perda de citoplasma e alguns locais de rompimento.

### **Grupo 20 µl/L de Roundup®**

Nos peixes deste tratamento, o processo de vacuolização citoplasmática mostrou é inicial mas, verificam-se hepatócitos com processos avançados de alterações celulares. Contudo o núcleo ainda possui integridade e a cromatina está descondensada com nucléolo evidente. Aparentemente os capilares sinusóides e as veias centrais estão com calibre normal. O citoplasma dos hepatócitos ao ser

analisado pelo método H.E. apresentava coloração eosinofílica em tons semelhantes ao observado para o grupo controle. (Figura 11).

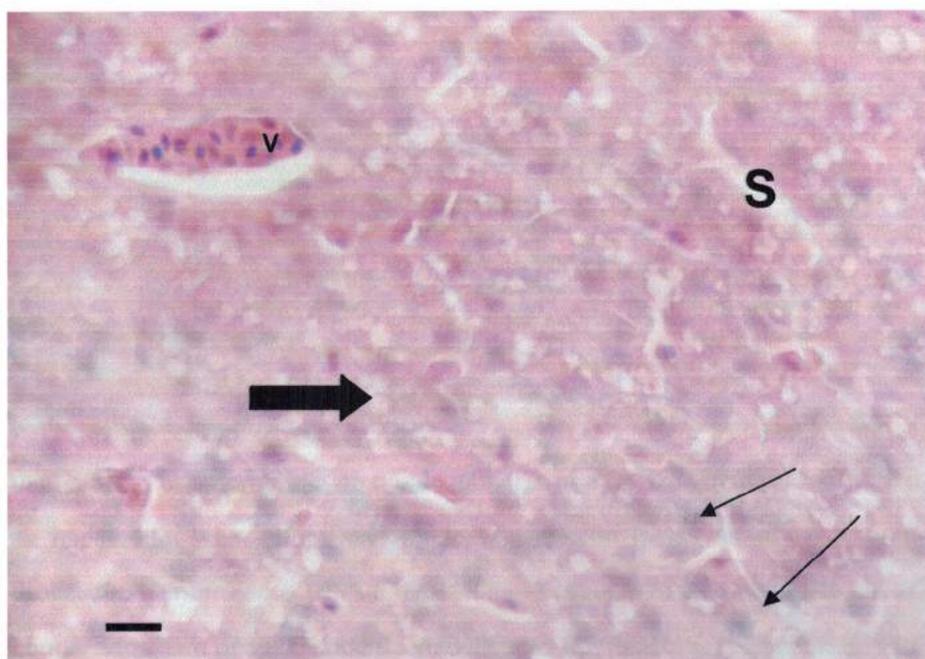


Figura 11 – Fotomicrografia do fígado de peixe que foi exposto a concentração de  $20\mu\text{L}$  onde observa-se hepatócitos com citoplasma iniciando processo de vacuolização (seta maior), início de vasodilatação (V) e presença de sinusoides (S). Os hepatócitos possuem núcleo preservado, ou seja, com cromatina pouca condensada com possibilidade de visualização de nucléolo. Técnica: H.E. – Barra de aumento:  $15\text{ mm} = 35\ \mu\text{m}$

#### Grupo $40\ \mu\text{L}$ de Roundup®

Neste grupo, foram observados vasos sanguíneos alterados indicando vasodilatação, hepatócitos com núcleo edemaciado. Em todos os grupos experimentais foi observada a existência de vacuolização citoplasmática e o tecido hepático apresentou alto grau de fibrose e necrose (Figura 12).

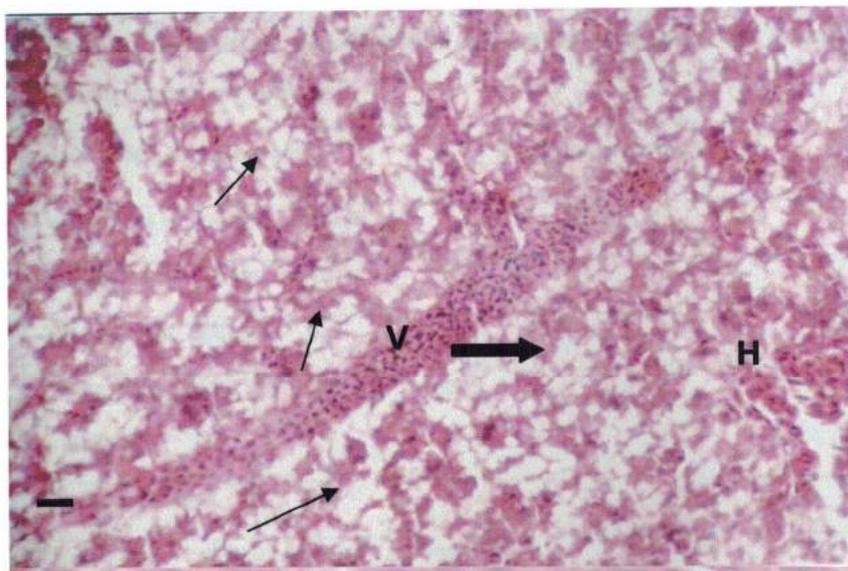


Figura 12 – Fotomicrografia do fígado de peixe que foi exposto a concentração de  $40\mu\text{l/L}$  onde observa-se hepatócitos com citoplasma muito vacuolizado (setas estreitas), vasodilatação (V) e traços de processos hemorrágicos (H). Os hepatócitos possuem núcleo picnótico, ou seja, com cromatina muito condensada sem possibilidade de visualização de nucléolo. Técnica: H.E. – Barra de aumento:  $5,2\text{ mm} = 50\ \mu\text{m}$ .

Diante das reações observadas nos órgãos estudados (hepático e branquial) pôde-se classificar as resposta celulares e tecidos como de Classe I quando havia modificações suaves que marcavam uma resposta celular e tecidual mais tênue. Classe II quando as alterações celulares e teciduais já caracterizavam uma ação tóxica mais intensa, com comprometimento parcial de certas regiões celulares e teciduais e, por fim aqueles de Classe III, nos quais a severidade dos casos torna irreversível os danos celulares e teciduais e neste caso os animais vão a óbito.

**Tabela 4 - Classificação de alterações histológicas observadas em *Poecilia vivipara* expostos a amostras de glifosato (Roundup® original).**

Alterações histológicas	Estágios ocorrentes	Concentração µl/L
Hipertrofia e hiperplasia branquial:		
Hipertrofia de células epiteliais	I	10,20
Adelgamento epitelial	I	
Deslocamento ou elevação de células epiteliais.	II	20,40
Ruptura epitelial	II	
Hiperplasia de células epiteliais na base lamelar secundária	I	20,40
Hiperplasia de células epiteliais ao longo de toda lamela secundária	I	20,40
Fusão parcial na base ou no topo das lamelas secundárias	I	20,40
Fusão completa de algumas lamelas secundárias	I	20,40
Fusão completa de todas lamelas secundárias.	II	40
Hipertrofia/Hiperplasia de células mucosas	I	40
Presença de células mucosas nas lamelas secundárias.	II	40
Alterações nos vasos sanguíneos das lamelas branquiais e no Fígado:		
Dilatação de capilares	I	10,20
Ruptura de capilares ocasionando hemorragia	II	40
Fibrose	III	40
Necrose	III	



## 5.0 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A concentração ou dose letal média (CL50) do herbicida Roundup® original (Glifosato) para o peixe *Poecilia vivípara*, calculada neste trabalho, é de 20,79 µ/L, sendo que este valor foi obtido pelo método de Trimmed Spearman Karber, concedido pela USEPA.

Segundo informações contidas no rótulo do produto Roundup® original (glifosato), é indicado de acordo com as especificações do fabricante que o mesmo deve ser utilizado para cada tipo de cultura em dosagens por hectare pré-estabelecidas. Entretanto, nem sempre as pessoas que manuseiam esta substância, no meio agrícola, seguem as especificações contidas no rótulo, por serem analfabetas ou por descaso com as mesmas.

Desta maneira, devido a essas condições, pode haver um aumento considerável na concentração do herbicida, o que poderá acarretar impactos de grande magnitude no meio ambiente. Este herbicida, Roundup®, é um dos mais utilizados no meio agrícola, devido à técnica do plantio direto, não só na região Centro Oeste, como em outras regiões do Brasil e em todo o mundo.

As alterações de comportamento observadas, tais como irritabilidade, perda do sentido de direção e balanço, contorção, midríase, convulsão, choques contra a parede do aquário, perda do mecanismo de fuga e falta de interesse pelo alimento, durante o experimento, permite sugerir que estas são o primeiro tipo de resposta apresentada pelo peixe quando exposto ao contaminante.

A intensidade de mudanças comportamentais está intimamente relacionada com a toxicidade da substância ou das substâncias agressoras presentes no meio ambiente, por isso, tais alterações comportamentais podem ser utilizadas como

parâmetro para identificação e controle de qualidade do meio ambiente.

O peixe *Poecilia vivípara* utilizado no experimento, foi considerado um modelo biológico excelente, pois além de ser um modelo aquático nativo, com moderada sensibilidade, permite ampliar o espectro de informações importantes sobre o efeito do Roundup® original (glifosato) no peixe, pois nesta espécie foi diagnosticada respostas satisfatórias nos ensaios toxicológicos, tanto comportamentais quanto morfológicos.

Os espécimes utilizados apresentaram, também tanto alterações comportamentais animais quanto celulares quando colocados na água contaminada pelo herbicida.

Os estudos e as análises realizados neste trabalho sugerem uma relação positiva entre a exposição do peixe *Poecilia vivípara* ao herbicida Roundup® original (glifosato), pois verificou-se a ocorrência de alterações histopatológicas nas brânquias e fígado deste animal, provenientes do efeito do herbicida.

Vários autores (Szarek, 2000, Pieniazek, 2004, Monroy, 2005, Peterson, 2006, Oliveira, 2007), confirmam que durante a exposição do peixe ao glifosato, pode-se verificar essas alterações histopatológicas, tanto em brânquias, quanto em fígado, como também em outros órgãos do peixe.

As brânquias dos peixes são os primeiros órgãos a entrar em contato com o ambiente externo, pois são a porta de entrada de pesticidas através da água por elas filtradas, para tanto elas necessitam ser estruturas capazes de se adaptar eficientemente às variações ambientais e assim apresentar estratégias adaptativas para conservar algumas funções fisiológicas vitais do peixe.

O fígado do peixe, como de outros animais, apresenta uma função impar, pois é o principal órgão com ação detoxificante nos organismos, podendo metabolizar ou acumular substâncias tóxicas, a fim de impedir que outros órgãos mais vulneráveis sejam atingidos; porém por essa ação, sofrerá várias alterações morfológicas e fisiológicas, que poderão inclusive prejudicar sua função vital ao longo dos tempos.

Por tais motivos, esses órgãos foram considerados como alvo principal dos contaminantes e poluentes aquáticos e assim foram escolhidos como objeto de estudo a fim de se detectar essas alterações nos peixes.

O aspecto de rigidez das lamelas, observado nos grupos expostos a 10 e 20  $\mu\text{I/l}$ , mostra uma resposta compensatória à redução da região respiratória, na tentativa de ampliar o espaço interlamelar e assim aumentar a superfície das trocas gasosas; no grupo de 40  $\mu\text{I/l}$ , as alterações hiperplásicas do epitélio branquial sugerem uma resposta bastante contundente ao contaminante agressor, pois na tentativa de aumentar a secreção de muco a fim de proteger o órgão verificou-se um grande aumento na quantidade de células mucosas observa-se também as fusões lamelares, indicando também este ser um mecanismo de defesa, pois diminui a superfície respiratória das brânquias susceptíveis à ação do herbicida glifosato.

As alterações histopatológicas evidenciadas nestes estudos podem ser utilizadas como indicadores de toxicidade em peixes e a alta biodisponibilidade de fatores contaminantes na água, é sempre um fator adicional na sensibilidade desses organismos ao estresse e às variações do meio ambiente.

Os peixes são bioindicadores eficientes no meio ambiente, pois eles participam de funções diferentes no ecossistema, sofrem bioacumulação, respondem a substâncias mutagênicas, resistindo a estas em baixas concentrações, enfim detectam a ação de poluentes nos meios aquáticos.

Escolhemos o peixe o *Poecilia vivipara* como biomarcador e o glifosato como agente contaminante o qual iremos expor nosso modelo, e assim iremos proceder as análises histológicas dos órgãos escolhidos tais como brânquias e fígado, as quais indicarão as respostas biológicas a uma situação desfavorável que se refletirão nas alterações destes órgãos, porque freqüentemente a exposição por um determinado tempo nem sempre provoca a morte direta do organismo, mas sim afeta as estruturas e funções destes órgãos vitais. (Wanee & Parkinson 2002, Fracacio *et al* 2003).

O muco secretado pelas células mucosas no epitélio interlamelar das brânquias dos peixes, é umas substâncias gelatinosas, responsáveis pela proteção contra patógenos, tem função lubrificante, protege os peixes de danos por abrasão e tem papel primordial na osmorregulação. Em sua composição podemos encontrar sais, proteínas, glicoprotéínas e água.

Essas glicoprotéínas são compostas por açúcares, mas também estão presentes galactose, glicose, ribose, galactosaminas, glicosaminas, variando na quantidade e na qualidade de acordo com a espécie.

As mucinas são glicoproteínas que protegem as mucosas de agressões ambientais e ocorrem tanto nos vertebrados quanto nos invertebrados.

Nos peixes as mucinas estão relacionadas com o mecanismo de proteção

das brânquias. Mucinas com alto teor de ácido siálico, também chamadas de sialomucinas, são as responsáveis pela alta viscosidade do muco. A viscosidade do muco aumenta quando a concentração de íons ou do fator de agressão do meio ambiente diminui, assim o muco é responsável também pela manutenção do equilíbrio osmótico e também auxilia nas trocas gasosas.

Assim, quanto maior a viscosidade do muco, menor serão seu potencial transportador, acarretando o desequilíbrio osmótico e dificultando o mecanismo respiratório dos peixes.

No fígado exposto a 10 e 20  $\mu\text{l/l}$ , foram observados hepatócitos vacuolizados, com aspecto esponjoso (espongiose hepática), há também a presença de vasodilatação de sinusóides hepáticos.

Nos grupos expostos à concentração de 40  $\mu\text{l/l}$ , foram observados um enorme número de alterações como intensa vacuolização, vasodilatação intensa dos sinusóides e cromatina muito densa, indicando a presença de núcleo picnótico.

As avaliações clássicas dos efeitos biológicos de substâncias químicas em organismos aquáticos têm se baseado nos resultados dos testes de toxicidade e alterações nos padrões morfológicos e fisiológicos.

Esta padronização forneceu um meio eficiente e de custo moderado para o monitoramento dos efeitos deletérios potenciais do herbicida Roundup® original (glifosato) em peixes *Poecilia vivípara*.

O presente estudo sobre os efeitos tóxicos do herbicida Roundup® original (glifosato), constitui-se em importante ferramenta no auxílio de possíveis riscos a espécies de peixes similares no meio aquático, principalmente nos rios e

mananciais de água doce, e assim podem contribuir na determinação de parâmetros ecotoxicológicos e morfológicos em casos de contaminação com agentes tóxicos e também no caso de contaminação por glifosato.

A espécie escolhida, o *Poecilia vivípara* se afirma como ótimo bioindicador, por ser uma espécie nativa e de moderada sensibilidade, que se adaptam bem ao trabalho em condições laboratoriais e por apresentar respostas fisiológicas rápidas e significativas frente às alterações do meio ambiente por poluentes químicos, tais como o glifosato.



AGUIAR, D.C.R., HONRADO, H.R.R., CORREIA, R.B. Intoxicação em peixes por pesticidas utilizados na agricultura. Lisboa: FMV-UTL, 2001.

ADAM, A.; MARZUKI, A.; RAHMAN, H.A.; AZIZ, M.A. The oral and intratracheal toxicities of Roundup and its components to rats. *Vet. Human Toxicol.*, Manhattan, v.39, nº 3, p. 147-151, 1997.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/manual/anexo\\_03.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/manual/anexo_03.htm).

Capturado em 01 junho de 2007.

ALADESANWAA, R.D., OLADIMEJIB M.O. Optimizing herbicidal efficacy of glyphosate isopropylamine salt through ammonium sulphate as surfactant in oil palm (*Elaeis guineensis*) plantation in a rainforest area of Nigeria. *Crop Protection* 24 (2005) 1068–1073.

ARNAUD, L.; RAVANEL, P.; ANDING, C.; TISSUT, M. Penetration and Effects of Glyphosate in Isolated Potato Mitochondria. *Phytochemistry*, Oxon, v.32, p. 9-14, 1993.

AMARANTE, O.P.J.; SANTOS, R.C.T ; BRITO, N.M., RIBEIRO; M.L. Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. São Paulo – SP.: *Química Nova*, 25(4): 254-257, 2002.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R.T.R.; ABARKELI, R.B. Effect of glyphosate in the microbial activity of two Brailian soils.r: *Chemosphere*, v. 52, p. 799-804, 2003.

BONN, D. Weed killer adjuvants may boost toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 1113(6): 302-12,2005.

BAPTISTA, G. C. Toxicologia, Meio Ambiente, Legislação. Brasília: Associação

- Brasileira de Educação Agrícola Superior (ABEAS). Curso de Especialização por Tutoria a Distância (Módulo 8), p. 33, 1999.
- BARBOSA, A. S.; NASCIMENTO, I.V. Cultura e ambiente em áreas do sudoeste de Goiás. In: Pinto, M.N. **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectiva**, 2<sup>a</sup> ed. Editora da Universidade de Brasília, Brasília – DF., pp. 75 -108, 1994.
- BENEDETTI, A. L.; VITURI, C. L.; TRENTIN, A. G.; DOMINGUES, M. A. C.; ALVAREZ-SILVA, M. The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide Glyphosate-Biocarbonate. **Toxicol. Lett.**, Shannon, v. , p. , 2004.
- BRAGUINI, L.W., Efeitos da deltametrina e do glifosato sobre parâmetros do metabolismo energético mitocondrial sobre membranas artificiais e naturais e experimentos in vivo. Tese de doutorado em Ciências Bioquímicas- Universidade Federal do Paraná- UFPR-Curitiba-2005.
- BRAKE, G.D.; EVENSON P. DONALD. A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mousefetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. **Food and Chemical Toxicology** 42 (2004) 29–36.
- BRITO, N.M.; AMARANTE, O.P.J.; ABAKERLI, E.; SANTOS, T.C.R.; RIBEIRO, M.L. Risco de contaminação de água por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 11,93-104, jan/dez.2001.
- CAMPAGNA, F. ALINE; Toxicidade dos sedimentos da bacia hidrográfica do rio Monjolinho (São Carlos-SP). Ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro. Dissertação para obtenção de título de mestre em zootecnia –USP.Pirassununga, 2005.
- CARNEIRO, D.M. Fitoterapia e a medicina atual ou Os médicos e a fitoterapia.

**Plantas medicinais do Cerrado. Mineiros – GO**, FIMES, 1997, pp. 149 -152.

CASTRO JUNIOR, V. JOÃO; SELBACH, ALBERTO PEDRO; ZACHIAAYUB, MARCO ANTONIO. Avaliação do efeito do herbicida glifosato na microbiota do solo  
**Pesticidas: r: Ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v.16, p-21-30, Jan/dez 2006.

CAUBLE, K.; WAGNER, R. S. Sublethal effects of the herbicide glyphosate on amphibian metamorphosis development. **Bull Environ Contam Toxicol.** 75(3): 429-435, 2005.

COUTINHO, B. F. CLAUDIA; TANIMOTO, T. SONIA; GALLI, ANDRESSA; GARBELINI, S. GUSTAVO; TAKAYAMA, MARISA; AMARAL B. RAQUEL; MAZO H. LUIZ; AVACA, A. LUIZ; MACHADO, A. S. SERGIO. Pesticidas: Mecanismos de ação, degradação e toxidez. **R:Ecotoxicologia e meio ambiente**. Curitiba, v.15.p 65-72. jan/dez.2005.

COX, CAROLINE. Glyphosate (Roundup). **R:Journal of pesticides Reform/Fall 1998** vol.18 n.03.1998

DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F. D. G.; COELHO, R. S.; PEREIRA, J. D.; DALSENTER, P. R.; LANGELOH, A. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. **Toxicol. Lett.**, Shannon, v. 142, p. 45-52, 2003.

DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F. D. G.; DALSENTER, P. R.; LANGELOH, A. Acute oral toxicity of glyphosate in Wistar rats. **Online J. Vet. Res.**, v. 1, p. 29-36, 2002.

DALLEGRAVE, E. Toxicidade reprodutiva do herbicida Glifosato-roundup em ratos wistar. **Programa de Pós-Graduação em Toxicologia**. Tese de Doutorado

.Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2004.

DORES, E. C.; FREIRE, E. L., Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de casos: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – análise preliminar. **Química Nova** 24(1): 1-18, 2001.

ECOBICHON, D. J. **Toxic effects of pesticides**. In KLASSEN, C. D. ed. - Casarett and Doull's Toxicology: **The Basic Science of Poisons**, p. 643-690, 5th ed. McGraw-Hill Inc., New York, 1996.

ELANDALLOUSI, L.M.; RODRIGUES P.M.; AFONSO, R.; LEITE, R.B.; NUNES P.A.; CANCELA, M.L. Skimate and folate pathways in protozoan parasite, *Perkinsus olseni*. **Mol Biochem Parasitol.**, 142(1):106-109, 2005.

FARIA, N. M. X.; FACCHINI, L. A.; FASSA, A. G. Trabalho rural e intoxicações por agrotóxicos. **Caedernos de saúde pública**. Set v. 20 nº 5 p 1298-1308, 2004.

FRACACIO, RENATA; VERANI, F. NELSY; ESPINDOLA, G. LUIZ EVALDO; ROCHA ODETE; RIGOLIN, Sá. O; ANDRADE A. CASSIO; Alterations on growth and gill morphology of *Danio Rerio* ( pices, Ciprinidae ) exposed to the toxic sediments. **Braz. Arch. Biol. Technol.** V.46 n.04 Curitiba dez 2003.

FRAGOSO, B. DANIEL; JUSSELINO ,F. PEDRO, PALLINI, F. ANGELO; BADJI A. CESAR; Ação de inseticidas organofosforados utilizados no controle de *leucoptera coffeella* (Guerin Meneville) (*Lepidóptera: Lyonetiidae*) sobre o acaro predador *Iphiseiodes Zuluagai* Denmark & Muma ( *Acari : Phytoseiidal*). **Neotropical entomoly v.31 (3) 463-467 July/September 2002.**

GEHIN, A.; GUILLAUME, C.Y.; MILLET, J. GUYON, C.; NICOD, LAURENCE. Vitamins C and E reverse effect of herbicide-induced toxicity on human epidermal cells HaCaT: a biochemometric approach. **International Journal of**

**Pharmaceutics** 288 (2005) 219–226.

GEHIN, A.; GUYON, C.; NICOD, L. Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 22 (2006) 27–34.

GLUSCZAK, L.; MIRON, S. D.; CRESTANI, M.; FONSECA, B.M.; PEDRON A.F.; DUARTE, A.M.; VIEIRA, P.L.V. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). **Ecotoxicology and Environmental Safety** v, 65 p 237–241, 2006.

GRISOLIA, C. K. Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução. Brasília: Editora da Universidade de Brasília p 388, 2005.

GRISOLIA, C.K. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. **Mutation Research** p 518 145–150, 2002.

HANEY, R.L.; SENSEMAN, A.S.; HONS, E.M. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. **weed Science**, v.48, n.1, p 89-93, 2000.

HELFRICH, L.A., *et al.* Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatics systems. **Virginia Cooperative Extension**, june 1996.

HIETANEN, E.; LINNAINMAA, K.; VAINIO, H. Effects of phenoxyherbicides and glyphosate on the hepatic and intestinal biotransformation activities in the rat. **Acta Pharmacol. Toxicol.**, Copenhagen, v. 53, nº 2, p. 103-112, 1983

JACQUES, A. V. AVILA; A queima das pastagens naturais: Efeito sobre o solo e a vegetação. **Ciência Rural**, Jan/Fev v .33, nº 01, p.177-181, 2003.

JULIE, M.; LORILLON-MULNER, O.; BELLÉ, R.; Glyphosate- based pesticides

- affect cell cycle regulation. **Biology of the cell** **96** , p.245-249, November 2004.
- JULIE, M.; BRETON L. M.; CORMIER, P.; MORALES.J.; BELLÉ, R.; LORILLON-MULNER,O. A glyphosate-based pesticide impinges on transcription. **Toxicology and Applied Pharmacology** v 203, p 1 – 8, 2005.
- LAMB, D.C.; KELLY, D. E.; HANLEY, S.Z.;MEHMOD, Z.; KELLY, S. L. Glyphosate Is an Inhibitor of Plant Cytochrome P450: Functional Expression of *Thlaspi arvensae* Cytochrome P45071B1/Reductase Fusion Protein in *Escherichia coli*. **Biochemical and biophysical research communications** **244**, 110–114 (1998).
- LAMBERT, M. Agricultura e Meio Ambiente. 4e.São Paulo.Scipione.1997
- LEONARDO,O.L.M.J.; VARGAS, L.; RIBEIRO, P.R.; MOREIRA,M.L.H.; MARÇAL, R.M.;VOLSKI, T.;CAVICHOLO, F.; Histologia das brânquias de larvas da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C. **Acta Scientiarum, Maringá**, v. 23, n. 4, p. 863-870, 2001
- LI, A. P.; LONG, T. J. An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate. **Fundam. Appl. Toxicol.** , v. 10, n. 3, p. 537-546, 1988.
- MACÊDO, JORGE ANTONIO BARROS. Introdução à química ambiental: Química &Meio Ambiente & Sociedade. 1ª. ed. Juiz de Fora: **O Lutador**, 2002, p. 487.
- MARTINEZ, T. T.; BROWN, K. Oral and pulmonary toxicology of the surfactant used in Roundup herbicide. **Proc. West. Pharmacol. Soc.**, Tucson, v. 34, p. 43-46, 1991.
- MENDONÇA, T.R.; MARINHO, L.J. Discussão sobre intoxicações por medicamentos e agrotóxicos no Brasil de 1999 a 2002.**Rev eletrônica de farmácia**. v 2 nº 2 p 45-63, 2005.
- McCONNEL, J. S.; HOSSNER, L. R. X-ray diffraction and infrared spectroscopic

studies of adsorbed glyphosate. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 37, p. 555-560, 1989.

MERVOSH, T. L.; BALKE, N. E. Effect of calcium, magnesium, and phosphate on glyphosate absorption by cultured plant cells. **Weed Sci.**, Lawrence, v. 39, p. 347, 1991.

MONROY, C. M.; CORTES, A.C.; SICARD, D. M.; DE RESTREPO, H. G.. Cytotoxicity and genotoxicity of human cells exposed in vitro to glyphosate, **Biomedica 25(3)**: 335-345, 2005.

MONSANTO COMPANY, **Pledge Report**, 22-47pp., 2007.

MORGAN, M.; TOWELL, P. W. A. The structure of the gill of the *Salmo Gairdneri* (Richardson). **Zoology Zellforsh**, v. 142, p. 147-162, 1973.

NAKANO, O. Manual de Inseticidas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1986.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP). Technical report on toxicity studies of glyphosate (case #1071-83-6) administered in dosed feed to F344/N rats and B6C3F1 mice. USA - NIH Publication 92-3135, 1992.

NUNES, S. G.; RIBEIRO, M. Pesticidas: uso, legislação e controle. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 9:31-44, 1999.

OLIVEIRA, G.A.; TELLES, F. L.; HESS, A.R.; MAHECHA, G.A.B.; OLIVEIRA, A.C. Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos*. **Reproductive Toxicology** v.23 p-182-191, 2007.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores sócioeconômicos na contaminação por agrotóxicos. **Rev. Brasileira de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, nº 2, p. 130-135, 2001.

- OLORUNSOGO, O. O.; BABABUNMI, E. A. e BASSIR, O. Effect of Glyphosate Liver Mitochondria In Vivo. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, New York, v. 22, p. 357-364, 1979.
- OPAS (**Organização Pan-americana de Saúde**). Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. 69 p., 1997.
- PEAKAL, D.B. The role of biomarkers in environmental assessment (1)- **Introduction-Ecotoxicology** .v.3-p157-160.,1994.
- PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and Glyphosate on mitochondrial oxidate phosphorylation. **Chemosphere**, **61(8)**:1115-22, 2005.
- PELUSO, M.; MUNNIA, A.; BOLOGNESI, C.; PARODI, S. 32P-postlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide Roundup. **Environ. Mol. Mutagen.**, New York, v. 31, nº 1, p. 55-59, 1998
- PETTERSON, M.; EKEFUND, N. G.; Effects of herbicides Roundup and avans on *Euglena gracilis*. **Arch Environ Contam. Toxicol.**, **50(2)**:175-81, 2006.
- PIENIAZEK, D; BUKOWSKA, B.; DUDA, W. Comparison of the effect of Roundup Ultra 360 SL pesticide and its active compound glyphosate on human erythrocytes. **Pest. Biochem. Physiol.**, Orlando, v. 79, p. 58-63, 2004.
- RICHARD, S.; MOSLEMI, S.; SIPAHUTAR, H.; BENACHOUR, N.; SERALINI, G. E. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells a aromatase. **Environromental Health Perspect.** **113(60)**:716-720, 2005.
- RIEDER, ARNO; DORES,C.G.F. ELIANA; NUNES, S. VANIA; OLIVEIRA D. MARCIA; MOZETO A. ANTONIO; SANTOS L.JULIANA; ROCHA, S. GRACIEIA; Classes de potencial de periculosidade ambiental (PPA) dos pesticidas receitados

- em municípios do Pantanal Norte, Mato Grosso (MT), Brasil, no biênio 1999-2000. SINPAN Corumbá/Ms nov.2004.
- RIGOLIN, SÁ O. Toxicidade do herbicida Roundup (glifosato) e do acaricida Omite (propargito) nas fases iniciais do bagre *Rhandia Hilarii*. Tese de Doutorado Faculdade Federal de São Carlos 1998.
- RODRIGUES, C. FABIANA A.; WEBER, S., OSCARLINA L.; DORES, C. G. ELIANA F.; KLAUTAU-GUIMARÃES, MARIA DE NAZARÉ; TIDON, ROSANA; GRISÓLIA, K.CESAR. Ecogenotoxicologia dos agrotóxicos: Avaliação comparativa entre ecossistema agrícola e área de proteção ambiental. **Pesticidas: revista de ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 73-84, jan./dez. 2005.
- SANTOS, A.A., RANZANI-PAIVA, T. M.J., FELIZARDO, N.N., RODRIGUES, L.E. Análise histopatológica de fígado de Tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 30(2): 141 - 145, 2004.
- SANDERMANN, H.; Plant biotechnology: ecological case studies on herbicide resistance. **Plant Science** Vol.11 No.7 July 2006.
- SPADOTTO, C. A. Uso de agrotóxicos no Brasil e riscos ambientais. Viçosa, MG: SBCS; UFV, DPS, 1996. p.855-865.
- SILVEIRA, P. M.; SILVA, O. F.; STONE, L. F; Efeitos do preparo do solo, plantio direto e de rotações de cultura sobre o rendimento e a economicidade do feijoeiro irrigado. **Rev. agropecuária brasileira**, Fev v. 36 nº2 p. 257-265, 2001.
- SMITH, E. A.; OHEME, F. W. The biological activity of glyphosate to plants and animals: a literature review. **Vet. Human Toxicol.**, Manhattan, v. 34, nº 6, p. 531-543, 1992.

- SMITH, P. H.; RAYMOND, K. N. Solid-state and solution chemistry of calcium N-(phosphonomethyl)glycinate. **Inorg. Chem**, v. 27, p. 1056-1061, 1988.
- SOARES, W.L; PORTO, M.F. Atividade agrícola e externalidade ambiental : Uma análise á partir do uso de agrotóxicos no cerrado. **Rev . Ciências e Saúde Coletiva**. Jan/Mar v. 12 nº 01 p 131-143, 2007.
- STONE, L. F.; MOREIRA, J.A.A; Efeito de sistemas de preparo do solo no uso da água e na produtividade de feijoeiro. **Rev. Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35 nº 4 p 835-841, 2000.
- SUBRAMANIAM, V.; HOGGARD, P. E. Metal complexes of glyphosate. **J. Agric. Food Chem.**, v. 36, p. 1326-1329, 1988.
- SUN, Y. C.; TIAN, Z. X.; LI, F. M.; WANG, X. Y.; ZHANG, J.; XIAO Z. L.; LIN, M.; GILMARTIN, N.; DOWLING, D.N.; WANG, Y.P. Novel AroA with high tolerance to glyphosate, encoded by a gene of *Pseudomonas putida* 4G- I isolated from an extremely polluted environment. **China. Appl. Environ Microbiol.** 71(8): 4471-4476, 2005.
- SZAREK, J.; SIWICKI, A.; ANDREJEWSKA, A.; TERECH-MAJESWSKA, E.; BANASZKIEWICZ, T. Effects of the herbicide Roundup on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). **Marine Environmental Research** 50 (2000) 263-66.
- TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. (Ed.). An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features. 2.ed. Tokio: Kodanska, 1995.
- TIERNEY, B. K.; Singh, R. C.; Ross, P.; Kenedy, J. C. Relating olfactory neurotoxicity to altered olfactory mediated behaviors in rainbows trout exposed to

- three currently- used pesticides. **Aquatic Toxicology** v 81 p- 55-64 2007.
- TSUI, M.T.K.; CHU, L.M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. **Chemosphere**.52(7):1189-1197,2003.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US EPA). **Glifosato (Glyphosate)**.Trimmed Spearman Karber. 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/>> ( acessado em 01/07/2007)
- VIGÁRIO, A.F.; Análise do comportamento celular e animal do peixe (*Poecilia vivípara*) sob efeito agudo do herbicida ácido 2,4 – diclofenóxiacético (2,4 –D); Programa de Pós graduação em Biologia celular tese de mestrado pela Universidade Federal de Goiás –UFG, Goiânia, 2005.
- YU, Y.; ZHOU, Q.; HE, Z. Effects of methamidophos and glyphosate on copper sorption-desorption behavior in soils. **Sci China C life Sci**. Vol.: 48 Suppl 1,pp:67-75.2005.
- WALKER, C. H. The use of biomarkers to measure the interactive effects of chemicals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 40, p. 65-70, 1998.
- WANEE JIRAUNGKOOISKUL., E.SUCHART UPATHAN., MALEEYA KRUATRACHUE.,SOMPONG SAHAPHONG.,SUKSIRI VICHASSI – GRANS AND PRAYAD POKETHITIYOOK. Histopathological Effects of Roundup, a glyphosate herbicide on Nile Tilapia ( *Oreochromis nilotecus*).**ScienceAsia** Vol.28 pp.121 – 127.2002.
- WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Influence of the herbicide glyphosate on soil microbial structure.r: **Plant and soil**, v.122, n.1, p29-37, 1990.
- WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. The influence of the herbicide glyphosate on

interspecific interactions between four soil fungal species.r: **Mycological Research**, v.96, n3, p.180-186,1992.

WILLIAMS, M.G.; KROES, R.;MUNROY, I.C. Safety Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup<sup>1</sup>and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 31, 117-165 (2000).

7. Anexo

357/ CONAMA 2000

RESOLUÇÃO Nº 357, de 17 de maio de 2005

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA

RESOLUÇÃO Nº 357, de 17 de maio de 2005, que dispõe sobre o controle da poluição ambiental causada por atividades geradoras de efluentes líquidos e resíduos sólidos, bem como a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental decorrente do lançamento desses efluentes e resíduos.

Art. 1º - Esta Resolução estabelece as normas e procedimentos para o controle da poluição ambiental causada por atividades geradoras de efluentes líquidos e resíduos sólidos, bem como a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental decorrente do lançamento desses efluentes e resíduos.

Art. 2º - Esta Resolução aplica-se às atividades geradoras de efluentes líquidos e resíduos sólidos, bem como a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental decorrente do lançamento desses efluentes e resíduos, em todo o território nacional.

Art. 3º - Esta Resolução aplica-se às atividades geradoras de efluentes líquidos e resíduos sólidos, bem como a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental decorrente do lançamento desses efluentes e resíduos, em todo o território nacional.

Art. 4º - Esta Resolução aplica-se às atividades geradoras de efluentes líquidos e resíduos sólidos, bem como a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental decorrente do lançamento desses efluentes e resíduos, em todo o território nacional.

Art. 5º - Esta Resolução aplica-se às atividades geradoras de efluentes líquidos e resíduos sólidos, bem como a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental decorrente do lançamento desses efluentes e resíduos, em todo o território nacional.

**Resolução 357/ CONAMA 2005.**

**7. Anexo**

## 7.1 RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005.

Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

O CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, no uso das competências que lhe são conferidas pelos arts. 6º, inciso II e 8º, inciso VII, da Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, regulamentada pelo Decreto nº 99.274, de 06 de junho de 1990 e suas alterações, tendo em vista o disposto em seu Regimento Interno, e Considerando a vigência da Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000, que dispõe sobre a balneabilidade;

Considerando o art. 9º, inciso I, da Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997, que instituiu a Política Nacional dos Recursos Hídricos, e demais normas aplicáveis à matéria;

Considerando que a água integra as preocupações do desenvolvimento sustentável, baseado nos princípios da função ecológica da propriedade, da prevenção, da precaução, do poluidor-pagador, do usuário-pagador e da integração, bem como no reconhecimento de valor intrínseco à natureza;

Considerando que a Constituição Federal e a Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, visam controlar o lançamento no meio ambiente de poluentes, proibindo o lançamento em níveis nocivos ou perigosos para os seres humanos e outras formas de vida;

Considerando que o enquadramento expressa metas finais a serem alcançadas, podendo ser fixadas metas progressivas intermediárias, obrigatórias, visando a sua efetivação;

Considerando os termos da Convenção de Estocolmo, que trata dos Poluentes Orgânicos Persistentes-POPs, ratificada pelo Decreto Legislativo nº 204, de 7 de maio de 2004;

Considerando ser a classificação das águas doces, salobras e salinas essencial à defesa de seus níveis de qualidade, avaliados por condições e padrões específicos, de modo a assegurar seus usos preponderantes;

Considerando que o enquadramento dos corpos de água deve estar baseado não necessariamente no seu estado atual, mas nos níveis de qualidade que deveriam possuir para atender às necessidades da comunidade;

Considerando que a saúde e o bem-estar humano, bem como o equilíbrio ecológico aquático, não deve ser afetado pela deterioração da qualidade das águas;

Considerando a necessidade de se criar instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, em relação às classes estabelecidas no enquadramento, de forma a facilitar a fixação e controle de metas visando atingir gradativamente os objetivos propostos;

Considerando a necessidade de se reformular a classificação existente, para melhor distribuir os usos das águas, melhor especificar as condições e padrões de qualidade requeridos, sem prejuízo de posterior aperfeiçoamento; e

Considerando que o controle da poluição está diretamente relacionado com a proteção da saúde, garantia do meio ambiente ecologicamente equilibrado e a melhoria da qualidade de vida, levando em conta os usos prioritários e classes de qualidade ambiental exigidos para um determinado corpo de água;

**RESOLVE:**

Art. 1º - Esta Resolução dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

**CAPÍTULO I****DAS DEFINIÇÕES**

Art. 2º - Para efeito desta Resolução são adotadas as seguintes definições:

- I - Águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 %;
- II - Águas salobras: águas com salinidade superior a 0,5 % e inferior a 30 %;
- III - Águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30 %;
- IV - Ambiente lântico: ambiente que se refere à água parada, com movimento lento ou estagnado;
- V - Ambiente lótico: ambiente relativo a águas continentais moventes;
- VI - Aqüicultura: o cultivo ou a criação de organismos cujo ciclo de vida, em condições naturais, ocorre total ou parcialmente em meio aquático;
- VII - Carga poluidora: quantidade de determinado poluente transportado ou lançado em um corpo de água receptor, expressa em unidade de massa por tempo;
- VIII - Cianobactérias: microorganismos procarióticos autotróficos, também denominados como cianofíceas (algas azuis) capazes de ocorrer em qualquer manancial superficial especialmente naqueles com elevados níveis de nutrientes (nitrogênio e fósforo), podendo produzir toxinas com efeitos adversos a saúde;
- IX - Classe de qualidade: conjunto de condições e padrões de qualidade de água necessários ao atendimento dos usos preponderantes, atuais ou futuros;
- X - Classificação: qualificação das águas doces, salobras e salinas em função dos usos preponderantes (sistema de classes de qualidade) atuais e futuros;
- XI - Coliformes termotolerantes: bactérias gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase negativas, caracterizadas pela atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase. Podem crescer em meios contendo agentes tenso-ativos e fermentar a lactose nas temperaturas de 44? - 45?C, com produção de ácido, gás e aldeído. Além de estarem presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos, ocorrem em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que não tenham sido contaminados por material fecal;
- XII - Condição de qualidade: qualidade apresentada por um segmento de corpo d'água, num determinado momento, em termos dos usos possíveis com segurança adequada, frente às Classes de Qualidade;
- XIII - Condições de lançamento: condições e padrões de emissão adotados para o controle de lançamentos de efluentes no corpo receptor;
- XIV - Controle de qualidade da água: conjunto de medidas operacionais que visa avaliar a melhoria e a conservação da qualidade da água estabelecida para o corpo de água;
- XV - Corpo receptor: corpo hídrico superficial que recebe o lançamento de um efluente;
- XVI - Desinfecção: remoção ou inativação de organismos potencialmente patogênicos;

- XVII - Efeito tóxico agudo: efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos, usualmente letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede, em um curto período de exposição;
- XVIII - Efeito tóxico crônico: efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, tais como a reprodução, o crescimento e o comportamento, em um período de exposição que pode abranger a totalidade de seu ciclo de vida ou parte dele;
- XIX - cujo habitat exclusivo é o intestino humano e de animais homeotérmicos, onde ocorre em densidades elevadas;
- XXIV - Metas: é o desdobramento do objeto em realizações físicas e atividades de gestão, de acordo com unidades de medida e cronograma preestabelecidos, de caráter obrigatório;
- XXV - Monitoramento: medição ou verificação de parâmetros de qualidade e quantidade de água, que pode ser contínua ou periódica, utilizada para acompanhamento da condição e controle da qualidade do corpo de água;
- XXVI - Padrão: valor limite adotado como requisito normativo de um parâmetro de qualidade de água ou efluente;
- XXVII - Parâmetro de qualidade da água: substâncias ou outros indicadores representativos da qualidade da água;
- XXVIII - Pesca amadora: exploração de recursos pesqueiros com fins de lazer ou desporto;
- XXIX - Programa para efetivação do enquadramento: conjunto de medidas ou ações progressivas e obrigatórias, necessárias ao atendimento das metas intermediárias e final de qualidade de água estabelecidas para o enquadramento do corpo hídrico;
- XXX - Recreação de contato primário: contato direto e prolongado com a água (tais como natação, mergulho, esqui-aquático) na qual a possibilidade do banhista ingerir água é elevada;
- XXXI - Recreação de contato secundário: refere-se àquela associada a atividades em que o contato com a água é esporádico ou acidental e a possibilidade de ingerir água é pequena, como na pesca e na navegação (tais como iatismo);
- XXXII - Tratamento avançado: técnicas de remoção e/ou inativação de constituintes refratários aos processos convencionais de tratamento, os quais podem conferir à água características, tais como: cor, odor, sabor, atividade tóxica ou patogênica;
- XXXIII - Tratamento convencional: clarificação com utilização de coagulação e floculação, seguida de desinfecção e correção de pH;
- XXXIV - Tratamento simplificado: clarificação por meio de filtração e desinfecção e correção de pH quando necessário;
- XXXV - Tributário (ou curso de água afluente): corpo de água que flui para um rio maior ou para um lago ou reservatório;
- XXXVI - Vazão de referência: vazão do corpo hídrico utilizada como base para o processo de gestão, tendo em vista o uso múltiplo das águas e a necessária articulação das instâncias do Sistema Nacional de Meio Ambiente - SISNAMA e do Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos - SINGRH;
- XXXVII - Virtualmente ausentes: que não é perceptível pela visão, olfato ou paladar; e
- XXXVIII - Zona de mistura: região do corpo receptor onde ocorre a diluição inicial de um efluente.

## CAPÍTULO II

### DA CLASSIFICAÇÃO DOS CORPOS DE ÁGUA

Art. 3º - As águas doces, salobras e salinas do Território Nacional são classificadas, segundo a qualidade requerida para os seus usos preponderantes, em treze classes de qualidade.

Parágrafo único - As águas de melhor qualidade podem ser aproveitadas em uso menos exigente, desde que este não prejudique a qualidade da água, atendidos outros requisitos pertinentes.

#### SEÇÃO I

##### DAS ÁGUAS DOCES

Art. 4º - As águas doces são classificadas em:

I - Classe especial: águas destinadas:

- a) Ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção;
- b) À preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e,
- c) À preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

II - Classe 1: águas que podem ser destinadas:

- a) Ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;
- b) À proteção das comunidades aquáticas;
- c) À recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) À irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película;
- e) À proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

III - Classe 2: águas que podem ser destinadas:

- a) Ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;
- b) À proteção das comunidades aquáticas;
- c) À recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) À irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e
- e) À aquicultura e à atividade de pesca.

IV - Classe 3: águas que podem ser destinadas:

- a) Ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;
- b) À irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;
- c) À pesca amadora;
- d) À recreação de contato secundário;
- e) À dessedentação de animais.

V - Classe 4: águas que podem ser destinadas:

- a) À navegação;
- b) À harmonia paisagística.

## SEÇÃO II

### DAS ÁGUAS SALINAS

Art. 5º - As águas salinas são assim classificadas:

I - Classe especial: águas destinadas:

- a) À preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral; e
- b) À preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

II - Classe 1: águas que podem ser destinadas:

- a) À recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA nº 274 , de 2000;
- b) À proteção das comunidades aquáticas; e
- c) À aquicultura e à atividade de pesca.

III - Classe 2: águas que podem ser destinadas:

- a) À pesca amadora; e
- b) À recreação de contato secundário.

IV - Classe 3: águas que podem ser destinadas:

- a) À navegação; e
- b) À harmonia paisagística.

## SEÇÃO III

### DAS ÁGUAS SALOBRAS

Art. 6º - As águas salobras são assim classificadas:

I - Classe especial: águas destinadas:

- a) À preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral; e,
- b) À preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

II - Classe 1: águas que podem ser destinadas:

- a) À recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA nº 274 , de 2000;
- b) À proteção das comunidades aquáticas;
- c) À aquicultura e à atividade de pesca;
- d) Ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado; e
- e) À irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto.

III - Classe 2: águas que podem ser destinadas:

- a) À pesca amadora; e

b) À recreação de contato secundário.

IV - Classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) À navegação; e

b) À harmonia paisagística.

### **CAPÍTULO III**

## **DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS**

### **SEÇÃO I**

#### **DAS DISPOSIÇÕES GERAIS**

Art. 7º - Os padrões de qualidade das águas determinados nesta Resolução estabelecem limites individuais para cada substância em cada classe.

Parágrafo único - Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta Resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como de restringir os usos preponderantes previstos, ressalvado o disposto no § 3º do Art. 34, desta Resolução.

Art. 8º - O conjunto de parâmetros de qualidade de água selecionado para subsidiar a proposta de enquadramento deverá ser monitorado periodicamente pelo Poder Público.

§ 1º - Também deverão ser monitorados os parâmetros para os quais haja suspeita da sua presença ou não conformidade.

§ 2º - Os resultados do monitoramento deverão ser analisados estatisticamente e as incertezas de medição consideradas.

§ 3º - A qualidade dos ambientes aquáticos poderá ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas.

§ 4º - As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.

§ 5º - Na hipótese dos estudos referidos no parágrafo anterior tornarem-se necessários em decorrência da atuação de empreendedores identificados, as despesas da investigação correrão as suas expensas.

§ 6º - Para corpos de água salobras continentais, onde a salinidade não se dê por influência direta marinha, os valores dos grupos químicos de nitrogênio e fósforo serão os estabelecidos nas classes correspondentes de água doce.

Art. 9º - A análise e avaliação dos valores dos parâmetros de qualidade de água de que trata esta Resolução serão realizadas pelo Poder Público, podendo ser utilizado laboratório próprio, conveniado ou contratado, que deverá adotar os procedimentos de controle de qualidade analítica necessários ao atendimento das condições exigíveis.

§ 1º - Os laboratórios dos órgãos competentes deverão estruturar-se para atenderem ao disposto nesta Resolução.

§ 2º - Nos casos onde a metodologia analítica disponível for insuficiente para quantificar as concentrações dessas substâncias nas águas, os sedimentos e/ou biota aquática poderão ser investigados quanto à presença eventual dessas substâncias.

Art. 10º - Os valores máximos estabelecidos para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento deverão ser obedecidos nas condições de vazão de referência.

§ 1º - Os limites de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estabelecidos para as águas doces de classes 2 e 3, poderão ser elevados, caso o estudo da capacidade de autodepuração do corpo receptor demonstre que as concentrações mínimas de oxigênio dissolvido (OD) previstas não serão desobedecidas, nas condições de vazão de referência, com exceção da zona de mistura.

§ 2º - Os valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas de nitrogênio e fósforo, nas condições de vazão de referência, poderão ser alterados em decorrência de condições naturais, ou quando estudos ambientais específicos, que considerem também a poluição difusa, comprovem que esses novos limites não acarretarão prejuízos para os usos previstos no enquadramento do corpo de água.

§ 3º - Para águas doces de classes 1 e 2, quando o nitrogênio for fator limitante para eutrofização, nas condições estabelecidas pelo órgão ambiental competente, o valor de nitrogênio total (após oxidação) não deverá ultrapassar 1,27 mg/L para ambientes lênticos e 2,18 mg/L para ambientes lóticos, na vazão de referência.

§ 4º - O disposto nos §§ 2º e 3º não se aplica às baías de águas salinas ou salobras, ou outros corpos de água em que não seja aplicável a vazão de referência, para os quais deverão ser elaborados estudos específicos sobre a dispersão e assimilação de poluentes no meio hídrico.

Art. 11º - O Poder Público poderá, a qualquer momento, acrescentar outras condições e padrões de qualidade, para um determinado corpo de água, ou torná-los mais restritivos, tendo em vista as condições locais, mediante fundamentação técnica.

Art. 12º - O Poder Público poderá estabelecer restrições e medidas adicionais, de caráter excepcional e temporário, quando a vazão do corpo de água estiver abaixo da vazão de referência.

Art. 13º - Nas águas de classe especial deverão ser mantidas as condições naturais do corpo de água.

## Seção II

### Das Águas Doces

Art. 14º - As águas doces de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios

estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.

b) materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;

c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;

d) substâncias que comuniquem gosto ou odor: virtualmente ausentes;

e) corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;

f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;

g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverão ser obedecidos os padrões de qualidade de balneabilidade, previstos na Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um

limite de 200 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais, de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

h) DBO 5 dias a 20°C até 3 mg/L O<sub>2</sub>;

i) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O<sub>2</sub>;

j) turbidez até 40 unidades nefelométrica de turbidez (UNT); l) cor verdadeira: nível de cor natural do corpo de água em mg Pt/L; e m) pH: 6,0 a 9,0.

II - Padrões de qualidade de água:

TABELA I - CLASSE 1 - ÁGUAS DOCES

PADRÕES	
PARÂMETROS VALOR MÁXIMO	
Clorofila	10 µg/L
Densidade de cianobactérias	20.000 cel/mL ou 2 mm <sup>3</sup> /L
Sólidos dissolvidos totais	500 mg/L
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Alumínio dissolvido	0,1 mg/L Al
Antimônio	0,005mg/L Sb
Arsênio total	0,01 mg/L As
Bário total	0,7 mg/L Ba
Berílio total	0,04 mg/L Be
Boro total	0,5 mg/L B
Cádmio total	0,001 mg/L Cd
Chumbo total	0,01mg/L Pb
Cianeto livre	0,005 mg/L CN
Cloreto total	250 mg/L Cl
Cloro residual total (combinado + livre)	0,01 mg/L Cl
Cobalto total	0,05 mg/L Co
Cobre dissolvido	0,009 mg/L Cu
Cromo total	0,05 mg/L Cr
Ferro dissolvido	0,3 mg/L Fe
Fluoreto total	1,4 mg/L F
Fósforo total (ambiente léntico)	0,020 mg/L P

Fósforo total (ambiente intermediário, com tempo de residência entre 2 e 40 dias, e tributários diretos de ambiente lêntico)	0,025 mg/L P
Fósforo total (ambiente lótico e tributários de ambientes intermediários)	0,1 mg/L P
Lítio total	2,5 mg/L Li
Manganês total	0,1 mg/L Mn
Mercúrio total	0,0002 mg/L Hg
Níquel total	0,025 mg/L Ni
Nitrato	10,0 mg/L N
Nitrito	1,0 mg/L N
Nitrogênio amoniacal total	2,0 mg/L N, para 7,5 < pH _ 8,0 1,0 mg/L N, para 8,0 < pH _ 8,5 0,5 mg/L N, para pH > 8,5
Prata total	0,01 mg/L Ag
Selênio total	0,01 mg/L Se
Sulfato total	250 mg/L SO <sub>4</sub>
Sulfeto (H <sub>2</sub> S não dissociado)	0,002 mg/L S
Urânio total	0,02 mg/L U
Vanádio total	0,1 mg/L V
Zinco total	0,18 mg/L Zn
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Acrilamida	0,5 µg/L
Alacloro	20 µg/L
Aldrin + Dieldrin	0,005 µg/L
Atrazina	2 µg/L
Benzeno	0,005 mg/L
Benzidina	0,001 µg/L
Benzo(a)antraceno	0,05 µg/L
Benzo(a)pireno	0,05 µg/L
Benzo(b)fluoranteno	0,05 µg/L
Benzo(k)fluoranteno	0,05 µg/L

Carbaril	0,02 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,04 µg/L
2-Clorofenol	0,1 µg/L
Criseno	0,05 µg/L
2,4-D	4,0 µg/L
Demeton (Demeton-O + Demeton-S)	0,1 µg/L
Dibenzo(a,h)antraceno	0,05 µg/L
1,2-Dicloroetano	0,01 mg/L
1,1-Dicloroetano	0,003 mg/L
2,4-Diclorofenol	0,3 µg/L
Diclorometano	0,02 mg/L
DDT (p,p'-DDT + p,p'-DDE + p,p'-DDD)	0,002 µg/L
Dodecacloro pentaciclodecano	0,001 µg/L
Endossulfan (a + b + sulfato)	0,056 µg/L
Endrin	0,004 µg/L
Estireno	0,02 mg/L
Etilbenzeno	90,0 µg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,003 mg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Glifosato	65 µg/L
Gution	0,005 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,01 µg/L
Hexaclorobenzeno	0,0065 µg/L
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,05 µg/L
Lindano (g-HCH)	0,02 µg/L
Malation	0,1 µg/L
Metolacloro	10 µg/L
Metoxicloro	0,03 µg/L
Paration	0,04 µg/L
PCBs - Bifenilas policloradas	0,001 µg/L
Pentaclorofenol	0,009 mg/L
Simazina	2,0 µg/L

Substâncias tensoativas que reagem com o azul de metileno	0,5 mg/L LAS
2,4,5-T	2,0 µg/L
Tetracloroeto de carbono	0,002 mg/L
Tetracloroetano	0,01 mg/L
Tolueno	2,0 µg/L
Toxafeno	0,01 µg/L
2,4,5-TP	10,0 µg/L
Tributilestanho	0,063 µg/L TBT
Triclorobenzeno (1,2,3-TCB + 1,2,4-TCB)	0,02 mg/L
Tricloroetano	0,03 mg/L
2,4,6-Triclorofenol	0,01 mg/L
Trifluralina	0,2 µg/L
Xileno	300 µg/L

III - Nas águas doces onde ocorrer pesca ou cultivo de organismos, para fins de consumo intensivo, além dos padrões estabelecidos no inciso II deste artigo, aplicam-se os seguintes padrões em substituição ou adicionalmente:

**TABELA II - CLASSE 1 - ÁGUAS DOCES**

<b>PADRÕES PARA CORPOS DE ÁGUA ONDE HAJA PESCA OU CULTIVO DE ORGANISMOS PARA FINS DE CONSUMO INTENSIVO</b>	
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Arsênio total As	0,14 µg/L
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Benzidina	0,0002 µg/L
Benzo(a)antraceno	0,018 µg/L
Benzo(a)pireno	0,018 µg/L
Benzo(b)fluoranteno	0,018 µg/L
Benzo(k)fluoranteno	0,018 µg/L
Criseno	0,018 µg/L
Dibenzo(a,h)antraceno	0,018 µg/L
3,3-Diclorobenzidina	0,028 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,000039 µg/L

Hexaclorobenzeno	0,00029 µg/L
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,018 µg/L
PCBs - Bifenilas policloradas	0,000064 µg/L
Pentaclorofenol	3,0 µg/L
Tetracloroeto de carbono	1,6 µg/L
Tetracloroetano	3,3 µg/L
Toxafeno	0,00028 µg/L
2,4,6-triclorofenol	2,4 µg/L

Art. 15º - Aplicam-se às águas doces de classe 2 as condições e padrões da classe 1 previstos no artigo anterior,

à exceção do seguinte:

I - não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais;

II - coliformes termotolerantes: para uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 (seis) amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

III - cor verdadeira: até 75 mg Pt/L;

IV - turbidez: até 100 UNT;

V - DBO 5 dias a 20°C até 5 mg/L O<sub>2</sub>;

VI - OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/L O<sub>2</sub>;

VII - clorofila a: até 30 ig/L;

VIII - densidade de cianobactérias: até 50000 cel/mL ou 5 mm<sup>3</sup>/L; e,

IX - fósforo total:

a) até 0,030 mg/L, em ambientes lênticos; e,

b) até 0,050 mg/L, em ambientes intermediários, com tempo de residência entre 2 e 40 dias, e tributários diretos de ambiente lêntico.

Art. 16º - As águas doces de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios

estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

b) materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;

c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;

- d) substâncias que comuniquem gosto ou odor: virtualmente ausentes;
- e) não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais;
- f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato secundário não deverá ser excedido um limite de 2500 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para dessedentação de animais criados confinados não deverá ser excedido o limite de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 4000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- h) cianobactérias para dessedentação de animais: os valores de densidade de cianobactérias não deverão exceder 50.000 cel/ml, ou 5mm<sup>3</sup>/L;
- i) DBO 5 dias a 20°C até 10 mg/L O<sub>2</sub>;
- j) OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/L O<sub>2</sub>; l) turbidez até 100 UNT; m) cor verdadeira: até 75 mg Pt/L; e, n) pH: 6,0 a 9,0. II - Padrões de qualidade de água:

TABELA III - CLASSE 3 - ÁGUAS DOCES

<b>PADRÕES</b>	
<b>PARÂMETROS VALOR MÁXIMO</b>	
Clorofila a	60 µg/L
Densidade de cianobactérias	100.000 cel/mL ou 10 mm <sup>3</sup> /L
Sólidos dissolvidos totais	500 mg/L
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Alumínio dissolvido	0,2 mg/L Al
Arsênio total	0,033 mg/L As
Bário total	1,0 mg/L Ba
Berílio total	0,1 mg/L Be
Boro total	0,75 mg/L B
Cádmio total	0,01 mg/L Cd
Chumbo total	0,033 mg/L Pb
Cianeto livre	0,022 mg/L CN
Cloreto total	250 mg/L Cl
Cobalto total	0,2 mg/L Co

Cobre dissolvido	0,013 mg/L Cu
Cromo total	0,05 mg/L Cr
Ferro dissolvido	5,0 mg/L Fe
Fluoreto total	1,4 mg/L F
Fósforo total (ambiente lântico)	0,05 mg/L P
Fósforo total (ambiente intermediário, com tempo de residência entre 2 e 40 dias, e tributários diretos de ambiente lântico)	0,075 mg/L P
Fósforo total (ambiente lótico e tributários de ambientes intermediários)	0,15 mg/L P
Lítio total	2,5 mg/L Li
Manganês total	0,5 mg/L Mn
Mercurio total	0,002 mg/L Hg
Níquel total	0,025 mg/L Ni
Nitrato	10,0 mg/L N
Nitrito	1,0 mg/L N
Nitrogênio amoniacal total	5,6 mg/L N, para 7,5 < pH _ 8,0 2,2 mg/L N, para 8.0 < pH _ 8,5 1,0 mg/L N, para pH > 8,5 13,3 mg/L N, para pH _ 7,5
Prata total	0,05 mg/L Ag
Selênio total	0,05 mg/L Se
Sulfato total	250 mg/L SO <sub>4</sub>
Sulfeto (como H <sub>2</sub> S não dissociado)	0,3 mg/L
Urânio total	0,02 mg/L U
Va n ádio total	0,1 mg/L V
Zinco total	5 mg/L Zn
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Aldrin + Dieldrin	0,03 µg/L
Atrazina	2 µg/L

Benzeno	0,005 mg/L
Benzo(a)pireno	0,7 µg/L
Carbaril	70,0 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,3 µg/L
2,4-D	30,0 µg/L
DDT (p,p'-DDT + p,p'-DDE + p,p'-DDD)	1,0 µg/L
Demeton (Demeton-O + Demeton-S)	14,0 µg/L
1,2-Dicloroetano	0,01 mg/L
1,1-Dicloroetano	30 µg/L
Dodecacloro Pentaciclodecano	0,001 µg/L
Endossulfan (a + b + sulfato)	0,22 µg/L
Endrin 0,2 µg/L	
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,01 mg/L C6H5OH
<b>Glifosato</b>	<b>280 µg/L</b>
Gution	0,005 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,03 µg/L
Lindano (γ-HCH)	2,0 µg/L
Malation	2,0 µg/L
Metoxicloro	20,0 µg/L
Paration	35,0 µg/L
PCBs - Bifenilas policloradas	0,001 µg/L
Pentaclorofenol	0,009 mg/L
Substâncias tenso-ativas que reagem com o azul de metileno	2,4,5-T 2,0 µg/L
Tetracloroeto de carbono	0,003 mg/L
Tetracloroetano	0,01 mg/L
Toxafeno	0,21 µg/L
2,4,5-TP	10,0 µg/L
Tributilestanho	2,0 µg/L TBT
Tricloroetano	0,03 mg/L
2,4,6-Triclorofenol	0,01 mg/L

Art. 17º - As águas doces de classe 4 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;
- II - odor e aspecto: não objetáveis;
- III - óleos e graxas: toleram-se iridescências;
- IV - substâncias facilmente sedimentáveis que contribuam para o assoreamento de canais de navegação: virtualmente ausentes;
- V - fenóis totais (substâncias que reagem com 4 - aminoantipirina) até 1,0 mg/L de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH;
- VI - OD, superior a 2,0 mg/L O<sub>2</sub> em qualquer amostra; e,
- VII - pH: 6,0 a 9,0.

### Seção III

#### Das Águas Salinas

Art. 18º - As águas salinas de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - condições de qualidade de água:
  - a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
  - b) materiais flutuantes virtualmente ausentes;
  - c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
  - d) substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;
  - e) corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;
  - f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
  - g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
  - h) carbono orgânico total até 3 mg/L, como C;
  - i) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O<sub>2</sub>; e
  - j) pH: 6,5 a 8,5, não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidade.
- II - Padrões de qualidade de água:

TABELA IV - CLASSE 1 - ÁGUAS SALINAS

PADRÕES	
PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO	
Alumínio dissolvido	1,5 mg/L Al
Arsênio total	0,01 mg/L As
Bário total	1,0 mg/L Ba
Berílio total	5,3 µg/L Be
Boro total	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,005 mg/L Cd
Chumbo total	0,01 mg/L Pb
Cianeto livre	0,001 mg/L CN
Cloro residual total (combinado + livre)	0,01 mg/L Cl
Cobre dissolvido	0,005 mg/L Cu
Cromo total	0,05 mg/L Cr
Ferro dissolvido	0,3 mg/L Fe
Fluoreto total	1,4 mg/L F
Fósforo Total	0,062 mg/L P
Manganês total	0,1 mg/L Mn
Mercurio total	0,0002 mg/L Hg
Níquel total	0,025 mg/L Ni
Nitrato	0,40 mg/L N
Nitrito	0,07 mg/L N
Nitrogênio amoniacal total	0,40 mg/L N
Polifosfatos (determinado pela diferença entre fósforo ácido hidrolisável total e fósforo reativo total)	0,031 mg/L P
Prata total	0,005 mg/L Ag
Selênio total	0,01 mg/L Se
Sulfetos (H <sub>2</sub> S não dissociado)	0,002 mg/L S
Tálio total	0,1 mg/L Tl
Urânio Total	0,5 mg/L U
Zinco total	0,09 mg/L Zn

PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO	
Aldrin + Dieldrin	0,0019 µg/L
Benzeno	700 µg/L
Carbaril	0,32 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,004 µg/L
2,4-D	30,0 µg/L
DDT (p,p'-DDT+ p,p'-DDE + p,p'-DDD)	0,001 µg/L
Demeton (Demeton-O + Demeton-S)	0,1 µg/L
Dodecacloro pentaciclodecano	0,001 µg/L
Endossulfan (a + b + sulfato)	0,01 µg/L
Endrin	0,004 µg/L
Etilbenzeno	25 µg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	60 µg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Gution	0,01 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,001 µg/L
Lindano (g-HCH)	0,004 µg/L
Malation	0,1 µg/L
Metoxicloro	0,03 µg/L
Monoclorobenzeno	25 µg/L
Pentaclorofenol	7,9 µg/L
PCBs - Bifenilas Policloradas	0,03 µg/L
Substâncias tensoativas que reagem com o azul de metileno	0,2 mg/L LAS
2,4,5-T	10,0 µg/L
Tolueno	215 µg/L
Toxafeno	0,0002 µg/L
2,4,5-TP	10,0 µg/L
Tributilestanho	0,01µg/LTBT
Triclorobenzeno(1,2,3-TCB+1,2,4-TCB)	80µg/L
Tricloroetano	30,0µg/L

III - Nas águas salinas onde ocorrer pesca ou cultivo de organismos, para fins de

consumo intensivo, além dos padrões estabelecidos no inciso II deste artigo, aplicam-se os seguintes padrões em substituição ou adicionalmente:

**TABELA V - CLASSE 1 - ÁGUAS SALINAS**

PADRÕES PARA CORPOS DE ÁGUA ONDE HAJA PESCA OU CULTIVO DE ORGANISMOS PARA FINS DE CONSUMO INTENSIVO	
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Arsênio total	0,14 µg/L As
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Benzeno	51 µg/L
Benzidina	0,0002 µg/L
Benzo(a)antraceno	0,018 µg/L
Benzo(a)pireno	0,018 µg/L
Benzo(b)fluoranteno	0,018 µg/L
Benzo(k)fluoranteno	0,018 µg/L
2-Clorofenol	150 µg/L
2,4-Diclorofenol	290 µg/L
Criseno	0,018µg/L
Dibenzo(a,h)antraceno	0,018 µg/L
1,2-Dicloroetano	37 µg/L
1,1-Dicloroetano	3 µg/L
3,3-Diclorobenzidina	0,028 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,000039 µg/L
Hexaclorobenzeno	0,00029 µg/L
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,018 µg/L
PCBs - Bifenilas Policloradas	0,000064 µg/L
Pentaclorofenol	3,0 µg/L
Tetracloroetano	3,3 µg/L
2,4,6-Triclorofenol	2,4 µg/L

Art. 19º - Aplicam-se às águas salinas de classe 2 as condições e padrões de qualidade da classe 1, previstos no

artigo anterior, à exceção dos seguintes:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios

estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente

reconhecido;

b) coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 2500 por 100

mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

c) carbono orgânico total: até 5,00 mg/L, como C; e

d) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5,0 mg/L O<sub>2</sub>.

II - Padrões de qualidade de água:

TABELA VI - CLASSE 2 - ÁGUAS SALINAS

PADRÕES	
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Arsênio total	0,069 mg/L As
Cádmio total	0,04 mg/L Cd
Chumbo total	0,21 mg/L Pb
Cianeto livre	0,001 mg/L CN
Cloro residual total (combinado + livre)	19 µg/L Cl
Cobre dissolvido	7,8 µg/L Cu
Cromo total	1,1 mg/L Cr
Fósforo total	0,093 mg/L P
Mercurio total	1,8 µg/L Hg
Níquel	74 µg/L Ni
Nitrato	0,70 mg/L N
Nitrito	0,20 mg/L N
Nitrogênio amoniacal total 0,70 mg/L N	0,0465 mg/L P
Polifosfatos (determinado pela diferença entre fósforo ácido hidrolisável total e fósforo reativo total)	
Selênio total 0,29 mg/L Se	
Zinco total 0,12 mg/L Zn	
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Aldrin + Dieldrin	0,03 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,09 µg/L

DDT (p-p'DDT + p-p'DDE + pp'DDD)	0,13 µg/L
Endrin	0,037 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,053 µg/L
Lindano (g-HCH)	0,16 µg/L
Pentaclorofenol	13,0 µg/L
Toxafeno	0,210 µg/L
Tributilestanho	0,37µg/LTBT

Art. 20º - As águas salinas de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;
- II - óleos e graxas: toleram-se iridescências;
- III - substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- IV - corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;
- V - resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- VI - coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- VII - carbono orgânico total: até 10 mg/L, como C;
- VIII - OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/ L O<sub>2</sub>; e
- IX - pH: 6,5 a 8,5 não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidades.

#### Seção IV

#### Das Águas Salobras

Art. 21º - As águas salobras de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - condições de qualidade de água:
  - a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
  - b) carbono orgânico total: até 3 mg/L, como C;
  - c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/ L O<sub>2</sub>;
  - d) pH: 6,5 a 8,5;
  - e) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
  - f) materiais flutuantes: virtualmente ausentes;
  - g) substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;
  - h) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes; e
  - i) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA no

274, de 2000. Para o cultivo de moluscos bivalves

destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para a irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, bem como para a irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, não deverá ser excedido o valor de 200 coliformes termotolerantes por 100mL. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

II - Padrões de qualidade de água:

**TABELA VII - Classe 1 - ÁGUAS SALOBRAS**

<b>PADRÕES</b>	
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Alumínio dissolvido	0,1 mg/L Al
Arsênio total	0,01 mg/L As
Berílio total	5,3 µg/L Be
Boro	0,5 mg/L B
Cádmio total	0,005 mg/L Cd
Chumbo total	0,01 mg/L Pb
Cianeto livre	0,001 mg/L CN
Cloro residual total (combinado + livre)	0,01 mg/L Cl
Cobre dissolvido	0,005 mg/L Cu
Cromo total	0,05 mg/L Cr
Ferro dissolvido	0,3 mg/L Fe
Fluoreto total	1,4 mg/L F
Fósforo total 0	,124 mg/L P
Manganês total	0,1 mg/L Mn
Mercurio total	0,0002 mg/L Hg
Níquel total	0,025 mg/L Ni
Nitrato	0,40 mg/L N
Nitrito	0,07 mg/L N
Nitrogênio amoniacal total	0,40 mg/L N

Polifosfatos (determinado pela diferença entre fósforo ácido hidrolisável total e fósforo reativo total)	0,062 mg/L P
Prata total	0,005 mg/L Ag
Selênio total	0,01 mg/L Se
Sulfetos (como H <sub>2</sub> S não dissociado)	0,002 mg/L S
Zinco total	0,09 mg/L Zn
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Aldrin + dieldrin	0,0019 µg/L
Benzeno	700 µg/L
Carbaril	0,32 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,004 µg/L
2,4-D	10,0 µg/L
DDT (p,p'DDT+ p,p'DDE + p,p'DDD)	0,001 µg/L
Demeton (Demeton-O + Demeton-S)	0,1 µg/L
Dodecacloro pentaciclodecano	0,001 µg/L
Endrin	0,004 µg/L
Endossulfan (a + b + sulfato)	0,01 µg/L
Etilbenzeno	25,0 µg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,003 mg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Gution	0,01 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,001 µg/L
Lindano (g-HCH)	0,004 µg/L
Malation	0,1 µg/L
Metoxicloro	0,03 µg/L
Monoclorobenzeno	25 µg/L
Paration L	0,04 µg/L
Pentaclorofenol	7,9 µg/L
PCBs - Bifenilas Policloradas	0,03 µg/L

Substâncias tensoativas que reagem com azul de metileno	0,2 LAS
2,4,5-T	10,0 µg/L
Tolueno	215 µg/L
Toxafeno	0,0002 µg/L
2,4,5-TP	10,0 µg/L
Tributilestanho	0,010 µg/LTBT

III - Nas águas salobras onde ocorrer pesca ou cultivo de organismos, para fins de consumo intensivo, além dos padrões estabelecidos no inciso II deste artigo, aplicam-se os seguintes padrões em substituição ou adicionalmente:

**TABELA VIII - Classe 1 - ÁGUAS SALOBRAS**

<b>PADRÕES PARA CORPOS DE ÁGUA ONDE HAJA PESCA OU CULTIVO DE ORGANISMOS PARA FINS DE CONSUMO INTENSIVO</b>	
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Arsênio total	0,14 µg/L As
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Benzeno	51 µg/L
Benzidina	0,0002 µg/L
Benzo(a)antraceno	0,018 µg/L
Benzo(a)pireno	0,018 µg/L
Benzo(b)fluoranteno	0,018 µg/L
Benzo(k)fluoranteno	0,018 µg/L
2-Clorofenol	150 µg/L
Criseno	0,018 µg/L
Dibenzo(a,h)antraceno	0,018 µg/L
2,4-Diclorofenol	290 µg/L
1,1-Dicloroetano	3,0 µg/L
1,2-Dicloroetano	37,0 µg/L
3,3-Diclorobenzidina	0,028 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,000039 µg/L
Hexaclorobenzeno	0,00029 µg/L
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0,018 µg/L

Pentaclorofenol	3,0 µg/L
PCBs - Bifenilas Policloradas	0,000064 µg/L
Tetracloroeteno	3,3 µg/L
Tricloroeteno	30 µg/L
2,4,6-Triclorofenol	2,4 µg/L

Art. 22º - Aplicam-se às águas salobras de classe 2 as condições e padrões de qualidade da classe 1, previstos

no artigo anterior, à exceção dos seguintes:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) carbono orgânico total: até 5,00 mg/L, como C;
- c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/L O<sub>2</sub>; e
- d) coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 2500 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

II - Padrões de qualidade de água:

**TABELA IX - CLASSE 2 - ÁGUAS SALOBRAS**

PADRÕES	
PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO	
Arsênio total	0,069 mg/L As
Cádmio total	0,04 mg/L Cd
Chumbo total	0,210 mg/L Pb
Cromo total	1,1 mg/L Cr
Cianeto livre	0,001 mg/L CN
Cloro residual total (combinado + livre)	19,0 µg/L Cl
Cobre dissolvido	7,8 µg/L Cu
Fósforo total	0,186 mg/L P
Mercúrio total	1,8 µg/L Hg
Níquel total	74,0 µg/L Ni
Nitrato	0,70 mg/L N
Nitrito	0,20 mg/L N

Nitrogênio amoniacal total	0,70 mg/L N
Polifosfatos (determinado pela diferença entre fósforo ácido hidrolisável total e fósforo reativo total)	0,093 mg/L P
Selênio total	0,29 mg/L Se
Zinco total	0,12 mg/L Zn
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Aldrin + Dieldrin	0,03 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,09 µg/L
DDT (p-p'DDT + p-p'DDE + pp'DDD)	0,13 µg/L
Endrin	0,037 µg/L
Heptacloro epóxido+ Heptacloro	0,053 µg/L
Lindano (g-HCH)	0,160 µg/L
Pentaclorofenol	13,0 µg/L
Toxafeno	0,210µg/L
Tributilestanho	0,37µg/LTBT

Art. 23º - As águas salobras de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - pH: 5 a 9;
- II - OD, em qualquer amostra, não inferior a 3 mg/L O<sub>2</sub>;
- III - óleos e graxas: toleram-se iridescências;
- IV - materiais flutuantes: virtualmente ausentes;
- V - substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- VI - substâncias facilmente sedimentáveis que contribuam para o assoreamento de canais de navegação: virtualmente ausentes;
- VII - coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com freqüência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente; e
- VIII - carbono orgânico total até 10,0 mg/L, como C.

#### **CAPÍTULO IV**

##### **DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE LANÇAMENTO DE EFLUENTES**

Art. 24º - Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água, após o devido tratamento e desde que obedeçam às condições, padrões e exigências dispostos nesta

Resolução e em outras normas aplicáveis.

Parágrafo único - O órgão ambiental competente poderá, a qualquer momento:

I - acrescentar outras condições e padrões, ou torná-los mais restritivos, tendo em vista as condições locais, mediante fundamentação técnica; e

II - exigir a melhor tecnologia disponível para o tratamento dos efluentes, compatível com as condições do respectivo curso de água superficial, mediante fundamentação técnica.

Art. 25º - É vedado o lançamento e a autorização de lançamento de efluentes em desacordo com as condições e padrões estabelecidos nesta Resolução.

Parágrafo único - O órgão ambiental competente poderá, excepcionalmente, autorizar o lançamento de efluente acima das condições e padrões estabelecidos no art. 34, desta Resolução, desde que observados os seguintes requisitos:

I - comprovação de relevante interesse público, devidamente motivado;

II - atendimento ao enquadramento e às metas intermediárias e finais, progressivas e obrigatórias;

III - realização de Estudo de Impacto Ambiental-EIA, às expensas do empreendedor responsável pelo lançamento;

IV - estabelecimento de tratamento e exigências para este lançamento; e

V - fixação de prazo máximo para o lançamento excepcional.

Art. 26º - Os órgãos ambientais federal, estaduais e municipais, no âmbito de sua competência, deverão, por meio de norma específica ou no licenciamento da atividade ou empreendimento, estabelecer a carga poluidora máxima para o lançamento de substâncias passíveis de estarem presentes ou serem formadas nos processos produtivos, listadas ou não no art. 34, desta Resolução, de modo a não comprometer as metas progressivas obrigatórias, intermediárias e final, estabelecidas pelo enquadramento para o corpo de água.

§ 1º - No caso de empreendimento de significativo impacto, o órgão ambiental competente exigirá, nos processos de licenciamento ou de sua renovação, a apresentação de estudo de capacidade de suporte de carga do corpo de água receptor.

§ 2º - O estudo de capacidade de suporte deve considerar, no mínimo, a diferença entre os padrões estabelecidos pela classe e as concentrações existentes no trecho desde a montante, estimando a concentração após a zona de mistura.

§ 3º - Sob pena de nulidade da licença expedida, o empreendedor, no processo de licenciamento, informará ao órgão ambiental as substâncias, entre aquelas previstas nesta Resolução para padrões de qualidade de água, que poderão estar contidas no seu efluente.

§ 4º - O disposto no § 1º aplica-se também às substâncias não contempladas nesta Resolução, exceto se o empreendedor não tinha condições de saber de sua existência nos seus efluentes.

Art. 27º - É vedado, nos efluentes, o lançamento dos Poluentes Orgânicos Persistentes- POPs mencionados na Convenção de Estocolmo, ratificada pelo Decreto Legislativo nº 204, de 7 de maio de 2004. Parágrafo único - Nos processos onde possa ocorrer a formação de dioxinas e furanos deverá ser utilizada a melhor tecnologia disponível para a sua redução, até a completa eliminação.

Art. 28º - Os efluentes não poderão conferir ao corpo de água características em desacordo com as metas

obrigatórias progressivas, intermediárias e final, do seu enquadramento.

§ 1º - As metas obrigatórias serão estabelecidas mediante parâmetros.

§ 2º - Para os parâmetros não incluídos nas metas obrigatórias, os padrões de qualidade a serem obedecidos são os que constam na classe na qual o corpo receptor estiver enquadrado.

§ 3º - Na ausência de metas intermediárias progressivas obrigatórias, devem ser obedecidos os padrões de qualidade da classe em que o corpo receptor estiver enquadrado.

Art. 29º - A disposição de efluentes no solo, mesmo tratados, não poderá causar poluição ou contaminação das águas.

Art. 30º - No controle das condições de lançamento, é vedada, para fins de diluição antes do seu lançamento, a mistura de efluentes com águas de melhor qualidade, tais como as águas de abastecimento, do mar e de sistemas abertos de refrigeração sem recirculação.

Art. 31º - Na hipótese de fonte de poluição geradora de diferentes efluentes ou lançamentos individualizados, os limites constantes desta Resolução aplicar-se-ão a cada um deles ou ao conjunto após a mistura, a critério do órgão ambiental competente.

Art. 32º - Nas águas de classe especial é vedado o lançamento de efluentes ou disposição de resíduos domésticos, agropecuários, de aquicultura, industriais e de quaisquer outras fontes poluentes, mesmo que tratados.

§ 1º - Nas demais classes de água, o lançamento de efluentes deverá, simultaneamente:

- I - atender às condições e padrões de lançamento de efluentes;
- II - não ocasionar a ultrapassagem das condições e padrões de qualidade de água, estabelecidos para as respectivas classes, nas condições da vazão de referência; e
- III - atender a outras exigências aplicáveis.

§ 2º - No corpo de água em processo de recuperação, o lançamento de efluentes observará as metas progressivas obrigatórias, intermediárias e final.

Art. 33º - Na zona de mistura de efluentes, o órgão ambiental competente poderá autorizar, levando em conta o tipo de substância, valores em desacordo com os estabelecidos para a respectiva classe de enquadramento, desde que não comprometam os usos previstos para o corpo de água. Parágrafo único - A extensão e as concentrações de substâncias na zona de mistura deverão ser objeto de estudo, nos termos determinados pelo órgão ambiental competente, às expensas do empreendedor responsável pelo lançamento.

Art. 34º - Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água desde que obedçam as condições e padrões previstos neste artigo, resguardadas outras exigências cabíveis:

§ 1º - O efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

§ 2º - Os critérios de toxicidade previstos no § 1º devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos, e realizados no efluente.

§ 3º - Nos corpos de água em que as condições e padrões de qualidade previstos nesta Resolução não incluem restrições de toxicidade a organismos aquáticos, não se aplicam os parágrafos anteriores.

§ 4º - Condições de lançamento de efluentes:

I - pH entre 5 a 9;

II - temperatura: inferior a 40°C, sendo que a variação de temperatura do corpo receptor não deverá exceder a 3°C na zona de mistura;

III - materiais sedimentáveis: até 1 mL/L em teste de 1 hora em cone Imhoff. Para o lançamento em lagos e lagoas, cuja velocidade de circulação seja praticamente nula, os materiais sedimentáveis deverão estar virtualmente ausentes;

IV - regime de lançamento com vazão máxima de até 1,5 vezes a vazão média do período de atividade diária do agente poluidor, exceto nos casos permitidos pela autoridade competente;

V - óleos e graxas: 1 - óleos minerais: até 20mg/L; 2- óleos vegetais e gorduras animais: até 50mg/L; e

VI - ausência de materiais flutuantes.

§ 5º - Padrões de lançamento de efluentes:

**TABELA X - LANÇAMENTO DE EFLUENTES**

<b>PADRÕES</b>	
<b>PARÂMETROS INORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Arsênio total	0,5 mg/L As
Bário total	5,0 mg/L Ba
Boro total	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,2 mg/L Cd
Chumbo total	0,5 mg/L Pb
Cianeto total	0,2 mg/L CN
Cobre dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo total	0,5 mg/L Cr
Estanho total	4,0 mg/L Sn
Ferro dissolvido	15,0 mg/L Fé
Fluoreto total	10,0 mg/L F
Manganês dissolvido	1,0 mg/L Mn
Merúrio total	0,01 mg/L Hg
Níquel total	2,0 mg/L Ni
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg/L N
Prata total	0,1 mg/L Ag
Selênio total	0,30 mg/L Se

Sulfeto	1,0 mg/L S
Zinco total	5,0 mg/L Zn
<b>PARÂMETROS ORGÂNICOS VALOR MÁXIMO</b>	
Clorofórmio	1,0 mg/L
Dicloroetano	1,0 mg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,5 mg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Tetracloroeto de Carbono	1,0 mg/L
Tricloroetano	1,0mg/L

Art. 35º - Sem prejuízo do disposto no inciso I, do § 1º do art. 24, desta Resolução, o órgão ambiental competente poderá, quando a vazão do corpo de água estiver abaixo da vazão de referência, estabelecer restrições e medidas adicionais, de caráter excepcional e temporário, aos lançamentos de efluentes que possam, dentre outras conseqüências:

- I - acarretar efeitos tóxicos agudos em organismos aquáticos; ou
- II - inviabilizar o abastecimento das populações.

Art. 36º - Além dos requisitos previstos nesta Resolução e em outras normas aplicáveis, os efluentes provenientes de serviços de saúde e estabelecimentos nos quais haja despejos infectados com microorganismos patogênicos, só poderão ser lançados após tratamento especial.

Art. 37º - Para o lançamento de efluentes tratados no leito seco de corpos de água intermitentes, o órgão ambiental competente definirá, ouvido o órgão gestor de recursos hídricos, condições especiais.

## CAPÍTULO V

### DIRETRIZES AMBIENTAIS PARA O ENQUADRAMENTO

Art. 38º - O enquadramento dos corpos de água dar-se-á de acordo com as normas e procedimentos definidos pelo Conselho Nacional de Recursos Hídricos-CNRH e Conselhos Estaduais de Recursos Hídricos.

§ 1º - O enquadramento do corpo hídrico será definido pelos usos preponderantes mais restritivos da água, atuais ou pretendidos.

§ 2º - Nas bacias hidrográficas em que a condição de qualidade dos corpos de água esteja em desacordo com os usos preponderantes pretendidos, deverão ser estabelecidas metas obrigatórias, intermediárias e final, de melhoria da qualidade da água para efetivação dos respectivos enquadramentos, excetuados nos parâmetros que excedam aos limites devido às condições naturais.

§ 3º - As ações de gestão referentes ao uso dos recursos hídricos, tais como a outorga e cobrança pelo uso da água, ou referentes à gestão ambiental, como o licenciamento, termos de ajustamento de conduta e o controle da poluição, deverão basear-se nas metas progressivas intermediárias e final aprovadas pelo órgão competente para a respectiva bacia hidrográfica ou corpo hídrico específico.

§ 4º - As metas progressivas obrigatórias, intermediárias e final, deverão ser atingidas em regime de vazão de referência, excetuados os casos de baías de águas salinas ou salobras, ou outros corpos hídricos onde não seja aplicável a vazão de referência, para os quais deverão ser elaborados estudos específicos sobre a dispersão e assimilação de poluentes no meio hídrico.

§ 5º - Em corpos de água intermitentes ou com regime de vazão que apresente diferença sazonal significativa, as metas progressivas obrigatórias poderão variar ao longo do ano.

§ 6º - Em corpos de água utilizados por populações para seu abastecimento, o enquadramento e o licenciamento ambiental de atividades a montante preservarão, obrigatoriamente, as condições de consumo.

## **CAPÍTULO VI**

### **DISPOSIÇÕES FINAIS E TRANSITÓRIAS**

Art. 39º - Cabe aos órgãos ambientais competentes, quando necessário, definir os valores dos poluentes considerados virtualmente ausentes.

Art. 40º - No caso de abastecimento para consumo humano, sem prejuízo do disposto nesta Resolução, deverão ser observadas, as normas específicas sobre qualidade da água e padrões de potabilidade.

Art. 41º - Os métodos de coleta e de análises de águas são os especificados em normas técnicas cientificamente reconhecidas.

Art. 42º - Enquanto não aprovados os respectivos enquadramentos, as águas doces serão consideradas classe 2, as salinas e salobras classe 1, exceto se as condições de qualidade atuais forem melhores, o que determinará a aplicação da classe mais rigorosa correspondente.

Art. 43º - Os empreendimentos e demais atividades poluidoras que, na data da publicação desta Resolução, tiverem Licença de Instalação ou de Operação, expedida e não impugnada, poderão a critério do órgão ambiental competente, ter prazo de até três anos, contados a partir de sua vigência, para se adequarem às condições e padrões novos ou mais rigorosos previstos nesta Resolução.

§ 1º - O empreendedor apresentará ao órgão ambiental competente o cronograma das medidas necessárias ao cumprimento do disposto no caput deste artigo.

§ 2º - O prazo previsto no caput deste artigo poderá, excepcional e tecnicamente motivado, ser prorrogado por até dois anos, por meio de Termo de Ajustamento de Conduta, ao qual se dará publicidade, enviando-se cópia ao Ministério Público.

§ 3º - As instalações de tratamento existentes deverão ser mantidas em operação com a capacidade, condições de funcionamento e demais características para as quais foram aprovadas, até que se cumpram as disposições desta Resolução.

§ 4º - O descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo será objeto de resolução específica, a ser publicada no prazo máximo de um ano, a contar da data de publicação desta Resolução, ressalvado o padrão de lançamento de óleos e graxas a ser o definido nos termos do art. 34, desta Resolução, até a edição de resolução específica.

Art. 44º - O CONAMA, no prazo máximo de um ano, complementarará, onde couber, condições e padrões de lançamento de efluentes previstos nesta Resolução.

Art. 45º - O não cumprimento ao disposto nesta Resolução acarretará aos infratores as sanções previstas pela legislação vigente.

§ 1º - Os órgãos ambientais e gestores de recursos hídricos, no âmbito de suas respectivas competências, fiscalizarão o cumprimento desta Resolução, bem como quando pertinente, a aplicação das penalidades administrativas previstas nas legislações específicas, sem prejuízo do sancionamento penal e da responsabilidade civil objetiva do poluidor.

§ 2º - As exigências e deveres previstos nesta Resolução caracterizam obrigação de relevante interesse ambiental.

Art. 46º - O responsável por fontes potencial ou efetivamente poluidoras das águas deve apresentar ao órgão ambiental competente, até o dia 31 de março de cada ano, declaração de carga poluidora, referente ao ano civil anterior, subscrita pelo administrador principal da empresa e pelo responsável técnico devidamente habilitado, acompanhada da respectiva Anotação de Responsabilidade Técnica.

§ 1º - A declaração referida no caput deste artigo conterà, entre outros dados, a caracterização qualitativa e quantitativa de seus efluentes, baseada em amostragem representativa dos mesmos, o estado de manutenção dos equipamentos e dispositivos de controle da poluição.

§ 2º - O órgão ambiental competente poderá estabelecer critérios e formas para apresentação da declaração mencionada no caput deste artigo, inclusive, dispensando-a se for o caso para empreendimentos de menor potencial poluidor.

Art. 47º - Equiparam-se a perito, os responsáveis técnicos que elaborem estudos e pareceres apresentados aos órgãos ambientais.

Art. 48º - O não cumprimento ao disposto nesta Resolução sujeitará os infratores, entre outras, às sanções previstas na Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998 e respectiva regulamentação.

Art. 49º - Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 50º - Revoga-se a Resolução CONAMA nº 020, de 18 de junho de 1986.

MARINA SILVA

Presidente do Conselho

Efetivação do enquadramento: alcance da meta final do enquadramento;

XX - Enquadramento: estabelecimento da meta ou objetivo de qualidade da água (classe) a ser, obrigatoriamente, alcançado ou mantido em um segmento de corpo de água, de acordo com os usos preponderantes pretendidos, ao longo do tempo;

XXI - Ensaio ecotoxicológico: ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos aquáticos;

XXII - Ensaio toxicológico: ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos visando avaliar o potencial de risco à saúde humana;

XXIII - *Escherichia coli* (E.Coli): bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae

caracterizada pela atividade da enzima  $\beta$ -glicuronidase. Produz indol a partir do aminoácido triptofano.

Tabela 1. Análise do comportamento animal frente ao herbicida.

Parâmetros analisados	Tempo de Exposição (Variou de 2 até 24 horas)	Concentração (10, 20 e 40 µl/ L)	Tempo de análise a cada período (15 minutos)	Registro de mortandade
Irritabilidade				
Contorção				
Perda de mecanismo de fuga				
Midríase				
Inapetência				
Reflexo de fuga				
Perda do sentido de direção				
Choques contra a parede do aquário				

Tabela 2 – Dados anátomo-patológicos averiguados após a exposição dos animais dos grupos experimentais e controle.

Órgãos / Reações	Hemorragia	Pigmentação	Integridade	Hipertrofia	Midríase
Fígado					
Brânquias					
Vesícula Biliar					
Tegumento					
Olho					

