

# ECOGENOTOXICOLOGIA DOS AGROTÓXICOS: AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE ECOSSISTEMA AGRÍCOLA E ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL

FABIANA APARECIDA CALDART RODRIGUES\*  
OSCARLINA LÚCIA DOS SANTOS WEBER\*\*  
ELIANA FREIRE GASPAR DE CARVALHO DORES\*\*\*  
MARIA DE NAZARÉ KLAUTAU-GUIMARÃES\*\*\*\*  
ROSANA TIDON\*\*\*\*\*  
CESAR KOPPE GRISÓLIA\*\*\*\*\*

---

No presente estudo foram investigadas as freqüências de alterações cromossômicas, mediante análise de micronúcleos em sangue periférico de anfíbios e o padrão da distribuição genética da enzima  $\alpha$ -esterase em drosofilídeos. Foram coletados animais na Chapada dos Guimarães, MT (BRASIL), área de proteção ambiental, e no município de Campo Verde, ecossistema agrícola. Os resultados mostraram freqüência de células micronucleadas de 0,069% na área agrícola (Campo Verde), não sendo verificada diferença estatística significativa com as dos animais da Chapada dos Guimarães (0,013%). O ecossistema agrícola apresentou índice de heterozigosidade médio menor que o da área de proteção ambiental, demonstrando sua influência na estrutura genética de comunidades de drosofilídeos. Concluiu-se que é viável a utilização de drosofilídeos como sentinelas para avaliar os impactos ambientais causados pelos agrotóxicos usados na agricultura.

*PALAVRAS-CHAVE: AGROTÓXICOS; GENOTOXICIDADE; ANFÍBIOS; DROSOFILÍDEOS.*

- 
- \* Doutoranda em Patologia Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília (UNB), Brasília (e-mail: [facaldaro@unb.br](mailto:facaldaro@unb.br)).
- \*\* Professora, Doutora em Agronomia, Departamento de Solos e Engenharia Rural, Universidade Federal Mato Grosso (UFMT).
- \*\*\* Doutoranda em Química, Instituto de Química, Universidade Estadual de São Paulo e Professora, Departamento de Química, UFMT.
- \*\*\*\* Professora, Doutora em Genética, Departamento de Genética e Morfologia, UNB.
- \*\*\*\*\* Professora, Doutora em Biologia Genética, Departamento de Genética e Morfologia, UNB.
- \*\*\*\*\* Professor, Doutor em Genética, Departamento de Genética e Morfologia, UNB (e-mail: [grisolia@unb.br](mailto:grisolia@unb.br)).

## 1 INTRODUÇÃO

O estado do Mato Grosso passou a consumir agrotóxicos em larga escala a partir dos anos 70, quando o governo federal criou os programas Polonoroeste, Polocentro e o Proterra. As culturas de soja e algodão, extensivas na região, oferecem mais riscos de contaminação ambiental pela necessidade de amplo uso de agrotóxicos (SEVERINO, 2001). A combinação de diferentes classes de agrotóxicos tornou-se problema de difícil solução em relação à ecotoxicologia, tanto nos ecossistemas terrestres como aquáticos (WALKER, 1998).

Alto índice de acidentes com animais silvestres e domésticos em decorrência da utilização de agrotóxicos revelou necessidade de aperfeiçoamento dos mecanismos de monitoramento e controle. A lei n. 7.802/89 proibiu o registro de agrotóxicos com características teratogênicas, carcinogênicas, mutagênicas e que provoquem danos à reprodução e ao meio ambiente. A Portaria n. 84/96 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) não limita a avaliação ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins à análise de resultados de ensaios de laboratório, enfatizando a utilização de dados de campo para controle e monitoramento ambiental (BRASIL, 1998).

De acordo com GRISOLIA (2005), muitos agrotóxicos em uso apresentam risco de mutagenicidade, carcinogenicidade e teratogenicidade. MEIER, WERNING e TORSELLA (1999) e ZUNIGA-GONZALEZ *et al.* (2000) demonstraram a viabilidade do uso da técnica de micronúcleos em estudos de mutagênese com mamíferos, aves, répteis e outros animais silvestres. Assim, a análise de micronúcleos pode ser utilizada como bioindicador de substâncias genotóxicas no meio ambiente.

Os anfíbios, modelos de populações naturais usados para estudos genotóxicos, constituem grande grupo em risco. As práticas agrícolas extensivas e o uso de insumos químicos que alteram os ecossistemas (matando crustáceos, moluscos, e insetos) afetam sua sobrevivência. Os anfíbios são indicadores bióticos, pois sofrem os impactos diretos do cultivo da terra (BELFIORI e ANDERSON, 2001).

Em insetos, as isoenzimas esterases estão relacionadas com diversos processos metabólicos tais como a degradação de inseticidas organofosforados e carbamatos. Uma das mais importantes questões da biologia evolutiva trata da variação genética existente em populações de organismos e a significância adaptativa dessa variação (SPACKMAN *et al.*, 1994). A aplicação de técnicas de eletroforese tem revelado a existência de variações em populações naturais e a maioria dos polimorfismos parece estar associada com a heterogeneidade ambiental (ALBUQUERQUE e NAPP, 1981). Alguns trabalhos com isoenzimas enfocaram membros da família Drosophilidae, como *Drosophila simulans* (KAROTAM e OAKESHOTT, 1993) e *Zaprionus* (PARKASH, 1980).

Este trabalho teve por objetivo traçar o perfil do uso de agrotóxicos no município de Campo Verde e comparar os resultados das frequências de micronúcleos em sangue periférico de anfíbios da espécie *Bufo schneideri* desse ecossistema agrícola com exemplares do ecossistema de proteção ambiental da Chapada dos Guimarães. Também foi analisada e comparada a distribuição genética da enzima  $\alpha$ -esterase de espécies de drosofilídeos (*Drosophila simulans* e *Zaprionus indianus*) de ambos os ecossistemas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 PESQUISA SOBRE O PERFIL DE USO DOS AGROTÓXICOS

#### a) Ecossistema agrícola

O município de Campo Verde (MT) está localizado no centro oeste do Brasil e sudeste do Mato Grosso, a 130 km de Cuiabá (capital do estado). Com área de 4.785,40 km<sup>2</sup>, sua economia provém de

diversos setores. Os plantios de soja (75.000 ha), de algodão (60.416 ha) e de milho (26.000 mil ha) colocam o município em destaque no cenário nacional (PARO, 2004).

b) Ecossistema de proteção ambiental

No município de Chapada dos Guimarães, usado como controle, o plantio é restritivo. Trata-se de grande centro de conservação e preservação, cuja renda advém praticamente do turismo. Parte desse município foi transformada em Parque Nacional pelo decreto n. 97.656, de 12 de abril de 1989, com o objetivo de proteger e preservar amostras dos ecossistemas ali existentes (FERREIRA, 1997).

Os dados apresentados neste estudo são provenientes de entrevistas realizadas com os agricultores e/ou proprietários das Fazendas São Francisco, Fazenda Felicidade, localizadas em Campo Verde e da Fazenda Jampruca na Chapada dos Guimarães, nas quais foram coletadas as amostras de anfíbios e drosofilídeos (Figura 1). Também participaram das entrevistas, o Instituto de Defesa Agropecuária do Estado do Mato Grosso (INDEA-MT) e a Secretaria de Agricultura. A compilação das informações gerou a lista dos agrotóxicos mais utilizados, cujos nomes químicos serviram para determinar sua classe toxicológica e periculosidade ambiental. Obteve-se a quantidade de ingrediente ativo (IA) comercializada no município de Campo Verde durante 2001 a partir do levantamento dos receiptuários agrônômicos, os quais foram agrupados conforme as classes químicas dos produtos.

**FIGURA 1 - MAPA DO ESTADO DO MATO GROSSO, DESTACANDO OS MUNICÍPIOS DE CAMPO VERDE E CHAPADA DOS GUIMARÃES**



■ Fazendas que serviram para coleta com o respectivo posicionamento global por satélite fuso 21 (gps): fazenda São Francisco (696214E;8280948N), fazenda Felicidade (690267E; 8290086N), fazenda Jampruca (679345E; 8293579N).

## 2.2 PESQUISA DE MICRONÚCLEOS EM ANFÍBIOS

Efetuuou-se a seleção da amostra conforme dados da literatura, que recomenda a utilização de cinco a dez exemplares para estudos em laboratório, com tratamentos variados para o mesmo tipo de

produto químico e o grupo controle (GRISOLIA e CORDEIRO, 2000; GRISOLIA, 2002; PALHARES e GRISOLIA, 2002). Estudos em campo (biomonitoramento) com diversidade de produtos exigem mais ou menos trinta exemplares e dez para o grupo controle (D'ARCE e CÓLUS, 2000). Procurou-se não exceder esses números para evitar redução das populações e não comprometer a variabilidade intraespecífica.

Foram coletados 40 exemplares de anfíbios da espécie *Bufo schneideri* das três fazendas citadas, no período de março a agosto de 2004 e de dezembro de 2004 a janeiro de 2005, com as devidas autorizações emitidas pelo IBAMA: licença 011/04-COEFA, 036/04-COEFA e 067/04-GEREX-1/MT. Obteve-se cerca de 0,5 µL de sangue periférico dos anfíbios para o esfregaço, seguido de coloração por acridina orange, conforme técnica de HAYASHI *et al.* (1990). Efetuou-se a análise de micronúcleos pela contagem de 3000 eritrócitos por exemplar, utilizando microscopia de fluorescência e objetiva de imersão (100 x). Aplicou-se o teste exato de Fisher, por meio do programa BIOESTAT 2.0 (AYRES *et al.*, 2000) para verificação dos resultados com nível de significância de 0,05.

### 2.3 PESQUISA DE VARIABILIDADE GENÉTICA EM DROSOFILÍDEOS

Conforme licença 067/04-GEREX-1/MT, do IBAMA, foram coletadas 900 amostras de drosofilídeos no período de dezembro de 2004 a janeiro de 2005. A preparação das iscas e das armadilhas para coleta dos drosofilídeos ocorreu conforme as técnicas de SENE *et al.*, 1980 e TIDON, LEITE e LEÃO, 2003. As iscas foram preparadas com bananas e fermento seco, 24 horas antes de serem levadas ao campo. Dez armadilhas de lata ficaram suspensas em árvores por 48 horas, na sombra, entre 1,0 m e 1,20 m de altura e separadas por 20 passos em linhas perpendiculares às plantações ou no rio da Casca. Foram realizadas duas coletas em cada fazenda, cujas amostras permaneceram congeladas até serem processadas. Para determinação do padrão de migração e classificação da  $\alpha$ -esterase em drosofilídeos utilizou-se o gel de poliacrilamida para a análise eletroforética (LAPENTA, 1998). A partir das frequências alélicas foram estimados os índices de diversidade genética, heterozigosidade média (He) e número médio de alelos, com auxílio do programa BIOSYS desenvolvido por SWOFFORD E SELANDER (1989).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os agrotóxicos mais comercializados no município de Campo Verde em 2001 (Tabela 1) foram os herbicidas, seguidos pelos inseticidas, fungicidas e reguladores de crescimento.

**TABELA 1 - CLASSES DOS AGROTÓXICOS MAIS UTILIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAMPO VERDE-MT E QUANTIDADE DE INGREDIENTE ATIVO (IA) COMERCIALIZADO EM 2001**

CLASSES	QUANTIDADE DE IA (kg)
Herbicidas	247.778,92
Inseticidas	209.402,14
Fungicidas	129.587,62
Reguladores de crescimento	17.001,28

De acordo com a Tabela 2, o grupo químico das glicinas foi o mais adquirido entre os herbicidas. Os produtos mais comercializados foram os herbicidas glifosato e ácido fenoxiacético (2,4-D) e os inseticidas endossulfam e metamidófos (Tabela 3). O 2,4-D, o organoclorado endossulfam e o

organofosforado metamidófos merecem atenção com relação aos seus efeitos danosos ao meio ambiente, pois pertencem aos grupos I e II (altamente e muito perigoso ao ambiente). A maioria os pesticidas levantados por BLUMENSCHIN (1995) em trabalho sobre o uso de agrotóxicos nos municípios de Jaciara e Campo Verde (Mato Grosso) coincidiu com os verificados neste estudo.

**TABELA 2 - GRUPO QUÍMICO DOS DEZ AGROTÓXICOS MAIS UTILIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAMPO VERDE (MT) E QUANTIDADE DE INGREDIENTE ATIVO (IA) COMERCIALIZADO EM 2001**

GRUPO QUÍMICO	QUANTIDADE DE IA (kg)
Glicinas	107.865,31
Organofosforados	96.723,84
Hidrocarbonetos	80.410,27
Ácido Fenoxiacético	49.916,91
Organoclorados	42.656,91
Uréia e derivados	39.563,08
Carbamatos	30.716,66
Benzimidazol	27.284,90
Triazina	19.832,20
Éster de Ácido Graxo	19.806,21

O Glifosato, herbicida sistêmico derivado do grupo das glicinas, é considerado pouco tóxico em relação à classificação toxicológica e medianamente tóxico quanto a periculosidade ambiental (ANVISA, 2005). Sua alta solubilidade em água e baixa solubilidade em lipídios não sugerem tendência de bioacumulação. O glifosato é pouco tóxico aos vertebrados e não permanece ativo no meio ambiente, ficando firmemente adsorvido tão logo atinge o solo (GRISOLIA, 2005). A atividade genética do glifosato tem sido investigada em diferentes sistema-teste. 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 (LI e LONG, 1988).

**TABELA 3 - GRUPO QUÍMICO, NOME QUÍMICO E CLASSIFICAÇÃO (ANDREI, 1999) DOS AGROTÓXICOS MAIS UTILIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAMPO VERDE-MT (2001)**

GRUPO QUÍMICO	NOME QUÍMICO	CLASSIFICAÇÃO	CLASSE TOXICOLÓGICA	PERICULOSIDADE AMBIENTAL	QUANTIDADE DE IA (kg)
Glicina	GLIFOSATO	HERBICIDA	IV	III	107.865,31
Ácido Fenoxiacético	2,4 D	HERBICIDA	I	I	49.916,19
Organoclorado	ENDOSSULFAM	INSETICIDA	I	I	42.655,10
Organofosforado	METAMIDOFÓS	INSETICIDA	II	II	22.917,60

IA = ingrediente ativo.

Classe toxicológica I = extremamente tóxico, II = altamente tóxico, III = medianamente tóxico, IV = pouco tóxico. Periculosidade Ambiental I = altamente perigoso, II = muito perigoso, III = perigoso, IV = pouco perigoso (ANVISA, 2005).

O 2,4-D constitui um dos herbicidas mais utilizados no controle de plantas daninhas de folhas largas. Assim como existem estudos que o consideraram carcinogênico e teratogênico (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 1985), outros apresentaram resultados negativos (CHARLES *et al.*, 1999a, 1999b; GALLOPUD *et al.*, 1999). Tais diferenças são atribuídas à mistura da formulação comercial que contém subprodutos de síntese como as dioxinas. Esses compostos clorados são considerados carcinogênicos e indutores de efeitos teratogênicos em roedores, fato não observado para o ingrediente ativo 2,4-D utilizado puro.

O endossulfam, inseticida organoclorado, é considerado altamente bioconcentrável em peixes, muito tóxico para organismos terrestres, altamente tóxico para mamíferos (por via inalatória), altamente irritante aos olhos de mamíferos, medianamente tóxico para aves e altamente tóxico para abelhas (GRISOLIA, 2005). A maioria dos resultados para mutagenicidade, carcinogenicidade e teratogenicidade são positivos (REUBER, 1980; QUIJANO, 2000; GUPTA, CHANDRA e SAXEMA, 2000).

O metamidófos, inseticida sistêmico organofosforado, é altamente tóxico para organismos aquáticos e altamente tóxico para mamíferos por via inalatória. Apresenta os mesmos riscos de mutagênese que os organofosforados em geral (ANDREI, 1999).

Os agrotóxicos utilizados nas fazendas estudadas, safra 2004, segundo dados obtidos pelos questionários (Tabelas 4, 5 e 6) também foram citados na relação de 2001. A Fazenda São Francisco cultiva 680 ha de soja e 400 ha de milho. Dos 713 ha da Fazenda Felicidade, 70 são destinados ao plantio de soja. As duas áreas, localizadas no município de Campo Verde, são circundadas por outras fazendas com extensivo cultivo de milho, soja e algodão. Já a Fazenda Jampruca (Chapada dos Guimarães) conta com 250 ha, dos quais 112 ha são destinados ao plantio de soja e nas proximidades o plantio é restritivo. A época de safra da soja ocorre de outubro a janeiro e a do milho de fevereiro a agosto.

**TABELA 4 - QUANTIDADE DE AGROTÓXICO UTILIZADO/CULTIVO – FAZENDA JAMPRUCA/CHAPADA DOS GUIMARÃES (2004)**

PRODUTO	CULTIVO	QUANTIDADE
Glifosato	Soja	112 kg; 1,68 L
Endossulfam	Soja	0,09 L
Clorimuron	Soja	5 kg
Ácido Ariloxifenoxipropiônico	Soja	0,448 L
Flutriafol	Soja	112 L

**TABELA 5 - QUANTIDADE DE AGROTÓXICO UTILIZADO/CULTIVO – FAZENDA SÃO FRANCISCO/CAMPO VERDE (2004)**

PRODUTO	CULTIVO	QUANTIDADE
Glifosato	Soja	2.040 L
Ácido Fenoxiácido	Soja	2.720 L
Lambda-cialotrina	Soja	170 L
Metamidofós	Soja	3.400 L
Diclosulfam	Soja	27.200 kg
Metolacloro	Soja	680 L
Tebuconazole	Soja	3.400 L
Flutriafol	Soja	3.400 L
Acefato	Soja	2.720 L
Triazina	Milho	1.000 L
Benzoiluréia	Milho	1200 L

**TABELA 6 - QUANTIDADE DE AGROTÓXICO UTILIZADO/CULTIVO – FAZENDA FELICIDADE/CAMPO VERDE (2004)**

PRODUTO	CULTIVO	QUANTIDADE
Metamidofós	Soja	126 L
Diclossulfam	Soja	2,94 kg
Clomazona	Soja	70 L
Haloxifop-p	Soja	35 L
Triazol	Soja	63 L

De 90 mil células analisadas de amostras de anfíbios (*Bufo schneideri*) do município de Campo Verde, 62 apresentaram micronúcleos (total de 0,069% de células micronucleadas). Já no município de Chapada dos Guimarães, 30 mil células foram analisadas e quatro (total de 0,013%) revelaram a presença de micronúcleo (Tabela 7). Apesar da grande diferença entre as médias (0,4 contra 2,1) o desvio-padrão foi mais alto do que as médias, representando alta variabilidade interindividual nas freqüências de micronúcleos. De acordo com o teste Exato de Fisher, as diferenças das médias não foram significativas ( $p=0,0711$ ).

**TABELA 7 - DADOS DE GENOTOXICIDADE DAS AMOSTRAS DE ANFÍBIOS COLETADAS NOS MUNICÍPIOS DE CAMPO VERDE E CHAPADA DOS GUIMARÃES (CONTROLE) E O RESULTADO ESTATÍSTICO DO TESTE EXATO DE FISHER (p)**

	N	p	N CÉLULAS ANALISADAS	Mn	%	$\bar{X}$
Ecossistemas						
Controle	10		30.000	04	0,013	0,4±0,7
Agrícola	30	0,0711	90.000	62	0,069	2,1±2,9

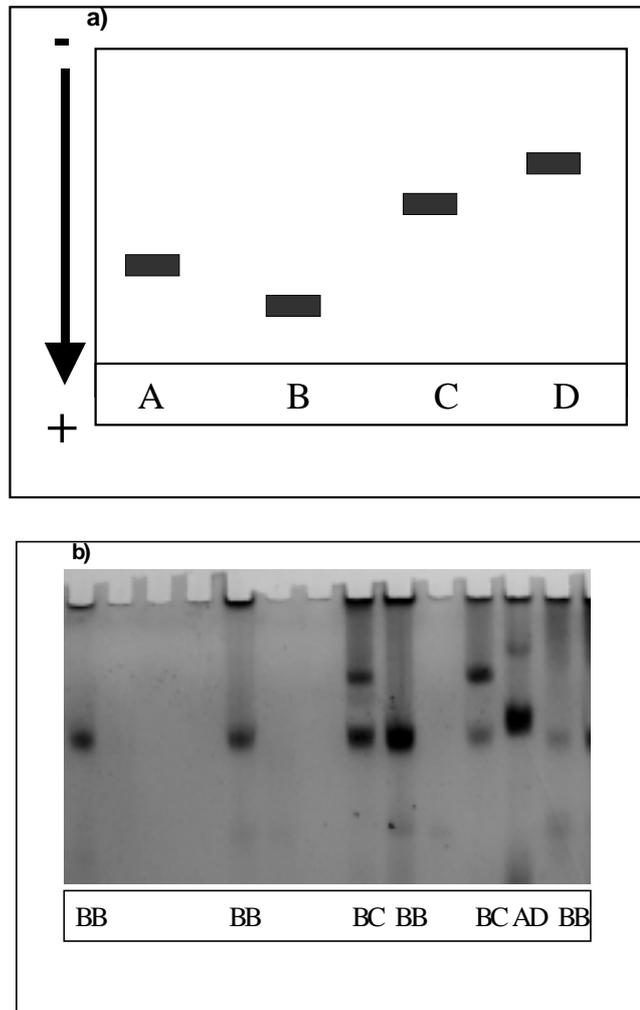
N= numero total.

p= resultado estatístico= 0,0711, não-significativo ao nível de 0,05. Mn = número de micronúcleos .  
 $\bar{X}$  = média de Mn/indivíduos±desvio-padrão.

Para os dados de distribuição genética da enzima  $\alpha$ -esterase, 191 exemplares de *D. simulans* e 215 de *Z. indianus* apresentaram resultados satisfatórios. Regiões com atividade enzimática fraca não foram consideradas neste estudo. Não foi verificada variação sexual. Foram observados 4 alelos mais característicos nomeados de A, B, C, D (Figuras 2 e 3). O alelo A foi o mais encontrado nas populações de *D. simulans* dos ecossistemas de proteção ambiental e agrícola (Tabela 8) e o alelo C nas populações de *Z. indianus* de ambos ecossistemas (Tabela 9). O índice de heterozigidade

média (He) da área de proteção mostrou-se maior que o da área agrícola em ambas as populações, evidenciando que essas estão mais adaptadas ao local. As populações do ecossistema agrícola sofrem mudanças e impactos ambientais pela ação antrópica de prática agrícola com o uso de agrotóxicos.

**FIGURA 2 – A) ESQUEMA DA MIGRAÇÃO ELETROFORÉTICA DOS ALELOS PARA *Drosophila simulans*. A – ALELO 1.00, B – ALELO 1.05, C – ALELO 0.90 E D – ALELO 0.75. B) FOTO E INTERPRETAÇÃO DO GEL DE *Drosophila simulans***

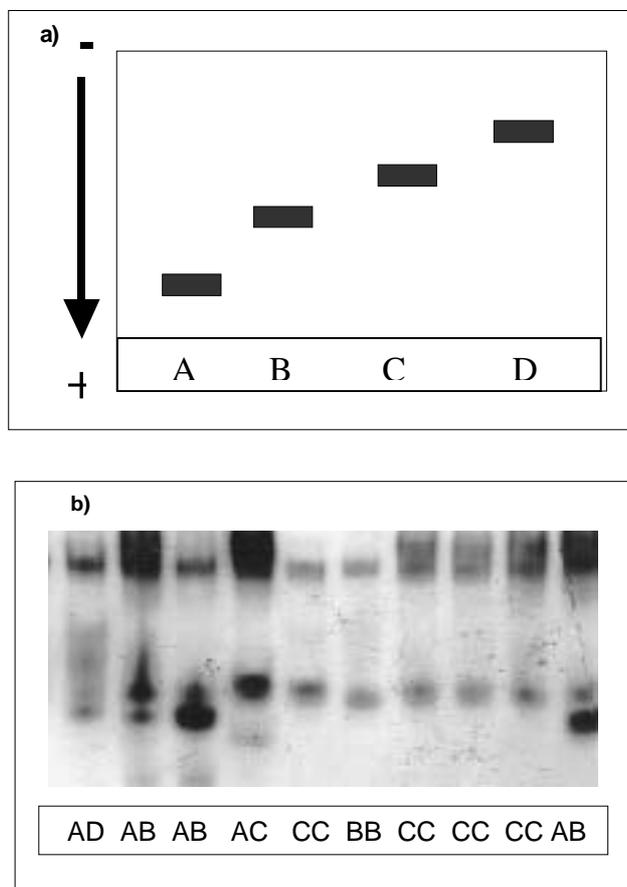


**TABELA 8 – NÚMERO DE INDIVÍDUOS, FREQUÊNCIA ALÉLICA, NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA PARA HARDY-WEINBERG (p) HETEROZOZIDADE MÉDIA (HE) DA ENZIMA  $\alpha$ -ESTERASE EM AMOSTRAS DE *D. Simulans* COLETADAS NOS ECOSISTEMAS AGRÍCOLA E DE PROTEÇÃO AMBIENTAL (CONTROLE)**

ECOSSISTEMAS	N	p	ALELOS				HE
			A	B	C	D	
Controle	67	0.004*	0.478	0.045	0.119	0.358	0.642
Agrícola	124	0.000**	0.480	0.121	0.185	0.214	0.435
$\bar{X} = 0,2235 \pm 0,1762$							

\*p < 0,005, \*\*p < 0,001, significativo /  $\infty$  = Equilíbrio de H-W / A-alelo 1.00, B-alelo 0.95, C-alelo 0.90, D-alelo 0.85. N = numero total, p = resultado do teste estatístico, He = heterozigosidade média. X = média  $\pm$  desvio padrão.

**FIGURA 3 – A) ESQUEMA DA MIGRAÇÃO ELETROFORÉTICA DOS ALELOS DO LOCO 1 PARA *Zaprionus indianus*. A – ALELO 1.00, B – ALELO 0.94, C – ALELO 0.80 E D – ALELO 0.75. B) FOTO E INTERPRETAÇÃO DO GEL DE *Zaprionus indianus***



**TABELA 9 - NÚMERO DE INDIVÍDUOS (N), FREQUÊNCIA ALÉLICA, NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA PARA HARDY-WEINBERG (p) E HETEROGOZIDADE MÉDIA (HE) DA ENZIMA  $\alpha$ -ESTERASE EM AMOSTRAS DE *Z. Indianus* COLETADAS NOS ECOSISTEMAS AGRÍCOLA E DE PROTEÇÃO AMBIENTAL (CONTROLE)**

ECOSSISTEMAS	N	P	ALELOS				HE
			A	B	C	D	
Controle	70	0.000**	0.207	0.193	0.414	0.186	0.457
Agrícola	145	0.000**	0.210	0.266	0.352	0.172	0.414
						$\bar{X} = 0,2871 \pm 0,1108$	

\*p< 0,005, \*\*p<0,001, significativo/  $\infty$  = Equilíbrio de Hardy-Weinberg / A-alelo 1.00, B-alelo 0.95, C-alelo 0.90, D-alelo 0.85. N = numero total, p = resultado do teste estatístico, He = heterozigosidade média.  $\bar{X}$  = média $\pm$ desvio padrão.

#### 4 CONCLUSÃO

Os produtos mais comercializados em Campo Verde – MT no ano de 2001 foram os herbicidas glifosato e o 2,4-D, além dos inseticidas endossulfam e metamidófos. Em relação a genotoxicidade, a frequência média de micronúcleos encontrada nos anfíbios coletados na área controle

(0,013%) não diferiu dos animais coletados na área agrícola (0,069%). Observou-se grande variabilidade interindividual no número de micronúcleos entre os exemplares coletados em ambos os ecossistemas, refletida nos altos valores do desvio-padrão. O índice de heteroziguidade média encontrado no ecossistema da Chapada dos Guimarães mostrou-se maior do que no ecossistema agrícola em ambas as populações de drosophilídeos, indicando influência do ecossistema agrícola na estrutura genética dessas comunidades, possivelmente estreitando a base genética. Tais dados evidenciam que os drosophilídeos podem ser usados como organismos sentinelas para avaliar impactos ambientais causados por pesticidas.

## ABSTRACT

### **PESTICIDES ECOGENOTOXICOLOGY: A COMPARATIVE EVALUATION BETWEEN AN AGRICULTURAL ECOSYSTEM AND A CONSERVATION AREA (NATIONAL PARK)**

The frequencies of chromosomal aberrations were investigated in this study, through micronuclei scoring from peripheral blood of amphibious sampled and genetic variability pattern of the  $\alpha$ -esterases in *drosophilidae*. Animals were collected in the Chapada dos Guimarães, MT (BRAZIL), an environmental conservation site, and in the municipal district of Campo Verde, an agroecosystem. The results showed micronuclei frequency of 0.069% in the agroecosystem (Campo Verde), not differing statistically from the Chapada dos Guimarães (0.013%). The agricultural ecosystem showed lower mean level of heterozygosity than the conservation site, demonstrating its influence in the genetic structure of *Drosophilidae* communities. It is concluded that *Drosophilidae* can be used as biological sentinels of environmental impacts caused by pesticide used in agriculture.

KEY-WORDS: PESTICIDES; GENOTOXICITY; AMPHIBIOUS; DROSOPHILIDAE.

## REFERÊNCIAS

- 1 ALBUQUERQUE, C. M. R. de; NAPP, M. Genetic variability at the esterase-6 locus in natural populations of *Drosophila simulans* in relation to environmental heterogeneity. **Genetics**, v. 98, p. 399-407, 1981.
- 2 ANDREI. Organização Andrei Editora Ltda. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 6. ed. São Paulo, 1999.
- 3 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **SIA - Sistema de Informação sobre Agrotóxicos**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/manual/axexo\\_01.htm](http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/manual/axexo_01.htm)>. Acesso em: 4 jul. 2005.
- 4 AYRES, M.; AYRES, M. JÚNIOR; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. S. **Aplicações estatísticas nas áreas as ciências biológicas e médicas**. Belém/PA: Sociedade Civil Mimirauá, Brasília/DF: CNPq, 2000. 272 p. (Acompanha CDROM).
- 5 BELFIORE, N. M.; ANDERSON, S. L. Effects of contaminants on genetic patterns in aquatic organisms: review. **Mutation Research**, v. 489, p. 97-122, 2001.
- 6 BLUMENSCHNEIN, M. A agricultura modernizada do cerrado e sua significância para o desenvolvimento sustentável na região do Pantanal. In: KOHLHEPP, G. **Mensch-Umwelt-Beziehungen in der Pantanal-Region von Mato Grosso, Brasilien**. Beiträge zur angewandten Umweltforschung-Tübinger Geogr. Studien 114. IB Zc 40 B, 107, p. 221-246, 1995.
- 7 BRASIL. Ministério da Agricultura. **Legislação federal de agrotóxicos e afins**. Brasília: Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1998. 184 p.
- 8 CHARLES, M. J.; CUNNY, H. C.; WILSON, R. D.; IVETT, J. L.; MURLI, H.; BUS, J. S.; GOLLAPUDI, B. *In vivo* micronucleus assays on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its derivatives. **Mutation Res.**, v. 44, p. 227-234, 1999b.
- 9 CHARLES, M. J.; CUNNY, H. C.; WILSON, R. D.; LAWLOR, T. E.; BUS, J. S.; CIFONE, M. A.;

- FELLOWS, S.; GOLLAPUDI, B. Ames assay and unscheduled DNA synthesis assay on 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid and its derivatives. **Mutation Res.**, v. 444, p. 207-216, 1999a.
- 10 D'ARCE, L. P. G.; CÓLUS, I. M. DE S. Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**. v. 20 p. 161-170, 2000.
- 11 FERREIRA, J. C. V. **Mato Grosso e seus Municípios**. Cuiabá: Editora da Secretaria de Estado da Cultura, 1997. 68 p.
- 12 GALLOPUD, B. B.; CHARLES, J. M.; LINScombe, V. A.; DAY, S. J.; BUS, J. S. Evaluation of the genotoxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its derivatives in mammalian cell cultures. **Mutation Res.**, v. 444, p. 217-225, 1999.
- 13 GRISOLIA, C. K.; CORDEIRO, C.M.T. Variability in micronucleus induction with different mutagens applied to several species of fish. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 1, p. 235-239, 2000.
- 14 GRISOLIA, C. K.; PALHARES, D. Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, p. 281-284, 2002.
- 15 GRISOLIA, C. K. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. **Mutation Research**, v. 518, p. 145-150, 2002.
- 16 GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. Brasília: Editora da Universidade de Brasília, 2005. 388 p.
- 17 GUPTA, P. K.; CHANDRA, S.V.; SAXEMA, D. K. Teratogenic and embryotoxic effects of endosulfan in rats. **Acta Pharmacol. et Toxicol.**, v. 42, p. 150-152, 1978.
- 18 HAYASHI, M.; TAKESHI, M.; KODAMA, Y.; TOSHIO, S.; ISHIDAT JR., M. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. **Mutation Research**, v. 245, p. 245-249, 1990.
- 19 IARC. International Agency for Research on Cancer. **Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man**. Lyon, 1985. v. 15.
- 20 KAROTAM, J.; OAKESHOTT, J. G. Regulatory aspects of esterase 6 activity variation in sibling *Drosophila* species. **Heredity**, v. 71, p. 41-50, jul. 1993.
- 21 LAPENTA, A.S. **Caracterização de espécies de *Drosophila* do "cluster" buzzatii com base nos padrões de esterases**. São José do Rio Preto, 1998. 79 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Genética). Universidade Estadual Paulista.
- 22 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.
- 23 MEIER, J. R.; WERNING, P.; TORSELLA, J. Feasibility of micronucleus methods for monitoring genetic damage in two feral species of small mammals. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 33, p. 219-225, 1999.
- 24 PARKASH, R. Esterase polymorphism in a population of *Zaprionus paravittiger*. **Experientia**, v. 36, p. 1164-1165, 1980.
- 25 PARO, Hortêncio. **A história do algodão em Mato Grosso**. Empaer - Empresa Mato-grossense de Pesquisa [on line], Mato Grosso, 2004. Disponível em: <http://www.empaer.mt.gov.br> Acesso em 18 jun. 2004.
- 26 QUIJANO, R. F. Risk assessment in a third-World reality: an endosulfan case history. **Int. J. Occup. Environ. Health**, v. 6, n. 4, p. 312-317, 2000.
- 27 REUBER, M. D. The role of toxicity in the carcinogenicity of endosulfan. **Sci. Total Environ.**, v. 20, p. 23-47, 1980.

- 28 SENE F.M., VAL F.C., VILELA C.R.; RODRIGUES-PEREIRA, M.A.Q. Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* spp. within morpho-climatic domains of Brazil. **Pap. Avul. Dep. Zool**, v. 33, p. 315-326, 1980.
- 29 SEVERINO, N. Forma de Ocupação explica o uso indiscriminado. **Diário de Cuiabá**, n. 10029, 06 fev, p. 2, 2001.
- 30 SPACKMAN, M. E.; OAKESHOTT, J. G.; SMYTH, K. A.; MEDVECZKY, K. M.; RUSSELL, R. J. A cluster of esterase genes on chromosome 3R of *Drosophila melanogaster* includes homologues of esterase genes conferring insecticide resistance in *Lucilia cuprina*. **Biochem Genet.**, v. 32, n. 1/2, p. 39 – 62, Fev. 1994.
- 31 SWOFORD, D. L.; SELANDER, R. B. **Biosys**: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. Illinois: Natural History Survey, 1989.
- 32 TIDON, R.; LEITE, D. F.; LEÃO, B. F. D. Impact of the colonization of *Zaprionus* (Diptera, Drosophilidae) in different ecosystems of the Neotropical region: 2 years after the invasion. **Biological Conservation**, v. 112, p. 299–305, 2003.
- 33 WALKER, C. H. The use of biomarkers to measure the interactive effects of chemicals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 40, p. 65-70, 1998.
- 34 ZUNIGA-GONZALÉZ, G.; TORRES BUGARIN, O.; LUNA AGUIRRE, J.; GONZALEZ RODRIGUEZ, A.; ZAMORA PEREZ, A.; GOMEZ MEDA, B. C.; VENTURA AGUILAR, A. J.; RAMOS IBARRA, M. L.; RAMOS MORA, A.; ORTIZ, G. G.; GALLEGOS ARREOLA, M. P. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): part two. **Mutation Research**, v. 467, p. 99-103, 2000.