UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental

ANDRÉA NOVELLI

Efeito do Vertimec® 18CE e de seu princípio ativo, a abamectina, em ambiente aquático: uma análise laboratorial e *in situ*

São Carlos
Estado de São Paulo
2010

ANDRÉA NOVELLI

Efeito do Vertimec® 18CE e de seu princípio ativo, a abamectina, em ambiente aquático: uma análise laboratorial e *in situ*

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

São Carlos
Estado de São Paulo
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

N938e

Novelli, Andréa
Efeito do Vertimec® 18CE e de seu princípio ativo, a abamectina, em ambiente aquático : uma análise laboratorial e *in situ* / Andréa Novelli ; orientador Evaldo Luiz Gaeta Espíndola. -- São Carlos, 2010.

Tese (Doutorado-Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2010.

1. Pesticidas. 2. Ecotoxicologia. 3. Zooplâncton de água doce. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): Licenciada **ANDRÉA NOVELLI.**

Tese defendida e julgada em 26.11.2010 perante a Comissão Julgadora:

APROVADA

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GAETA ESPÍNDOLA** – (Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADA

Profª. Titular **ODETE ROCHA**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

APROVADA

Drª. **CLARICE MARIA RISPOLI BOTTA**
(Fundação para o Incremento da Pesquisa e do Aperfeiçoamento Industrial/FIPAI)

APROVADO

Prof. Dr. **PAULO CESAR MELETTI**
(Universidade Estadual de Londrina/UEL)

APROVADO

Dr. **ALOYSIO DA SILVA FERRÃO FILHO**
(Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ)

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GAETA ESPINDOLA**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Engenharia Ambiental

Prof. Associado **PAULO CÉSAR LIMA SEGANTINE**
Suplente do Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

Dedico:

Aos meu pais, Geraldo (in memoriam) e Conceição, que com seus exemplos de vida e apoio, me fizeram seguir sempre em frente na busca de meus ideais. À minha doce e saudosa vozita Ana (in memoriam) e a todas as pesssoas especiais que fazem parte da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, pela orientação e confiança sempre depositada, pela paciência e incentivo, enfim, pela amizade conquistada ao longo desses 8 anos.

À todas as pessoas, e não foram poucas, que auxiliaram em alguma etapa da pesquisa:

- ✓ às amigas Bruna H. Vieira, Andréa S. Z. Braun e Ana Maria Vasconcelos, com quem tive a sorte de poder trabalhar em conjunto no desenvolvimento deste trabalho;
- ✓ aos técnicos do CRHEA/SHS/EESC/USP, Marcelo M. Nogueira e Amândio M. Nogueira, por todo apoio no desenvolvimento da pesquisa;
- ✓ aos alunos estagiários do curso de Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, pelos auxílios em parte da pesquisa experimental;
- ✓ ao Prof. Dr. Fábio Amodêo Lansac-Tôha e a sua equipe da Universidade Estadual de Maringá, pela contribuição na identificação do material zooplanctônico e nos procedimentos laboratoriais;
- ✓ às Profa. Dra. Odete Rocha, Natália F. Negreiros, Laira L. D. de Oliveira e Renata M. dos Santos, do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos, pela contribuição na identificação do material zooplanctônico;
- ✓ à Profa. Dra. Nesly F.Verani e suas doutorandas Aline F. Campagna e Beatriz K. Rodrigues, do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, pelo auxílio nas análises histológicas;
- ✓ à Profa. Dra. Maria Olímpia Rezende, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelas análises químicas da abamectina;
- ✓ à Profa. Dra. Eny M. Vieira e suas orientandas Daniela Cordeiro e Luciana T. D. Cappelini, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelas análises cromatográficas da abamectina;
- ✓ à Cláudia Fileto pelas diversas contribuições no andamento desta pesquisa;
- ✓ aos funcionários do CRHEA/SHS/EESC/USP, pelas facilidades encontradas em todos os setores;
- ✓ Ao Prof. Dr. Alberto Carvalho Peret, do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aproveito a oportunidade para agradecer a minha família, pela paciência e apoio, nos momentos de ausência e conflitos;

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram a concluir esta etapa da minha vida acadêmica, pessoas especiais que fizeram, e ainda fazem parte, da minha trajetória, o meu eterno agradecimento;

À Capes, pela bolsa de estudos concedida;

E sobretudo, agradeço a Deus.

"Completou-se uma jornada.
Chegar é cair na inércia de um ponto final.
Na euforia da chegada,
Há um convite irrecusável
Para uma nova partida".

(Helena Kolody)

RESUMO

Novelli, A. **Efeito do Vertimec® 18CE e de seu princípio ativo, a abamectina, em ambiente aquático: uma análise laboratorial e *in situ*.** Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil, 2010.

O Vertimec® 18CE, cujo principio ativo é a abamectina, tem sido comercializado no Brasil desde 1994 como acaricida, inseticida e nematicida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais; mas, apesar da ampla utilização e de sua classificação toxicológica como medianamente tóxica, é considerado muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes. Considerando essa periculosidade ambiental, objetivou-se nesse estudo avaliar os efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec® 18CE nos ecossistemas aquáticos por meio de estudos experimentais laboratoriais e *in situ*, contemplando diferentes etapas. Na Etapa 1 foram realizados experimentos de campo associados aos testes laboratoriais, avaliando se a água de escorrimento superficial (decorrente da precipitação de 19 mm em solo contaminado com Vertimec® 18CE, em concentração de 0,125 litros de calda m^{-2}, recomendada para culturas de morango) ocasionava toxicidade aos organismos-teste *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*. Na Etapa 2 procurou-se avaliar a influência do agrotóxico Vertimec® 18CE na composição e densidade da comunidade zooplanctônica em experimentos *in situ* (mesocosmos). Para tanto, utilizou-se a água do escorrimento superficial, a qual foi transferida para as unidades experimentais, nos seguintes tratamentos: 1) controle dos mesocosmos - C; 2) *runoff* não contaminado - RNC, com água de escorrimento do solo não contaminado; 3) *runoff* contaminado - RC, com água de escorrimento do solo contaminado com o Vertimec® 18CE, 4) aplicação direta do Vertimec® 18CE - V e 5) amostras coletadas aleatoriamente para verificar se houve contaminação entre os mesocosmos - A. A Etapa 3 incluiu a determinação da faixa de sensibilidade dos organismos-teste *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio* à abamectina (ingrediente ativo). Os resultados obtidos demonstraram toxicidade do Vertimec® 18CE, associado ao *runoff*, a todos os organismos-teste, sendo *C. dubia* a mais sensível, com toxicidade crônica ocorrendo na maior diluição da amostra (3,125%). Com relação aos resultados da Etapa 2 verificou-se que o Vertimec® 18CE, associado ao *runoff* e adicionado diretamente nos mesocosmos, causou alterações na composição e densidade da comunidade zooplanctônica, sendo observado efeitos deletérios especialmente para Copepoda e Cladocera, com menores efeitos sobre Rotifera. Os resultados obtidos na Etapa 3 demonstraram que a abamectina é altamente tóxica em concentrações muito baixas, obtendo-se valores de CE_{50}, 48 h para *D similis* de 5,1 ng L^{-1}; CL_{50}, 96 h para *C. xanthus* de 2,67 μg L^{-1} e CL_{50}, 48 h para *Danio rerio* de 33 μg L^{-1}. Diante do exposto, conclui-se que o agrotóxico Vertimec® 18CE e o seu princípio ativo, a abamectina, causaram toxicidade em baixas concentrações para os organismos aquáticos avaliados neste estudo, o que sugere a adoção de medidas mais restritivas para o uso desse agrotóxico.

Palavras-chave: Vertimec® 18CE, abamectina, ecotoxicologia aquática, mesocosmos e comunidade zooplanctônica.

ABSTRACT

Novelli, A. **Effects of Vertimec® 18EC and its active ingredient, abamectin, in the aquatic environment: laboratory and *in situ* analyses.** Thesis (Doctorate/PhD) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brazil, 2010.

The Vertimec® 18EC, whose active ingredient is abamectin, has been commercialized in Brazil since 1994 as acaricide, insecticide and nematicide on fruit and vegetal crops and ornamental plants. Despite its widespread use and toxic classification as moderately hazardous, it is considered very dangerous to the environment, highly persistent and highly toxic to fish and microcrustaceans. In this context, the present study aimed to evaluate the direct and indirect effects of Vertimec® 18EC in aquatic ecosystems through experimental laboratory and *in situ* studies, comprising different steps. In Step 1, field experiments were performed associated to laboratory tests, evaluating if the runoff (from the precipitation of 19 mm in Vertimec® 18EC contaminated soil, in a concentration of 0.125 L m^{-2}, recommended for strawberry crops) caused toxicity to test organisms *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. In Step 2 the effect of Vertimec® 18EC on the composition and density of zooplankton were evaluated by *in situ* experiments (mesocosms). Therefore, runoff water was transferred to the experimental units in the following treatments: 1) control of the mesocosm - C; 2) uncontaminated runoff - UC, runoff from the uncontaminated soil); 3) contaminated runoff - CR, runoff from the soil contaminated with Vertimec® 18EC; 4) direct application of Vertimec® 18EC - V; and 5) random sampling in order to verify crossed contamination among the mesocosms - A. Step 3 comprised determination of the sensitivity range of test organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio* to abamectin (active ingredient). Results obtained displayed Vertimec® 18EC toxicity associated to runoff to all test organisms, with *C. dubia* being the most sensitive, with chronic toxicity occurring at a higher sample dilution (3.125 %). Concerning the results for Step 2, it was verified that Vertimec® 18EC associated with runoff and added directly into the mesocosms caused changes in the composition and density of zooplankton with deleterious effects especially to Copepoda and Cladocera with less effects to Rotifera. The results obtained for Step 3 showed that abamectin is highly toxic to aquatic organisms, even at low concentrations, yielding 48 h EC_{50} values for *D. similis* of 5.1 ng L^{-1}, 96 h LC_{50} for *C. xanthus* of 2.67 μg L^{-1} and 48 h LC_{50} for *Danio rerio* of 33 μg L^{-1}. In this context, it was verified that Vertimec® 18EC and its active ingredient, abamectin, caused toxicity to the test organisms evaluated in this study in low concentrations, what demands restrictive measurements for the use of this pesticide.

Key-words: Vertimec® 18EC, abamectin, aquatic ecotoxicology, mesocosms and zooplankton.

LISTA DE FIGURAS

Estruturação e contextualização da tese

Figura 1. Fluxograma resumido das etapas desenvolvidas neste estudo. (i.a.: ingrediente ativo). ___ *2*

Figura 2. Transporte de agrotóxico no ambiente. Fonte: Modificado de Gravilescu (2005). _____ *6*

Figura 3. Distribuição dos agrotóxicos nas áreas-alvo e não-alvo. Fonte: modificado de Gravilescu (2005). _____ *7*

Figura 4. Movimento dos agrotóxicos no ambiente aquático. Fonte: Modificado de Schnoor (1992). _____ *10*

Figura 5. Esquema ilustrando um dos possíveis efeitos de substâncias estressantes em zooplâncton. Fonte: Modificado de Hanazato (2001). _____ *12*

Figura 6. Fórmula estrutural da Abamectina. Fonte: (FISHER e MROZIK, 1989)._____ *17*

CAPÍTULO 1
Efeito do Vertimec® 18CE em organismos aquáticos zooplanctônicos e bentônicos

Figura 1. Valores de pH e condutividade elétrica (µS cm^{-1}) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B). _____ *29*

Figura 2. Valores de material em suspensão inorgânico, orgânico (mg L^{-1}) e turbidez (NTU) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B). _____ *29*

Figura 3. Valores de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) obtidos nas amostras de água do RNC e RC.___ *30*

Figura 4. Resultados dos testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*, expostas às amostras de água do *runoff* não contaminado (RNC) em A, e contaminado (RC) em B._____ *32*

Figura 5. Resultados dos testes de toxicidade com *Chironomus xanthus*, expostos às amostras de água do *runoff* não contaminado (RNC). _____ *32*

CAPÍTULO 2
Análise da sobrevivência, do crescimento e das alterações histológicas de juvenis de Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) expostos aos resíduos de Vertimec® 18CE

Figura 1. Valores de pH e condutividade elétrica (µS cm^{-1}) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B). _____ *50*

Figura 2. Valores de material em suspensão inorgânico, orgânico (mg L^{-1}) e turbidez (NTU) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B). _____ *50*

Figura 3. Valores de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) obtidos nas amostras de água do RNC e RC.___ *51*

Figura 4. Corte longitudinal ao filamento branquial dos organismos-teste *Danio rerio* expostos ao controle laboratorial... _____ *53*

Figura 5. Corte longitudinal ao filamento branquial dos organismos-teste *Danio rerio* expostos às diferentes concentrações do *runoff* não contaminado (RNC)... _____ *53*

Figura 6. Corte longitudinal ao filamento branquial dos organismos-teste *Danio rerio* expostos às diferentes concentrações do *runoff* contaminado (RC)... _____ *54*

CAPÍTULO 3
Estudos de campo e laboratório para avaliar o efeito dos resíduos de Vertimec® 18CE em Daphnia similis

Figura 1. Esquema da disposição dos tanques no experimento em mesocosmos... _____ *68*

Figura 2. Dispersão dos escores dos tratamentos ao longo do período de amostragem, ambos representados nos dois primeiros eixos..._____ *73*

Figura 3. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras de água do *runoff* contaminado (RC) e não contaminado (RNC), e a sua relação com a média da turbidez das duas parcelas (nível de significância de 5% no teste de Fisher). _____ *74*

CAPÍTULO 4
Alterações estruturais e funcionais de sistemas aquáticos após adição do agrotóxico Vertimec® 18CE, com ênfase na comunidade zooplanctônica

Figura 1. Esquema da disposição dos mesocosmos. C: controle; RNC: *runoff* não contaminado; RC: runoff contaminado; V: Vertimec® 18CE. Os mesocosmos de coloração cinza escuro foram aqueles utilizados neste estudo para análise do zooplâncton. _____ *86*

Figura 2. Dispersão dos escores das variáveis limnológicas consideradas (A) e dispersão dos escores dos tratamentos ao longo do período amostral... _____ *89*

Figura 3. Valores da série de nutrientes (fósforo e nitrogênio) obtidos nas amostras de água, durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório). _____ *90*

Figura 4. Valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura obtidos *in situ*, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório). _____ *91*

Figura 5. Valores de turbidez, material em suspensão inorgânico e orgânico obtidos nas amostras de água, durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos._____ *92*

Figura 6. Densidade numérica da comunidade zooplanctônica nos mesocosmos durante o período amostral. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório). _____ *92*

Figura 7. Ordenação MDS da composição da comunidade zooplanctônica ao longo do período experimental, baseado na dissimilaridade de Canberra..._____ *93*

Figura 8. Índices ecológicos calculados para Rotifera da comunidade zooplanctônica nos mesocosmos durante o período amostral... _____ *94*

Figura 9. Índices ecológicos calculados para microcrustáceos da comunidade zooplanctônica dos mesocosmos durante o período amostral ... _____ *95*

CAPÍTULO 5
Efeito da abamectina em Daphnia similis, Chironomus xanthus e Danio rerio

Figura 01. Resultado das análises químicas das amostras de água dos ensaios de toxicidade aguda com *C. xanthus* e *D. rerio* expostos à abamectina... _____ *116*

LISTA DE TABELAS

Estruturação e contextualização da tese

Tabela 1. Classificação dos agrotóxicos no Brasil, segundo WHO (1990). _____ *5*

CAPÍTULO 1
Efeito do Vertimec® 18CE em organismos aquáticos zooplanctônicos e bentônicos

Tabela 1. Valores médios (n=3) obtidos dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras não contaminadas do *runoff* (RNC)..._____ *31*

Tabela 2. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras contaminadas do *runoff* (RC)... _____ *31*

Tabela 3. Resultados dos testes de toxicidade com *Chironomus xanthus*, expostos às amostras contaminadas do *runoff* (RC). _____ *33*

CAPÍTULO 2
Análise da sobrevivência, do crescimento e das alterações histológicas de juvenis de Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) expostos aos resíduos de Vertimec® 18CE

Tabela 1. Resultados dos testes de toxicidade crônica parcial de sobrevivência de juvenis de *Danio rerio*, expostos às amostras não contaminadas (RNC) e ... _____ *52*

Tabela 2. Comparação dos parâmetros peso e comprimento de juvenis de *Danio rerio* (n=20), expostos às amostras não contaminadas (RNC) e contaminadas (RC) do *runoff*..._____ *52*

CAPÍTULO 3
Estudos de campo e laboratório para avaliar o efeito dos resíduos de Vertimec® 18CE em Daphnia similis

Tabela 1. Valores médios (±DP) das variáveis físicas e químicas da água obtidos nos mesocosmos durante o período experimental..._____ *71*

Tabela 2. Valores médios (±DP) de material em suspensão inorgânico e orgânico das amostras de água coletadas dos mesocosmos durante o período experimental ... _____ *72*

Tabela 3. Valores médios (±DP) dos nutrientes, nitrogênio orgânico total e fósforo total em amostras de água coletadas dos mesocosmos durante o período experimental... _____ *72*

Tabela 4. Valores de imobilidade avaliados em testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis*, referentes às cinco coletas realizadas nos mesocosmos ao longo de 10 dias (240h)..._____ *75*

CAPÍTULO 5
Efeito da abamectina em Daphnia similis, Chironomus xanthus e Danio rerio

Tabela 1. Sumário dos resultados dos testes de toxicidade aguda com abamectina._____ *115*

SUMÁRIO

Estruturação da tese 1

Contextualização e justificativa da pesquisa 3

1. Agrotóxicos 3

1.1. Definição 3

1.1.1. Agrotóxicos, ambiente e saúde: uma introdução ao tema 3

1.1.2. Processos que envolvem os agrotóxicos no ambiente 5

1.1.3. Características ambientais que interferem na dinâmica dos agrotóxicos 8

1.1.4. Ação dos agrotóxicos sobre os organismos 10

1.2. Ecotoxicologia 13

1.2.1. Mesocosmos 14

2. Justificativa 16

3. Referências bibliográficas 18

CAPÍTULO 1
Efeito do Vertimec® 18CE em organismos aquáticos zooplanctônicos e bentônicos

Resumo 23

1. Introdução 23

2. Materiais e métodos 25

2.1. Delineamento experimental 25

2.2. Variáveis físicas e químicas da água do *runoff* 26

2.3. Testes de toxicidade 27

2.4. Análise dos dados 28

3. Resultados 28

3.1. Análises físicas e químicas das amostras de água do *runoff* 28

3.2. Teste com zooplâncton 30

3.3. Teste com *Chironomus xanthus* 32

3.4. Sensibilidade dos organismos-teste 33

4. Discussão 33

4.1. Efeito do contaminante nos organismos-teste 33

4.2. Ação da abamectina nos organismos 37

5. Referências bibliográficas 38

CAPÍTULO 2
Análise da sobrevivência, do crescimento e das alterações histológicas de juvenis de Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) expostos aos resíduos de Vertimec® 18CE

Resumo 44
1. Introdução 44
2. Materiais e métodos 46
2.1. Delineamento experimental 46
2.2. Variáveis físicas e químicas da água do *runoff* 47
2.3. Testes de toxicidade crônica parcial 47
2.4. Medidas de peso e comprimento 48
2.5. Avaliação histológica das brânquias 48
2.6. Análise dos dados 49
3. Resultados 49
3.1. Análises físicas e químicas das amostras da água do *runoff* 49
3.2. Sobrevivência e crescimento dos organismos-teste 51
3.3. Morfologia das brânquias 52
4. Discussão 55
5. Referências bibliográficas 58

CAPÍTULO 3
Estudos de campo e laboratório para avaliar o efeito dos resíduos de Vertimec® 18CE em Daphnia similis

Resumo 63
1. Introdução 63
2. Materiais e métodos 65
2.1. Delineamento experimental 65
2.2. Variáveis físicas e químicas da água 68
2.3. Testes de toxicidade 68
2.4. Análise dos dados 69
3. Resultados e discussão 69
3.1. Variáveis físicas e químicas da água 69
3.2. Teste de toxicidade 73
4. Referências bibliográficas 77

CAPÍTULO 4
Alterações estruturais e funcionais de sistemas aquáticos após adição do agrotóxico Vertimec® 18CE, com ênfase na comunidade zooplanctônica

Resumo 81

1. Introdução 82

2. Materiais e métodos 84

2.1. Delineamento experimental 84

2.2. Variáveis físicas e químicas da água 86

2.3. Comunidade zooplanctônica: amostragem e análise 87

2.4. Análise dos dados 87

3. Resultados 88

3.1. Variáveis físicas e químicas da água 88

3.2. Comunidade zooplanctônica 92

3.2.1. Abundância de zooplâncton 92

3.2.1.1. Rotifera 93

3.2.1.2. Microcrustáceos 94

4. Discussão 96

4.1. Efeitos diretos e indiretos do Vertimec®18CE na comunidade zooplanctônica 96

4.2. Ação da avermectina nos organismos 101

5. Referências bibliográficas 102

CAPÍTULO 5
Efeito da abamectina em Daphnia similis, Chironomus xanthus e Danio rerio

Resumo 109

1. Introdução 109

2. Materiais e métodos 110

2.1. Cultivo dos organismos-teste 110

2.2. Teste de toxicidade 111

2.3. Análise de abamectina da água 112

2.4. Análise dos dados 113

3. Resultados 114

3.1. Teste de toxicidade e análises químicas 114

4. Discussão 116

4.1. Testes de toxicidade 116

4.2. Ação da avermectina nos organismos-teste 119

5. Referências bibliográficas 120

Considerações finais 124
Referências bibliográficas 126
Apêndice A 128
Apêndice B 142
Apêndice C 148
Anexo A 166

Estruturação da tese

Esta tese é apresentada na forma de capítulos, os quais foram redigidos contemplando os itens Resumo, Introdução, Metodologia, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas, além da inserção de apêndices e/ou anexos, quando necessários para uma melhor compreensão dos resultados obtidos e da discussão realizada.

Assim, além de um capítulo inicial no qual se contextualizou a pesquisa, discorrendo de forma ampla sobre os agrotóxicos (definição, processos, interações, usos e efeitos tóxicos) e a ecotoxicologia, foram elaborados mais cinco capítulos, os quais estão ordenados em função do período de desenvolvimento das diferentes etapas da pesquisa, conforme descrito abaixo:

Capítulo 1 - Efeito do Vertimec® 18CE em organismos aquáticos zooplanctônicos e bentônicos – neste capítulo procurou-se descrever os resultados obtidos na primeira etapa da pesquisa, na qual foram realizados experimentos laboratoriais para avaliar os efeitos do escorrimento superficial de culturas agrícolas, tratadas com o agrotóxico Vertimec® 18CE, sobre os organismos-teste *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*.

Capítulo 2 – Análise da sobrevivência, do crescimento e das alterações histológicas de juvenis de *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) expostos aos resíduos de Vertimec® 18CE – neste capítulo objetivou-se determinar os possíveis efeitos na sobrevivência, crescimento e alterações morfológicas das brânquias de juvenis de *Danio rerio* mediante exposição à água de escorrimento superficial contaminada ou não com o agrotóxico.

Capítulo 3 – Estudos de campo e laboratório para avaliar o efeito dos resíduos de Vertimec® 18CE em *Daphnia similis* – a abordagem dessa segunda etapa da pesquisa foi centrada na avaliação dos efeitos de toxicidade das amostras de água provenientes dos mesocosmos, aos quais foram aplicados diferentes tratamentos (*runoff* contaminado, *runoff* não contaminado, adição direta do contaminante, controle dos mesocosmos e controle aleatório).

Capítulo 4 – Alterações estruturais e funcionais de sistemas aquáticos após adição do agrotóxico Vertimec® 18CE, com ênfase na comunidade zooplanctônica - a partir de experimentos *in situ* (mesocosmos) e da utilização da água de escorrimento superficial

provenientes de áreas contaminadas ou não, procurou-se, nesta etapa da pesquisa, avaliar os riscos potenciais do uso desse agrotóxico na estrutura e funcionamento de ecossistemas aquáticos, com ênfase nas respostas estruturais (composição e densidade) da comunidade zooplanctônica.

Capítulo 5 - Efeito da abamectina em *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio* – considerando que o agrotóxico em questão contém diversos outros compostos associados, procurou-se na última etapa da pesquisa avaliar somente a toxicidade da abamectina, princípio ativo de Vertimec® 18CE, por meio da determinação da faixa de sensibilidade dos organismos-teste *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*.

A fim de propiciar uma melhor compreensão da pesquisa apresenta-se, na Figura 1, um fluxograma com todas as etapas desenvolvidas, as quais contribuíram para testar a hipótese e atender aos objetivos da pesquisa.

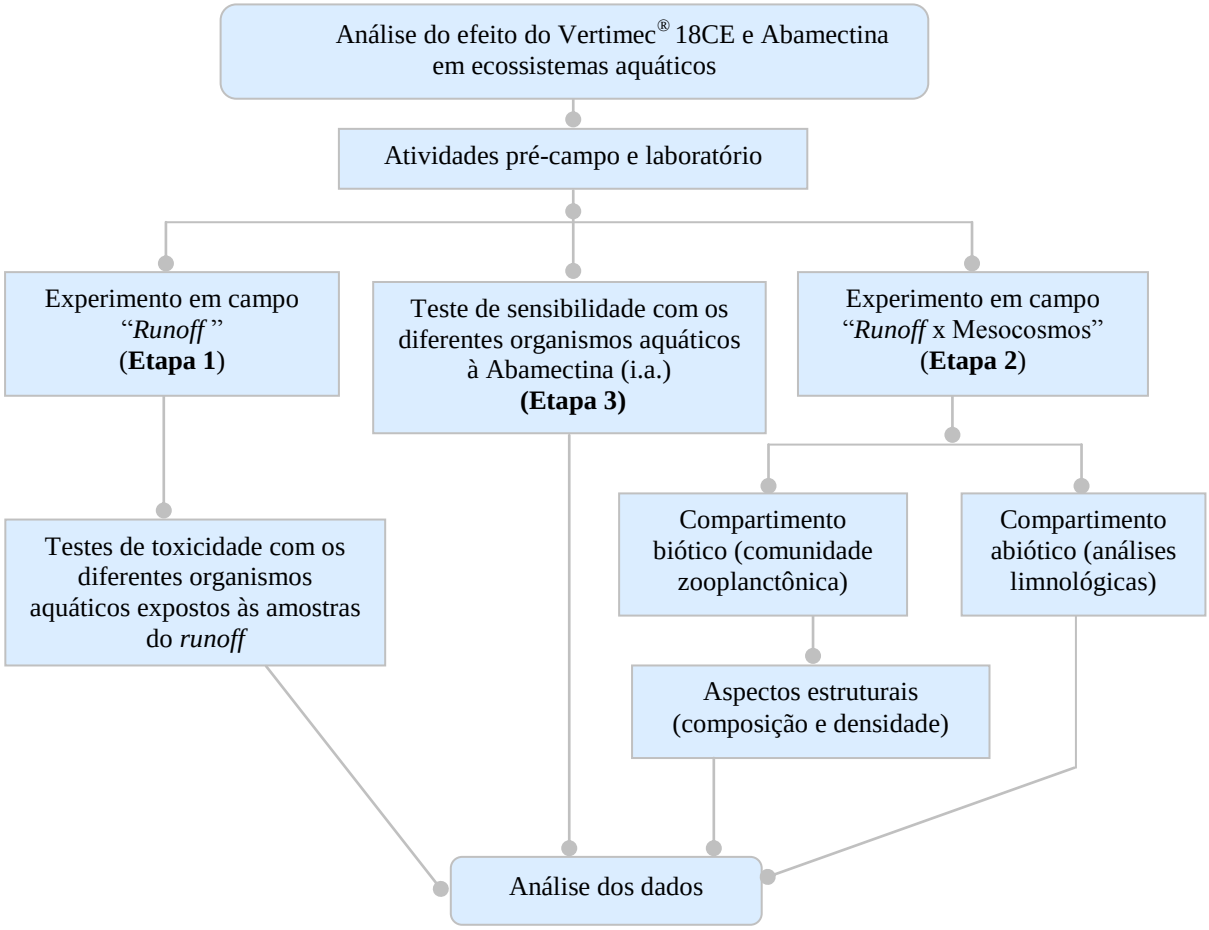


Figura 1. Fluxograma resumido das etapas desenvolvidas neste estudo. (i.a.: ingrediente ativo).

Contextualização e justificativa da pesquisa

1. Agrotóxicos

1.1. Definição

Agrotóxicos, defensivos agrícolas, praguicidas, pesticidas e até biocidas são denominações dadas a substâncias químicas, naturais ou sintéticas, destinadas a matar, controlar ou combater de algum modo as pragas, ou no sentido mais amplo, tudo aquilo que ataca, lesa ou transmite enfermidade às plantas, aos animais e ao homem (ZAMBRONE, 1986).

Tão extensa quanto a lista de efeitos nocivos dos agrotóxicos aos ecossistemas e à saúde humana é a discussão sobre a nomenclatura correta dessa gama de produtos. A legislação brasileira, até a Constituição de 1988 (publicada em 1989), tratava esse grupo de produtos químicos por defensivos agrícolas, denominação que, pelo seu próprio significado, excluía todos os agentes utilizados nas campanhas sanitárias urbanas. Fazia parte da portaria 3.214 de 1978, que aprova as Normas Regulamentadoras (NRs) relativas à Segurança e Medicina do Trabalho, especificamente da Norma Regulamentadora Rural n^0 5 (NRR 5), que trata da utilização de produtos químicos no trabalho rural. A mesma Norma, alterada durante o processo Constituinte, passa a tratar esse grupo de produtos químicos, a partir da data de sua promulgação, por agrotóxicos (PERES; MOREIRA e DUBOIS, 2003). Assim, a NRR 5 acompanha a mencionada Lei Federal [1] e define os agrotóxicos como sendo "as substâncias, ou mistura de substâncias, de natureza química quando destinadas a prevenir, destruir ou repelir direta ou indiretamente, qualquer forma de agente patogênico ou de vida animal ou vegetal, que seja nociva às plantas e animais úteis, seus produtos e subprodutos ao homem".

Dessa forma, optou-se por adotar a denominação utilizada pela legislação brasileira "agrotóxicos" e também porque, segundo Peres, Moreira e Dubois (2003), esse termo engloba o maior número de características necessárias à descrição das substâncias que formam tal universo.

1.1.1. Agrotóxicos, ambiente e saúde: uma introdução ao tema

A larga utilização de agrotóxicos no processo de produção agropecuária, entre outras aplicações, tem trazido uma série de transtornos e modificações para o ambiente, seja pela contaminação das comunidades de seres vivos que o compõem, seja pela acumulação nos

[1] Lei Federal n^0 7.802 de 1989, atualmente regulamentada pelo Decreto 4.074 de 4 de janeiro de 2002.

segmentos bióticos e abióticos dos ecossistemas (biota, ar, solo, sedimentos, etc) (PERES; MOREIRA e DUBOIS, 2003).

Muitos agricultores consideram o uso de agrotóxicos como sendo absolutamente essencial e vários são os argumentos usados em seu favor, como, por exemplo, o aumento na produção agrícola, na produção de carne e leite na pecuária, na diminuição das perdas de alimentos armazenados e na erradicação de vetores de doenças, entre outros (DORES e DE-LAMONICA-FREIRE, 1999). Infelizmente, tais substâncias, ainda que empregadas de modo correto, podem causar problemas de ordem ecológica ou de saúde pública.

Os benefícios dos agrotóxicos no sentido de garantir a produção de colheitas crescentes a um custo razoável são questionáveis. Pois, com o aumento do uso desses produtos, aumentam também as preocupações com a contaminação de solo e água, bem como seus efeitos sobre seres humanos e animais.

De um modo geral, o consumo desses agentes no meio rural decresce na ordem herbicidas > inseticidas > fungicidas, sendo que outros grupos importantes compreendem os rodenticidas, acaricidas, nematicidas, molusquicidas e fumigantes. Embora os herbicidas sejam mais utilizados, a toxicidade deste grupo de substâncias, em geral, é inferior a dos inseticidas (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 1990). Estes englobam compostos quimicamente diferenciados (ALMEIDA, 2002), conforme descrito abaixo:

- Inseticidas: organofosforados, carbamatos, organoclorados e piretróides;
- Fungicidas: etileno-bis-ditiocarbamatos, trifenil estânicos, captan, hexaclorobenzeno;
- Herbicidas: glifosato, pentaclorofenol, dinitrofenóis, derivados do ácido fenoxiacético e bipiridílicos.

A toxicidade aguda dos agrotóxicos é um dos principais fatores utilizados na classificação, controle e uso destes produtos. Atualmente os agrotóxicos são classificados quanto à periculosidade ambiental, em classes que variam de I a IV: produtos impeditivos de obtenção de registro, produtos altamente perigosos ao meio ambiente (Classe I); produtos muito perigosos ao meio ambiente (Classe II); produtos perigosos ao meio ambiente (Classe III); e produtos pouco perigosos ao meio ambiente (Classe IV).

A Classificação dos agrotóxicos em função dos efeitos à saúde, decorrentes da exposição humana a esses agentes, pode resultar em diferentes classes toxicológicas. Essa classificação obedece ao resultado de testes ou estudos realizados em laboratório, que tentam estabelecer a dosagem letal (DL) do agrotóxico em 50% dos animais utilizados naquela concentração. Um resumo da classificação dos agrotóxicos relacionando a sua DL50 ao grau de toxicidade destes compostos é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos agrotóxicos no Brasil, segundo WHO (1990).

Classes	Grupos	DL50	Dose capaz de matar uma pessoa	Faixa colorida
I	Extremamente tóxicos	≤ 5 mg Kg^{-1}	1 pitada; algumas gotas	Vermelha
II	Altamente tóxicos	5-50 mg Kg^{-1}	Algumas gotas – 1 colher de chá	Amarela
III	Medianamente tóxicos	50-500 mg Kg^{-1}	1 colher de chá – 2 colheres de sopa	Azul
IV	Poucos tóxicos	500-5000 mg Kg^{-1}	2 colheres de sopa – 1 copo	Verde
-	Muito pouco tóxicos	> 5000 mg Kg^{-1}	1 copo – 1 litro	-

1.1.2. Processos que envolvem os agrotóxicos no ambiente

Muitos processos influenciam a persistência e mobilidade dos agrotóxicos no ambiente. As interações dos agrotóxicos com o solo, águas superficiais e subterrâneas são complexas e controladas por processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem simultaneamente (GRAVILESCU, 2005).

Os agrotóxicos podem chegar ao ambiente aquático por diversas maneiras, envolvendo desde o escoamento superficial em áreas utilizadas na agropecuária, descarga de efluentes industriais de manufatura de agrotóxicos e de esgoto municipal, até a aplicação direta para o controle de macrófitas e insetos (ZAMBRONE, 1986). Além disso, os agrotóxicos podem alcançar a atmosfera e serem precipitados e/ou carreados/lixiviados para os ecossistemas aquáticos, como demonstrado na Figura 2.

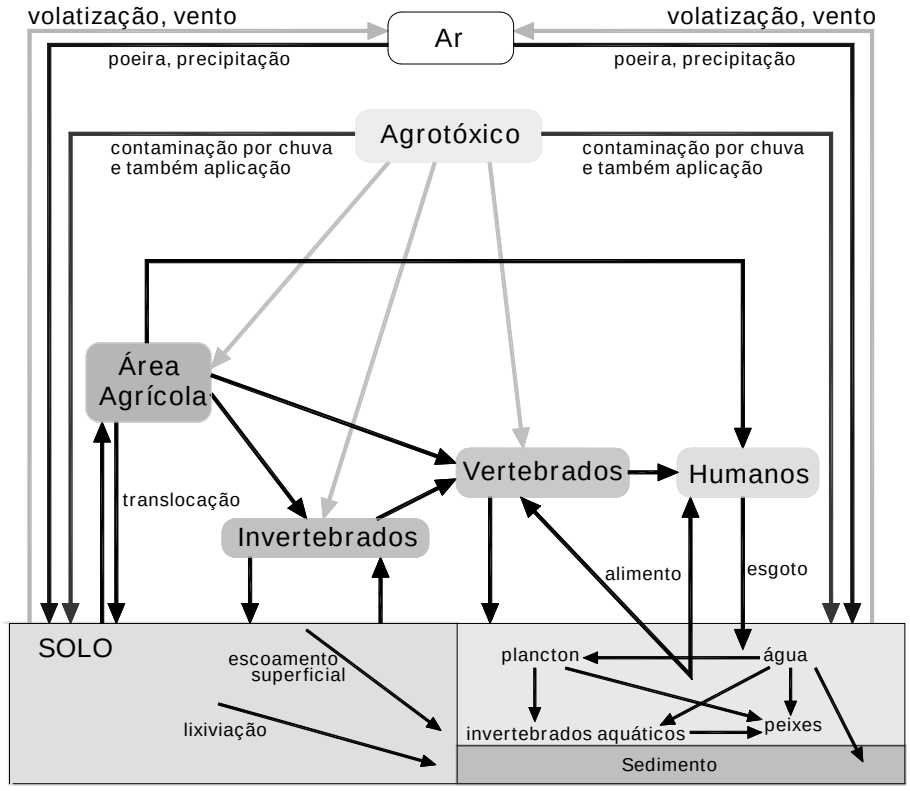


Figura 2. Transporte de agrotóxico no ambiente. Fonte: Modificado de Gravilescu (2005).

Dependendo da forma de aplicação, o agrotóxico usado na agricultura terá diferentes destinos. A forma mais comum é a aplicação direta no solo, ou seja, a pulverização. Um dos grandes problemas da pulverização é o fato de que 99,8% do ingrediente ativo são desperdiçados (CHAIN, 1995). Segundo Pimentel (1991), em revisão sobre a quantidade de agrotóxicos aplicados, estima-se que uma porção menor que 0,3% do produto atinja os organismos-alvo. No entanto, a relativa concentração de agrotóxico que percorre as diferentes rotas no ambiente é bem controversa. De acordo com Plimmer (1992), a probabilidade de perda por *runoff* é menor que 5%, e por percolação chega ser menor que 1%, enquanto a volatilização pode variar de 40 a 80%. Ainda segundo o autor, essas perdas estão diretamente relacionadas com as características físicas e químicas do agrotóxico, bem como as do ambiente. No entanto, Gravilescu (2005) acredita que as perdas da área-alvo são menores, como demonstrado na Figura 3.

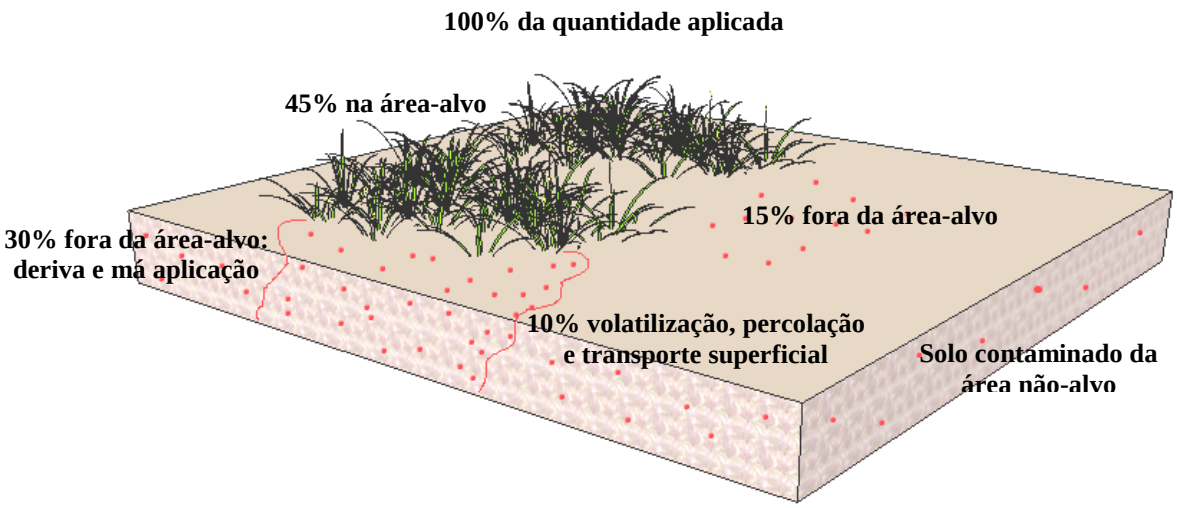


Figura 3. Distribuição dos agrotóxicos nas áreas-alvo e não-alvo. Fonte: modificado de Gravilescu (2005).

Independente das concentrações que chegam a determinados ecossistemas, é esperado que se produza efeitos negativos em espécies, comunidades ou no ecossistema, dado que o uso destes compostos pela agricultura expõe organismos, recursos naturais e seres humanos.

Quando a molécula de um determinado agrotóxico é aplicada no meio ambiente, independentemente da forma com que for realizada essa aplicação, na maioria dos casos atinge o solo. No solo, a molécula pode seguir diferentes rotas, isto é, pode ser retida pelos colóides minerais e orgânicos e, a partir daí, passar para formas indisponíveis, ou ser novamente liberada à solução do solo, processo conhecido como dessorção. A molécula também pode ser transformada em outras, chamadas de produtos de transformação ou metabólitos. O ponto final dessa transformação, para várias moléculas de agrotóxicos, é a mineralização a CO_2, H_2O e íons minerais, o que se dá, geralmente, via microorganismos. Se a molécula se encontra na solução do solo, ela pode ser absorvida pelas raízes das plantas, ser lixiviada para camadas subsuperficiais do perfil do solo, sofrer escoamento superficial ou ser volatilizada. Tudo isso ocorre no solo simultaneamente, em intensidades diferentes, e depende das propriedades físico-químicas da molécula, das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e das condições meteorológicas, constituindo um processo extremamente dinâmico (LAVORENTI, 1996).

O escoamento superficial, por outro lado, favorece a contaminação das águas superficiais, com os agrotóxicos sendo carreados e adsorvidos às partículas do solo erodido ou em solução. Já a lixiviação dos agrotóxicos através do solo agrícola tende a resultar em contaminação das águas subterrâneas e, neste caso, os produtos são carreados em solução juntamente com água que alimenta os aqüíferos. Esses processos concorrentes dependem das

práticas agrícolas, das propriedades dos agrotóxicos, da precipitação pluviométrica, das características físicas e químicas do solo e da declividade do terreno. Em termos gerais é possível generalizar a tendência principal de movimento de um agrotóxico, tendo-se em mente os processos de escoamento superficial e lixiviação, e a conseqüente contaminação das águas superficiais e subterrâneas, de acordo com as características predominantes dos solos (SPADOTTO; GOMES e RODRIGUES, 1998).

Neste sentido, Filizola et al. (2002) realizaram um estudo com o objetivo de monitorar e avaliar a possível contaminação de agrotóxicos provocada pela atividade agrícola em águas superficial e subterrânea na região de Guaíra (SP). Os resultados indicaram que não houve contaminação da água subterrânea, mas que ocasionalmente houve uma contaminação direta das águas de superfície. A grande espessura dos Latossolos (textura argilosa e a grande capacidade de armazenamento de água) foi apontada pelos autores como os principais motivos pelos quais a presença das moléculas não foi constatada na água subterrânea.

Os solos com horizonte B latossólico são geralmente profundos e bem drenados, apresentando boa agregação de partículas e argilas de baixa atividade (capacidade de troca catiônica - CTC), o que favorece o processo de lixiviação dos agrotóxicos até as águas subterrâneas. Porém, os solos com horizonte B textural, geralmente são pouco profundos e relativamente drenados ou mal drenados, com argila de alta atividade, favorecendo a adsorção dos agrotóxicos às camadas superficiais do solo. Tais solos tendem a favorecer a contaminação das águas superficiais mediante a ocorrência de erosão e escorrimento superficial, carreando os agrotóxicos (OLIVEIRA; JACOMINE e CAMARGO 1992).

Cada agrotóxico, em virtude do tipo e número de átomos que o compõe e do seu arranjo estrutural, possui uma série específica de propriedades físicas e químicas. As principais propriedades físicas e químicas relacionadas a seu comportamento ambiental são: solubilidade em água (Sw), pressão de vapor (P), coeficiente de partição n-octanol-água (Kow), constante de ionização ácido (pKa) ou base (pKb), constante da lei de Henry (KH) e a reatividade ou meia vida (T1/2). Essas propriedades são normalmente determinadas em laboratório, sob condições controladas e por métodos conhecidos (DEUBER, 1992).

1.1.3. Características ambientais que interferem na dinâmica dos agrotóxicos

Segundo Dores e De-Lamonica-Freire (1999), dentre as características ambientais que mais influenciam a dinâmica dos agrotóxicos podem ser citados o clima (temperatura ambiente, pluviosidade, intensidade de luz solar e ventos), as propriedades físicas e químicas

do solo (teor de matéria orgânica e argila, pH, umidade), a atividade microbiológica, a compactação e a cobertura vegetal. No meio aquático são importantes o pH, potencial de oxi-redução, ácidos húmicos dissolvidos e particulados em suspensão, dentre outros. Além das características anteriores, a topografia da região também deve ser considerada.

Altas temperaturas, por exemplo, favorecem a volatilização e dessorção dos compostos das partículas do solo. Nas regiões tropicais, a radiação solar e as altas temperaturas podem favorecer a remoção dos organoclorados do ambiente ao gerar volatilização e degradação (AMATO; TORRES e MALM, 2002). As chuvas podem provocar a deposição dos produtos presentes na atmosfera e causar o carreamento superficial quando os solos estão saturados ou a percolação pela penetração da água da chuva.

A topografia do terreno, associada à forma de manejo do solo (como terraceamento, curvas de nível e aração), também influenciam o carreamento superficial dos agrotóxicos, seja em solução ou adsorvido ao particulado (DORES e DE-LAMONICA-FREIRE, 1999).

A composição do solo em termos de porcentagem de matéria orgânica, argila e areia afeta a quantidade de agrotóxico adsorvido ou dissolvido nele. Segundo Gravilescu (2005), solo rico em matéria orgânica ou argila tem capacidade de adsorção maior que solo arenoso pelo fato de possuir maior número de sítios de ligação para as moléculas de agrotóxicos.

A umidade do solo é outro fator importante na adsorção do agrotóxico às suas partículas. Solos úmidos tendem a adsorver menos agrotóxicos do que solos secos, uma vez que as moléculas de água competem com os agrotóxicos por sítios de ligação (GRAVILESCU, 2005).

As características físicas e químicas dos ambientes aquáticos determinam a probabilidade de degradação de determinado composto e/ou seu destino neste ecossistema. O pH da água, por exemplo, pode influenciar a decomposição de agrotóxicos.

Os processos aos quais determinado agrotóxico pode sofrer quando se encontra num ambiente aquático são ilustrados na Figura 4.

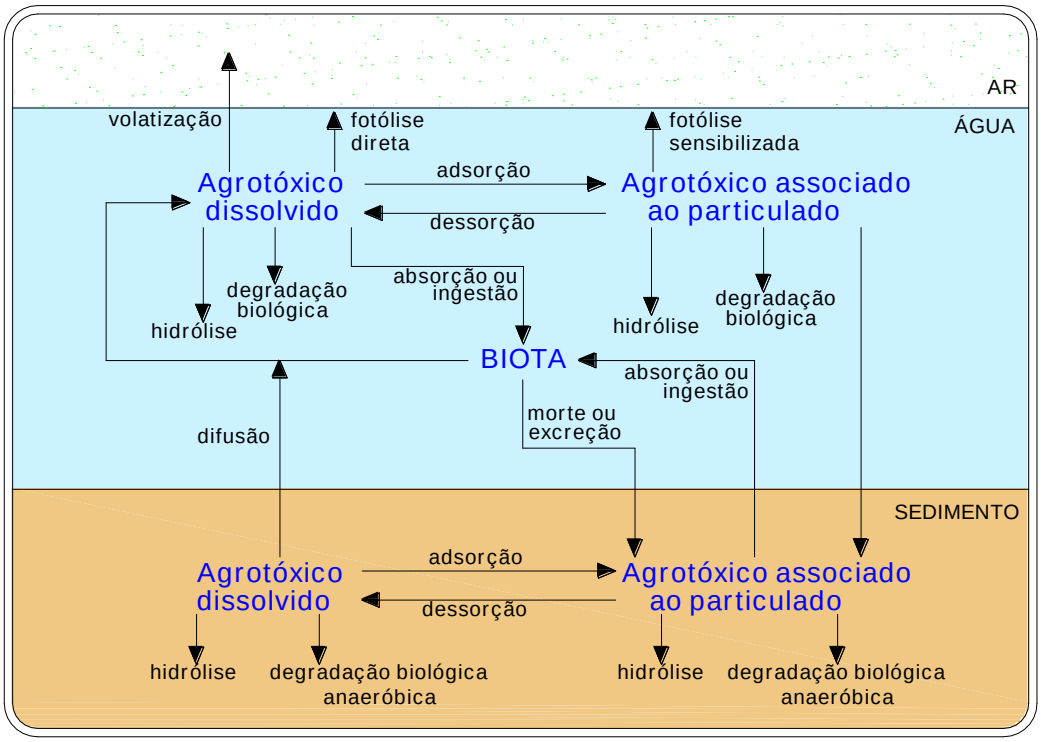


Figura 4. Movimento dos agrotóxicos no ambiente aquático. Fonte: Modificado de Schnoor (1992).

1.1.4. Ação dos agrotóxicos sobre os organismos

Uma vez no ambiente aquático os agrotóxicos podem sofrer uma série de interações, porém as mais importantes envolvem a matéria em suspensão e o sedimento de fundo. A natureza destas interações dependerá da solubilidade dos agrotóxicos em água e das características do sedimento (matéria orgânica, teor de argila e pH). O agrotóxico associado à matéria em suspensão eventualmente se depositará sobre o sedimento. Uma vez no sedimento, pode então ser liberado novamente para a água, ser absorvido por algum organismo, ser alterado ou degradado por microorganismos ou ficar imobilizado (DORES e DE-LAMONICA-FREIRE, 1999).

Diferentes organismos metabolizam os agrotóxicos por diferentes vias. A absorção do composto diretamente do meio abiótico, resultando em uma concentração no organismo maior que no meio abiótico que o cerca, denomina-se bioconcentração (LEBLANC, 1997). A proporção entre a concentração do composto no organismo e a concentração externa consiste no fator de bioconcentração. Os fatores de bioconcentração para peixes são geralmente maiores quando comparados com os invertebrados, em relação aos organoclorados (WHO, 1990). Além da bioconcentração, pode ocorrer a bioacumulação, que é a absorção do

composto pelo organismo do meio abiótico ou biótico, podendo ou não a concentração exceder a fonte (LEBLANC, 1997).

A posição do organismo na cadeia trófica tem importante influência se a substância apresenta elevada absorção e baixa eliminação. A isto chama-se biomagnificação, onde a concentração do composto aumenta ao longo da cadeia alimentar. A biomagnificação ocorre quando as concentrações de um poluente nos tecidos de um organismo excedem as concentrações de um nível trófico inferior em mais de 100% (AMATO; TORRES e MALM, 2002). Em geral, seres vivos situados em níveis tróficos superiores tendem a conter maior concentração do contaminante.

Os efeitos dos agrotóxicos podem ser observados em múltiplos níveis de organização biológica, incluindo moléculas, tecidos, órgãos, indivíduos, populações e comunidades, e uma variedade de testes ecotoxicológicos é realizada para avaliar os seus efeitos. Em peixes os agrotóxicos têm influência direta sobre a fecundidade, reduzindo o número de ovos ou crias, além de alterações no crescimento e teciduais. Os peixes podem absorver agrotóxicos diretamente da água, bem como pela ingestão de alimentos contaminados, que pelo fluxo sanguíneo podem se distribuir nos tecidos, entrando, desta forma, na cadeia trófica (NIMMO, 1985; OKI e PEREIRA, 1999). O tamanho, idade e sexo do organismo podem afetar a taxa de absorção, e além disso, o mesmo agrotóxico pode ser absorvido em diferentes concentrações por espécies distintas. As brânquias e a superfície corporal são os locais primários de absorção (RAND e PETROCELLI, 1995) e, segundo Rudd (1964), a morte pode ocorrer por asfixia, em função do comprometimento e da obstrução da área necessária às trocas gasosas.

Em relação a outros grupos, os estudos indicam que os agrotóxicos têm influência na estrutura da comunidade zooplanctônica, bem como nas alterações comportamentais e morfológicas (HANAZATO, 1991, 1999 e 2001). Nesse sentido, Hanazato (1991) realizou experimentos com *Daphnia ambigua* e expôs o organismo a vários tipos de agrotóxicos, sendo eles 2 carbamatos, 3 organosfosforados, 2 herbicidas e 1 fungicida. Os resultados demonstraram que os inseticidas carbamatos e organofosforados induziram o desenvolvimento de estruturas protuberantes em suas carapaças, como grandes elmos (alongamento da cabeça), espinho do fórnice e longos espinhos caudais nos indivíduos examinados. Barry (1998) também documentou a indução do elmo em *Daphnia longicephala* quando exposta ao inseticida endosulfan. Segundo os autores acima, alguns inseticidas têm a propriedade de induzir o sistema nervoso na formação de estruturas protuberantes em suas carapaças, no entanto, essas modificações morfológicas ocorrem normalmente no ambiente,

em respostas a substâncias químicas lançadas pelos predadores. Essas estruturas reduzem a vulnerabilidade de *Daphnia* em ser predada, justamente por tornar a sua ingestão mais difícil. A indução de estruturas protuberantes em *Daphnia* é um efeito positivo e natural em resposta ao "odor do predador". No entanto, há também um efeito negativo, pois este comportamento anti-predação reduz a taxa de crescimento populacional, provavelmente pelo gasto energético associado a essas mudanças comportamentais. Nesse sentido, a redução na taxa de crescimento dos neonatos tem por conseqüência a geração de adultos maduros com tamanhos corpóreos menores, acarretando, assim, no menor número de descendentes (Figura 5).

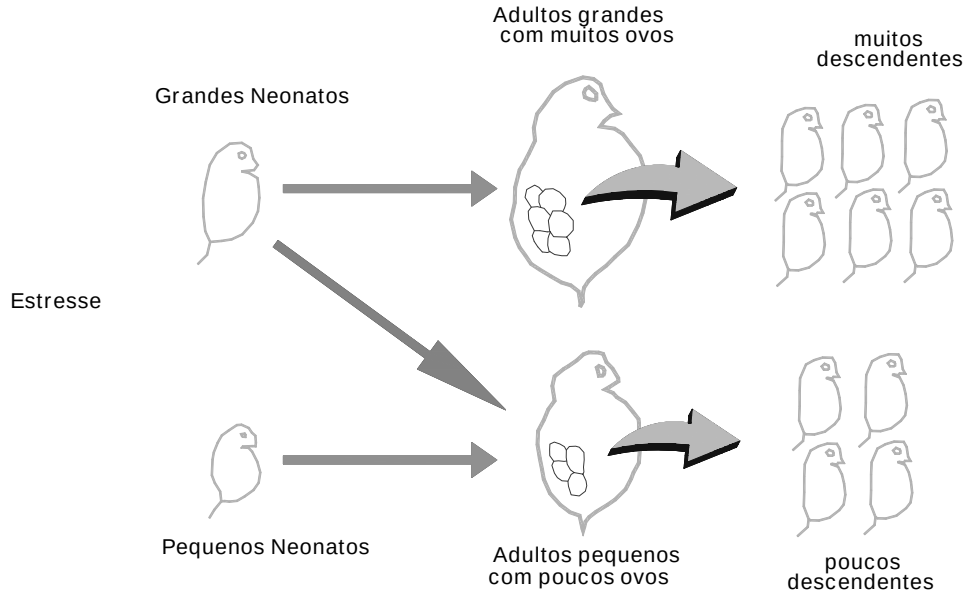


Figura 5. Esquema ilustrando um dos possíveis efeitos de substâncias estressantes em zooplâncton. Fonte: Modificado de Hanazato (2001).

Um exemplo característico de estresse na população zooplanctônica em seu habitat natural ocasionado por pressões naturais e antrópicas se constitui na migração vertical diurna (MVD) realizada por *Daphnia.* Durante o dia os organismos migram para baixo em águas escuras e encontram baixa concentração de oxigênio e escassez de recursos alimentares, justamente para fugir da predação por peixes e sobem a noite para alimentar-se de algas. O estresse provocado durante a MVD, em decorrência da deficiência de alimento e oxigênio, torna a *Daphnia* mais sensível aos efeitos dos agrotóxicos em condições naturais (HANAZATO, 2001).

O grau de comprometimento em organismos vivos é bastante complexo e irá depender de vários fatores, tais como o tempo de exposição do organismo ao agente tóxico, as taxas de

acumulação (variam entre as espécies) e as condições ambientais, que interferem na dinâmica dos agrotóxicos. De maneira geral, essas substâncias alteram os ciclos naturais de matéria e energia, podendo provocar a desestabilização dos ecossistemas aquáticos (BARRY, 1998; HANAZATO, 2001; GRAVILESCU, 2005). Diante desse contexto, é fundamental a compreensão da dinâmica destas substâncias nos ecossistemas aquáticos, assim, análises limnológicas, ensaios ecotoxicológicos *ex situ* e *in situ* se tornam ferramentas fundamentais na avaliação de risco de determinadas substâncias químicas.

1.2. Ecotoxicologia

Diante da contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos e outros compostos, a ecotoxicologia aquática surge como uma ferramenta necessária para avaliar a toxicidade destes à comunidade aquática. Segundo Adams (1995), a ecotoxicologia é definida como o estudo dos efeitos tóxicos nos organismos, sendo que esta ampla definição inclui o estudo dos efeitos tóxicos em níveis celular, individual, populacional e de comunidade.

Atualmente, a ecotoxicologia cresce a cada ano e os testes de toxicidade aquática são desenvolvidos por várias instituições de pesquisa e órgãos de monitoramento ambiental. São realizados experimentos com agrotóxicos, metais, efluentes industriais, amostras ambientais de água e sedimentos e várias outras substâncias. Como organismos-teste são utilizados algas, bactérias, invertebrados aquáticos zooplanctônicos e bentônicos e os peixes, entre outros. Nesses estudos são considerados desde os parâmetros dos testes de toxicidade padronizados, como sobrevivência ou mortalidade, crescimento e taxa de fecundidade, até parâmetros bioquímicos, fisiológicos, histológicos, comportamentais, entre outros (RAND e PETROCELLI, 1995; NEWMAN e CLEMENTS, 2008).

A análise ecotoxicológica tem por finalidade compreender, em qual grandeza, as substâncias químicas, isoladas ou em forma de misturas, são nocivas, e como e onde manifestam seus efeitos. Nesse sentido, os testes de toxicidade constituem-se basicamente da exposição de organismos aquáticos a substâncias potencialmente tóxicas, visando à observação e análise das respostas destes organismos ao contaminante testado. Os testes de toxicidade comumente usados são os testes agudos de curta duração e crônicos de duração mais longa, podendo ainda incluir todo o ciclo de vida do organismo. Em ambos os casos, efeitos letais e subletais da substância tóxica sobre os organismos podem ser avaliados (CAIRNS; NIEDERLEHNER e BIDWELL, 1998).

Assim, a ecotoxicologia envolve diversas áreas de conhecimento, sendo que os mecanismos observados nos ecossistemas são resultantes das combinações de diversos

processos, que podem ser observados em diferentes níveis de organização. A ecotoxicologia, portanto é a ciência responsável pela geração do conhecimento que subsidiará a formulação segura de dispositivos legais, normas, programas e diretrizes gerenciais para enfrentar questões de risco ecotoxicológico potencial e real, geradas pela introdução de agentes químicos no ambiente. Para tanto, existem métodos padronizados por uma série de organizações e agências de normatização, incluindo-se a APHA (American Public Health Association), ASTM (American Society for Testing and Materials), U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency), AFNOR (Association Française de Normalisation), DIN (Deutsches Institut für Normung), ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), ISO (International Organization for Standardization) e OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), em que vários procedimentos e espécies são utilizados em testes de toxicidade (BURATINI, 2002).

Para a avaliação de risco de uma determinada substância química no ambiente aquático é necessário a realização de múltiplos ensaios ecotoxicológicos que englobem vários níveis tróficos. Segundo Van den Brink et al. (2000), os diversos organismos-teste respondem diferentemente a uma determinada substância química, assim quanto maior o número de espécies testadas em vários níveis tróficos, melhor será a compreensão dos efeitos tóxicos.

1.2.1. Mesocosmos

Um aspecto importante que deveria ser levado em consideração no registro de agrotóxicos é a compreensão das interações física, química, biológica e toxicológica de tais compostos na ecologia de ecossistemas aquáticos. Para resolver essa questão, é necessária a predição da resposta do ecossistema aquático frente ao elemento estressor. Nesse sentido, a utilização de teste *in situ* (em micro e mesocosmos) tem sido sugerida como uma alternativa ou complementação na avaliação de risco - apesar do custo envolvido e da dificuldade na utilização de réplicas - pois estes estudos oferecem resultados ecologicamente relevantes e podem ser utilizados para validar e melhorar modelos teóricos (BOYLE e FAIRCHILD, 1997; CAQUET; LAGADIC e STEVEN, 2000).

Mesocosmos podem ser definidos como um ecossistema artificial de pequena escala mantido sob condições ambientais naturais (ODUM, 1984). Como muitas características biológicas destes sistemas dependem de seu tamanho, diversos autores têm sugerido categorizar os experimentos de acordo com o volume de água. Entretanto, este limite não faz referência aos parâmetros ecológicos relevantes, como estabilidade e auto-sustentabilidade,

com a possibilidade de integrar os principais processos ecológicos e tolerar as simplificações substanciais das estruturas da comunidade. O termo mesocosmos poderia melhor caracterizar os ecossistemas artificiais construídos sob condições ambientais naturais, com suficiente complexidade e estabilidade para ser auto-sustentável. Nesse sentido, LALLI (1990) complementa a definição para tais estudos, considerando mesocosmo como um sistema multitrófico confinado que possui tamanho suficiente para ser amostrado e mensurado sem que ocorram sérias influências em sua estrutura e dinâmica.

Os experimentos em mesocosmos apresentam vantagens em relação aos estudos de laboratório, pois possibilitam que outros fatores sejam avaliados de forma conjunta, os quais, nos experimentos laboratoriais, não poderiam ocorrer em função das situações controladas. Experimentações desenvolvidas em mesocosmos permitem o estudo dos efeitos de contaminantes em organismos e comunidades sob condições semi-naturais simuladas, porém idênticas e controladas, sendo que não apenas os efeitos toxicológicos diretos podem ser observados e quantificados, mas implicações ecológicas indiretas também se tornam aparentes. Assim, estes estudos podem eventualmente permitir que dados de toxicidade derivados de ensaios em laboratório sejam extrapolados para o meio ambiente (JAK, MAAS e SCHOLTEN, 1996; GRANEY; GIESY e CLARK, 1995). Nesse sentido, a regulamentação de testes em micro e mesocosmos têm sido discutidas e avaliadas desde a década de 80 pela Setac e por agências reguladoras como a US EPA (HALFFMAN, 1995).

Quanto à questão de tamanho, a escala é relativa, variando de litros a milhares de litros. Neste ponto existem divergências e, procurando definir um padrão de tamanho, a SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) propõe o termo mesocosmos para represamentos artificiais maiores que 15 m^3 (CAQUET; LAGADIC e STEVEN, 2000). Entretanto, outros autores propõem volumes que variam entre 1 e 10 m^3 (LALLI, 1990), entre 0,1 e 1000 m^3 (GRANEY; GIESY e CLARK, 1995) e entre 1 e 300 m^3 (LA POINT et al., 1989). Segundo Crane (1997), os estudos em mesocosmos realizados em grandes escalas, para avaliar os riscos dos agrotóxicos nos ecossistemas aquáticos, geram um conjunto de dados extenso e de difícil interpretação. Por conta disso, as agências européias estão cada vez mais recomendando a utilização de mesocosmos em pequenas escalas para a avaliação dos riscos ecológicos de agrotóxicos.

Os estudos em mesocosmos contaminados com agrotóxicos também vêm sendo bastante empregados em vários países devido à necessidade de "validações de campo" dos testes de toxicidade efetuados no laboratório, a exemplo da Holanda (SCHROER et al., 2004), Dinamarca (FRIBERG-JENSEN et al., 2003), Alemanha (PEITHER et al., 1996), Espanha

(LÓPEZ-MANCISIDOR et al., 2008), Canadá (SANDERSON et al., 2007), Estados Unidos (DOWNING et al., 2008), Japão (CHANG; SAKAMOTO e HANAZATO, 2005) e Austrália (PABLO e HYNE, 2009). Entretanto, em regiões tropicais, como o Brasil, ainda são raros estes estudos, sendo representados por Laabs et al. (2007) e Santos (2007). O desenvolvimento de experimentos em mesocosmos em ambientes tropicais sul americanos são escassos, possivelmente, devido à complexidade e infra-estrutura necessária para o desenvolvimento dos mesmos.

2. Justificativa

Algumas culturas são conhecidas pelo uso abusivo e indiscriminado de agrotóxicos que, associados a algumas características ambientais, como topografia acidentada e maior incidência de chuvas, aumentam expressivamente o escoamento difuso, favorecendo o carreamento dos agrotóxicos para os corpos d'água, afetando a comunidade biológica e o funcionamento dos ecossistemas.

O município de Bom Repouso, localizado no sul de Minas Gerais, é um exemplo de locais onde a sua utilização é freqüente e intensa. A principal atividade econômica do município é a agricultura, sendo os principais produtos cultivados a batata inglesa e o morango. As características físicas do município favorecem um maior impacto sobre os corpos d'água devido ao intenso uso deste agrotóxico associado ao fato de ser uma região com topografia acidentada e de alta incidência de chuvas, característicos de regiões de maior altitude. Tais situações favorecem o aumento do escoamento superficial carreando para os mananciais os insumos agrícolas. De acordo com os estudos realizados por Nunes et al (2009), no município de Bom Repouso os agricultores utilizam mais comumente o agrotóxico Vertimec® 18CE nas culturas de morango. Além disso, os produtores rurais fazem o uso desse agrotóxico ultrapassando a recomendação da aplicação do produto por ciclo, estabelecido em duas vezes. Desta forma, o delineamento experimental deste estudo foi baseado no panorama descrito acima, associado ao fato de que existem poucas informações na literatura a respeito do potencial risco do Vertimec® 18CE aos ecossistemas aquáticos.

O Vertimec® 18CE é utilizado como inseticida e acaricida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais. A classificação toxicológica é III, medianamente tóxica, no entanto a classificação do potencial de periculosidade ambiental é II, ou seja, é considerado muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, 2009). Em função de sua ampla e intensa utilização (são 24 culturas visando combater 17

diferentes pragas) (MAPA, 2009), verifica-se que o emprego de Vertimec® 18CE na agricultura pode resultar em impactos ambientais e riscos à saúde humana.

A Abamectina, também conhecida com o nome comercial de Vertimec® 18CE, pertence ao grupo químico das Avermectinas (FISHER e MROZIK, 1989). As avermectinas são lactonas macrocíclicas, derivadas da fermentação da bactéria do solo *Streptomyces avermitilis*. Nesse grupo encontram-se a ivermectina, a abamectina e a doramectina. A ivermectina foi lançada no mercado como uma droga antiparasitária em 1981, e anos mais tarde, em 1985, a abamectina foi introduzida como inseticida e acaricida na agricultura, e também como antiparasitário em criação de animais. A abamectina é uma mistura que contém cerca de 80% de avermectina B_{1a} e 20% da avermectina B_{1b}, e estes dois componentes têm propriedades biológicas e toxicológicas similares (CAMPBELL, 1989; LANKAS e GORDON, 1989; FISHER e MROZIK, 1992). Na Figura 6 ilustra-se a fórmula estrutural da abamectina.

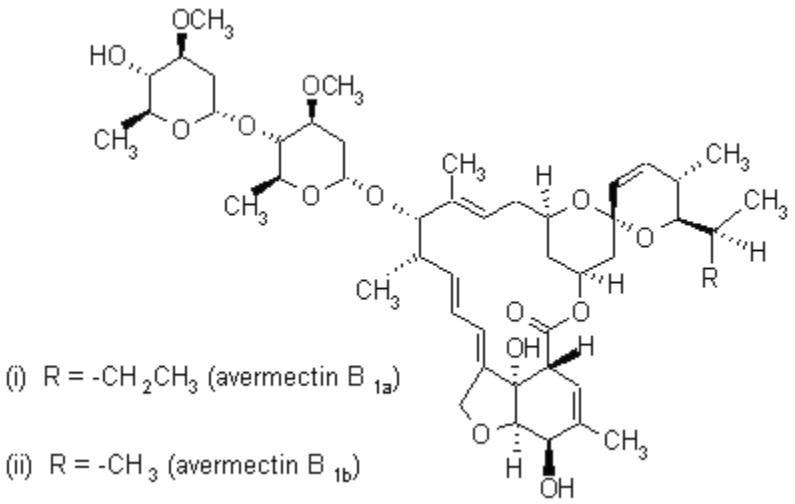


Figura 6. Fórmula estrutural da abamectina. Fonte: (FISHER e MROZIK, 1989).

De acordo com os autores Campbell (1989) e Tišler e Eržen (2006) as avermectinas são rapidamente fotodegradadas em água e se adsorvem rapidamente nas partículas de solos, sedimentos e matéria orgânica, mas, mesmo degradando rapidamente, as avermectinas oferecem risco ao ambiente aquático, especialmente se o uso for freqüente. Os estudos ecotoxicológicos realizados por Tišler e Eržen (op.cit.) demonstraram que as avermectinas são altamente tóxicas para zooplâcton e peixes em concentrações muito baixas, com valores da CE_{50} e CL_{50} da ordem de $\mu g\ L^{-1}$.

No entanto, existem poucos trabalhos sobre a toxicidade de abamectina nos ecossistemas aquáticos, principalmente no que se refere a diferentes níveis tróficos e, mais raros ainda, com a fórmula comercial, o Vertimec® 18CE. Assim, pouco se conhece sobre as interações entre os compartimentos e os organismos.

Como mencionado anteriormente, o Vertimec® 18CE é amplamente utilizado em várias culturas, inclusive morango e batata, e vários órgãos de fiscalização estão permitindo a utilização da abamectina e dos seus derivados baseados em poucos estudos. No entanto, as informações a respeito dessa substância ainda não são suficientes para comprovar se os seus efeitos são inofensivos a organismos não-alvo, faltando estudos sobre a toxicidade deste produto sob condições realistas e, nesse sentido, torna-se pertinente um maior conhecimento dos efeitos do Vertimec® 18CE no ambiente aquático.

Frente à contaminação dos ambientes aquáticos por agrotóxicos, se faz necessário um estudo mais complexo que envolva a influência do escorrimento superficial na toxicidade de organismos aquáticos em vários níveis tróficos e, aliados a isso, um estudo em escala de mesocosmos que forneça uma melhor compreensão sobre as interações entre os diferentes compartimentos aquáticos e os organismos. Diante deste contexto, o presente estudo pretende testar a hipótese de que o agrotóxico Vertimec® 18CE, utilizado na cultura de morango, associado ao *runoff* e/ou puro, bem como o seu ingrediente ativo, a abamectina, ocasionam toxicidade aos organismos aquáticos.

3. Referências bibliográficas

ADAMS, W. J. Aquatic Toxicology Testing Methods. *In*: HOFFMAN, D. J. et al. **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton, Lewis Publishers. Cap. 13, p. 25-46, 1995.

ALMEIDA, P. J. **Intoxicação por agrotóxicos**. Andrei ed. 165 p., 2002.

AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (dicloro fenil tricloetano): Toxicidade e contaminação ambiental. **Química Nova**, v. 25 n. 6, p. 995-1002, 2002.

BARRY, M. J.; LOGAN D. C. The use of temporary pond microcosms for aquatic toxicity testing: direct and indirect effects of endosulfan on community structure. **Aquatic Toxicology,** 41, p. 101–124, 1998.

BOYLE, T. P.; FAIRCHILD, J. The role of mesocosm studies in ecological risk analysis. **Ecological Applications**, 7:4, p. 1099-1102, 1997.

BURATINI–MENDES, S. V. **Efeitos do meio de cultivo sobre a sobrevivência, reprodução e sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*.** Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 90 p., 2002.

CAIRNS; JR, J; NIEDERLEHNER, B. R.; BIDWELL, J. R. Ecological toxicity testing. *In*: MEYRS, R. A. **Encyclopedia of environmental analysis and remediation**. New York: Ed. John Wiley e Sons, p. 1482-1497, 1998.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. 363 p., 1989.

CAQUET, T.; LAGADIC, L.; STEVEN, R. S. Mesocosm in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.,** 165, p. 1-38, 2000.

CHAIN, A. Impacto ambiental de agroquímicos e biopesticidas. **R. Brás. Toxicol**., São Paulo, v. 8, n. 1, p. 9-10, 1995.

CHANG, K. H.; SAKAMOTO, M.; HANAZATO, T. Impact of pesticide application on zooplankton communities with different densities of invertebrate predators: An experimental analysis using small-scale mesocosms. **Aquatic Toxicology,** 72, p. 373–382, 2005.

CRANE, M. Research needs for predictive multispecies tests in aquatic toxicology. **Hydrobiologia**, 346, p. 149-155, 1997.

DEUBER, R. **Ciência das plantas daninhas, fundamentos**. Jaboticabal. FUNEP. 43 p., 1992.

DORES, E.F.G; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. de L. Contaminação de Ambientes Aquáticos por pesticidas: via de contaminação e dinâmica, dos pesticidas no ambiente aquático. **R. Toxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v.9, p. 1-18, 1999.

DOWNING, A. L. et al. Community an ecosystem responses to a pulsed pesticide disturbance in freshwater ecosystems. **Ecotoxicology**, 17, p. 539-548, 2008.

FILIZOLA, H. F. et al. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em águas superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.5, p. 659-667, 2002.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. Chemistry. *In*: CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin.** Springer Verlag. Cap. 1, p. 1-23, 1989.

FRIBERG-JENSEN, U. et al. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. **Aquatic Toxicology**, 63, p. 357-371, 2003.

GRANEY, R. L.; GIESY, J. P.; CLARK, J. R. Field Studies. *In*: RAND, G. M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology.** Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. Taylor & Francis, Washington, USA, p. 257-305, 1995.

GRAVILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Eng. Life Sci**., 5:6, p. 497-526, 2005.

HALFFMAN, W. The bondary between ecology and toxicology: a sociologist's perspective. *In*: CAIRNS, J.; NIERDERLEHNER, B. R. **Ecological toxicity testing – scale, complexity and relevance**. Lewis publishers, Boca Raton, p. 12-34, 1995.

HANAZATO, T. Pesticides as chemical agents inducing helmet formation in *Daphnia ambigua*. **Freshwater Biology**, v. 26, p. 419-424. 1991.

HANAZATO, T. Anthropogenic chemicals (insecticides) disturb natural organic chemical communication in the plankton community. **Environ. Pollution**., 105, p.137-142. 1999.

HANAZATO, T. Pesticides effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. **Environmental Pollution**, 112, p. 1-10, 2001.

JAK, R. G.; MAAS, J. L.; SCHOLTEN, M. C. T. Evaluation of laboratory derived toxic effect concentrations of a mixture of metals by testing freshwater plankton communities in enclosures. **Water Research**, 30:5 p. 1215-1227, 1996.

LA POINT, T. et al. Laboratory and field techniques in ecotoxicology research: strengths and limitations. *In*: BODOU, A. ; RIBEYRE, F. ED. **Aquatic Toxicology: Fundamentals, Concepts and Methodolgies**. Vol II CRC Press, Boca Raton, USA. p. 239-255, 1989.

LAABS, V. et al. Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: An aquatic microcosm study under semi-field conditions. **Chemosphere**, 67, 975–989, 2007.

LALLI, C. M. **Enclosed experimental ecosystems**: **a review and recommendations**. Springer – Velarg, New York, 218 p., 1990.

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. Toxicology. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 89-112, 1989.

LAVORENTI, A. Comportamento dos herbicidas no meio ambiente. *In*: Workshop sobre biodegradação. Campinas, Jaguariúna. **Anais**... Jaguariúna: Embrapa- CNPMA, p. 81-115, 1996.

LEBLANC, G. A. Basic of environmental toxicology. *In*: HODGSON , E.; LEVI, P. E. (EDS) **A textbook of modern toxicology**. Applenton & Lange, Sanford, Connecticut, USA 2nd ed. p. 389-405, 1997.

LÓPEZ-MANCISIDOR, P. et al. Zooplankton community responses to chlorpyrifos in mesocosms under Mediterranean conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 71, p. 16–25, 2008.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. Agrofit, Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em:> ttp://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 20 de julho de 2009.

NEWMAN, M. C.; CLEMENTS, W. H. **Ecotoxicology: a comprehensive treatment**. CRC Press, Boca Raton, New York. 852 p., 2008.

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

NUNES, M. E. T. et al. Uso de agrotóxicos no município de Bom Repouso, Minas Gerais, Brasil e efeito sobre organismos aquáticos e do solo. *In*: DI LEO, N.; MONTICO, S.; NARDÓN, G. **Avances em ingeniería rural 2007/2009**. 1ª Ed. Rosario: UNR Editora. ISBN: 978-950-673-752-8. CD-ROM, p. 505-513, 2009.

ODUM, E. P. The mesocosm. **BioScience**, vol. 34:9, p. 558-562, 1984.

OKI, J; PEREIRA, E.M. **Poluição ambiental causada por descarte de organoclorados: o impacto do uso de organoclorados como pesticidas**. Disponível em: <http://junoki.vila.bol.com.br/organo clorados/organoclorados.html, 1999.

OLIVEIRA, J. B.; JACOMINE, P. K. T.; CAMARGO, M. N. **Classes gerais de solos no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP 201 p., 1992.

PABLO, F.; HYNE, R. V. Endosulfan Application to a Stream Mesocosm: Studies on Fate, Uptake into Passive Samplers and Caged Toxicity Test with the Fish *M. ambigua*. **Arch Environ Contam Toxicol**., 56, p. 525–535, 2009.

PEITHER, A. et al. A pond mesocosm study to determine direct and indirect effects of lindane on a natural zooplankton community. **Environmental pollution,** 93:1, p. 49-56, 1996.

PERES, F. ; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. *In*: PERES, F. ; MOREIRA (2003). **É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. 21-41 p., 2003.

PIMENTEL, D. Pesticide use. **Science,** p. 252-358, 1991.

PLIMMER, J. R. Dissipation of pesticides in the environment. *In*: SCHNOOR, J. L. **Fate of pesticides and chemicals in the environment**. John Wiley. p.79 – 90, 1992.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application**. London, Hemisphere Publishing Corporation 666 p., 1995.

RUDD, R. L. **Pesticides and the living landscape**. Madison: University of Wisconsin Press. 320 p., 1964.

SANDERSON. H. et al. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. **Aquatic Toxicology**, 85, p., 229–240, 2007.

SANTOS, R. L. **O uso de praguicidas nas atividades Aqüícolas: destino e efeitos após aplicações em tanques experimentais e avaliação nas psiculturas e pesqueiros da bacia do rio Mogi-Guaçu**. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 142 p. 2007.

SCHNOOR, J. L. **Fate of pesticides and chemicals in the environment**. John Wiley. 436 p. 1992.

SCHROER, A. F. W. et al. Comparison of laboratory single species and field population-level effects of the pyrethroid insecticide λ-Cyhalothrin on freshwater invertebrates. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 46, p324–335, 2004.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; RODRIGUES, G. S. Uso de agrotóxicos nas diferentes regiões brasileiras subsídio para a geomedicina. **R. Toxicol. E Meio Ambiente**, Curitiba, v.8, p. 111-126, 1998.

TIŠLER, T.; ERŽEN, N. K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**. 15: p. 495-502, 2006.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Public health impact of pesticides used in agriculture**. Genebra: World Health Organization, 1990.

VAN DEN BRINK, P. J. et al. Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. **Aquatic Toxicology,** 48, p. 251–264, 2000.

ZAMBRONE, F. A. D. Perigosa família. **Ciência hoje** v. 4, n. 22, p. 44-47, 1986.

Capítulo 1

Efeito do Vertimec® 18CE em organismos aquáticos zooplanctônicos e bentônicos

Resumo

A utilização de agrotóxicos constitui uma realidade e uma preocupação crescente em decorrência dos diversos impactos e aos riscos associados à saúde humana e dos ecossistemas. Diversos são os agrotóxicos utilizados para diferentes finalidades e entre eles tem-se a abamectina, também conhecida com o nome comercial de Vertimec® 18CE. Apesar de sua elevada periculosidade ambiental e alta toxicidade é usado amplamente para o controle de insetos e ácaros em várias culturas agrícolas, tais como fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais. Considerando esse aspecto, o objetivo deste trabalho foi avaliar se o escorrimento superficial de culturas agrícolas tratadas com o agrotóxico Vertimec® 18CE ocasiona toxicidade aos organismos aquáticos. Para tanto, foram contaminadas parcelas de solos com o agrotóxico Vertimec® 18CE na concentração indicada para a cultura de morango (0,125 litros de calda m^{-2}) e após simulação de elevada precipitação, a água escoada superficialmente foi avaliada em testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthu*s. Os resultados obtidos evidenciam que as espécies mais sensíveis foram os organismos zooplanctônicos, com valores de CE_{50}, 48h para *D. similis* variando de 4,42% a 13,87%. Nos testes crônicos verificaram-se efeitos na reprodução de *C. dubia* na concentração de 3,125%. A CL_{50}, 96h para *C. xanthus* foi de 16,24%. Os valores em porcentagem representam a diluição do *runoff*, com a concentração nominal de abamectina mínima e máxima de 1,25 e 6,50 $\mu g\ L^{-1}$, respectivamente. Tais resultados demonstram que o agrotóxico, na concentração recomendada para uso na cultura de morango, é muito tóxico para os organismos-teste mesmo em baixas concentrações, o que pode comprometer a biota aquática mediante eventos de exposição aguda e crônica.

Palavras-chave: Vertimec® 18CE, abamectina, testes de toxicidade, *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*.

1. Introdução

Agrotóxicos, defensivos agrícolas, praguicidas, pesticidas e até biocidas são denominações dadas a substâncias químicas, naturais ou sintéticas, destinadas a matar, controlar ou combater de algum modo as pragas, ou no sentido mais amplo, tudo aquilo que ataca, lesa ou transmite enfermidade às plantas, aos animais e ao homem (ZAMBRONE, 1986).

No entanto, o uso de agrotóxicos vem aumentando de forma significativa em diversos países, colocando em risco a saúde dos ecossistemas e do homem. De acordo com o último relatório publicado pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – SINDAG (2010), o Brasil se tornou o maior consumidor mundial de agrotóxicos (734 milhões de toneladas), sendo os herbicidas e inseticidas responsáveis por 74% dos produtos comercializados no país. Ainda segundo esse relatório, de 2003 a 2007 houve um crescimento de aproximadamente 71% na comercialização de agrotóxicos.

Muitos agricultores consideram o uso de agrotóxicos como sendo absolutamente essencial e vários são os argumentos em favor dessa prática, incluindo o aumento na produção agrícola, na produção de carne e de leite na pecuária, a diminuição nas perdas de alimentos armazenados e a erradicação de vetores de doenças, entre outros (DORES & DE-LAMONICA-FREIRE, 1999). Verifica-se, portanto, que os benefícios dos agrotóxicos no sentido de garantir a produção de colheitas crescentes a um custo razoável são inquestionáveis. No entanto, tais substâncias, ainda que empregadas de modo correto, podem causar problemas de ordem ecológica ou de saúde pública, uma vez que o crescente uso desses produtos tem implicado no aumento da contaminação do solo e da água, bem como de seus efeitos sobre seres humanos e animais (SPADOTTO; GOMES e RODRIGUES, 1998; DOWNING et al., 2008).

Um dos maiores problemas relacionados com o uso de agrotóxico é que a maior parte aplicada acaba não atingindo os organismos-alvo, sendo carreada pelas águas das chuvas, percolando ou volatilizando, representando uma ameaça aos ecossistemas como um todo, principalmente os aquáticos. A contaminação por agrotóxico nos diferentes compartimentos, terrestre e aquático, tem sido registrada na literatura (FILIZOLA et al., 2002; VEIGA et al., 2006; SCHÄFER et al., 2007) e o escorrimento superficial de áreas agrícolas é considerado um dos principais meios de contaminação das águas superficiais (HUBER; BACH e FREDE, 1998; LERCH e BLANCHARD, 2003).

Diversos são os produtos comerciais disponibilizados para uso nas atividades agropastoris, os quais apresentam princípios ativos e classificação toxicológica/periculosidade ambiental diferenciados. As avermectinas, por exemplo, são lactonas macrocíclicas, derivadas da fermentação da bactéria do solo *Streptomyces avermitilis.* Nesse grupo encontram-se a ivermectina, a abamectina e a doramectina. A ivermectina foi lançada no mercado como uma droga antiparasitária em 1981, e em 1985, a abamectina foi introduzida como inseticida e acaricida na agricultura, além de seu uso como antiparasitário em criação de animais. A abamectina é uma mistura que contém cerca de 80% de avermectina B_{1a} e 20% avermectina

B_{1b}, as quais têm propriedades biológicas e toxicológicas similares (CAMPBELL, 1989; LANKAS e GORDON, 1989; FISHER e MROZIK, 1992).

O agrotóxico Vertimec® 18CE é a formulação comercial da abamectina, o qual é utilizado como inseticida e acaricida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais. A classificação toxicológica do Vertimec® 18CE é III, medianamente tóxica, no entanto, a classificação do potencial de periculosidade ambiental é II, sendo considerado muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes (MAPA, 2009). Apesar de sua elevada periculosidade ambiental, o Vertimec® 18CE é recomendado para uso em 24 culturas para combater 17 diferentes pragas, sendo a maioria composta por ácaros (MAPA, op.cit.). Verifica-se, portanto, que o emprego na agricultura pode resultar em impactos ambientais e riscos à saúde humana, o que requer o desenvolvimento de novas abordagens experimentais para avaliação dos potenciais efeitos diretos e indiretos do Vertimec® 18CE.

Nesse sentido, os experimentos realizados em campo, associados com os de laboratório, podem gerar informações ecologicamente mais relevantes, uma vez que simulam situações reais. Atualmente, diversos estudos com abordagem experimental *in situ* vêm sendo desenvolvidos devido à necessidade de se obter informações mais realísticas para a avaliação de risco (MOREIRA-SANTOS et al, 2005; BRADY et al., 2006; PABLO et al, 2008 e DOWNING et al., 2008).

Diante desse contexto, procurou-se avaliar os efeitos de toxicidade do Vertimec® 18CE sobre organismos zooplanctônicos (*Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*) e bentônicos (*Chironomus xanthus*) por meio de estudos laboratoriais, utilizando amostras de água de escorrimento superficial provenientes de áreas experimentais, nas quais foram aplicadas as dosagens recomendadas para a cultura de morango, atividade desenvolvida em algumas regiões do país, e que utiliza Vertimec® 18CE de forma ampla e irrestrita (NUNES et al., 2009)

2. Materiais e métodos

2.1. Delineamento experimental

No Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), localizado no município de Itirapina, São Paulo, Brasil (22°01'22"S, 43°57'38"W), foram delimitadas duas parcelas de solo de 8 m^2, distantes entre si em 6 m, com declividade de 6%. Previamente ao experimento, essas parcelas foram capinadas e aradas (Figura 1, A a D, em apêndice B). O

solo da parcela era predominantemente arenoso, sendo a maior porção composta por areia fina (54%) e 13,45% de matéria orgânica.

Uma das parcelas foi contaminada com o agrotóxico Vertimec® 18CE (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, Brasil), cujo ingrediente ativo é a abamectina, e a formulação comercial representa o concentrado emulsionável a 18 g L^{-1} do ingrediente ativo. A aplicação foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal, seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante para culturas de morango de 0,75 mL L^{-1} (volume aplicado de 0,125 L m^{-2}). A outra parcela recebeu apenas uma aspersão com água, servindo como controle. No momento da aplicação da parcela contaminada, a parcela controle ficou coberta com uma manta plástica para evitar qualquer possível contaminação (Figura 2, A a D, em apêndice B). Em seguida, realizou-se uma simulação de chuva à montante do terreno. A intensidade da precipitação (19 mm) baseou-se na série histórica do mês de fevereiro de 2005 a 2007, obtida junto a Estação Climatológica do CRHEA/EESC/USP (Figura 3, A e B, em apêndice B). Este experimento foi conduzido no verão, em fevereiro/2008, onde as temperaturas de países tropicais, como o Brasil, são elevadas.

As amostras de água foram coletadas a jusante da área de drenagem, a qual recebeu o *runoff*, através de uma manta plástica colocada dentro de uma depressão no terreno, cavada anteriormente (Figura 3, C e D, em apêndice B). Posteriormente, parte da água escoada superficialmente pelo solo (*runoff*) foi levada ao laboratório para a caracterização física e química, e realização de testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*, selecionadas para teste em função da sua relevância ecológica e por serem recomendadas em testes de toxicidade.

2.2. Variáveis físicas e químicas da água do runoff

As amostras de água do *runoff* foram analisadas quanto as variáveis pH (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 145A) e oxigênio dissolvido (medidor de OD YSI). A turbidez foi analisada em espectrofotômetro (Hach, DR/2000) (APHA, 1995) e material em suspensão por gravimetria em filtros de fibra de vidro (GF/C – 47 mm) (TEIXEIRA; TUNDISI e KUTNER, 1965). A concentração de abamectina foi quantificada somente na amostra de 100%, a qual foi realizada por meio de cromatografia líquida (modelo SCL-10A, marca Shimadzu), com detector SPD-10A UV e a confirmação por GC-MS (modelo QP2010, marca Shimadzu) (LANÇAS, 2004).

2.3. Testes de toxicidade

Para a realização dos testes de toxicidade, as amostras de água provenientes do experimento do *runoff* foram diluídas com água de cultivo respectiva de cada organismo-teste, em cinco concentrações seriadas (3,125%, 6,25%, 12,5%, 25% e 50%), além do *runoff* puro (100%).

Os procedimentos para a realização dos testes, bem como o preparo da água de cultivo, seguiram as normas da ABNT (2004) para *Daphnia similis* e ABNT (2005) para *Ceriodaphnia dubia*. Para avaliar as condições fisiológicas dos organismos, os mesmos foram submetidos a testes de sensibilidade para determinar a CE_{50} ao cloreto de potássio (*D. similis*) e cloreto de sódio (*C. dubia*). Os testes de toxicidade com *Chironomus xanthus* Rempel seguiram a metodologia descrita por Fonseca e Rocha (2004), e a substância de referência para os testes de sensibilidade (CL_{50}, 96h) foi o cloreto de potássio.

Nos testes de toxicidade aguda com *D. similis* foram utilizados 5 organismos em 4 réplicas, em copos plásticos atóxicos contendo 10 mL da solução-teste. A duração do teste foi de 48 horas e o experimento foi mantido em temperatura de 24 ±2 °C, fotoperíodo de 16:8h claro/escuro e intensidade luminosa de 1000 lux. Com o objetivo de avaliar a degradação do agrotóxico e os efeitos tóxicos ao longo do tempo, foram realizados três testes agudos em intervalos de 1, 5 e 11 dias após a aplicação do contaminante e coleta do *runoff*. Para tanto, as amostras do *runoff* foram acondionadas e preservadas a 4 ^{o}C para posterior realização dos testes ecotoxicológicos.

Nos testes crônicos com *C. dubia* foi adicioando um neonato (entre 6 e 24 horas de idade) em copo plástico atóxico, contendo 15 mL da solução teste de cada diluição em 10 réplicas. A cada dois dias foram efetuadas as trocas de água. Os organismos foram alimentados de acordo com o estabelecido pela norma e mantidos em temperatura de 24 ±2 °C, fotoperíodo de 16:8h claro/escuro e intensidade luminosa de 1000 lux. A duração do teste foi de oito dias, período necessário para a produção da 3ª ninhada, sendo registrado o número de neonatos produzidos ao longo do experimento.

Para a realização dos testes com *C. xanthus* foram utilizadas 6 larvas (IV instar – 7/8 dias) em 200 mL da solução-teste, com 50 g de substrato natural e em 3 réplicas. A duração do teste foi de 96 horas e o experimento foi mantido em sala climatizada com temperatura de 23ºC ±2 e fotoperíodo de 12 horas. Os organismos foram alimentados apenas no primeiro dia, efetuando-se após esse período a contagem de organismos vivos.

As medidas de pH (potenciômetro B374), oxigênio dissolvido (medidor de OD YSI) e condutividade (condutivímetro 145A) das amostras de água testadas foram realizadas no início e final de todos os testes de toxicidade com os organismos-teste.

2.4. Análise dos dados

Os resultados dos testes de toxicidade aguda foram calculados pelo método estatístico Trimmed Spearman-Karber e expressos em CE_{50}, 48h (*D. similis*) e CL_{50}, 96h (*C. xanthus*) (HAMILTON; RUSSO e THURSTON, 1977). Os resultados dos testes de toxicidade crônica foram submetidos à análise de normalidade dos dados (teste de Chi-Quadrado) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) e, posteriormente, foram analisados através do teste não paramétrico Many-one de Steel, o qual compara cada tratamento com o controle experimental. O teste de Fisher foi utilizado para a verificação da diferença significativa na sobrevivência dos organismos-teste, comparando-se o controle com os demais tratamentos. Os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa computacional Toxstat 3.3 (GULLEY; BOELTER e BERGMAN, 1994).

A fim de verificar a diferença significativa das variáveis limnológicas entre os tratamentos, foi aplicado a Análise de Variância a um critério (ANOVA), sendo os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos resíduos previamente testados. As análises descritas acima foram realizadas com auxílio do software Statistica versão 7 (STATSOFT, INC., 2004).

3. Resultados

3.1. Análises físicas e químicas das amostras de água do runoff

Pelos valores de pH, condutividade elétrica, turbidez, oxigênio dissolvido e material em suspensão não se verificam diferenças significativas entre os tratamentos do *runoff* não contaminado (RNC) e *runoff* contaminado (RC), ($p > 0,05$), demonstrando a homogeneidade dos parâmetros envolvidos nas duas parcelas.

Os valores de pH nas amostras do *runoff* não variaram muito entre as diferentes diluições, sendo 6,36 e 7,71 nos tratamentos 100% e 3,125%, respectivamente. Para a condutividade foram obtidos valores mínimo e máximo nos tratamentos 100% (20,9 $\mu S\ cm^{-1}$) e 3,125% (182,6 $\mu S\ cm^{-1}$), respectivamente (Figura 1).

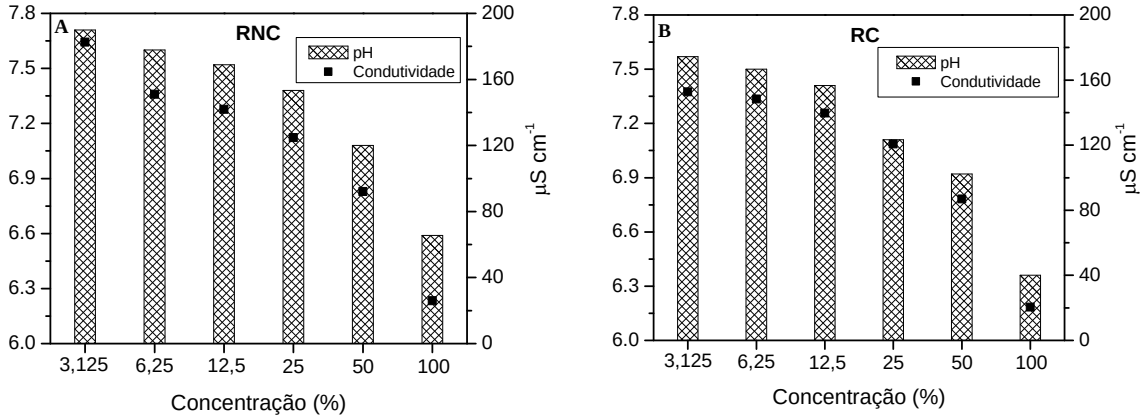


Figura 1. Valores de pH e condutividade elétrica (µS cm^{-1}) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B).

Com relação aos valores de turbidez e material em suspensão (Figura 2), os mesmos foram elevados nos tratamentos 100 e 50%, em função da característica da amostra, que é proveniente de escorrimento superficial de solos agricultáveis sem cobertura. O valor máximo de turbidez foi 930 NTU no tratamento 100% e, de acordo com os resultados de material em suspensão, a sua maior porção é composta por partículas inorgânicas (84%).

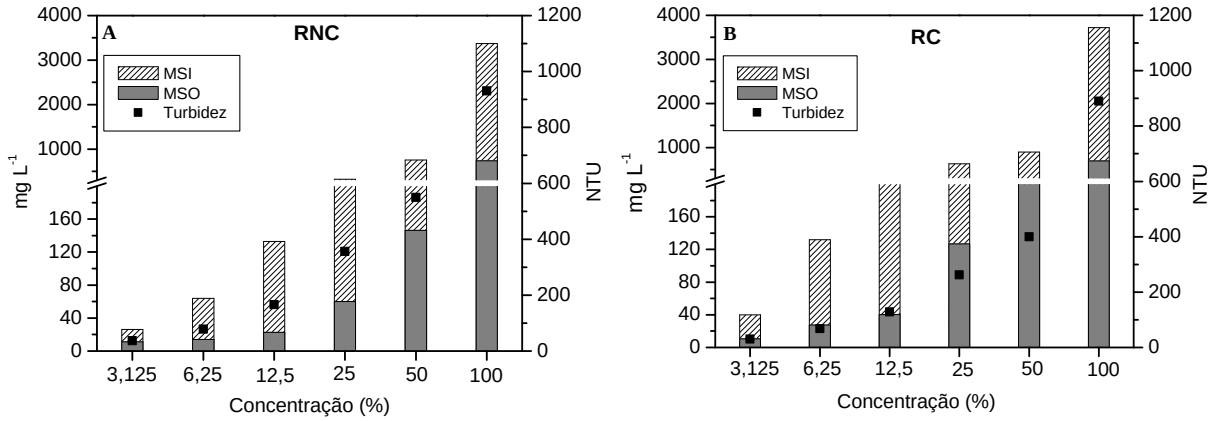


Figura 2. Valores de material em suspensão inorgânico, orgânico (mg L^{-1}) e turbidez (NTU) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B).

A concentração de oxigênio dissolvido ficou acima de 6,5 mg L^{-1} (Figura 3), com reduzida alteração na amostra 100% do *runoff* contaminado (RC). Os resultados também podem ser observados na Tabela 1, em apêndice A.

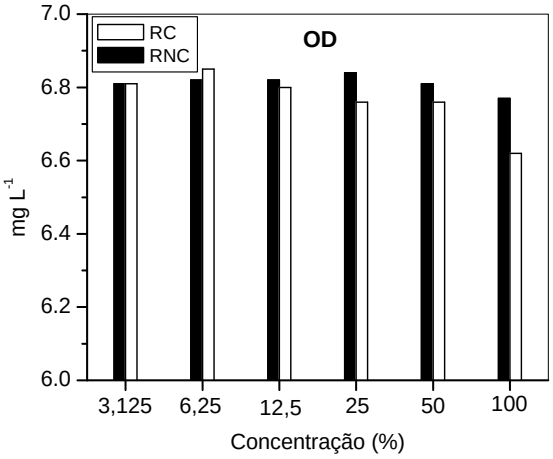


Figura 3. Valores de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) obtidos nas amostras de água do RNC e RC.

Em relação à determinação de abamectina na amostra 100%, a análise demonstrou sua ausência no RNC e a concentração de 40,0 µg L^{-1} no RC.

3.2. Teste com zooplâncton

Com relação aos resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis,* expostas às amostras da parcela não contaminada (RNC), somente na concentração de 100% foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle laboratorial, com porcentagem média de sobrevivência de 75% (n=3) (Tabela 1).

Comparando-se o controle do laboratório com as amostras da parcela contaminada (RC), verificam-se diferenças significativas a partir da concentração de 12,5%, com o valor de CE_{50}, 48h de 13,87% (1° dia). No segundo teste (5° dia), esse valor foi menor, ocorrendo diferenças significativas a partir da concentração de 6,25% e CE_{50}, 48h de 5,03%. No último teste realizado (11°dia), a concentração do efeito tóxico foi semelhante a do segundo (6,25%), no entanto, o valor de CE_{50}, 48h foi ainda menor (4,42%), demonstrando ser ainda mais tóxica no decorrer do tempo. Os valores acima representam uma concentração nominal de abamectina de 5,54, 2,01 e 1,76 µg L^{-1}, respectivamente (Tabela 2). Os resultados de toxicidade também podem ser observados nas Tabelas 1, 2 e 3, em apêndice C.

Tabela 1. Valores médios (n=3) obtidos dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras não contaminadas do *runoff* (RNC). Os testes foram realizados nos 1°, 5 ° e 11 ° dias após o experimento do *runoff*.

Concentração (%)	Sobrevivência* (%) e DP
C L	98 (2,88)
3,125	98 (2,88)
6,25	100 (0)
12,5	90 (10)
25	97 (5,77)
50	90 (0)
100	75 (8,66)

*Valor médio; D.P.: Desvio Padrão; C.L.: Controle Laboratorial.

Tabela 2. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras contaminadas do *runoff* (RC). Os testes foram realizados nos 1°, 5 ° e 11 ° dias após o experimento do *runoff*.

Período (dias)	CE_{50}, 48h (%)	IC (95 %)	Abamectina* (µg L^{-1})
1°	13,87	11,96 – 16.08	5,54
5°	5,03	4,18 – 6,07	2,01
11°	4,42	3,79 – 5,16	1,76

I.C.: Intervalo de Confiança; * Concentração nominal

No teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*, expostas às amostras do RNC, verificou-se que em todos os tratamentos, com exceção da concentração (6,25%), ocorreram diferenças significativas em relação ao controle laboratorial ($p < 0,05$), sendo a menor fecundidade registrada nas concentrações de 50 e 100%, com 5 e 0 neonatos, respectivamente. Os resultados de sobrevivência das fêmeas adultas demonstraram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas concentrações 50 e 100%. Na Figura 4A, são apresentados os resultados dos testes de toxicidade, sendo observado que com o aumento da concentração de água de *runoff* na amostra, menor foi o número de neonatos produzidos, indicando que a turbidez ocasionou efeitos inibitórios na reprodução de *C. dubia*.

Os resultados de reprodução dos testes com o RC revelaram diferenças significativas a partir da menor concentração, 3,125% (valor nominal de abamectina de 1,25 µg L^{-1}), com fecundidade total de 97 neonatos. Os resultados de sobrevivência das fêmeas adultas revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$) a partir da concentração de 6,25% (valor nominal de abamectina de 2,50 µg L^{-1}) (Figura 4B). Embora a elevada turbidez tenha interferido nos resultados dos testes, quando se compara os dois tratamentos RNC e RC, observa-se no RC o efeito tóxico do agrotóxico na reprodução do organismo-teste a partir da

menor concentração, o mesmo ocorrendo na sobrevivência, com valores bem inferiores aos do RNC. Os resultados de toxicidade também podem ser observados na Tabela 4, em apêndice C.

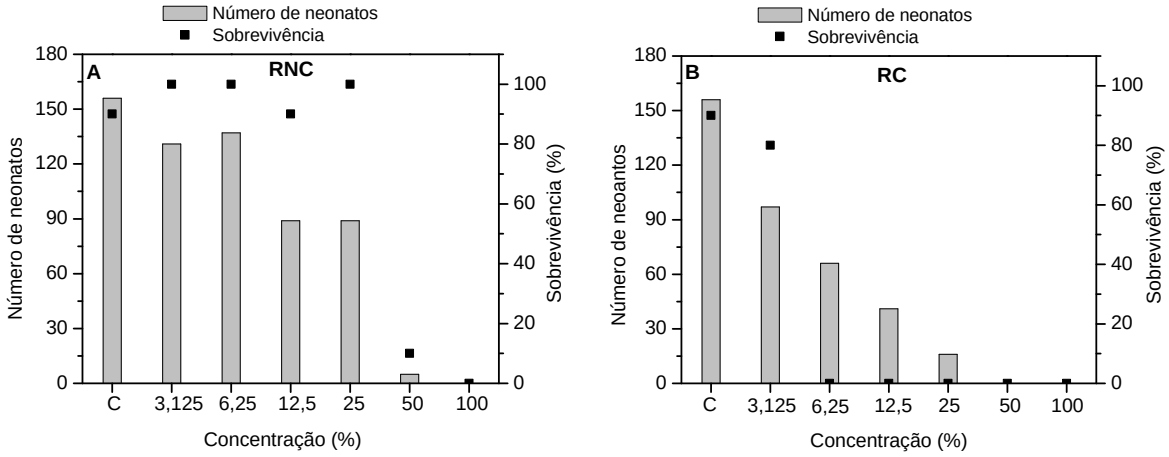


Figura 4. Resultados dos testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*, expostas às amostras de água do *runoff* não contaminado (RNC) em A, e contaminado (RC) em B.

3.3. Teste com Chironomus xanthus

Os resultados dos testes agudos com *Chironomus xanthus*, expostos às amostras do RNC, não revelaram diferenças significativas ($p > 0,05$) pelo método estatístico de Fisher (Figura 5). Comparando-se o controle do laboratório com as amostras da parcela contaminada (RC), verificam-se diferenças significativas a partir da concentração de 12,5%, sendo que o valor de CL_{50}, 96h (16,24%) obtido representa a concentração nominal de abamectina de 6,50 $\mu g\ L^{-1}$ (Tabela 3). Os resultados de toxicidade com *Chironomus xanthus* também podem ser observados na Tabela 5, em apêndice C.

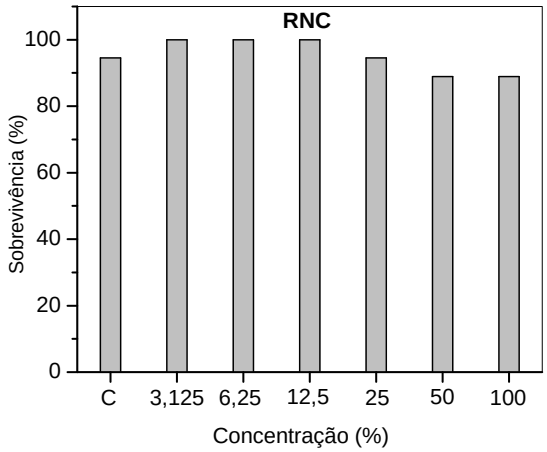


Figura 5. Resultados dos testes de toxicidade com *Chironomus xanthus*, expostos às amostras de água do *runoff* não contaminado (RNC).

Tabela 3. Resultados dos testes de toxicidade com *Chironomus xanthus*, expostos às amostras contaminadas do *runoff* (RC).

Período (dias)	CL_{50}, 96h (%)	IC (95 %)	Abamectina* (μg L^{-1})
1	16,24	13,05 – 20,22	6,50

I.C.: Intervalo de Confiança; * Concentração nominal

3.4. Sensibilidade dos organismos-teste

As premissas para a utilização dos organismos-teste nos ensaios ecotoxicológicos foram atendidas. O resultado da CL_{50}, 24h para *D. similis* ao cloreto de potássio foi de 501,9 mg L^{-1}, demonstrando estar dentro da faixa da carta controle, estabelecida entre 338 e 694 mg L^{-1} (Figura 1, em apêndice C). Para *C. dubia*, a faixa de sensibilidade ao cloreto de sódio foi de 1,06 a 1,76 g L^{-1}, sendo o valor da CE_{50}, 48h no período do teste de 1,66 g L^{-1}, demonstrando que os organismos estavam aptos para serem utilizados em testes (Figura 3, em apêndice C). A CL_{50}, 96h para *C. xanthus* ao cloreto de potássio foi de 5,15 g L^{-1}, em uma faixa entre 2,58 e 6,30 g L^{-1}, estando, portanto, dentro dos limites aceitos (Figura 4, em apêndice C).

4. Discussão

4.1. Efeito do contaminante nos organismos-teste

A partir dos resultados de toxicidade com as amostras provenientes do *runoff*, verifica-se que o organismo-teste mais sensível foi *Ceriodaphnia dubia* e, embora a elevada concentração de material em suspensão (MS) tenha induzido efeito significativo, tanto na reprodução quanto na sobrevivência de *C. dubia* nas amostras controles, os demais organismos não foram afetados e responderam positivamente na avaliação da toxicidade do contaminante. Contudo, mesmo que os valores elevados de MS tenham interferido nos resultados de toxicidade de *C. dubia*, quando comparados os dois tratamentos (RNC e RC), é evidente o efeito do contaminante na reprodução e sobrevivência do organismo-teste, demonstrando ser mais sensível aos efeitos tóxicos do Vertimec®18CE do que *D. similis* e *C. xanthus*.

Em relação à *D. similis*, verifica-se que ocorreu um aumento da toxicidade em função do tempo de armazenamento da amostra, de forma que após 11 dias a mesma amostra foi cerca de três vezes mais tóxica do que no primeiro dia. Tais resultados demonstram que os metabólitos gerados durante o processo de degradação do agrotóxico foram mais tóxicos do

que o composto-mãe. Estudos anteriores, como os realizados por Widenfalk; Lundqvist e Goedkoop (2008), demonstram essa relação quando os autores expuseram *Chironomus riparius* a clorpirifós e enriqueceram os testes com extratos microbianos. Os resultados evidenciaram que o processo de degradação microbiana aumentou significativamente a biodisponilidade deste agrotóxico e a conseqüente acumulação nos tecidos.

Por outro lado, os estudos de Wislocki; Grosso e Dybas (1989) revelam que os produtos gerados a partir da degradação de avermectina B_{1a}, foram de uma a três ordens de grandeza menos tóxicos para *D. magna* do que o composto-mãe. No entanto, no presente estudo, foi utilizado o produto comercial, o qual contém em sua formulação, além do ingrediente ativo, outros compostos como os surfactantes, os quais são adicionados para aumentar a eficácia do agrotóxico. Tais compostos podem gerar reações diferenciadas daquelas que ocorrem apenas com o ingrediente ativo, podendo, inclusive, aumentar a toxicidade. Nesse sentido diversos estudos têm demonstrado a elevada toxicidade dos surfactantes para os organismos aquáticos (HENRY; HIGGINS e BUHL 1994; LEWIS, 1999; VAN DE PLASSCHE et al. 1999; YING, 2006).

Nesse sentido, os estudos desenvolvidos por Pereira et al. (2009) corroboram essa observação. Os autores expuseram vários organismos-teste, inclusive *D. magna*, a três diferentes tipos de agrotóxicos, com o objetivo de comparar a sensibilidade tanto da formulação comercial quanto a do ingrediente ativo. Em geral, os resultados demonstraram que a formulação comercial foi mais tóxica do que a do ingrediente ativo para dois dos agrotóxicos testados.

Os valores da CE_{50} encontrados em literatura para dafnídeos (CE_{50}, 48h para *D. magna* de 0,25 a 0,34 μg L^{-1} de abamectina, segundo TIŠLER e ERŽEN, 2006; WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, op. cit., respectivamente) foram, em média, inferiores quando comparados aos do presente estudo. No entanto, deve ser considerado que foram utilizadas amostras provenientes de *runoff* e que a espécie testada foi *D. similis*, a qual se mostrou ainda mais sensível, com o valor de 5,1 ng L^{-1} (conforme apresentado no Capítulo 5). Para ivermectina, derivado sintético da abamectina (LANKAS e GORDON, 1989), o valor da CE_{50}, 48h para *D. magna* é ainda mais baixo, variando de 2,5 a 5,7 ng L^{-1} (HALLEY; NESSEL e LU, 1989; GARRIC et al., 2007, respectivamente).

Por outro lado, verificou-se no presente estudo que os efeitos das partículas em suspensão foram evidentes nos organismos planctônicos, especialmente em *C. dubia*. Segundo Bilotta e Brazier (2008), em sua revisão sobre a influência de material em suspensão nos organismos aquáticos, os efeitos deletérios nos organismos não podem ser previstos

apenas com concentrações elevadas de material em suspensão, mas também deve ser levado em consideração o tempo de exposição. Nesse sentido, os estudos realizados por Suren; Martin e Smith, (2005) demonstram tal afirmação, pois os autores, ao exporem invertebrados a diferentes concentrações de material em suspensão durante um período de exposição inferior a 24 horas, verificaram que não houve um aumento na mortalidade durante esse período. Lopes et al. (2007), ao avaliarem a interferência do agrotóxico deltametrina nos organismos zooplanctônicos em experimentos de *runoff versus* microcosmos, também não relataram nenhum efeito tóxico em função da turbidez nos tratamentos controles em 24 horas de exposição. Os trabalhos citados acima corroboram os do presente estudo, demonstrando a relação direta da toxicidade em função do tempo de exposição, de forma que nos testes de 48 horas a elevada turbidez nas amostras controles não interferiu significativamente na toxicidade, entretanto, em testes crônicos com maior duração (7 dias) a turbidez afetou os organismos-teste. Neste contexto, um corpo d'água natural sob intensa influência de áreas agrícolas pode vir a sofrer sérios danos com a entrada intermitente de *runoff* associado a poluentes, principalmente o Vertimec® 18CE, que se mostrou extremamente tóxico para microcrustáceos em baixas concentrações, configurando a associação do efeito físico da turbidez com a toxicidade do contaminante.

O Vertimec® 18CE também foi tóxico para *C. xanthus*, sendo os valores de toxicidade bem próximos aos obtidos para *D. similis*, embora as espécies de Chironomidae tenham sempre sido registradas na literatura com sensibilidade inferior as de Daphnidae (SUEDEL; RODGERS e DEAVER, 1997; MASTIN e RODGERS, 2000; PHILLIPS et al., 2010). No presente estudo essa elevada toxicidade pode ter ocorrido em função da característica do contaminante, que é um potente inseticida/acaricida. Por outro lado, outros fatores podem ainda ter influenciado na toxicidade, como a presença de matéria orgânica, uma vez que os organismos em condições de testes são alimentados. Os contaminantes orgânicos hidrofóbicos, como no caso o Vertimec® 18CE, tem a propriedade de complexar-se a matéria orgânica presente no sedimento, através dos sítios de ligação. Assim, as partículas ingeridas de sedimento pelas larvas de *Chironomus* complexadas com o agrotóxico, pode estar sofrendo dessorção no trato gastro-intestinal do organismo, intensificando a toxicidade (WESTON; PENRY e GULMANN, 2000).

O teste com *C. xanthus* atendeu de forma positiva ao objetivo proposto, não só por representar uma espécie local, caracterizando uma alta relevância ecológica e representatividade na cadeia de ecossistemas aquáticos do Brasil, como também a escassa informação em literatura sobre a toxicidade da abamectina para este organismo. Nesse

sentido, outras investigações foram realizadas (vide Cap. 5) e os resultados da CL_{50}, 96h apenas com o princípio ativo, abamectina, foi de 2,67 μg L^{-1}, sendo um valor muito próximo ao do presente estudo (concentração nominal de 6,50 μg L^{-1}), mesmo tendo sido submetido a um *runoff*.

Os estudos de Ali; Xue e Alam (1997), também utilizando a formulação comercial, corroboram os resultados do presente estudo, demonstrando toxicidade elevada em baixas concentrações. Os autores contaminaram lagoas experimentais com o agrotóxico AVID® 0,15CE (abamectina), em 5 tratamentos, com concentrações estimadas mínima e máxima de 3,13 e 50,0 μg L^{-1}, respectivamente, verificando redução significativa na abundância das larvas de Chironomidae em todos os tratamentos até 14 dias após a aplicação.

Embora ainda não exista uma norma específica para testes com *C. xanthus* no Brasil, há vários trabalhos publicados na literatura envolvendo a investigação de contaminantes a este organismo, a exemplo de Moreira et al. (2005), Dornfeld et al. (2006), Sotero-Santos; Rocha e Povinelli (2007), Printes; Espíndola e Fernandes (2007), os quais foram, em sua maioria, baseados na metodologia descrita por Fonseca e Rocha (2004). Assim, torna-se evidente a utilização deste organismo em testes de toxicidade, uma vez que eles representam um elo importante na cadeia alimentar, e também pelo fato de viver e se alimentar a partir de partículas de sedimento, as quais representam o contato direto com o contaminante através do corpo e, indiretamente, através da ingestão.

Além dos agrotóxicos causarem efeitos agudos como letalidade, baixas concentrações podem causar efeitos subletais, como distúrbios no comportamento, diminuição da reprodução e crescimento, mudanças na estrutura da comunidade e, conseqüentemente, alterações ecológicas importantes no sistema (GLIWICZ e SIENIAWSKA, 1986; HANAZATO, 2001; WENDT-RASCH, 2003; DOWNING et al., 2008), ocasionando, efeitos diretos e indiretos no ecossistema aquático. Nesse sentido, a perda da abundância e riqueza de espécies, em conseqüência da exposição de agrotóxico, é caracterizada como efeito direto, mas, a mortalidade de zooplâncton, por outro lado, pode resultar num efeito indireto no fitoplâncton, devido à diminuição da pressão do *grazing*, aumentando, dessa forma, a densidade populacional.

Diversos trabalhos têm demonstrado que a sensibilidade de algas a abamectina é bem menor do que a dos organismos zooplanctônicos e bentônicos. Segundo os estudos realizados por Tišler e Eržen (2006), os valores de CE_{50}, 72h para *Scenedesmus subspicatus* foi de 4,4 mg L^{-1} e para *Pseudokirchneriella subcapitata* foi de 15,5 mg L^{-1} (VIEIRA, 2010).

Comparando-se a sensibilidade de dafnídeo e alga dos resultados dos autores acima apresentados, *D magna* foi muito mais sensível do que a alga *S. subspicatus* (TIŠLER e ERŽEN, 2006). No entanto, comparando-se a sensibilidade de *D. similis* e *P. subcapitata*, essa diferença foi bem maior (VIEIRA, 2010 e Cap. 5). Estes resultados demonstram que a toxicidade da abamectina para as algas é menor em relação ao zooplâncton, o que pode, em situações reais, ocasionar um sério distúrbio no equilíbrio do sistema, com a mortalidade de zooplâncton e o conseqüente aumento de fitoplâncton. Diante desse contexto, o uso indiscriminado desse agrotóxico pode acarretar em perda da diversidade biológica, interferindo na dinâmica dos ecossistemas aquáticos.

4.2. Ação da abamectina nos organismos

De maneira geral, nos invertebrados, as avermectinas (AVM) interferem nas sinapses neuromusculares bloqueando a neurotransmissão, e embora a atividade antiparasitária das AVM tenha sido descrita em 1979, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado. A dificuldade em identificar os mecanismos de ação se deve ao fato de o agrotóxico atuar em múltiplos sítios de ligação, e também por ser avaliado em sistemas biológicos distintos, e portanto, com sensibilidades diferentes (TURNER e SCHAEFFER, 1989).

Nos vertebrados, as AVM causam a neurotoxicidade e o mecanismo de ação está associado com o GABA (ácido gama-aminobutírico) presentes no sistema nervoso central (SNC). O GABA é o principal neurotransmissor inibidor do SNC, e o seu mecanismo de ação é representado pela ligação a receptores específicos. Essa ligação promove a abertura de canais, permitindo a passagem de íons cloreto, o que torna a célula hiperpolarizada, dificultando a condução dos impulsos elétricos, causando a sedação. A atividade do GABA pode se excitatória ou inibitória, dependendo da direção do fluxo iônico e da sua magnitude, controlados pelos receptores GABA (WATANABE et al., 2002; MÖHLER, 2006; LI e XU, 2008).

As AVM são bem menos tóxicas para os vertebrados, pois apresentam alto peso molecular e não atravessam facilmente a barreira hematoencefálica (BHE) no SNC (LANKAS e GORDON, 1989). De maneira geral, as AVM ligam-se aos receptores GABAérgicos presentes na membrana pós-sináptica estimulando o fluxo de íons cloreto para o interior da célula nervosa, simulando o efeito "calmante" do GABA. Os valores de LD_{50} encontrados na literatura para ivermectina em ratos e cachorros foram 50 e 80 mg Kg^{-1}, respectivamente (FISHER e MROZIK, 1992). Os sintomas de toxicidade aguda, similares na

maioria das espécies dos mamíferos, são ataxia, tremores, depressão, convulsões e morte (LANKAS & GORDON, 1989). No entanto, em invertebrados, o GABA atua apenas em receptores excitatórios nos nervos, mediando ativação muscular em sinapses entre os nervos e células musculares, e também o estímulo de certas glândulas (LI e XU, 2008).

Em insetos e crustáceos o mecanismo de ação das AVM consiste em induzir paralisia tônica da musculatura e imobilização. A exposição à AVM pode resultar na ligação desse agrotóxico ao sítio do receptor GABAérgico, ativando canais de cloreto na membrana pós-sináptica, ocasionando um influxo de íons cloreto o que leva a uma hiperpolarização irreversível e, conseqüentemente, inibindo a condução de impulsos nervosos. Contudo, a AVM pode funcionar tanto como um agonista do GABA, quanto um estimulador da liberação do GABA a partir de terminais pré-sinápticos inibitórios (ZUFALL; FRANKE e HATT, 1989; FREITAS et al., 1996; TIŠLER e ERŽEN, 2006). As AVM podem interagir com canais de cloreto mediados por outros neurotransmissores como o glutamato (MARTIN, 1997; SANDERSON, et al., 2007; ŌMURA, 2008). Por outro lado, segundo Turner e Schaeffer (1989), as AVM também podem ligar-se diretamente em sítios de canais do íon cloreto. Verifica-se que as conseqüências fisiológicas das AVM ainda não estão bem claras, no entanto, independentemente dos sítios de ligação das AVM, é de consenso entre os autores que a toxicidade é elevada para invertebrados aquáticos em baixas concentrações (FISHER e MROZIK, 1992; TIŠLER e ERŽEN, op. cit.; SANDERSON et al., 2007).

Conclui-se, pelo presente estudo, que o Vertimec® 18CE apresentou alta toxicidade para os organismos-teste e ao extrapolar estes resultados para ecossistemas aquáticos naturais, pode-se inferir que o escorrimento superficial de culturas tratadas com esse agrotóxico representaria um sério risco à estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos.

5. Referências bibliográficas

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnica, NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia* ssp (Cladocera, crustácea). 21 p., 2004.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnica, NBR 13373. Ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia* ssp (Cladocera, crustácea). 15 p., 2005.

ALI, A.; XUE, R. D.; ALAM, S. K. Ecotoxicological effects of abamectin (MK-936) on natural populations of selected invertebrates in man-made ponds. **Med. Entomol. Zool**., 48, p. 233–241, 1997.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19 Ed. Washington D. C., 1268 p., 1995.

BILOTTA, G. S.; BRAZIER, R. E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. **Water Research**, 42, p. 2849 – 2861, 2008.

BRADY, J. A. et al. Pesticide runoff from orchard floors in Davis, California, USA: A comparative analysis of diazinon and esfenvalerate. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 115, p. 56–68, 2006.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. New York, 363 p., 1989.

DORES, E.F.G; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. L. Contaminação de Ambientes Aquáticos por pesticidas: via de contaminação e dinâmica, dos pesticidas no ambiente aquático. R. **Toxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, 9, p. 1-18, 1999.

DORNFELD, C. B. et al. Comparação de Bioensaios Laboratoriais e "in situ" Utilizando *Chironomus xanthus* na Avaliação da Toxicidade de Sedimentos do Rio Monjolinho (São Carlos, SP). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**., 1:2, p. 161-165, 2006.

DOWNING, A. L. et al. Community and ecosystem responses to a pulsed pesticide disturbance in freshwater ecosystems. **Ecotoxicology**, 17, p. 539-548, 2008.

FILIZOLA, H. F. et al. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em águas superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, 37:5, p. 659-667, 2002.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. The chemistry and pharmacology of avermectinas. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**., 32, p. 537-53, 1992.

FONSECA A. L; ROCHA O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensis**, 16, p. 153–161, 2004.

FREITAS, R. M. C. et al. Effects of ivermectin on *Culex quinquefasciatus* larvae. **Rev. Inst. Med. trop.** São Paulo, 38:4, p. 293-297, 1996.

GARRIC, J. et al. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere,** 69, p. 903-910, 2007.

GLIWICZ, M. Z.; SIENIAWSKA, A. Filtering activity of *Daphnia* in low concentrations of a pesticide. **Limnol. Oceanogr**., 31:5, p. 1132- l138, 1986.

GULLEY, D. D.; BOELTER, A. M.; BERGMAN, H. L. Toxtat 3.4 Computer Program, 1994.

HALLEY, B. A.; NESSEL, R. J.; LU, A. Y. H. Environmental aspects of ivermectin usage in livestock: general considerations. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York. p.162-172, 1989.

HAMILTON, M.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentracions in toxicity biossays. **Environ. Sci. Tech.,** 11, p. 714-719, 1977.

HANAZATO, T. Pesticides effects on freshwater zooplankton: na ecológica perspective. **Environmental Pollution**, 112, p. 1-10, 2001.

HENRY, C. J.; HIGGINS, K. F.; BUHL, K. J. Acute Toxicity and Hazard Assessment of Rodeo®, X-77 Spreader®, and Chem-Trol® to Aquatic Invertebrates. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**. 27: p. 392-399, 1994.

HUBER, A.; BACH, M.; FREDE, H.G. Modeling pesticide losses with surface runoff in Germany. **The Science of the Total Environment**, 223, p. 177-191, 1998.

LANÇAS, F. L. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos. Ed. Rima, 46 p., 2004.

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. Toxicology. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 89-112, 1989.

LERCH, R.N.; BLANCHARD, P. E. Watershed vulnerability to herbicide transport in northern Missouri and southern Iowa streams. **Environ. Sci. Technol**., 37, p. 5518-5527, 2003.

LEWIS, M. A. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment. **War. Res.** 25:1, p. 101-113, 1991.

LI, K.; XU, E. The role and the mechanism of gamma-aminobutyric acid during central nervous system development. **Neurosci Bull**., 24:3, 195 – 200, 2008.

LOPES, I. et al. In situ assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. **Chemosphere**, 67, p. 2250–2256, 2007.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. Agrofit, Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 20 de julho de 2009.

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **Vet J.**, 154, p. 11–34, 1997.

MASTIN, B. J.; RODGERS, JR. J. H. Toxicity and bioavailability of cooper herbicides (clearigate, cutrine-plus and cooper sulfate) to freshwater animals. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 39, p. 445-451, 2000.

MÖHLER, H. GABAA receptor diversity and pharmacology. **Cell Tissue Res**., 326, p. 505-516, 2006.

MOREIRA-SANTOS, M. et al. In situ and laboratory microalgal assays in the tropics: a microcosm simulation of edge-of-field pesticide runoff. **Bull. Environ. Toxicol. Chem**., 74, p. 48–55, 2005.

NUNES, M. E. T. et al. Uso de agrotóxicos no município de Bom Repouso, Minas Gerais, Brasil e efeito sobre organismos aquáticos e do solo. *In*: DI LEO, N.; MONTICO, S.; NARDÓN, G. **Avances em ingeniería rural 2007/2009**. 1ª Ed. Rosario: UNR Editora. ISBN: 978-950-673-752-8. CD-ROM, p. 505-513, 2009.

ŎMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 31, p. 91–98, 2008.

PABLO, F. et al. Comparison of the fate and toxicity of chlorpyrifos-Laboratory versus a coastal mesocosm system. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 71, p. 219-229, 2008.

PEREIRA, J. L. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. **Ecotoxicology**, 18, p. 455–463, 2009.

PHILLIPS, M. M. et al. Chronic toxicity of fluorotelomer acids to *Daphnia magna* and *Chironomus dilutes.* **Environmental Toxicology and Chemistry**, 29:5, p. 1123–1131, 2010.

PRINTES, L. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FERNANDES, M. N. Biochemical Biomarkers in Individual Larvae of *Chironomus xanthus* (Rempel, 1939) (Diptera, Chironomidae). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**., 2:1, p. 53-60, 2007.

SANDERSON, H. et al. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. **Aquatic Toxicology**, 85, p. 229–240, 2007.

SCHÄFER, R. B. et al. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. **Science of the Total Environment**, 382, p. 272–285, 2007.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola, Histórico. Disponível em: <http://www.sindag.org.br> Acesso em 10 de maio de 2010.

SOTERO-SANTOS, R.B.; ROCHA, O.; POVINELLI, J. Toxicity of ferric chloride sludge to aquatic organisms. **Chemosphere**, 68, p. 628–636, 2007.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; RODRIGUES, G. S. Uso de agrotóxicos nas diferentes regiões brasileiras subsídio para a geomedicina. **R. Toxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, 8, p. 111-126, 1998.

STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com, 2004.

SUEDEL, B. C.; RODGERS JR, J. H.; DEAVER, E. Experimental Factors That May Affect Toxicity of Cadmium to Freshwater Organisms. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**., 33, p. 188–193, 1997.

SUREN, A.M.; MARTIN, M.L.; SMITH, B.J. Short-term effects of high suspended sediments on six common New Zealand stream invertebrates. **Hydrobiologia**, 548, p. 67–74, 2005.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J.G.; KUTNER, M.B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standing stock and some ecological factors. **Bol. Inst.Oceanogr**., 24, p. 23-41, 1965.

TIŠLER, T.; ERŽEN, N. K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**, 15, p. 495-502, 2006.

TURNER, M. J.; SCHAEFFER, J. M. Mode of action of ivermectin. *In*: CAMPBELL, W.C. (Ed). **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. New York, p. 73-88, 1989.

VAN DE PLASSCHE, E. J. et al. Predicted no-effect concentrations and risk characterization of four surfactants: linear alkyl benzene sulfonate, alcohol ethoxylates, alcohol ethoxylated sulfates, and soap. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 18:11, p. 2653–2663, 1999.

VEIGA, M. M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 22:11, p. 2391-2399, 2006.

VIEIRA, B. H. **Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton: um estudo laboratorial e "in situ".** Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 181p., 2010.

WATANABE, M. et al. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. **Int. Rev. Cytol**., 213, p. 1- 47, 2002.

WENDT-RASCH, L. **Ecological effects of pesticides in freshwater model ecosystems**. Doctoral thesis, Department of Chemical Ecology and Ecotoxicology. Lund University, Lund, Sweden, 140 p., 2003.

WESTON, D. P.; PENRY, D. L.; GULMANN, L. K. The role of ingestion as a route of contaminant bioaccumulation in a deposit-feeding polychaete. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 38, p. 446–454, 2000.

WIDENFALK, A.; LUNDQVIST, A.; GOEDKOOP, W. Sediment microbes and biofilms increase the bioavailability of chlorpyrifos in *Chironomus riparius* (Chironomidae, Diptera). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 71, p. 490–497, 2010.

WISLOCKI, P. G; GROSSO, L. S; DYBAS, R. A. Environmental aspects of abamectin use in crop protection. *In*: CAMPBELL W.C (Ed). **Ivermectin and abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 182–200, 1989.

YING, G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. **Environment International**, 32, p. 417 – 431, 2006.

ZAMBRONE, F. A. D. Perigosa família. Agrotóxicos. **Ciência hoje**, 4:22, p. 44-47, 1986.

ZUFALL, F.; FRANKE, Ch.; HATT, H. The insecticide avermectin B_{1a} activates a chloride channel in crayfish muscle membrane. **J. exp. Biol.,** 142, p.191-205, 1989.

Capítulo 2

Análise da sobrevivência, do crescimento e das alterações histológicas de juvenis de *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) expostos aos resíduos de Vertimec® 18CE

Resumo

Os efeitos do agrotóxico Vertimec® 18CE, cujo princípio ativo é a abamectina, foram avaliados na sobrevivência, crescimento e na morfologia das brânquias de juvenis de *Danio rerio* a partir de testes de toxicidade crônico-parciais com água de *runoff* provenientes de áreas agrícolas experimentais (cultura de morango), contaminadas e não contaminadas com o agrotóxico. Os resultados demonstraram ausência de efeitos na sobrevivência em todos os tratamentos (6,25%; 12,5%; 25%; 50% e 100%), mas diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle foram registradas para o crescimento - com efeito hormese, além de alterações nas brânquias. Em geral, as alterações nas brânquias foram de primeiro e segundo graus, incluindo proliferação de células entre as lamelas secundárias, dilatação no ápice das lamelas, descolamento do epitélio respiratório e aneurisma. Os resultados obtidos confirmam o potencial tóxico do Vertimec® 18CE mesmo em concentrações subletais, evidenciando riscos ambientais em locais sob influência de áreas agrícolas.

Palavras-chave: Vertimec® 18CE, abamectina, *Danio rerio*, toxicidade, morfologia de brânquias e *runoff*.

1. Introdução

O Vertimec® 18CE é a formulação comercial do principio ativo abamectina e tem sido comercializado no Brasil desde 1994 como acaricida, inseticida e nematicida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais. A sua classificação toxicológica é medianamente tóxica, no entanto, a classificação do potencial de periculosidade ambiental é II, sendo considerado muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009).

A abamectina pertence à família da avermectina (AVM) e neste grupo também estão incluídas as ivermectina e doramectina. As avermectinas, derivadas da fermentação do actinomiceto *Streptomyces avermitilis*, são compostos altamente lipofílicos, com baixa solubilidade na água e alta adsorção em matéria orgânica (CAMPBELL, 1989; ŌMURA,

2008). A abamectina é uma mistura que contém cerca de 80% de avermectina B_{1a} e 20% avermectina B_{1b}, as quais têm propriedades biológicas e toxicológicas similares (CAMPBELL, 1989; LANKAS e GORDON, 1989; FISHER e MROZIK, 1992).

As AVM atuam principalmente sobre o sistema nervoso dos organismos. Seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado, mas em geral está relacionado com os receptores GABA (ácido gama aminobutírico) tanto em invertebrados quanto em vertebrados, e com receptores glutamatérgicos em canais de cloreto em invertebrados. A maioria dos autores menciona que as AVM podem atuar não só como agonista do GABA, mas também podem estimular a liberação do GABA nos terminais pré-sinápticos inibitórios. Em ambos os processos, aumentam a permeabilidade para íons cloreto, levando a uma hiperpolarização de células nervosas e musculares, o que acaba interferindo na transmissão do sinal neural, levando os organismos à morte (MELLIN; BUSCH e WANG, 1983; TURNER e SCHAEFFER, 1989; CULLY et al., 1994). Em peixes as AVM podem atravessar a barreira hematoencefálica e causar toxicidade (HØY; HORSBERG e NAFSTAD, 1990).

O impacto de poluentes em um determinado organismo pode ser observado por alterações em diferentes níveis em termos de complexidade funcional. Nos peixes, o epitélio branquial é a principal superfície de contato com o ambiente e constitui um importante alvo dos poluentes presentes na água, devido à sua extensa área superficial (WONG e WONG, 2000). A brânquia é um órgão multifuncional, responsável pelas trocas gasosas, processos de regulação osmótica, equilíbrio ácido básico e excreção de metabólitos nitrogenados. Portanto, é devida a essa multifuncionalidade que contaminantes podem entrar em contato direto com as lamelas branquiais, penetrar na corrente sanguínea e causar danos em diversos níveis ao animal (EVANS, 1987; STRIPP e TROMBETTA, 1994; EVANS; PIERMARINI e CHOE, 2005). Nesse sentido, o epitélio branquial tem sido utilizado em diversos estudos para a avaliação do potencial tóxico de xenobióticos tanto em ecossistemas aquáticos naturais quanto em laboratório (RICHMONTS e DUTTA, 1989; CAMPAGNA et al., 2008; FRACÁCIO et al., 2008; COSTA et al., 2009). As principais alterações histológicas que ocorrem nas brânquias, em função do contato direto com contaminantes, são representadas por edema, hiperplasia epitelial das lamelas secundárias, infiltração de células epiteliais, fusão lamelar e necrose na lamela secundária (TAKASHIMA e HIBIYA, 1995).

A introdução dos contaminantes nos ambientes aquáticos ocorre de forma diversa e seus efeitos sobre a biota vão depender da sua biodisponibilidade e da forma de ação do contaminante, podendo causar danos diretos e indiretos aos componentes biológicos do sistema. Uma das formas de aporte de contaminantes é por meio do escorrimento superficial

de áreas agricultáveis, o que demonstra uma relação direta da aplicação de agrotóxicos com a precipitação. Na região sudeste do Brasil, entre outras, as chuvas torrenciais no verão são frequentes, fazendo com que uma parte da água se infiltre no solo e a porção excedente à capacidade de infiltração escoe superficialmente, promovendo a erosão (BERTONI e LOMBARDI-NETO, 1993) e, consequentemente, o arraste dos materiais adsorvidos às partículas de solo. Diversos estudos já têm demonstrado que o escorrimento superficial provenientes de áreas agrícolas é considerado um dos principais meios de contaminação das águas superficiais (HUBER; BACH e FREDE, 1998; LERCH e BLANCHARD, 2003; CORREIA e LANGENBACH, 2006), trazendo sérias conseqüências para a estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos. No entanto, ainda é incipiente a abordagem experimental *in situ* na qual se avalia as interações entre sistemas terrestres e aquáticos, notadamente sobre os potenciais efeitos de contaminantes sobre as comunidades bióticas aquáticas.

Nesse sentido, estudos experimentais em campo podem gerar informações mais complexas e ecologicamente mais relevantes, reduzindo o grau de incerteza ao extrapolar os resultados de toxicidade de um determinado agrotóxico para um cenário real (GRANEY; GIESY e CLARK, 1995), uma vez que os agrotóxicos no ambiente são influenciados por muitos processos que determinam sua persistência e mobilidade (GRAVILESCU, 2005). Dentre as características ambientais que mais influenciam a dinâmica dos agrotóxicos podem ser citados o clima (temperatura ambiente, pluviosidade, intensidade de luz solar e ventos), as propriedades físicas e químicas do solo (teor de matéria orgânica e argila, pH, umidade), a atividade microbiológica, a compactação e a cobertura vegetal (WAXMAN, 1998; DORES e DE-LAMONICA-FREIRE, 1999).

Diante desse contexto, este trabalho procurou testar a hipótese de que o escorrimento superficial de culturas agrícolas tratadas com o agrotóxico Vertimec® 18CE ocasiona efeitos na sobrevivência, no crescimento e na morfologia das brânquias de juvenis de *Danio rerio* a partir de teste de toxicidade crônica parcial.

2. Materiais e métodos

2.1. Delineamento experimental

No Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), localizado no município de Itirapina, São Paulo, Brasil (22°01'22"S, 43°57'38"W), foram delimitadas duas parcelas de solo de 8 m^2, distantes entre si em 6 m, com declividade de 6%. Previamente ao experimento, essas parcelas foram capinadas e aradas (Figura 1, A a D, em apêndice B). O

solo da parcela era predominantemente arenoso, sendo a maior porção composta por areia fina (54%) e 13,45% de matéria orgânica.

Uma das parcelas foi contaminada com o agrotóxico Vertimec® 18CE (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, Brasil), cujo ingrediente ativo é a abamectina, e a formulação comercial representa o concentrado emulsionável a 18 g L^{-1} do ingrediente ativo. A aplicação foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal, seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante para culturas de morango de 0,75 mL L^{-1} (volume aplicado de 0,125 L m^{-2}). A outra parcela recebeu apenas uma aspersão com água, servindo como controle. No momento da aplicação da parcela contaminada, a parcela controle ficou coberta com uma manta plástica para evitar qualquer possível contaminação (Figura 2, A a D, em apêndice B). Em seguida, realizou-se uma simulação de chuva a montante do terreno. A intensidade da precipitação (19 mm) baseou-se na série histórica do mês de fevereiro de 2005 a 2007, obtida junto a Estação Climatológica do CRHEA/EESC/USP (Figura 3, A e B, em apêndice B). Este experimento foi conduzido no verão, em fevereiro/2008, onde as temperaturas de países tropicais, como o Brasil, são elevadas.

As amostras da água foram coletadas a jusante da área de drenagem, na qual ocorreu o *runoff*, através de uma manta plástica colocada dentro de uma depressão no terreno, cavada anteriormente (Figura 3, C e D, em apêndice B). Posteriormente, parte da água escoada superficialmente pelo solo (*runoff*) foi levada ao laboratório para a caracterização física e química, e realização de testes ecotoxicológicos com juvenis de *Danio rerio.*

2.2. Variáveis físicas e químicas da água do runoff

As amostras de água do *runoff* foram analisadas quanto às variáveis pH (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 145A) e oxigênio dissolvido (medidor de OD YSI). A turbidez foi analisada em espectrofotômetro (Hach, DR/2000) (APHA, 1995) e material em suspensão por gravimetria em filtros de fibra de vidro (GF/C – 47 mm) (TEIXEIRA; TUNDISI e KUTNER, 1965). A concentração de abamectina foi quantificada somente na amostra de 100%, a qual foi realizada por meio de cromatografia líquida (modelo SCL-10A, marca Shimadzu), com detector SPD-10A UV e a confirmação por GC-MS (modelo QP2010, marca Shimadzu) (LANÇAS, 2004).

2.3. Testes de toxicidade crônica parcial

Para a realização dos testes de toxicidade, as amostras de água provenientes do experimento do *runoff* foram diluídas com água de cultivo em quatro concentrações seriadas,

6,25%; 12,5%; 25% e 50%, além da amostra integral de 100%. As concentrações nominais de abamectina (2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 μg L^{-1}) nas respectivas soluções-teste do RC foram estimadas a partir da quantificação cromatográfica realizada na amostra de 100% (40 μg L^{-1}).

Os organismos-teste foram obtidos comercialmente e mantidos no laboratório para aclimatação por um período de 7 dias em aquários de 25 litros, com substituição de 1/3 da água por água reconstituída a cada 24h (ABNT, 2004). A alimentação ministrada foi ração comercial Tetramin®, a qual foi suspensa 24h antes da realização dos testes de toxicidade. Os organismos utilizados apresentaram o comprimento médio de 1,16 cm (± 0,10). Para avaliar as condições fisiológicas dos organismos, os mesmos foram submetidos a testes de sensibilidade ao cloreto de potássio por 48h, para determinar a CL_{50}.

Os testes de toxicidade crônica parcial seguiram a metodologia descrita na ABNT (2007), modificando-se apenas a fase de vida do organismo-teste (de embriolarval para juvenil) e a quantidade de réplicas (duas). Os testes foram montados em duas réplicas por tratamento, com 10 organismos em cada (obedecendo a proporção de 1 g L^{-1}), os indivíduos foram mantidos em potes plásticos atóxicos, contendo 1 L de cada solução-teste, sendo a duração dos testes de 7 dias em condições estáticas.

Todos os testes foram mantidos em sala climatizada, com fotoperíodo (12:12h claro/escuro) e temperatura (25°C ± 2) controlados, aeração constante e alimentação diária. Os parâmetros pH (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 145A), dureza (Hach, DR/2000) (APHA, 1995), oxigênio dissolvido (medidor de OD YSI) e mortalidade foram avaliados a cada 24 horas.

2.4. Medidas de peso e comprimento

As medidas de peso total e comprimento padrão foram feitas antes do início dos testes, em 10% dos peixes, para avaliar a homogeneidade do lote e ao final dos testes nos peixes sobreviventes (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 1987).

2.5. Avaliação histológica das brânquias

Após a realização da biometria, os indivíduos foram fixados inteiros na solução de Bouin por 18 horas e lavados em água corrente por 24 horas, permanecendo em álcool 70% até o momento da desidratação. Posteriormente, os indivíduos foram desidratados em uma série de alcoóis e diafanizados em xilol para a inclusão em parafina (TOLOSA et al., 2003). Os cortes histológicos, de 4 a 6 μm de espessura, foram feitos com navalha de aço em

micrótomo (Micron HM 340E). A coloração utilizada foi hematoxilina-eosina (HE) e a avaliação qualitativa dos tecidos branquiais foi realizada por microscopia óptica. As alterações foram identificadas seguindo Takashima e Hibya (1995) e a classificação proposta por Poleksić e Mitrović-Tutundžić (1994).

2.6. Análise dos dados

O teste de Fisher foi utilizado para a verificação da diferença significativa na sobrevivência dos organismos-teste, comparando-se o controle laboratorial com os demais tratamentos. Os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa computacional Toxstat 3.3 (GULLEY; BOELTER e BERGMAN, 1994).

Com relação aos resultados de biometria, a relação peso-comprimento dos indivíduos do controle laboratorial foi comparada com a dos organismos-teste dos demais tratamentos, através do teste Mann-Whitney, permitindo a detecção de efeitos crônicos sobre o crescimento e desenvolvimento dos organismos-teste. Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos dados foram previamente testados, sendo as análises realizadas com auxílio do software Statistica versão 7 (STATSOFT, INC., 2004).

A fim de verificar a diferença significativa das variáveis limnológicas entre os tratamentos, foi aplicado a Análise de Variância a um critério (ANOVA), com os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos resíduos previamente testados. As análises foram realizadas com auxílio do software Statistica versão 7 (STATSOFT, INC., 2004).

3. Resultados

3.1. Análises físicas e químicas das amostras da água do runoff

Pelos valores de pH, condutividade elétrica, turbidez, oxigênio dissolvido e material em suspensão não se verificam diferenças significativas entre os tratamentos do *runoff* não contaminado (RNC) e *runoff* contaminado (RC), ($p > 0,05$), demonstrando a homogeneidade dos parâmetros envolvidos nas duas parcelas.

Os valores de pH nas amostras do *runoff* não variaram muito entre as diferentes diluições, sendo 6,36 e 7,71 nos tratamentos 100% e 3,125%, respectivamente. Para a condutividade foram obtidos valores mínimo de 20,9 µS cm^{-1} (em 100%) e máximo de 182,6 µS $cm^{-}1$ em 3,125% (Figura 1).

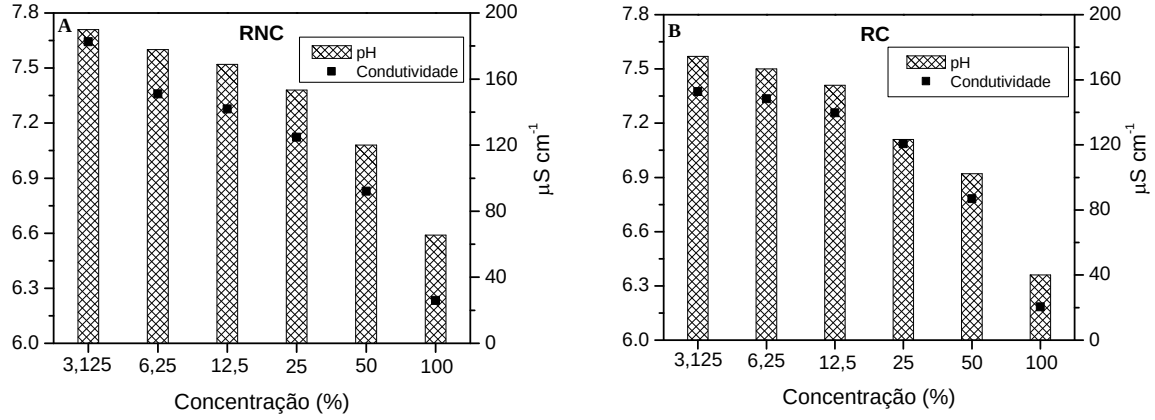


Figura 1. Valores de pH e condutividade elétrica (µS cm^{-1}) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B).

Com relação aos valores de turbidez e material em suspensão (Figura 2), os mesmos foram elevados nos tratamentos 100 e 50%, em função da característica da amostra, que é proveniente de escorrimento superficial de solos agricultáveis sem cobertura. O valor máximo de turbidez foi 930 NTU no tratamento 100% e, de acordo com os resultados de material em suspensão, a sua maior porção é composta por partículas inorgânicas (84%). Os resultados das análises químicas e físicas das amostras do *runoff*, também podem ser observados na Tabela 1, em apêndice A.

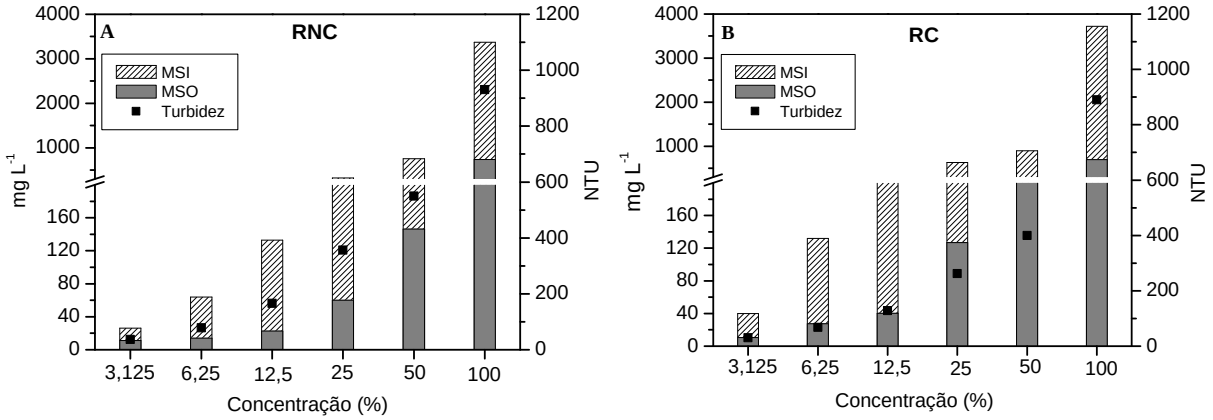


Figura 2. Valores de material em suspensão inorgânico, orgânico (mg L^{-1}) e turbidez (NTU) obtidos nas amostras de água provenientes do RNC (A) e RC (B).

A concentração de oxigênio dissolvido ficou acima de 6,5 mg L^{-1} (Figura 3), com reduzida alteração na amostra 100% do *runoff* contaminado (RC).

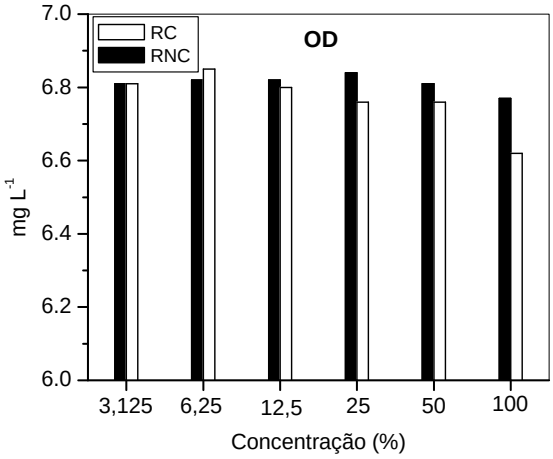


Figura 3. Valores de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) obtidos nas amostras de água do RNC e RC.

Em relação à determinação de abamectina na amostra de 100%, a análise demonstrou sua ausência no RNC e a concentração de 40,0 µg L^{-1} no RC.

3.2. Sobrevivência e crescimento dos organismos-teste

De acordo com os resultados de sobrevivência dos testes de toxicidade crônica com juvenis de *Danio rerio,* expostos às amostras das parcelas não contaminadas (RNC) e contaminadas (RC), verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) em relação ao controle laboratorial (Tabela 1). No entanto, com relação aos parâmetros peso total e comprimento padrão dos organismos-teste expostos as amostras do RC, foram encontradas diferenças significativas (Tabela 2). Em relação ao peso, em todas as concentrações ocorreram diferenças significativas em relação ao controle e, para o comprimento padrão, somente nas concentrações do RC de 12,5; 50 e 100% foram observadas diferenças significativas em relação ao controle. Entretanto, as diferenças significativas observadas nos indivíduos expostos às amostras do RC são atribuídas ao maior ganho de peso e comprimento dos mesmos, quando comparados ao controle laboratorial. Tais resultados indicam uma resposta hormética do Vertimec® 18CE nos organismos, pois em baixas concentrações (subletais) acabaram estimulando o crescimento desses indivíduos. Os resultados dos testes de toxicidade e biometria de *Danio rerio* também podem ser observados nas Tabelas 6 e 7, apêndice C, respectivamente.

As premissas para a utilização dos organismos-teste nos ensaios ecotoxicológicos foram atendidas. O resultado da CL_{50},48h ao cloreto de potássio foi de 874 mg L^{-1}, demonstrando estar dentro da faixa da carta controle, estabelecida entre 554 e 919 mg L^{-1} (Figura 5, em apêndice C). Quanto à biometria inicial do lote utilizado, os

resultados de correlação demonstram uma condição satisfatória entre a relação peso total e comprimento padrão (Figura 6, em apêndice C).

Tabela 1. Resultados dos testes de toxicidade crônica parcial de sobrevivência de juvenis de *Danio rerio*, expostos às amostras não contaminadas (RNC) e contaminadas (RC) do *runoff*.

Concentração (%)	Sobrevivência (%)	Toxicidade
C.L.	95	Aceito
RNC 6,25	95	NT
RNC 12,5	85	NT
RNC 25	80	NT
RNC 50	100	NT
RNC 100	90	NT
RC 6,25	100	NT
RC 12,5	95	NT
RC 25	100	NT
RC 50	100	NT
RC 100	100	NT

C.L. Controle laboratorial; NT: Não tóxico. Fisher ($p > 0,05$).

Tabela 2. Comparação dos parâmetros peso e comprimento de juvenis de *Danio rerio* (n=20), expostos às amostras não contaminadas (RNC) e contaminadas (RC) do *runoff*, através da análise estatística de Mann-Whitney.

Concentração (%)	Comprimento (cm) ±DP	Peso (g) ±DP
C.L.	1,14 ±0,08	0,02497 ±0,006
RNC 6,25	1,17 ±0,12	0,02511 ±0,007
RNC 12,5	1,16 ±0,16	0,02909 ±0,016
RNC 25	1,17 ±0,07	0,03054 ±0,009
RNC 50	1,19 ±0,12	0,02387 ±0,015
RNC 100	1,15 ±0,12	0,02617 ±0,007
RC 6,25	1,20 ±0,12	0,03434* ±0,012
RC 12,5	1,22* ±0,14	0,03562* ±0,014
RC 25	1,17 ±0,15	0,03149* ±0,015
RC 50	1,24* ±0,09	0,03013* ±0,008
RC 100	1,27* ±0,09	0,03363* ±0,008

C.L. Controle laboratorial; * Diferença significativa em relação ao controle ($p < 0,05$).

3.3. Morfologia das brânquias

As brânquias dos organismos-teste expostos ao controle laboratorial apresentavam morfologia normal, ou seja, desenvolvimento da área respiratória com espaços interlamelares bem definidos, com o tecido epitelial justaposto às lamelas primárias e secundárias (Figura 4).

Nos organismos-teste submetidos às concentrações seriadas do RNC não foram observadas lesões nas brânquias, verificando-se características similares das brânquias dos indivíduos expostos ao controle laboratorial, com lamelas secundárias bem desenvolvidas e espaço entre elas bem definidos. Observa-se, portanto, que a turbidez não interferiu na sobrevivência e no crescimento, bem como na morfologia das brânquias destes indivíduos. Na Figura 5 podem ser visualizadas algumas das análises histológicas das brânquias nas concentrações do RNC de 6,25; 25; 50 e 100%.

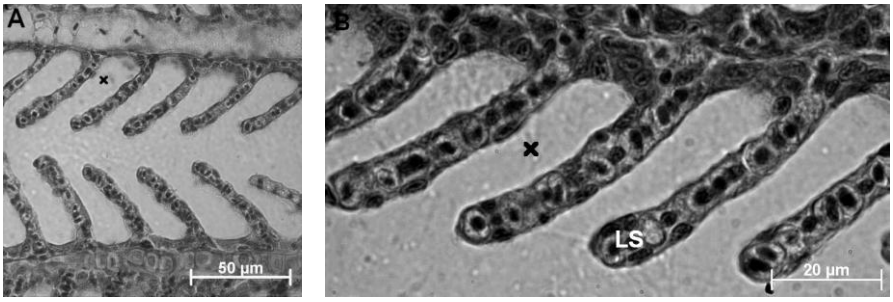


Figura 4. Corte longitudinal ao filamento branquial dos organismos-teste *Danio rerio* expostos ao controle laboratorial, demonstrando as lamelas secundárias bem desenvolvidas (**LS**) e os espaços interlamelares bem definidos (**x**). Em (A), aumento de 63x e em (B), 100x. (HE).

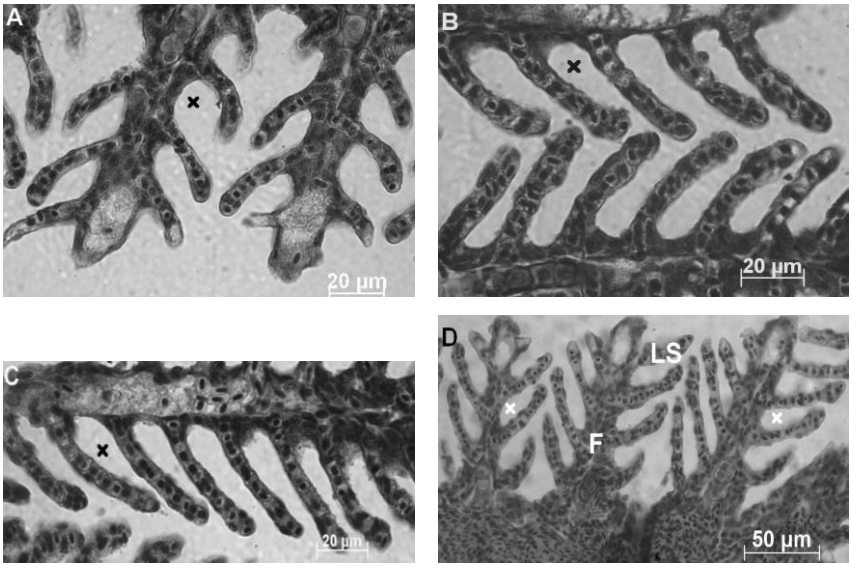


Figura 5. Corte longitudinal ao filamento branquial dos organismos-teste *Danio rerio* expostos às diferentes concentrações do *runoff* não contaminado (RNC). As figuras demonstram as lamelas secundárias bem desenvolvidas (**LS**), os espaços interlamelares bem definidos (**x**) e filamento branquial (**F**). (A) concentração do RNC de 6,25%, (B) RNC 25%, (C) RNC 50%, aumento de 63x, respectivamente. (D) RNC 100%, 40x. (HE).

As alterações encontradas nas brânquias dos organismos-teste expostos as diferentes concentrações do RC, de maneira geral, representam o primeiro (I) e segundo (II) graus. As lesões de I e II graus são reversíveis, mas, se as condições do ambiente não mudarem, as

lesões de II grau progridem para III, que são irreversíveis, causando alterações funcionais que freqüentemente levam à morte.

Dentre as lesões mais comumente encontradas, a partir da concentração mais baixa, destacam-se a proliferação das células epiteliais entre as lamelas secundárias (I), reduzindo a área respiratória; a dilatação no ápice das lamelas secundárias (I) e o descolamento do epitélio (I) (Figura 6, A e B). Essas alterações foram se intensificando com o aumento da concentração, tendo sido verificada proliferação celular na maioria das lamelas secundárias, resultando na junção de várias delas (II). Tais lesões reduzem, sobretudo, os espaços para as trocas gasosas em grande parte das brânquias (Figura 6, C e D). Contudo, as lesões mais graves foram encontradas nas brânquias dos organismos-teste expostos ao RC 100%, incluindo aneurisma (II) (Figura 6, E e F, respectivamente), o que demonstra os efeitos do Vertimec® 18CE.

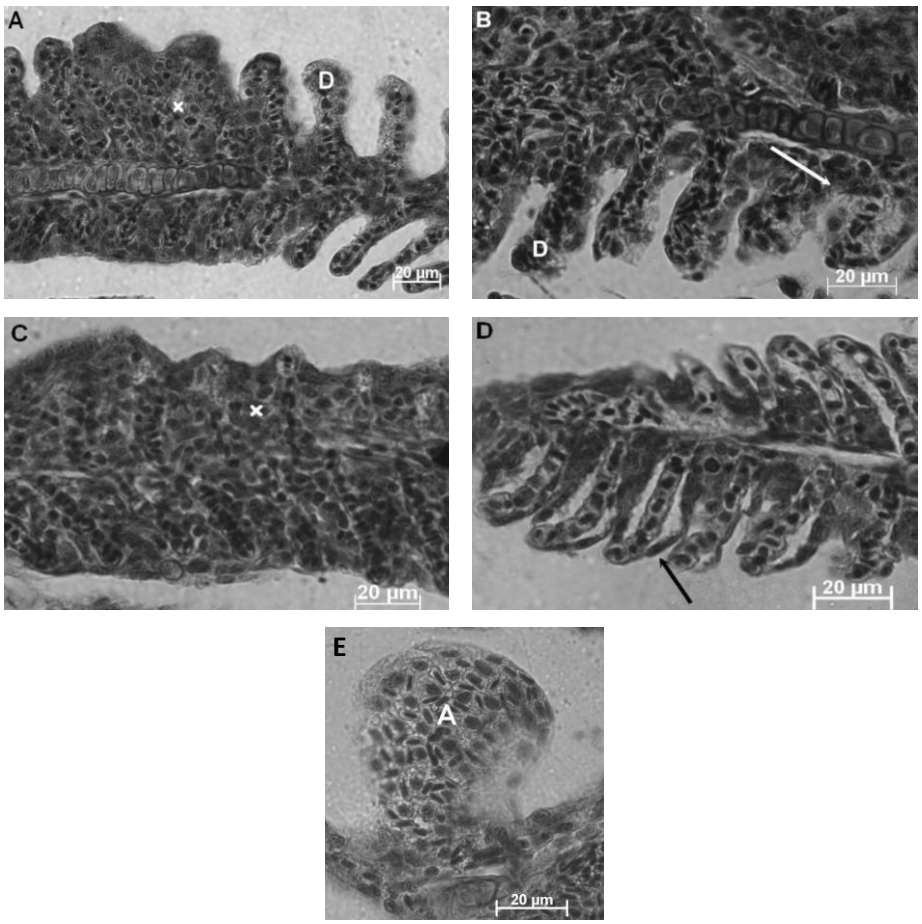


Figura 6. Corte longitudinal ao filamento branquial dos organismos-teste *Danio rerio* expostos às diferentes concentrações do *runoff* contaminado (RC). (A) e (B) RC 6,25%, observar a proliferação de células entre as lamelas secundárias (x), dilatação no ápice das lamelas secundárias (D) e descolamento de epitélio na lamela secundária (→). (C) e (D) RC 50%, observar intensa proliferação de células entre as lamelas secundárias (x) e intenso descolamento de epitélio na lamela secundária (→). Aumento de 63x, respectivamente. (E) RC 100%, aneurisma (A), 100x (HE).

4. Discussão

Nos testes de toxicidade crônica parcial com juvenis de *Danio rerio* não foi verificado nenhum efeito na sobrevivência dos organismos. Porém, no crescimento (principalmente em relação ao peso total), os indivíduos expostos às amostras do RC evidenciaram maior tamanho corpóreo do que os do controle. E na morfologia das brânquias foi verificado alterações em níveis diferenciados, o que demonstra o potencial de toxicidade do agrotóxico Vertimec® 18CE para peixes, mesmo em concentrações subletais.

As concentrações subletais dos contaminantes não estão diretamente envolvidas na letalidade, entretanto, a exposição em longo prazo pode produzir diversos efeitos negativos, como diminuição das taxas de crescimento e reprodução, alterações nos tecidos e aumento na sensibilidade dos peixes a doenças infecciosas as quais, por sua vez, indiretamente podem levar a morte (SIWICKI e STUDNICKA, 1994; LOCK; BALM e WENDELAAR BONGA, 1994; CAMARGO e MARTINEZ, 2007; COSTA et al., 2009).

No presente estudo, o aumento da taxa de crescimento registrada nos indivíduos expostos às amostras contaminadas se deve ao efeito hormese, que segundo Calabrese e Baldwin (2003), a resposta do crescimento em baixos níveis de substâncias tóxicas pode ser maior do que no controle. Ainda segundo os autores, dos diversos produtos químicos avaliados em seus estudos de revisão, os parâmetros biológicos mais predominates foram as respostas do crescimento, seguidos dos efeitos metabólicos, longevidade, reprodução e sobrevivência. Como resultado de suas análises, concluíram que hormese é um fenômeno amplamente observado, ainda que nem sempre seja relatado.

De fato, nos seus estudos desenvolvidos por Campagna et al. (2007), ao avaliarem os efeitos de aldrin e heptacloro na sobrevivência, crescimento e alterações morfológicas de juvenis de *D. rerio*, verificaram que o crescimento dos organismos não estiveram relacionados diretamente com o aumento da concentração. Os autores observaram que em doses intermediárias houve um aumento de peso dos indivíduos quando comparados ao controle.

O efeito hormético também foi observado por Bresch et al. (1990), que ao avaliarem a toxicidade de 4-cloroanilina na reprodução e crescimento de *D. rerio* durante três gerações, observaram um aumento de peso dos indivíduos o qual diminuía em concentração mais elevada.

Com relação às alterações morfológicas das brânquias, os resultados foram indicativos de que houve uma resposta biológica diante da contaminação por Vertimec® 18CE. As alterações foram de primeiro e segundo graus, a partir da primeira concentração das

soluções-teste do RC. Na menor concentração, as alterações encontradas foram hiperplasia (reduzindo os espaços para trocas gasosas), dilatação no ápice e descolamento do epitélio nas lamelas secundárias. Segundo Takashima e Hibiya (1995), a proliferação de células do epitélio respiratório e as microprojeções da superfície epitelial em lamelas primárias e secundárias são os primeiros sinais de exposição a agentes químicos e físicos.

Nas concentrações subseqüentes, a proliferação de células do epitélio branquial foi mais intensa e progressiva, levando a fusão de lamelas secundárias. Essas alterações são mecanismos de defesa, uma vez que as células se proliferam intensamente aumentando a barreira água-sangue, reduzindo, dessa forma, a área superficial branquial em contato com o meio externo e com o contaminante (POLEKSIĆ e MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, 1994; VAN HEERDEN; VOSLOO e NIKINMAA, 2004). No entanto, as lesões mais severas ocorreram nas concentrações do RC de 50 e 100%, verificando-se intenso descolamento do epitélio lamelar (I) e aneurisma (II). Segundo a classificação de Poleksić e Mitrović-Tutundžić (op. cit.), estas alterações podem ser reversíveis caso as condições adversas sejam minimizadas, mas podem continuar progredindo, alcançando um estágio de terceiro grau, como a necrose e fibrose, ambas irreversíveis, provocando a morte do organismo por asfixia em função do comprometimento e da obstrução da área necessária às trocas gasosas. As alterações inflamatórias das brânquias podem refletir uma adaptação fisiológica ao estresse (MALLATT, 1985), entretanto, estes mecanismos, apesar de protegerem as áreas branquiais para assegurar a manutenção das funções osmorregulatórias, podem levar à disfunção ou ainda ao não funcionamento das brânquias, resultando em asfixia (TAMSE; GACUTAN e TAMSE, 1995).

Todas as alterações encontradas no presente estudo têm sido verificadas nas brânquias de várias espécies de peixes expostas a diferentes tipos de agrotóxicos (RICHMONDS e DUTTA, 1989; SARAVANA e GERALDINE, 2000; FANTA et al., 2003; CAMPAGNA et al., 2007; FRACÁCIO et al., 2008), incluindo aqueles agrotóxicos cujo princípio ativo é a abamectina. Jenčič et al. (2006), por exemplo, ao avaliarem as alterações histológicas nos órgãos da truta arco-íris expostas a abamectina, verificaram alterações degenerativas no cérebro e nos rins do organismo-teste na concentração mais elevada (4,5 $\mu g\ L^{-1}$). Os estudos de Athanassopoulou et al. (2002) também demonstraram alterações histológicas no robalo (*Dicentrarchus labrax*) após a administração de ivermectina (alimentação, intubação oral e injeção), em concentrações variando de 0,5 a 3,5 $mg\ kg^{-1}$. Os autores observaram alterações nos tecidos intestinais, renais e branquiais, sendo que nas brânquias as alterações mais comumente encontradas foram edema, necrose do epitélio das células e descolamento das lamelas secundárias.

No presente estudo não foi possível determinar os valores da CEO (Concentração de Efeito Observado) e CENO (Concentração de Efeito Não Observado), uma vez que não houve mortalidade significativa para a realização dos cálculos. Contudo, os valores de sensibilidade encontrados na literatura para abamectina e demais outros compostos da família das avermectinas demonstram o efeito tóxico em concentrações muito baixas, da ordem de ppb. Os resultados da CL_{50},96h de abamectina para as diferentes espécies de peixes são de 3,2; 9,6; 24 e 40 μg L^{-1} para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), "bluegill sunfish" (*Lepomis macrochirus*) "channel catfish" (*Ictalurus punctatus*) e carpa (*Cyprinus carpio*), respectivamente (WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989). Nos estudos realizados por Halley; Nessel e Lu (1989), com ivermectina, observam-se valores de sensibilidade bem próximos aos da abamectina, sendo 3,0 μg L^{-1} para *O. mykiss* e 4,8 μg L^{-1} para *L. macrochirus.*

Por outro lado, nos estudos realizados por Tišler e Eržen (2006), o valor da CL_{50},96h para *Danio rerio* expostos a abamectina foi superior aos demais trabalhos mencionados, sendo de 55,1 μg L^{-1}. No entanto, nos demais estudos desenvolvidos nesta tese (Capítulo 5), o valor da CL_{50} em 48 horas para juvenis de *Danio rerio* foi inferior (33 μg L^{-1}). Tais resultados demonstram a toxicidade das avermectinas para peixes mesmo em baixas concentrações, o que também foi observado para organismos zooplanctônicos (CE_{50},48h para *Daphnia similis* foi 5,1 ng L^{-1}) e bentônicos (CL_{50},96h para *Chironomus xanthus* foi de 2,67 μg L^{-1}), conforme dados apresentados no Capítulo 5.

Estudos sobre bioconcentração também vem sendo desenvolvidos desde a década de 90, como por exemplo os de Van Den Heuvel et al. (1996), que ao avaliarem a bioconcentração e depuração da abamectina em *L. macrochirus* não verificaram a sua bioacumulação nos tecidos pelo fato do seu alto peso molecular interferir na permeabilidade da membrana. No entanto, nos estudos realizados por Jenčič et al. (2006), os resultados da análise residual demonstraram acúmulo de abamectina nos tecidos da truta arco-íris, indicando considerável adsorção/absorção através da pele e brânquias, de forma proporcional as concentrações expostas. Høy; Horsberg e Nafstad (1990) também avaliaram a concentração de ^{3}H-ivermectina no salmão (*Salmo salar*) após administração oral (sonda), verificando que a ivermectina foi absorvida lentamente, acumulando-se nos órgãos com maior teor de lipídeos, com concentração máxima após 4 dias da administração. A eliminação da droga foi muito lenta e a excreção ocorreu principalmente através da bílis. Os autores concluíram que a

ivermectina atravessa facilmente a barreira hematoencefálica dos peixes, sendo, portanto, mais suscetível a efeitos tóxicos em peixes do que para mamíferos.

Diante dos resultados obtidos, é possível considerar que o Vertimec® 18CE representa um risco para os organismos aquáticos, uma vez que concentrações subletais interferiram na morfologia das brânquias de juvenis de *Danio rerio*, com efeitos em níveis diferenciados. Deve-se considerar ainda que os experimentos foram desenvolvidos a partir de uma única aplicação em área de plantio e sob condições controladas (dosagem segundo especificação técnica), o que caracteriza uma situação um pouco diferente do sistema geralmente adotado pelos agricultores, implicando em um fator de risco ainda maior e mais preocupante em relação aos sistemas naturais e à saúde do próprio agricultor.

5. Referências bibliográficas

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 15088. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. 19 p., 2004.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 15499. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaios com peixes. Rio de Janeiro, RJ, 21 p., 2007.

APHA - American Public Health Association Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 Ed. Washington D. C., 1268 p., 1995.

ATHANASSOPOULOU, F. et al. Toxicity and pathological effects of orally and intraperitoneally administered ivermectin on sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Dis Aquat. Org**., 52, p. 69–76, 2002.

BERTONI, J.; LOMBARDI-NETO, F. Fatores que influem na erosão. *In*: BERTONI, J.; LOMBARDI-NETO, F. **Conservação do solo**. 3 ed. São Paulo, Icone, p. 45-67, 1993.

BRESCH, H. et al. A long-term toxicity test comprising reproduction and growth of zebrafish with 4-chloroaniline. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**. 19, p. 419-427, 1990.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Inorganics and Hormesis. **Critical Reviews in Toxicology**, 33, p. 215–304, 2003.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, 5:3, p. 327-336, 2007.

CAMPAGNA, A. F. et al. The toxic potential of aldrin and heptachlor on *Danio rerio* juveniles (Cypriniformes, Cyprinidae). **Ecotoxicology**, 16, p. 289–298, 2007.

CAMPAGNA, A. F. et al. Analyses of the sediment toxicity of Monjolinho river, São Carlos, São Paulo state, Brazil, using survey, growth and gill morphology of two fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). **Braz. arch. biol. technol.,** 51:1, p. 193-201, 2008.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. New York, 363 p., 1989.

CORREIA, F. V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em argissolo vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **R. Bras. Ci. Solo**, 30, p. 183-192, 2006.

COSTA, P. M. et al. Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: A weighted indices approach. **Aquatic Toxicology**, 92, p. 202–212, 2009.

CULLY, D. F. et al. Cloning of an avermectina-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, p. 371, 1994.

DORES, E. F.G; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. L. Contaminação de Ambientes Aquáticos por pesticidas: via de contaminação e dinâmica, dos pesticidas no ambiente aquático. **R. Toxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, 9, p. 1-18, 1999.

EVANS, D. H. The Fish Gill: Site of Action and Model for Toxic Effects of Environmental Pollutants. **Environ. Health Perspec**., 71, p. 47-58, 1987.

EVANS, D. H; PIERMARINI, P. M; CHOE, K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. **Physiology Review**, 85, 97–177, 2005.

FANTA, E. et al. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 54, p. 119–130, 2003.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. The chemistry and pharmacology of avermectinas. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**., 32, p. 537-53, 1992.

FRACÁCIO, R. et al. Avaliação da toxicidade do endosulfan sulfato sobre juvenis de *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**., 3, p. 115-21, 2008.

GRANEY, R. L.; GIESY, J. P.; CLARK, J. R. Field studies. *In*: RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment**. (2nd edition) Taylor & Francis, Bristol, PA. p. 257-305, 1995.

GRAVILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Eng. Life Sci**., 5:6, p. 497-526, 2005.

GULLEY, D. D.; BOELTER, A. M.; BERGMAN, H. L. Toxtat 3.4 Computer Program, 1994.

HALLEY, B. A.; NESSEL, R. J.; LU, A. Y. H. Environmental aspects of ivermectin usage in livestock: general considerations. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York. p. 162-172, 1989.

HØY, T.; HORSBERG, T. E.; NAFSTAD I. The disposition of ivermectin in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Pharmacol. Toxicol**., 67, p. 307–312, 1990.

HUBER, A.; BACH, M.; FREDE, H. G. Modeling pesticide losses with surface runoff in Germany. **The Science of the Total Environment**, 223, p. 177-191, 1998.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. Manual de testes para avaliação da ecotoxicologia de agentes químicos: Avaliação da toxicidade crônica para peixes. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, p. 8, 1987.

JENČIČ, V. et al. Abamectin effects on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Ecotoxicology**, 15, p. 249–257, 2006.

LANÇAS, F. L. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos. Ed. Rima, 46 p., 2004.

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. Toxicology. *In*: CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 89-112, 1989.

LERCH, R.N.; BLANCHARD, P. E. Watershed vulnerability to herbicide transport in northern Missouri and southern Iowa streams. **Environ. Sci. Technol**., 37, p. 5518-5527, 2003.

LOCK, R. A. C.; BALM, P. H. M.; WENDELAAR BONGA, S. E. Adaptation of freshwater fish to toxicants: stress mechanisms induced by branchial malfunctioning. *In*: MULLER, R.; LLOYD, R. (eds). **Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish**. United Nations, Fishing News Books, p.124-134, 1994.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Can. J. Fisheries Aquatic Sci**., 42, p. 630-648, 1985.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. Agrofit, Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em:< http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em 20 de julho de 2009.

MELLIN, T.; BUSCH, R.D.; WANG, C.C. Postsynaptic inhibition of invertebrate neuromuscular transmission by avermectin B_{1a}. **Neuropharmacology**, 22, p. 89–96, 1983.

ŎMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 31, p. 91–98, 2008.

POLEKSIĆ, V.; MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, V. Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. *In*: MULLER, R.; LLOYD, R. (eds). **Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish**. United Nations, Fishing News Books, p. 339-352, 1994.

RICHMONDS, C.; DUTTA, H. M. Histopathological changes induced by malathion in the gills of bluegill *Lepomis macrochirus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**., 43, p. 123-130, 1989.

SARAVANA, P. B.; GERALDINE, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. **Aquatic Toxicology**, 50, p. 331–339, 2000

SIWICKI, A. K.; STUDNICKA, M. Stimulation of nonspecific immunity after immnosuppression induced by chemical stree carp (*Cyprinus carpio*). *In*: MULLER, R.; LLOYD, R. (eds). **Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish**. United Nations, Fishing News Books, p. 148-152, 1994.

STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com, 2004.

STIPP, R. A.; TROMBETTA, L. D. Anti-oxidant enzyme activity as biomarkers of acid stress in nautral aquatic system. *In*: MULLER, R.; LLOYD, R. **Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish**. United Nations, Fishing News Books, p. 249-261, 1994.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. Kodansha Ltd., Tokyo, Japan. 194 p., 1995.

TAMSE, C.T; GACUTAN, R.G; TAMSE, A.F. Changes induced in the gills of Milkfish (*Chanos chanos*, Forsskal) fingerlings after acute exposure to Nifurprinol (Furanace; P-7138). **Bull. Environ. Contam. Toxicol**., 54, p. 591–596, 1995.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J.G.; KUTNER, M.B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standing stock and some ecological factors. **Bol. Inst.Oceanogr**., 24, p. 23-41, 1965.

TIŠLER, T.; ERŽEN, N. K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**, 15, p. 495-502, 2006.

TOLOSA, E. M. C. et al. **Manual de técnicas histológicas normal e patológica**. 2ª ed. Ed. Manole. São Paulo. 331 p., 2003.

TURNER, M. J.; SCHAEFFER, J. M. Mode of action of ivermectin. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. New York, p. 73-88, 1989.

VAN DEN HEUVEL, W.J. A. et al. Bioconcentration and depuration of avermectin b1a in the bluegill sunfish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 15:12, p. 2263–2266, 1996.

VAN HEERDEN D., VOSLOO A., NIKINMAA M. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquat. Toxicol**., 69, p. 271-280, 2004.

WAXMAN, M. F. **Agrochemical and pesticide safety handbook**. Lewis Publishers. Boca Raton, New York. 616 p., 1998.

WISLOCKI, P. G; GROSSO, L. S; DYBAS, R. A. Environmental aspects of abamectin use in crop protection. *In*: CAMPBELL W.C. **Ivermectin and abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 182–200, 1989.

WONG, C.K.; WONG, M.H. Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (Oreochromis mossambicus) to ambient cadmium exposure. **Aquatic Toxicol**., 48, p. 517-527, 2000.

Capítulo 3

Estudos de campo e laboratório para avaliar o efeito dos resíduos de Vertimec® 18CE em *Daphnia similis*

Resumo

A utilização de teste *in situ* tem sido sugerida como uma alternativa ou complementação na avaliação de risco, pois possibilita que outros fatores sejam avaliados de forma conjunta, os quais, nos experimentos laboratoriais, não poderiam ocorrer devido às situações controladas. Neste sentido, este experimento foi delineado para avaliar as interações do agrotóxico Vertimec® 18CE nos ecossistemas aquáticos. Para tanto, foram contaminadas parcelas de solos com Vertimec® 18CE na concentração indicada para a cultura de morango (0,125 litros de calda m^{-2}). Após a contaminação, foi simulada uma chuva torrencial, coletando-se a água escoada superficialmente pelo solo, a qual foi transferida para mesocosmos experimentais em cinco tratamentos, em triplicatas: 1) controle dos mesocosmos - C; 2) *runoff* da parcela de solo não contaminada - RNC; 3) *runoff* da parcela de solo contaminada com Vertimec® 18CE - RC; 4) aplicação direta do Vertimec® 18CE na água - V e 5) amostras coletadas aleatoriamente para verificar se houve contaminação entre os mesocosmos - A. Amostras de água desse tanques foram coletadas para a realização de testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis* e para avaliação das características limnológicas, em cinco períodos de coletas, por 10 dias (240 horas). Foram verificadas diferenças físicas e químicas na água, principalmente relacionadas com o aumento da turbidez, material em suspensão e nutrientes (formas nitrogenadas e fosfatadas), sendo registrada toxicidade aguda em todo o período amostral somente para o tratamento com aplicação direta do agrotóxico, e em alguns períodos no tratamento RC (de 48h até 168h). Os resultados obtidos sugerem que não ocorreu a total degradação do agrotóxico durante o período de estudo (10 dias) no tratamento com aplicação direta, demonstrando que a presença de outras substâncias na formulação comercial esteja contribuindo para a manutenção da toxicidade, o que representa um risco potencial para os ecossistemas aquáticos em áreas adjacentes às aplicações.

Palavras-chave: ecotoxicologia aquática, mesocosmos, *runoff*, Vertimec® 18CE e agrotóxicos.

1. Introdução

Os agrotóxicos têm por objetivo o aumento da produtividade no setor agrícola por meio do controle de pragas, no entanto, a utilização indiscriminada e abusiva tem se tornado cada vez mais preocupante. Um dos maiores problemas relacionados com a aplicação de agrotóxico consiste no fato de que a maior parte acaba não atingindo os organismos-alvo,

sendo carreada pelas águas das chuvas, percolando ou volatilizando, o que representa uma ameaça aos ecossistemas como um todo, principalmente os aquáticos. De forma adicional, tem-se verificado que os efeitos não se restringem apenas à espécie-alvo, uma vez que outras espécies também estão expostas ao agrotóxico, implicando em efeitos diretos e indiretos severos à toda a comunidade.

A contaminação por agrotóxico nos diferentes compartimentos, terrestre e aquático, tem sido reportada na literatura (FILIZOLA et al., 2002; VEIGA et al., 2006 e SCHÄFER et al., 2007), demonstrando que o escorrimento superficial é um dos principais meios de contaminação das águas superficiais (LERCH e BLANCHARD, 2003). No entanto, a concentração que acaba chegando aos ecossistemas aquáticos varia em função de vários fatores, como a declividade do terreno, cobertura, umidade, práticas agrícolas, precipitação, características químicas do solo e do produto, mas, principalmente, da forma de aplicação. A forma mais comum é a pulverização, e um dos maiores problemas é que a maior parte do ingrediente ativo é desperdiçada, estimando-se que 90 % não atingem os organismos-alvo (PIMENTEL, 1991; CHAIN, 1995; BETTIOL e GHINI, 2003). De acordo com Plimmer (1992), a probabilidade de perda por *runoff* é menor que 5%, por percolação chega a ser menor que 1%, enquanto por volatilização fica em torno de 40 a 80%. Independente das concentrações que chegam a determinados ecossistemas, é possível que se produzam efeitos negativos em espécies, comunidades ou no ecossistema, dado que o uso destes compostos pela agricultura expõe organismos, recursos naturais e seres humanos.

No Brasil, o registro do agrotóxico é baseado nas características agronômicas, toxicológicas e ecotoxicológicas de cada substância/produto (PERES; MOREIRA e DUBOIS, 2003). No entanto, para os estudos ecotoxicológicos, em geral, são previstos os testes apenas com o ingrediente ativo. Na formulação comercial é reconhecido que outros ingredientes, como surfactantes, são adicionados ao ingrediente ativo para aumentar a eficácia do agrotóxico, o que pode aumentar a toxicidade em organismos não-alvo (LEWIS, 1999; COX e SURGAN, 2006; PEREIRA et al., 2009). Assim, testes de toxicidade com o produto comercial são importantes, uma vez que podem fornecer informações mais realísticas dos efeitos gerais decorrentes da aplicação dos agrotóxicos.

De forma adicional à avaliação ecotoxicológica do agrotóxico em laboratório, os experimentos conduzidos em campo têm sido sugeridos como uma alternativa ou complementação na avaliação de risco, pois estes estudos oferecem dados ecologicamente relevantes, possibilitando que outros fatores sejam avaliados de forma conjunta, os quais, nos

experimentos laboratoriais, não poderiam ocorrer em função das situações controladas (BOYLE e FAIRCHILD, 1997; CAQUET; LAGADIC e STEVEN, 2000).

O agrotóxico Vertimec® 18CE, cujo princípio ativo é a abamectina, é utilizado como acaricida, inseticida e nematicida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais (FISHER & MROZIK, 1992). É uma mistura que contém 80% ou mais da avermectina B_{1a} e 20% ou menos de avermectina B_{1b} (WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989). A classificação toxicológica do Vertimec® 18CE é III, medianamente tóxica, no entanto, a classificação do potencial de periculosidade ambiental é II, sendo considerado muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes. Em função de sua ampla e intensa utilização, com uso recomendado em 24 culturas, combatendo 17 diferentes pragas (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), o emprego de Vertimec® 18CE na agricultura pode resultar em impactos ambientais e riscos a saúde humana.

Diante desse contexto, procurou-se testar a hipótese de que o escorrimento superficial de culturas agrícolas tratadas com o agrotóxico Vertimec® 18CE ocasiona toxicidade aos organismos aquáticos. Além disso, os experimentos realizados *in situ*, associados com os de laboratório, utilizando a fórmula comercial do agrotóxico, podem gerar informações mais realísticas e, dessa forma, fomentar discussões junto às agências governamentais na tomada de decisões das práticas agrícolas e áreas afins.

2. Materiais e métodos

2.1. Delineamento experimental

No Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), localizado no município de Itirapina, São Paulo, Brasil (22°01'22"S, 43°57'38"W), foram delimitadas duas parcelas de solo de 8 m^2, com a declividade de 6%. Previamente ao experimento, essas parcelas foram capinadas e aradas (Figura 1, A a D, em apêndice B). O solo da parcela era predominantemente arenoso, sendo a maior porção composta por areia fina (54%) e 13,45% de matéria orgânica.

Uma das parcelas foi contaminada com o agrotóxico Vertimec® 18CE (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, Brasil), cujo princípio ativo é a abamectina. A formulação comercial representa o concentrado emulsionável a 18 g L^{-1} do ingrediente ativo. A aplicação foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal, seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante para culturas de morango (de 0,75 mL L^{-1}, com volume aplicado de 0,125 L m^{-2}). A outra parcela não foi contaminada e serviu como controle, sendo

borrifada apenas com água. No momento da aplicação do agrotóxico, a parcela controle ficou coberta com uma manta plástica para evitar qualquer possível contaminação (Figura 2, A a D, em apêndice B). Em seguida, simulou-se uma chuva de 19 mm, a montante do terreno, baseando-se na série histórica do mês de fevereiro de 2005 a 2007, obtida junto a Estação Climatológica do CRHEA/EESC/USP (Figura 3, A e B, em apêndice B). Este experimento foi conduzido no verão, em dezembro de 2008, onde as temperaturas de países tropicais, como o Brasil, são elevadas. No momento da aplicação não havia vento e a temperatura do ar era de 20°C.

As amostras foram coletadas a jusante da área de drenagem, na qual ocorreu o *runoff*, através de uma manta plástica colocada dentro de uma depressão do terreno, cavada anteriormente (Figura 3, C e D, em apêndice B). Posteriormente, parte da água escoada superficialmente pelo solo (*runoff*) foi levada ao laboratório para a caracterização física e química, e realização de testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis*. A outra parte foi transferida para os mesocosmos, representados por 12 tanques cilíndricos de polietileno de alta densidade (PEAD), com cerca de 60 cm de diâmetro e 90 cm de comprimento (aproximadamente 200 L), abertos na superfície e no fundo, os quais foram lavados previamente com ácido nítrico 5%, acetona e água destilada.

Com o intuito de manter as condições ambientais próximas às observadas em campo, os mesocosmos foram colocados dentro de um tanque de concreto de 10,24 m^2 por 1,14 m de profundidade, construído às margens da represa do Lobo, também nas dependências do CRHEA (Figura 1). Dentro desse tanque de concreto já existia água, sedimento (uma camada de cerca de 8 cm) e uma comunidade biológica estabelecida. Os mesocosmos foram inseridos no tanque de concreto e preenchidos com a água local, mantendo-se em contato direto com o sedimento. Pesos de concreto (de aproximadamente 12 kg cada um) foram presos na superfície dos mesocosmos, evitando-se assim a flutuação dos mesmos e a passagem de água, sedimento e organismos entre os mesocosmos (Figura 4, A e B, em apêndice B). Após a montagem do experimento, os mesocosmos ficaram em repouso por dois dias, promovendo a sedimentação do material particulado e uma maior estabilização de cada unidade experimental. Posteriormente deu-se início a adição da água do *runoff* (contaminado e não contaminado) e da adição direta do Vertimec® 18CE nos mesocosmos, em uma única contaminação.

O experimento foi realizado em cinco tratamentos, todos em triplicatas, sendo delimitados em: 1) mesocosmo controle - **C**, nenhum contaminante foi adicionado, permanecendo na condição já encontrada no tanque de concreto; 2) mesocosmo com o *runoff*

não contaminado - **RNC**, este tratamento recebeu água de escorrimento do solo não contaminado, para tanto, foi retirado 20 L de água do mesocosmo e substituído pela água do *runoff*; resultando em 10% de *runoff* não contaminado em relação ao volume total (200 L); 3) mesocosmo com o *runoff* contaminado - **RC**, este tratamento recebeu água de escorrimento do solo contaminado com o Vertimec® 18CE, para tanto, foi retirado 20 L de água do mesocosmo e substituído pela água do *runoff*; resultando em 10% de *runoff* contaminado em relação ao volume total (200 L); 4) mesocosmo com o Vertimec® 18CE - **V**, neste tratamento foi adicionado o agrotóxico puro diretamente na água, correspondendo a 0,4 mL de Vertimec® 18CE/200L e 5) amostras coletadas ao lado externo dos tanques, aleatoriamente, para verificar se houve contaminação entre os mesmos - **A**. Nos tratamentos contaminados com o agrotóxico (RC e V) os valores correspondem a uma concentração nominal estimada de 4 $\mu g\ L^{-1}$ e 40 $\mu g\ L^{-1}$ de abamectina, respectivamente. Este último tratamento baseou-se no valor determinado em cromatografia do *runoff* puro de um experimento realizado anteriormente. Sendo assim, representa cerca de 100% da concentração de Vertimec® 18CE escoada superficialmente (Figura 5, A a C, em apêndice B). Para a realização desse trabalho, a concentração utilizada no experimento foi baseada naquela aplicada na cultura de morango. Essa escolha foi em função do histórico na utilização desse agrotóxico associado ao seu uso indiscriminado. De acordo com os estudos realizados por Nunes et al. (2009), os produtores rurais fazem o uso desse agrotóxico ultrapassando a recomendação da aplicação do produto por ciclo, estabelecido em duas vezes.

Após a montagem do experimento *in situ*, deu-se início a coleta de amostras de água para análises ecotoxicológicas e a determinação de algumas variáveis físicas e químicas. O experimento teve duração de 10 dias (240 horas), com a periodicidade de coleta estabelecida no tempo 0 (antes da contaminação) e após 3, 48, 96, 168 e 240 horas da contaminação. Os testes de toxicidade com *D. similis* foram realizados a partir da contaminação (3 horas).

Durante todo o período de estudo, os mesocosmos ficaram cobertos com lona plástica transparente no período noturno ou em dias de chuva, evitando-se, desta forma, os efeitos da precipitação, principalmente em relação à diluição.

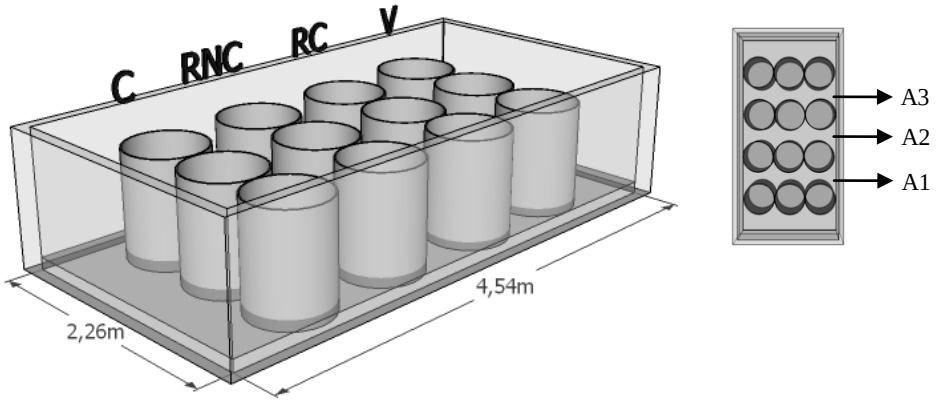


Figura 1. Esquema da disposição dos tanques no experimento em mesocosmos. C: controle; RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado; V: Vertimec® 18CE. A figura em menor escala ilustra os pontos aleatórios (A) das coletas de amostras de água.

2.2. Variáveis físicas e químicas da água

A temperatura, pH, condutividade e a concentração de oxigênio dissolvido foram medidas nos mesocosmos usando um medidor portátil (marca Horiba, modelo U-10). A turbidez foi analisada em espectrofotômetro (Hach, DR/2000) (APHA, 1995) e material em suspensão por gravimetria em filtros de fibra de vidro (GF/C - 47 mm) (TEIXEIRA; TUNDISI e KUTNER, 1965). Os nutrientes (nitrogênio orgânico total e fósforo total) foram analisados por espectrofotometria (APHA, 1995).

Foi quantificada, apenas para fins de confirmação, a concentração de abamectina somente na amostra do *runoff* puro, sendo a determinação realizada por meio de cromatografia líquida (modelo SCL -10A, marca Shimadzu), com detector SPD-10A UV e a confirmação por GC-MS (modelo QP2010, marca Shimadzu) (LANÇAS, 2004). Não foi possível a determinação da concentração final de abamectina em cada mesocosmo, baseando-se, portanto, apenas na concentração nominal inicial. Essa determinação foi considerada desnecessária pelo fato de que outros compostos fazem parte da formulação comercial com igual ou maior toxicidade e também não seriam determinados em função de sua não especificação pelo fabricante.

2.3. Testes de toxicidade

Para a realização dos testes de toxicidade, as amostras de água provenientes do experimento do *runoff* foram diluídas em cinco concentrações seriadas (3,125%; 6,25%; 12,5%; 25% e 50%), enquanto que os testes com as amostras dos mesocosmos foram realizados sem diluição. Os procedimentos para a realização dos testes com *Daphnia similis*,

bem como do preparo da água de cultivo, seguiram as normas da ABNT (2004). Para avaliar as condições fisiológicas dos organismos, os mesmos foram submetidos a testes de sensibilidade ao cloreto de potássio por 24h, determinando-se a CE_{50} (ABNT, 2004).

Nos testes de toxicidade aguda para *D. similis* foram utilizados 5 organismos em 4 réplicas, expostos em copos plásticos atóxicos contendo 10 mL da solução-teste. A duração do teste foi de 48 horas, efetuando-se após esse período a contagem de organismos vivos.

As medidas de pH (potenciômetro B374), oxigênio dissolvido (medidor de OD YSI) e condutividade (condutivímetro 145A) da água foram realizadas no início e final dos testes de toxicidade com zooplâncton.

2.4. Análise dos dados

Os resultados dos testes de toxicidade aguda foram avaliados através do método estatístico Trimmed Spearman-Karber e expressos em CE_{50},48h (HAMILTON; RUSSO e THURSTON, 1977). O teste de Fisher foi utilizado para a verificação da diferença significativa da sobrevivência dos organismos-teste, comparando-se o controle laboratorial com os demais tratamentos. Os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa computacional Toxstat 3.3 (GULLEY; BOELTER e BERGMAN, 1994).

Para avaliar a variação espacial e temporal dos parâmetros limnológicos dos mesocosmos, os resultados foram analisados utilizando-se uma Análise de Componentes Principais (ACP). Quando necessário, a fim de verificar a diferença significativa das variáveis limnológicas entre os tratamentos, foi aplicado o teste de Mann-Whitney, com os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos resíduos previamente testados. As análises foram realizadas com auxílio do software Statistica versão 7 (STATSOFT, INC., 2004).

3. Resultados e discussão

3.1. Variáveis físicas e químicas da água

Com relação ao pH, houve pequenas variações quando comparados o início e o final do experimento entre os diferentes tratamentos, com a média mínima registrada de 6,82 no início do experimento, no tratamento A, e a máxima de 7,41 no final do experimento (tratamento V). Para a condutividade verificou-se aumento com o decorrer do experimento, com valores médios variando entre 73 $\mu S\ cm^{-1}$ (início) e 111 $\mu S\ cm^{-1}$ (final), nos tratamentos C e A, respectivamente (Tabela 1).

A concentração de oxigênio dissolvido (Tabela 1) decresceu no decorrer do experimento, sendo a média mínima registrada em 96 horas, no tratamento RNC (2,7 mg L^{-1}), muito provavelmente em função da turbidez (Tabela 1) encontrada no sistema, a qual foi elevada após a introdução do *runoff* (3h), com valores de 243,33 NTU (RNC) e 307,33 NTU (RC). No decorrer do período experimental, o sistema foi estabilizando, de forma que ao final do experimento, os respectivos tratamentos estavam com 27,67 NTU e 12,33 NTU. Diversos estudos têm demonstrado que o aumento da turbidez reduz a penetração de luz, diminuindo a produção primária e, conseqüentemente, o oxigênio dissolvido (LLOYD; KOENINGS e LAPERRIERE, 1987; SUREN; MARTIN e SMITH, 2005; BILOTTA e BRAZIER, 2008).

Em paralelo a análise de turbidez, os resultados de material em suspensão (Tabela 2) também evidenciaram uma alta concentração de particulados após a introdução do *runoff*, sendo a sua maior porção constituída de material em suspensão inorgânico (MSI), cerca de 80% (81,44 mg L^{-1}). Assim como ocorreu com os valores de turbidez, os de material em suspensão também diminuíram no decorrer do período, registrando-se ao final do experimento cerca de 40% de material inorgânico (4,65 mg L^{-1}) para o mesmo tratamento (RNC). Como o objetivo deste experimento era o de simular cenários mais próximos de situações reais, essa elevada turbidez representa, entre outros aspectos, as condições naturais de escoamento superficial durante um evento de chuva num córrego adjacente às culturas agrícolas. Nesse sentido, Bakri; Rahman e Bowling (2008) também registraram valores elevados de material em suspensão total em corpos d'água próximos de áreas rurais, com valores máximos de 110 mg L^{-1} e 387 mg L^{-1} na estação chuvosa. Gomes et al. (2009) também encontraram valores elevados de MST no rio Madeira (Rondônia, Brasil) na época da cheia, com valores mínimo e máximo de 326 e 996 mg L^{-1}, respectivamente.

Tabela 1. Valores médios (±DP) das variáveis físicas e químicas da água obtidos nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			pH			
C	7,82 (±0,09)	8,47 (±0,02)	7,20 (±0,70)	6,79 (±0,39)	6,67 (±0,03)	6,74 (±0,04)
RNC	7,67 (±0,2)	7,90 (±0,38)	6,67 (±0,16)	6,55 (±0,17)	6,54 (0,11)	6,45 (±0,08)
RC	7,17 (±0,12)	7,73 (±0,03)	6,91(±0,27)	6,77 (±0,27)	5,78 (±0,10)	6,60 (±0,09)
V	7,00 (±0,05)	8,34 (±0,06)	7,94 (±0,28)	7,88 (±0,37)	6,43 (±0,42)	7,41 (±0,27)
A	6,82 (± 0,69)	8,33 (±0,1)	7,44 (±0,16)	7,15 (±0,18)	6,14 (±0,60)	6,63 (±0,05)
			Condutividade (µS cm^{-1})			
C	73,00 (±2,03)	74,83 (±2,02)	77,00 (±4,36)	80,67 (±5,51)	83,00 (±4,00)	86,33 (±3,06)
RNC	73,33 (±2,33)	61,50 (±3,91)	68,67 (±3,51)	76,67 (±4,93)	83,33 (±6,43)	88,50 (±9,37)
RC	73,78 (±2,41)	60,83 (±2,47)	69,00 (±2,65)	75,00 (±3,61)	82,00 (±3,46)	87,33 (±4,25)
V	75,67 (±0,58)	76,67 (±1,44)	77,00 (±1,00)	79,67 (±2,89)	82,00 (±1,73)	85,83 (±2,47)
A	83,22 (±0,69)	83,17 (±0,29)	88,83 (±0,29)	94,67 (±0,58)	104,33 (±0,58)	111,00 (0)
			Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})			
C	8,87 (±2,30)	10,46 (±1,39)	5,74 (±1,26)	4,77 (±1,80)	3,48 (±0,88)	6,53 (±0,69)
RNC	9,07 (±0,25)	10,15 (±0,32)	5,28 (±0,82)	2,70(±1,01)	2,38 (±1,43)	4,15 (±2,58)
RC	10,56 (±0,21)	10,03 (±0,65)	5,13 (±0,49)	3,30 (±0,60)	2,79 (±0,19)	4,86 (±0,24)
V	10,09 (±0,77)	11,66 (±0,63)	7,62 (±1,54)	6,10 (±0,38)	5,43 (±0,21)	8,28 (±0,33)
A	7,99 (±0,63)	10,26 (±1,46)	6,80 (±1,04)	5,05 (±0,24)	3,58 (±0,32)	6,42 (±0,05)
			Turbidez (NTU)			
C	13,00 (±1,00)	15,00 (±2,65)	13,00 (±1,73)	18,00 (±3,61)	10,67 (±3,06)	9,33 (±1,15)
RNC	13,00 (±1,73)	243,33(±69,64)	200,0 (±121,02)	93,0 (±76,21)	51,67 (±55,43)	27,67(±32,33)
RC	13,33 (±1,53)	307,33 (±34,0)	194,67 (±2,08)	94,33 (2,08)	32,67 (±6,11)	12,33 (±2,52)
V	14,33 (±1,53)	13,00 (±1,73)	14,33 (± 1,53)	17,67 (±2,08)	6,33 (±2,25)	8,33 (±0,58)
A	16,00 (±1,73)	14,67 (±2,08)	16,67 (±0,58)	16,00 (±2,00)	10,67 (±1,15)	11,67 (±0,58)
			Temperatura (^{0}C)			
C	25,40 (±0,15)	28,00 (±0,18)	23,63 (±0,06)	25,15 (±0,22)	26,6 (±0,10)	22,75 (±0,10)
RNC	25,61 (±0,23)	27,60 (±0,13)	23,63 (±0,06)	25,03 (±0,08)	26,57 (±0,06)	22,75 (±0,13)
RC	25,68 (±0,27)	27,47 (±0,12)	23,70 (0)	25,03 (±0,06)	26,50 (±0,10)	22,78 (±0,12)
V	25,49 (±0,08)	27,62 (±0,30)	23,75 (±0,05)	25,02 (±0,13)	26,42 (±0,08)	22,85 (±0,05)
A	25,50 (±0,10)	27,57 (±0,08)	23,72 (±0,03)	25,15 (±0,18)	26,50 (0)	22,80 (±0,05)

A avaliação física e química do *runoff* sem diluição também foi realizada por Rochester; Hill e Yoo (1994). Os autores simularam o *runoff* em parcelas de solo cultivadas com algodão, no Alabama (USA), e os valores de MST para a mesma intensidade de precipitação (19 mm) variaram de 0,6 a 1,3 g L^{-1}, em um terreno com declividade de 0,2%. Os valores encontrados neste estudo foram em média 4 vezes superiores aos registrados pelos autores acima citados (cerca de 4 g L^{-1}), o que pode ter ocorrido em função da ausência de cobertura do solo associado com uma maior declividade.

Tabela 2. Valores médios (±DP) de material em suspensão inorgânico e orgânico das amostras de água coletadas dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			Material em suspensão inorgânico (mg L^{-1})			
C	1,44 (±0,30)	1,25 (±0,86)	3,70 (±0,75)	2,03 (±1,16)	1,33 (±1,07)	0,55 (0)
RNC	1,56 (±0,74)	81,44 (±54,47)	43,02 (±21,76)	19,87 (±14,71)	7,11 (±7,03)	4,65 (±6,11)
RC	1,34 (±0,82)	79,55 (±8,38)	49,61 (±6,00)	19,88 (±2,95)	5,95 (±1,97)	2,40 (±1,44)
V	0,82 (±0,56)	1,21 (±0,73)	2,94 (±1,27)	1,10 (±0,86)	1,72 (0)	1,5 (0)
A	1,15 (±0,11)	2,46 (±0,55)	3,05 (±0,08)	2,43 (±0,75)	2,28 (±0,34)	2,10 (±0,52)
			Material em suspensão orgânico (mg L^{-1})			
C	7,74 (±0,72)	8,88 (±0,89)	7,65 (±1,20)	7,10 (±3,73)	6,92 (±4,63)	8,00 (±0,01)
RNC	8,00 (±0,80)	19,87 (±11,67)	15,09 (±6,81)	14,37 (±9,69)	6,61 (±2,26)	6,81 (±1,75)
RC	7,48 (±0,82)	24,31 (±1,72)	28,07 (±8,80)	12,55 (±6,08)	6,90 (±2,04)	7,15 (±3,61)
V	7,28 (±0,82)	9,25 (±1,83)	8,50 (±1,18)	4,56 (±0,95)	3,35 (0)	4,42 (0)
A	7,67 (±0,10)	9,04 (±0,54)	7,85 (±0,37)	5,65 (±0,94)	7,20 (±0,35)	6,54 (±0,09)

Com relação aos nutrientes (Tabela 3), não se verificou aumento na concentração de nitrogênio orgânico total (NOT) após a introdução do *runoff* (3h). No entanto, quando se compara os demais tratamentos com o Controle (C), verificam-se diferenças significativas em RNC e RC ($p < 0,05$). Para fósforo total (PT) verificou-se aumento da concentração após a introdução do *runoff* no sistema. Em RNC ocorreu um aumento de 3,5 vezes em relação a 0h e para RC o aumento foi de 6 vezes. Deste modo, em todos os tratamentos foram observadas diferenças significativas em relação ao C ($p < 0,05$).

Tabela 3. Valores médios (±DP) dos nutrientes, nitrogênio orgânico total e fósforo total em amostras de água coletadas dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			Nitrogênio orgânico total (mg L^{-1})			
C	0,88 (±0,67)	0,23 (±0,03)	0,53 (±0,17)	0,52 (±0,19)	1,00 (±0,08)	0,54 (±0,35)
RNC	1,08 (± 0,26)	0,30 (±0,03)	0,53 (±0,17)	0,76 (±0,19)	1,12 (±0,08)	0,86 (±0,35)
RC	1,71 (±0,43)	0,30 (±0,12)	0,90 (±0,05)	1,12 (±0,29)	1,00 (±0,34)	0,99 (±0,40)
V	1,45 (±0,28)	0,20 (±0,07)	0,59 (±0,07)	0,53 (±0,38)	0,96 (±0,17)	0,57 (±0,44)
A	2,10 (±0,25)	0,28 (±0,07)	0,64 (±0,02)	1,07 (±0,20)	0,76 (±0,14)	0,76 (±0,07)
			Fósforo total (µg L^{-1})			
C	49,26 (±3,99)	68,23 (±11,25)	66,11 (±5,00)	57,50 (±1,71)	93,53 (±20,99)	70,31 (±17,81)
RNC	35,13 (±6,32)	124,74 (±130,7)	309,34 (±149,5)	119,13 (±63,28)	137,25 (±58,58)	104,74 (±67,65)
RC	43,49 (±8,47)	270,33 (±36,85)	349,41 (±39,91)	161,32 (±28,60)	116,00 (±23,18)	102,26 (±51,59)
V	42,78 (±10,93)	167,37 (±50,40)	187,64 (±13,47)	71,36 (±4,12)	118,69 (±12,91)	101,74 (±7,70)
A	44,21 (±1,97)	75,03 (±18,93)	203,63 (±27,11)	94,19 (±9,73)	139,27 (±8,81)	183,24 (±15,23)

Os resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) indicaram que o primeiro eixo (fator 1) explicou 44,97% da variabilidade dos dados limnológicos considerados, e o segundo eixo (fator 2) explicou 24,61%, totalizando 69,58% de explicação dos dados (Figura 2). Essa análise evidenciou a formação de gradientes espacial e temporal das variáveis limnológicas consideradas, sendo possível observar a distinção entre as fases do experimento. O grupo I representa o início (antes do *runoff*) e a fase final (com o sistema mais estabilizado) e o grupo II caracteriza o período mais crítico do experimento, após a introdução do *runoff* (3 h) até as 96h (Figura 2A). As variáveis limnológicas relacionadas com a formação desses dois grupos foram turbidez, MSI, MSO e PT, os quais foram elevados após a introdução do *runoff* (Figura 2B). Os resultados da ACP podem ser observados na Tabela 2, em apêndice A.

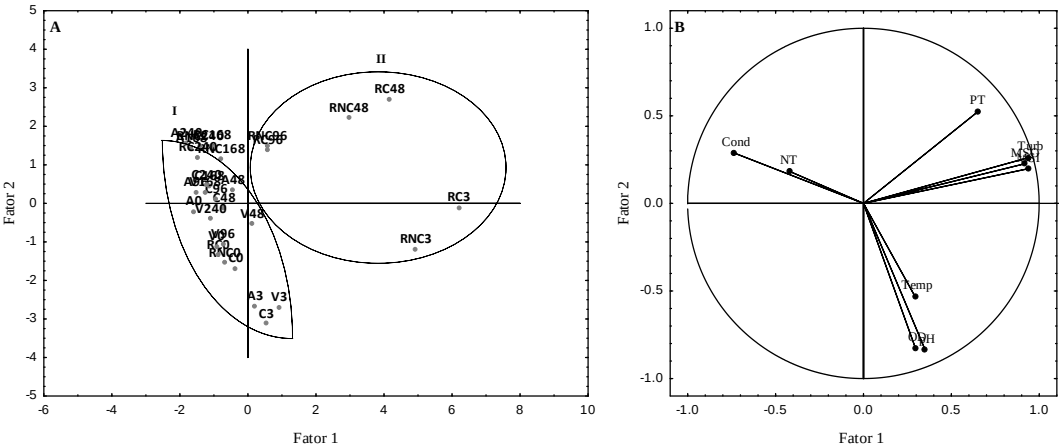


Figura 2. Dispersão dos escores dos tratamentos ao longo do período de amostragem, ambos representados nos dois primeiros eixos (em A) e dispersão dos escores das variáveis limnológicas consideradas (em B), sendo PT: fósforo total, NT: nitrogênio orgânico total, MSI: material em suspensão inorgânico, MSO: material em suspensão orgânico, Cond.: condutividade, OD: oxigênio dissolvido, Temp.: temperatura e Turb.: turbidez.

3.2. Teste de toxicidade

As premissas para a utilização dos organismos-teste nos ensaios ecotoxicológicos foram atendidas. O resultado da CL_{50},24h para *D. similis* ao cloreto de potássio foi de 505,9 mg L^{-1} durante o período, demonstrando estar dentro da faixa da carta controle, estabelecida entre 373 e 638 mg L^{-1}. A carta controle (2009) pode ser observada na Figura 2, em apêndice C.

No teste agudo com *Daphnia simili*s, expostas diretamente às amostras do *runoff*, não foi observado efeito tóxico ao organismo-teste em nenhuma das concentrações da parcela controle (RNC), mesmo na amostra de 100%. Comparando-se o controle do laboratório com

as amostras da parcela contaminada (RC), verificam-se diferenças significativas a partir da concentração de 6,25%, sendo o valor de CE_{50},48h de 9,78%. Esse valor representaria uma concentração nominal de abamectina de 3,91 µg L^{-1} (Figura 3), corroborando com a faixa registrada no capítulo 1 (1,76 a 5,54 µg L^{-1}). Na Tabela 8, apêndice C, pode ser observado uma comparação dos resultados dos testes com as amostras contaminadas e não contaminadas.

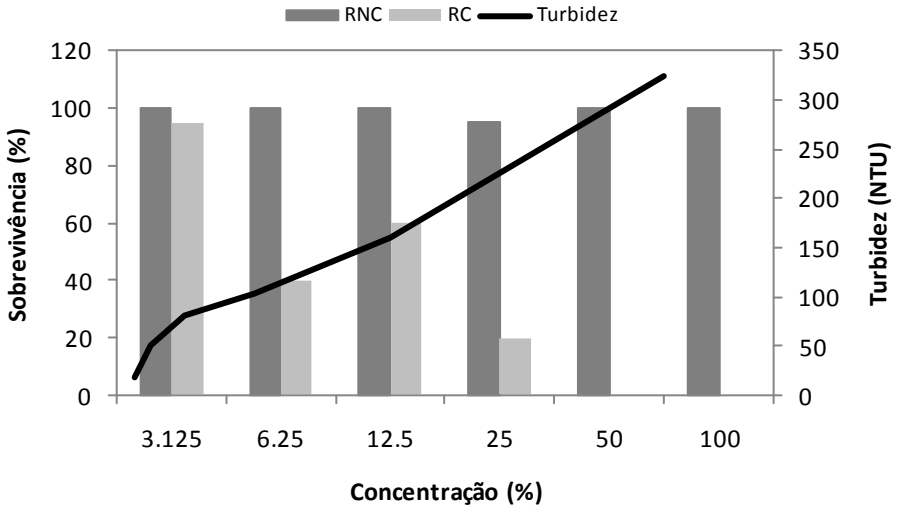


Figura 3. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras de água do *runoff* contaminado (RC) e não contaminado (RNC), e a sua relação com a média da turbidez das duas parcelas (nível de significância de 5% no teste de Fisher).

Com relação aos testes de toxicidade aguda com *D. similis*, expostas às amostras do mesocosmos, os resultados revelaram toxicidade para o tratamento RC, em todas as réplicas, apenas no período de 48h. No quarto e sétimo dias de coletas (96 e 168h) a toxicidade ocorreu em apenas uma das réplicas e para os demais períodos não se verificou mais toxicidade, evidenciando a degradação do produto ao longo do tempo ou sua adsorção ao particulado e posterior sedimentação (efeito físico). O mesmo não aconteceu para o tratamento V, verificando-se toxicidade em todos os períodos de coleta, demonstrando que o período de 10 dias (240h) não foi suficiente para degradar o produto (Tabela 4), ou mesmo outros compostos presentes na formulação comercial se fizeram mais tóxicos. Os resultados dos testes de toxicidade com *Daphnia similis* também podem ser observados nas Tabelas 9 a 13, em apêndice C.

Os resultados obtidos indicam redução da elevada turbidez provocada pela introdução do *runoff*, ocorrendo uma tendência a estabilização no decorrer do período experimental. Os

testes de toxicidade confirmam tal afirmação, pois no tratamento RNC não se verificou nenhum efeito tóxico ao organismo-teste, demonstrando que a turbidez não foi o principal fator de estresse. Estes resultados são corroborados com os de Moreira-Santos et al. (2005) e de Lopes et al. (2007), no quais os autores avaliaram a interferência do agrotóxico deltametrina nos organismos fitoplanctônicos, zooplanctônicos e bentônicos em experimentos de *runoff versus* microcosmos, e também não relataram nenhum efeito tóxico em função da turbidez nos tratamentos controles.

Tabela 4. Valores de imobilidade avaliados em testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis*, referentes às cinco coletas realizadas nos mesocosmos ao longo de 10 dias (240h). (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos).

Período (horas) →	**3**			**48**			**96**			**168**			**240**		
Trat. ↓ Réplicas →	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**
C	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
RNC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
RC	NT	NT	NT	**T**	**T**	**T**	**T**	NT	NT	**T**	NT	NT	NT	NT	NT
V	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**	**T**
A	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

De acordo com análise feita pelo método estatístico de Fisher, o símbolo T em negrito, indica efeito tóxico agudo, a um nível de significância de 5%. NT: não tóxico.

No entanto, elevadas concentrações de material em suspensão podem causar danos ao sistema filtrador dos organismos aquáticos, que associados à contaminação por agrotóxicos podem deixá-los mais suscetíveis, inclusive à predação. Além disso, diversos estudos têm demonstrado que o aumento de material em suspensão está associado com a migração vertical de invertebrados (HANAZATO, 2001; SUREN e JOWETT, 2001; BILOTTA e BRAZIER, 2008). Nesse sentido, Gammon (1970) demonstrou que concentrações de material em suspensão entre 40 e 80 mg L^{-1} podem aumentar a migração de 25 a 90%.

Bilotta & Brazier (2008), em sua revisão sobre a influência de material particulado nos organismos aquáticos discutiram a importância da duração da exposição como um fator importante para determinar o seu efeito à biota aquática. Os autores acima referidos concluíram que os efeitos deletérios nos organismos aquáticos não podem ser previstos apenas com valores elevados de material em suspensão, mas também deve ser levado em consideração o tempo de exposição. Os estudos realizados por Suren; Martin e Smith (2005) comprovam tal afirmação. Os autores expuseram invertebrados a altas concentrações de material em suspensão, em período de exposição inferior a 24h, verificando que não houve

um aumento na mortalidade durante esse período. No entanto, um corpo d'água natural sob intensa influência de áreas agrícolas pode vir a sofrer sérios danos com a entrada constante de *runoff* associado a contaminantes, principalmente o Vertimec®18CE, que se mostrou extremamente tóxico para microcrustáceos em baixas concentrações.

A elevada toxicidade registrada no tratamento V é corroborada com os estudos ecotoxicológicos realizados por Tišler e Eržen (2006), no qual os autores demonstraram que a abamectina é altamente tóxica para zooplâncton e peixes em concentrações muito baixas, com valores de CE_{50} e CL_{50} da ordem de ng L^{-1} e μg L^{-1}, respectivamente. A concentração nominal utilizada neste tratamento foi de 40 μg L^{-1} e os valores de CE_{50},48h para *Daphnia magna* registrados em literatura são de 0,25 e 0,34 μg L^{-1}, segundo Wislocki; Grosso e Dybas (1989) e Tišler e Eržen (2006), respectivamente. Ou seja, a concentração obtida a partir da recomendação para uso é quase 118 vezes superior ao encontrado em literatura, demonstrando que o produto utilizado é altamente tóxico em concentrações bem inferiores.

No presente estudo, apesar do agrotóxico ser facilmente fotodegradável e das condições climatológicas envolvidas em estudos de campo (com temperaturas elevadas, tipicamente de regiões tropicais), não foi verificada a redução da toxicidade no decorrer do período como era esperado. Diversos autores relatam que a abamectina é rapidamente fotodegradada em solo superficial ($t_{1/2}$ = 8-21h), na lâmina d'água ($t_{1/2}$ = 12h) e em lagos a meia vida é de quatro dias (CAMPBELl, 1989; WISLOCKI; GROSSO e DYBAS op. cit.; FISHER e MROZIK, 1992). Entretanto, de acordo com os resultados do presente estudo, observou-se que a toxicidade ocorreu por um período maior do que a meia vida mencionada em literatura. Esses valores vêm corroborar a hipótese inicial de que a formulação comercial do Vertimec® 18CE acaba se tornando mais tóxica do que a do principio ativo em função da permanência no ambiente ser maior.

A concentração utilizada nos mesocosmos (tratamento V) representa os 100% de *runoff* que possivelmente estaria sendo carreada pelas enxurradas, em dias de chuvas, a um corpo d'água adjacente a uma cultura agrícola tratada com Vertimec® 18CE. Mesmo uma concentração mais baixa, cerca de 10% de *runoff* (tratamento RC), foi suficiente para ocasionar toxicidade em até 168h após a contaminação. Nesse sentido, o teste de toxicidade realizado só com a amostra do *runoff*, indicou um valor de CE_{50}, 48h muito próximo aos 10% (cerca de 9,78%).

As propriedades da abamectina, mencionadas em literatura, como a sua rápida fotodegradação na água e a sua afinidade por partículas sólidas, sugerem que este produto não ficaria muito tempo no ambiente aquático. No entanto, os resultados obtidos com a fórmula

comercial indicam que a toxicidade para organismos aquáticos é muito elevada e mesmo em baixas concentrações poderia causar sérios desequilíbrios em ambientes aquáticos. Esses valores representam o potencial tóxico desse agrotóxico aos organismos aquáticos, ressaltando a necessidade de ser realizar mais estudos com cenários mais realísticos para poder subsidiar as agências ambientais na tomada de decisões das práticas agrícolas e áreas afins.

4. Referências bibliográficas

APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 Ed. Washington D. C., 1268 p., 1995.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia ssp* (Cladocera, crustácea). 21 p., 2004.

BAKRI, D. A. L; RAHMAN, S.; BOWLING, L. Sources and management of urban stormwater pollution in rural catchments, Australia. **Journal of Hydrology**, 356, p. 299– 311, 2008.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. *In*: Campanhola, C.; Bettiol, W. (Eds. Técs.). Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, p. 79-95, 2003.

BILOTTA, G.S.; BRAZIER, R.E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. **Water Research**, 42, p. 2849 – 2861, 2008.

BITAR, O. Y. **Curso de geologia aplicada ao meio ambiente**. São Paulo. Associação Brasileira de Geologia de Engenharia: Instituto de Pesquisas Tecnológicas, Divisão de Geologia. Série Meio Ambiente. 247 p., 1995.

BOYLE, T. P.; FAIRCHILD, J. The role of mesocosm studies in ecological risk analysis. **Ecological Applications**, 7:4, p. 1099-1102, 1997.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin.** Springer Verlag, 363 p., 1989.

CAQUET, T.; LAGADIC, L.; STEVEN, R. S. Mesocosm in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. Rev. Environ. **Contam. Toxicol**., 165, p. 1-38, 2000.

CHAIN, A. Impacto ambiental de agroquímicos e biopesticidas. **R. Brás. Toxicol**., São Paulo, 8:1, 9-10, 1995.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. **Environ. Health Perspect**., 114, p.1803–1806, 2006.

FILIZOLA, H. F. et al. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em águas superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, 37:5, p. 659-667, 2002.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. Chemistry. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. p. 1-23, 1989.

GAMMON, J.R. The effect of inorganic sediment on stream biota. *In*: USEPA. **Water Pollution Cont. Res**. Series, 18050 DWC 12/70. USGPO, Washington, DC., 1970.

GARRIC, J. et al. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere,** 69, p. 903-910, 2007.

GOMES, J.P.O. et al. Geoquímica de elementos-traço em sólidos em suspensão no alto rio madeira, Rondônia, Brasil. **Geochimica Brasiliensis**, 23:1, p. 49-66, 2009.

GULLEY, D. D. , BOELTER, A. M. , BERGMAN, H. L. Toxtat 3.4 Computer Program, 1994.

HAMILTON, M.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentracions in toxicity biossays. **Environ. Sci. Tech.**, 11, p. 714-719, 1977.

HANAZATO, T. Pesticides effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. **Environmental Pollution,** 112, p. 1-10, 2001.

LERCH, R.N.; BLANCHARD, P.E. Watershed vulnerability to herbicide transport in northern Missouri and southern Iowa streams. **Environ. Sci. Technol**., 37, p. 5518-5527, 2003.

LLOYD, D.S.; KOENINGS, J.P.; LAPERRIERE, J.D. Effects of turbidity in fresh waters of Alaska. North Am. J. Fish. Manage. 7, p. 18–33, 1987.

LOPES, I. et al. In situ assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. **Chemosphere**, 67, p. 2250–2256, 2007.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit, Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em:> http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em 20 de julho de 2009.

MOREIRA-SANTOS, M. et al. In situ and laboratory microalgal assays in the tropics: a microcosm simulation of edge-of-field pesticide runoff. **Bull. Environ. Toxicol. Chem.**, 74, p. 48–55, 2005.

NUNES, M. E. T. et al. Uso de agrotóxicos no município de Bom Repouso, Minas Gerais, Brasil e efeito sobre organismos aquáticos e do solo. *In*: DI LEO, N.; MONTICO, S.; NARDÓN, G. **Avances em ingeniería rural 2007/2009**. 1ª Ed. Rosario: UNR Editora. ISBN: 978-950-673-752-8. CD-ROM, p. 505-513, 2009.

PENMAN, H. L. **Vegetation and hydrology.** London: Commonwealth Agricultural Bureau, Technical communication, 53, 124 p., 1963.

PEREIRA, J. L. et al. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. **Ecotoxicology**, 18, p. 455–463, 2009.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. *In*: PERES, F.; MOREIRA, J. C., (Ed). **É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, p. 21-41, 2003.

PIMENTEL, D. Pesticide use. **Science,** p. 252-358. 1991.

PLIMMER, J. R. Dissipation of pesticides in the environment. *In*: SCHNOOR, J. L. **Fate of pesticides and chemicals in the environment**. John Wiley. p.79 – 90, 1992.

ROCHESTER, E. W.; HILL, D. T.; YOO, K. H. Impact of reservoir tillage on runoff quality and quantity. **Transactions of the ASAE**, 37:4, p. 1183-1186, 1994.

SCHÄFER, R. B. et al. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. **Science of the Total Environment**, 382, p. 272–285, 2007.

STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com. 2004.

SUREN, A. M.; JOWETT, I. G. Effects of deposited sediment on invertebrate drift: an experimental study. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, 35, p. 725–737, 2001.

SUREN, A.M.; MARTIN, M.L.; SMITH, B.J. Short-term effects of high suspended sediments on six common New Zealand stream invertebrates. **Hydrobiologia**, 548, p. 67–74, 2005.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J.G.; KUTNER, M.B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standing stock and some ecological factors. **Bol. Inst.Oceanogr**., 24, p. 23-41, 1965.

TIŠLER, T.; ERŽEN, N. K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**, 15, p. 495-502, 2006.

TUCCI, C. E. M. **Hidrologia: Ciência e Aplicação**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade (UFRGS), Edusp, ABRH. v. 1, 952 p., 1997.

VEIGA, M. M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 22:11, p. 2391-2399, 2006.

WISLOCKI, P.G; GROSSO, L.S; DYBAS, R.A. Environmental aspects of abamectin use in crop protection. *In*: CAMPBELL, W.C. (Ed). **Ivermectin and abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 182–200, 1989.

Capítulo 4

Alterações estruturais e funcionais de sistemas aquáticos após adição do agrotóxico Vertimec® 18CE, com ênfase na comunidade zooplanctônica

Resumo

O agrotóxico Vertimec® 18CE, cujo princípio ativo é a abamectina, é comumente utilizado como acaricida, inseticida e nematicida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais. Apesar do seu amplo uso na agricultua, diversos efeitos negativos diretos e indiretos estão associados não somente com o principio ativo, mas também com a formulação comercial, para a qual ainda são raros os estudos sobre a toxicidade para organismos aquáticos. Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial risco deste agrotóxico ocasionar alterações na comunidade zooplanctônica em ecossistemas aquáticos artificiais. Para tanto, foram contaminadas parcelas de solos com Vertimec® 18CE na concentração indicada para a cultura de morango (0,125 litros de calda m^{-2}). Após a contaminação, foi simulada uma chuva torrencial (19 mm), coletando-se a água escoada superficialmente pelo solo, a qual foi transferida para mesocosmos experimentais em cinco tratamentos: 1) controle dos mesocosmos - C; 2) *runoff* da parcela de solo não contaminada - RNC; 3) *runoff* da parcela de solo contaminada com Vertimec® 18CE - RC; 4) aplicação direta do Vertimec® 18CE na água - V e 5) amostras coletadas aleatoriamente para verificar se houve contaminação entre os mesocosmos - A. A duração do experimento foi de 240h (10 dias), sendo que os mesocosmos foram contaminados apenas uma vez, nas concentrações nominais de abamectina de 4 e 40 $\mu g\ L^{-1}$, respectivamente para RC e V. Durante esse período, amostras de água foram coletadas para análises físicas e químicas, além da coleta de zooplâncton. Os resultados demonstraram alterações físicas e químicas relacionadas com a adição do *runoff* e do agrotóxico nos mesocosmos, verificando que o Vertimec®18CE, associado ao *runoff* e adicionado diretamente nos mesocosmos, causou modificações na estrutura (composição e densidade) da comunidade zooplanctônica. Os efeitos foram agudos e crônicos especialmente para Copepoda e Cladocera, enquanto que Rotífera foi menos sensível ao efeito do agrotóxico. O período de 10 dias não foi suficiente para o restabelecimento dos microcrustáceos, mesmo considerando uma única contaminação, evidenciando, dessa forma, a elevada toxicidade do Vertimec® 18CE para o zooplâncton.

Palavras-chave: mesocosmos, *runoff*, Vertimec® 18CE, agrotóxicos e comunidade zooplanctônica.

1. Introdução

A contaminação por agrotóxico nos diferentes compartimentos, terrestre e aquático, tem sido amplamente registrada na literatura (FILIZOLA et al., 2002; VEIGA et al., 2006; SCHÄFER et al., 2007), sendo o escorrimento superficial proveniente de áreas agrícolas um dos principais meios de contaminação das águas superficiais (HUBER; BACH e FREDE, 1998; LERCH e BLANCHARD, 2003). Uma vez no ambiente aquático os agrotóxicos são influenciados por vários processos físicos, químicos e biológicos que interferem na persistência e mobilidade, tornando as interações com o sedimento, coluna d'água e biota muito complexas (GRAVILESCU, 2005). Assim, se faz necessária a adoção de estudos que possam avaliar de forma mais ampla os reais efeitos da adição de contaminantes, destacando-se, entre estes, os experimentos *in situ*.

Nesse sentido, a principal razão para realização de experimentos *in situ*, principalmente com agrotóxicos utilizados na agricultura, é o de gerar um regime de exposição mais realístico do que apenas as informações geradas em laboratório (GRANEY; GIESY e CLARK, 1995), uma vez que os testes de toxicidade laboratoriais geralmente subestimam a magnitude dos efeitos normalmente esperados em um sistema natural (PRATT; BOWERS e CAIRNS, 1990), pois muitas interações abióticas e bióticas entre os organismos de uma comunidade e o ambiente ao redor são eliminadas nos testes de toxicidade laboratoriais. Assim, realizar experimentos em larga escala, com multiespécies, significa ter uma melhor compreensão da estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos frente a um elemento estressor, diminuindo, desta forma, as incertezas associadas com a extrapolação dos resultados decorrentes apenas dos testes de toxicidade uniespecíficos (GRANEY; GIESY e CLARK op. cit.; CAIRNS, BIDWELL e ARNEGARD, 1996; CRANE, 1997).

Os estudos em mesocosmos contaminados com agrotóxicos vêm sendo bastante empregados em vários países devido à necessidade de "validações de campo" dos testes de toxicidade efetuados no laboratório, a exemplo da Holanda (SCHROER et al., 2004), Dinamarca (FRIBERG-JENSEN et al., 2003), Alemanha (PEITHER et al., 1996), Espanha (LÓPEZ-MANCISIDOR et al., 2008), Canadá (SANDERSON et al., 2007), dos Estados Unidos (DOWNING et al., 2008), Japão (CHANG; SAKAMOTO e HANAZATO, 2005) e Austrália (PABLO e HYNE, 2009). No entanto, em regiões tropicais como o Brasil, ainda são raros estes estudos, destacando-se aqueles desenvolvidos por Laabs et al. (2007) e Santos (2007).

Entre os organismos que compõem a comunidade aquática destaca-se o zooplâncton, que ocupa uma posição central na cadeia alimentar, sendo responsáveis pela transferência de

energia dos produtores primários para níveis tróficos superiores como os peixes. Além disso, sua estrutura, biomassa e produção influenciam toda a estrutura da cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos por meio de diversas interações tróficas (MILLS e FORNEY, 1988). Ao mesmo tempo, os organismos zooplanctônicos, em geral, são mais sensíveis a substâncias tóxicas (MAYER e ELLERSIECK, 1986) e entre as substancias tóxicas, os agrotóxicos são conhecidos por afetarem o zooplâncton em níveis individual, populacional e de comunidade (HANAZATO, 1991, 1998 e 2001; DODSON; HANAZATO e GORSKI, 1995; CHANG; SAKAMOTO e HANAZATO 2005).

Entre os diversos agrotóxicos, o Vertimec® 18CE, cujo princípio ativo é a abamectina, é utilizado como acaricida, inseticida e nematicida em fruticulturas, horticulturas e plantas ornamentais (FISHER e MROZIK, 1992), sendo constituído a partir de uma mistura que contém 80% ou mais da avermectina B_{1a} e 20% ou menos de avermectina B_{1b} (WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989). Diversos autores relatam que a abamectina é rapidamente fotodegradada em solo superficial ($t_{1/2}$ = 8-21h), em água superficial ($t_{1/2}$ = 12h) e na coluna d'água a meia vida é de quatro dias (CAMPBELL, 1989; WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, op. cit.; FISHER e MROZIK, op. cit.). A classificação toxicológica do Vertimec® 18CE é III, medianamente tóxica, no entanto, a classificação do potencial de periculosidade ambiental é II, o que o caracteriza como muito perigoso ao meio ambiente, altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes. Em função de sua ampla e intensa utilização (indicado para 24 culturas visando a eliminação de 17 diferentes pragas, com a maioria composta por ácaros, conforme mencionado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), o emprego de Vertimec® 18CE na agricultura pode resultar em impactos ambientais e riscos à saúde humana.

Um problema adicional para avaliação se relaciona ao fato de que, no Brasil, o registro do agrotóxico, no que se refere aos estudos ecotoxicológicos, é baseado em sua grande maioria apenas no ingrediente ativo e não na sua formulação comercial. No entanto, é reconhecido que outros ingredientes, como surfactantes, são adicionados ao ingrediente ativo para aumentar a eficácia do agrotóxico, o que pode aumentar a toxicidade em organismos não-alvo (LEWIS, 1999; COX e SURGAN, 2006; PEREIRA et al., 2009). Assim, testes de toxicidade com o produto comercial são importantes, uma vez que podem fornecer informações mais realísticas dos efeitos tóxicos dos produtos que são comercializados e utilizados de forma ampla na agricultura.

Diante do exposto, procurou-se testar a hipótese de que o escorrimento superficial de culturas agrícolas tratadas com o agrotóxico Vertimec® 18CE pode ocasionar alterações na

estrutura da comunidade zooplanctônica a partir de efeitos diretos sobre os organismos e/ou indiretos, incluindo modificações nas características físicas, químicas e biológicas, implicando no estabelecimento de novas interações biológicas e reorganização estrutural e funcional do ecossistema.

2. Materiais e métodos

2.1. Delineamento experimental

No Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), localizado no município de Itirapina, São Paulo, Brasil (22°01'22"S, 43°57'38"W), foram delimitadas duas parcelas de solo de 8 m^{2}, com a declividade de 6%. Previamente ao experimento, essas parcelas foram capinadas e aradas (Figura 1, A a D, em apêndice B). O solo da parcela era predominantemente arenoso, sendo a maior porção composta por areia fina (54%) e 13,45% de matéria orgânica.

Uma das parcelas foi contaminada com o agrotóxico Vertimec® 18CE (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, Brasil), cujo princípio ativo é a abamectina. A formulação comercial representa o concentrado emulsionável a 18 g L^{-1} do ingrediente ativo. A aplicação foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal, seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante para culturas de morango (de 0,75 mL L^{-1}, com um volume aplicado de 0,125 L m^{-2}). A outra parcela não foi contaminada e serviu como controle, sendo borrifada apenas com água. No momento da aplicação do agrotóxico, a parcela controle ficou coberta com uma manta plástica para evitar qualquer possível contaminação (Figura 2, A a D, em apêndice B). Em seguida, simulou-se uma chuva de 19 mm, a montante do terreno, baseando-se na série histórica do mês de fevereiro de 2005 a 2007, obtida junto a Estação Climatológica do CRHEA/EESC/USP (Figura 3, A e B, em apêndice B). Este experimento foi conduzido no verão, em dezembro de 2008, onde as temperaturas de países tropicais, como o Brasil, são elevadas. No momento da aplicação não havia vento e a temperatura do ar era de 20°C.

As amostras de água foram coletadas a jusante da área de drenagem, na qual ocorreu o *runoff*, através de uma manta plástica colocada dentro de uma depressão do terreno, cavada anteriormente (Figura 3, C e D, em apêndice B). Posteriormente, parte da água escoada superficialmente pelo solo (*runoff*) foi transferida para os mesocosmos, representados por 12 tanques cilíndricos de polietileno de alta densidade (PEAD), com cerca de 60 cm de diâmetro e 90 cm de comprimento (aproximadamente 200 L), abertos na superfície e no fundo, os quais foram lavados previamente com ácido nítrico 5%, acetona e água destilada.

Com o intuito de manter as condições ambientais próximas às observadas em campo, os mesocosmos foram colocados dentro de um tanque de concreto de 10,24 m^2 por 1,14 m de profundidade, construído às margens da represa do Lobo, também nas dependências do CRHEA (Figura 1). Dentro desse tanque de concreto já existia água, sedimento (uma camada de cerca de 8 cm) e uma comunidade biológica estabelecida. Os mesocosmos foram inseridos no tanque de concreto, sendo preenchidos com a água local e mantendo-se em contato direto com o sedimento. Pesos de concreto (de aproximadamente 12 kg cada um) foram presos na superfície dos mesocosmos, evitando-se assim a flutuação dos mesmos e a passagem de água, sedimento e organismos entre os mesocosmos (Figura 4, A e B, em apêndice B). Após a montagem do experimento, os mesocosmos ficaram em repouso por dois dias, promovendo a sedimentação do material particulado e uma maior estabilização de cada unidade experimental. Posteriormente, deu-se início a adição da água do *runoff* (contaminado e não contaminado) e da adição direta do Vertimec® 18CE nos mesocosmos, em uma única contaminação.

O experimento foi realizado em cinco tratamentos, todos em triplicatas, sendo delimitados em: 1) mesocosmo controle - **C**, nenhum contaminante foi adicionado, permanecendo na condição já encontrada no tanque de concreto; 2) mesocosmo com o *runoff* não contaminado - **RNC**, este tratamento recebeu água de escorrimento do solo não contaminado, para tanto, foi retirado 20 L de água do mesocosmo e substituído pela água do *runoff*; resultando em 10% de *runoff* não contaminado em relação ao volume total (200 L); 3) mesocosmo com o *runoff* contaminado - **RC**, este tratamento recebeu água de escorrimento do solo contaminado com o Vertimec® 18CE, para tanto, foi retirado 20 L de água do mesocosmo e substituído pela água do *runoff*; resultando em 10% de *runoff* contaminado em relação ao volume total (200 L); 4) mesocosmo com o Vertimec® 18CE - **V**, neste tratamento foi adicionado o agrotóxico puro diretamente na água, correspondendo a 0,4 mL de Vertimec® 18CE/200L e 5) amostras coletadas ao lado externo dos mesocosmos, aleatoriamente, para verificar se houve contaminação cruzada entre os mesmos - **A**. Nos tratamentos contaminados com o agrotóxico (RC e V) os valores correspondem a uma concentração nominal estimada de 4 $\mu g\ L^{-1}$ e 40 $\mu g\ L^{-1}$ de abamectina, respectivamente. Este último tratamento baseou-se no valor determinado em cromatografia do *runnof* puro de um experimento realizado anteriormente. Sendo assim, representa cerca de 100% da concentração de Vertimec ® 18CE escoada superficialmente (Figura 5, A a C, em apêndice B). Para a realização desse trabalho, a concentração utilizada no experimento foi baseada naquela aplicada na cultura de morango. Essa escolha foi em função do histórico na utilização desse

agrotóxico associado ao seu uso indiscriminado. De acordo com os estudos realizados por Nunes et al. (2009), os produtores rurais fazem o uso desse agrotóxico ultrapassando a recomendação da aplicação do produto por ciclo, estabelecido em duas vezes.

Após a montagem do experimento *in situ*, deu-se início a coleta de amostras de água para análises de algumas variáveis físicas e químicas, bem como para a coleta do zooplâncton. O experimento teve duração de 10 dias (240 horas), sendo a periodicidade de coleta estabelecida no tempo 0 (antes da contaminação) e após 3, 48, 96, 168 e 240 horas da contaminação. Durante todo o período de estudo, os mesocosmos ficaram cobertos com lona plástica transparente no período noturno ou em dias de chuva, evitando-se, desta forma os efeitos da precipitação, principalmente em relação à diluição. Salienta-se, que para este estudo, foi utilizado apenas uma das réplicas como ilustrado na Figura 1.

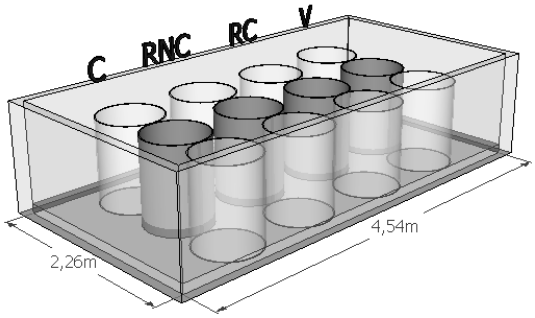


Figura 1. Esquema da disposição dos mesocosmos. C: controle; RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado; V: Vertimec® 18CE. Os mesocosmos de coloração cinza escuro foram aqueles utilizados neste estudo para análise do zooplâncton.

2.2. Variáveis físicas e químicas da água

A temperatura, pH, condutividade e a concentração de oxigênio dissolvido foram medidas nos mesocosmos usando um medidor portátil (marca Horiba, modelo U-10). A turbidez foi analisada em espectrofotômetro (Hach, DR/2000) (APHA, 1995) e material em suspensão por gravimetria em filtros de fibra de vidro (GF/C - 47 mm) (TEIXEIRA; TUNDISI e KUTNER, 1965). Os nutrientes foram analisados por espectrofotometria seguindo as metodologias específicas para nitrito e nitrato (MACKERETH; HERON e TALLING, 1978), íon amônio (KOROLEFF, 1976), nitrogênio orgânico total, fósforo total, fosfato total dissolvido e fosfato inorgânico (APHA, 1995).

Foi quantificada, apenas para fins de confirmação, a concentração de abamectina somente na amostra do *runoff* puro, sendo a determinação realizada por meio de cromatografia líquida (modelo SCL -10A, marca Shimadzu), com detector SPD-10A UV e a

confirmação por GC-MS (modelo QP2010, marca Shimadzu) (LANÇAS, 2004). Não foi possível a determinação da concentração final de abamectina em cada mesocosmo, baseando-se, portanto, apenas na concentração nominal inicial. Essa determinação foi considerada desnecessária pelo fato de que outros compostos fazem parte da formulação comercial com igual ou maior toxicidade e também não seriam determinados em função de sua não especificação pelo fabricante.

2.3. Comunidade zooplanctônica: amostragem e análise

As amostras da comunidade zooplanctônica foram coletadas de cada mesocosmo utilizando um tubo cilíndrico de PVC (diâmetro 5 cm; comprimento 60 cm) com uma tampa de borracha na parte superior. O tubo foi inserido verticalmente e de forma aleatória, integrando a coluna d'água dos mesocosmos, coletando-se no total 3 L de água (Figura 6, A e B, em apêndice B). As amostras foram concentradas, filtradas em um "copo amostrador" adaptado de 30 μm de abertura de malha e preservadas em formaldeído a 4%. As amostras foram sedimentadas e concentradas em 80 mL para posterior contagem. Rotifera foi contado por subamostragem em câmara de Sedgewick-Rafter, sob microscópio binocular. Posteriormente, para a contagem dos organismos raros procedeu-se a análise de toda a amostra, sob o microscópio estereoscópio, utilizando-se câmara de acrílico quadriculada do tipo Dolfus adaptada. Para Cladocera e Copepoda também se realizou a contagem de toda a amostra, utilizando-se a câmara de acrílico adaptada, sob microscópio estereoscópio. A identificação foi realizada utilizando-se bibliografia específica e a densidade total foi expressa em termos de indivíduos por litro (ind L^{-1}). Para a interpretação da diversidade dos grupos foi utilizado o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') (SHANNON e WEAVER, 1949), para avaliar a uniformidade na abundância das espécies foi utilizado o índice de equitabilidade (J') (PIELOU, 1966) e para a riqueza foi considerado o número total de espécies.

2.4. Análise dos dados

Para avaliar a variação espacial e temporal dos parâmetros limnológicos dos mesocosmos, os resultados foram sintetizados utilizando-se a Análise de Componentes Principais (ACP). Quando necessário, a fim de verificar a diferença significativa das variáveis limnológicas entre os tratamentos, foi aplicado o teste de Fisher (LSD), com pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos resíduos previamente testados. As análises descritas foram realizadas com auxílio do software Statistica versão 7 (STATSOFT, INC., 2004).

O efeito do agrotóxico na densidade dos grupos zooplanctônicos, durante o período experimental, foi analisado estatisticamente utilizando a Análise de Variância um fator (ANOVA). Quando constatadas diferenças significativas entre os grupos, foi utilizado o teste *post hoc* de Fisher (LSD), comparando-se o controle (C) com os demais tratamentos. Os valores da densidade para essa análise foram previamente log transformados para assegurar a normalidade dos dados em ln(x + 1), onde x é o valor da densidade. Os índices ecológicos dos grupos foram analisados estatisticamente utilizando-se ANOVA, tendo sido utilizado o teste *post hoc* de Mann-Whitney para avaliar qual o tratamento que comparado ao controle apresentava diferenças significativas. Para esta análise os dados não foram transformados, avaliando-se previamente os pressupostos normalidade e homocedasticidade dos resíduos. As análises foram realizadas com auxílio do software BioEstat 2.0 (AYRES et al., 2000).

A fim de avaliar as alterações da composição e abundância dos grupos da comunidade zooplanctônica nos mesocosmos durante o período experimental, foi utilizada a técnica de ordenação de escalonamento multidimensional (MDS). MDS é um procedimento apropriado para formar um conjunto de pontos no espaço de tal forma que as distâncias entre os pontos correspondem a um determinado conjunto de diferenças entre os objetos. Esta técnica é ideal para avaliar as respostas da comunidade frente a um elemento estressor (WONG et al., 2003). Para a realização da MDS foi utilizada a matriz de proximidade da distância de Canberra. A distância de Canberra (dissimilaridade) foi calculada a partir dos dados não transformados de densidade das espécies. O software utilizado para esta análise foi o XLSTAT versão 4.04 (ADDINSOFT, 2010).

3. Resultados

3.1. Variáveis físicas e químicas da água

Os resultados das variáveis limnológicas avaliadas nos mesocosmos durante o período amostral foram analisados utilizando-se a Análise de Componentes Principais (ACP), verificando-se a formação de gradientes espacial e temporal, o que evidencia a distinção entre as fases do experimento (Figura 2). O primeiro eixo (fator 1) dessa análise explicou 43,61% da variabilidade dos dados limnológicos e o segundo (fator 2) 20,07%, totalizando 63,68% de explicação. O grupo I ilustra todos os tratamentos na fase anterior à contaminação (0h) e também a fase posterior (168 e 240h), quando o sistema já se encontrava mais estabilizado. O grupo II caracteriza a fase da introdução do *runoff* em ambos os tratamentos (RNC e RC), que foi de 3 até 96h e de 168h apenas para o RC. As variáveis limnológicas relacionadas com a formação desse gradiente espacial são: fósforo total (PT), fosfato total dissolvido (PTD),

fosfato inorgânico (PI), nitrito (NO_2^-), íon amônio (NH_4^+), turbidez, material em suspensão inorgânico (MSI) e material em suspensão orgânico (MSO). Os resultados da ACP estão apresentados na Tabela 3, em apêndice A.

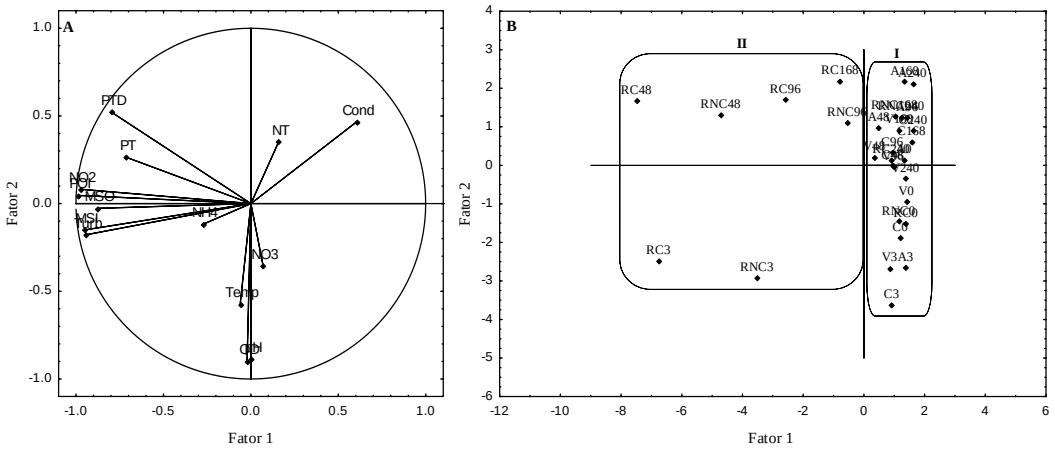


Figura 2. Dispersão dos escores das variáveis limnológicas consideradas (A) e dispersão dos escores dos tratamentos ao longo do período amostral (B), ambos representados nos dois primeiros eixos, sendo PT: fósforo total, PTD: fosfato total dissolvido, PI: fosfato inorgânico, NT: nitrogênio total, NO_2^-: nitrito, NO_3^-: nitrato, NH_4^+: íon amônio, MSI: material em suspensão inorgânico, MSO: material em suspensão orgânico, Cond.: condutividade, OD: oxigênio dissolvido, Temp.: temperatura e Turb.: turbidez.

Os nutrientes que estiveram elevados após a introdução do *runoff* (3h) foram principalmente os da série de fósforo (Figura 3, A a C). As maiores concentrações de PT, PTD e PI foram obtidas às 48h, nos tratamentos do RNC e RC. Os valores máximos obtidos em RC, neste período, foram 328,43; 64,53 e 37,76 μg L^{-1}, respectivamente. Com relação ao nitrogênio, somente para NO_2^- verificou-se um aumento na concentração em RC (em 48h) após a adição do *runoff*, o qual foi cerca de 10 vezes (20,75 μg L^{-1}) superior ao Controle, (Figura 3 E). As demais formas de nitrogênio não variaram muito entre os tratamentos durante o período experimental ($p > 0,05$) (Figura 3, D a G), com exceção do íon amônio ($p < 0,05$), para o qual verificou-se aumento progressivo em RC ao longo do tempo, com valor máximo de 192,35 μg L^{-1} (240h). Os resultados dos nutrientes também podem ser observados na Tabela 4, em apêndice A.

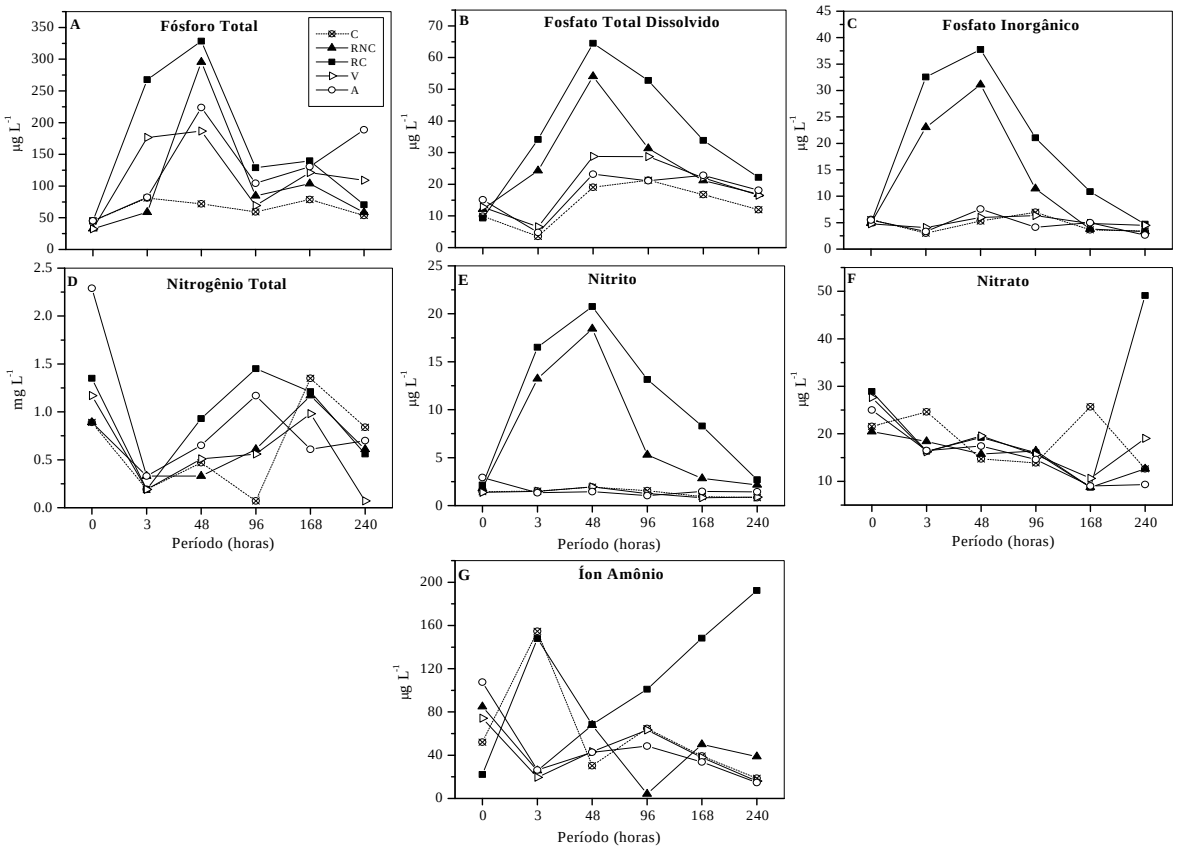


Figura 3. Valores da série de nutrientes (fósforo e nitrogênio) obtidos nas amostras de água, durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).

As alterações temporais de pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica e temperatura são ilustrados na Figura 4 (e Tabela 5, em apêndice A). Com relação aos valores de pH, não foram registradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). No entanto, temporalmente, os valores foram diminuindo de forma progressiva no decorrer do período experimental. No início (de 0 às 48h) verificou-se tendência à alcalinidade, com o maior valor registrado em C (8,45 às 3h), e no final, características mais ácidas, com o menor valor em RC (5,85 às 168h). Os valores de OD também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), verificando tendência semelhante ao pH, com maiores valores no início (10,79 mg L^{-1} em RC) e menores próximos ao final do experimento, em 168h (3,00 mg L^{-1} em RC). Para a condutividade, o único tratamento que apresentou diferença estatisticamente significativa foi o A ($p > 0,05$), com valores mínimo e máximo de 83 e 111 µs cm^{-1}, respectivamente. Com relação à temperatura, não houve variações entre os tratamentos ($p > 0,05$), no entanto, temporalmente os valores oscilaram de 28,2 ^{0}C (3h) a 22,75 ^{0}C (240h) em C.

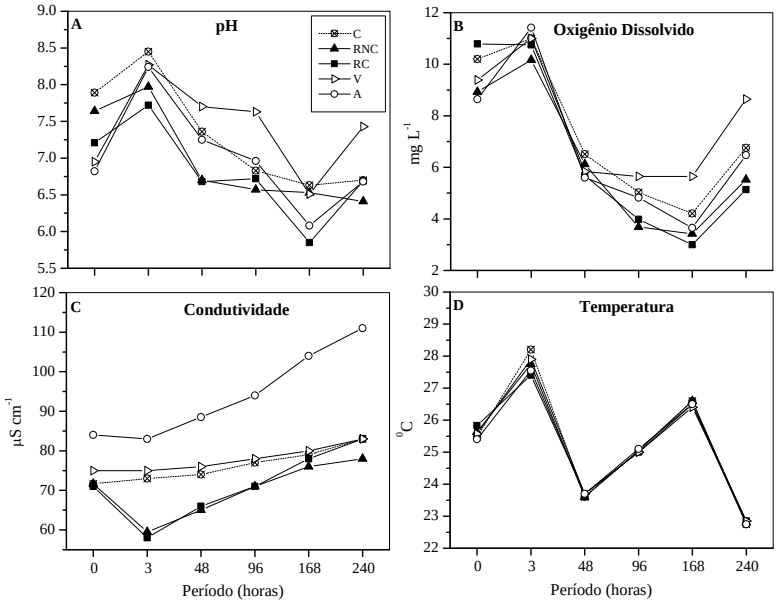


Figura 4. Valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura obtidos *in situ*, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).

Os valores de turbidez, material em suspensão inorgânico (MSI) e material em suspensão orgânico (MSO) foram elevados após a introdução do *runoff* (3h) nos tratamentos RNC e RC ($p < 0,05$) (Figura 5, A a C). Os valores de turbidez (3h) foram de 226 NTU (RNC) e 282 NTU (RC). No decorrer do experimento, o sistema foi estabilizando, de forma que ao final do experimento os respectivos tratamentos estavam com 9 NTU e 15 NTU. Os resultados de material em suspensão também evidenciaram uma alta concentração de particulados após a introdução do *runoff*, com a maior contribuição (72,70 mg L^{-1}) da fração inorgânica (MSI) no RC (aproximadamente 70%). De forma similar a turbidez, os valores de material em suspensão também diminuíram no decorrer do período (2,55 mg L^{-1}), registrando-se uma redução (30%) da fração inorgânica no final do experimento para o mesmo tratamento (RC). Na Tabela 6, apêndice A, também podem ser observados os valores de MSI, MSO e turbidez obtidos nas amostras dos mesocosmos.

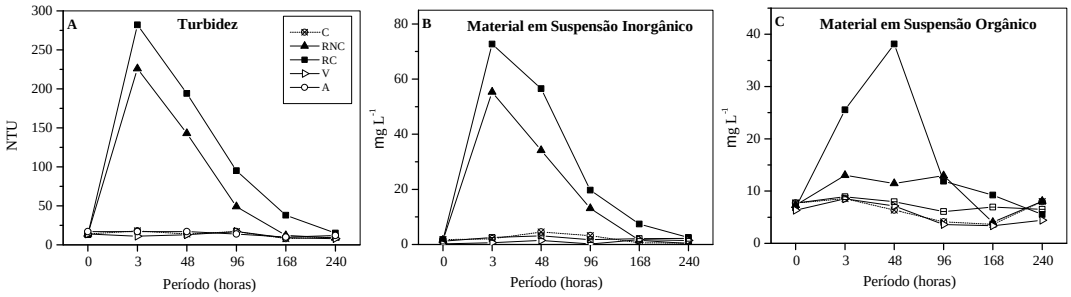


Figura 5. Valores de turbidez, material em suspensão inorgânico e orgânico obtidos nas amostras de água, durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).

3.2. Comunidade zooplanctônica

3.2.1. Abundância de zooplâncton

A comunidade zooplanctônica, no total de amostras analisadas dos mesocosmos, durante o período experimental, esteve representada por 29 taxa (Tabela 7, apêndice A), sendo que Rotifera constituiu o grupo mais abundante e com maior número de espécies (21), seguidos por Copepoda (4) e Cladocera (4) (Figura 6). Os resultados da densidade da comunidade zooplanctônica também podem ser observados nas Tabelas de 8 a 12, apêndice A.

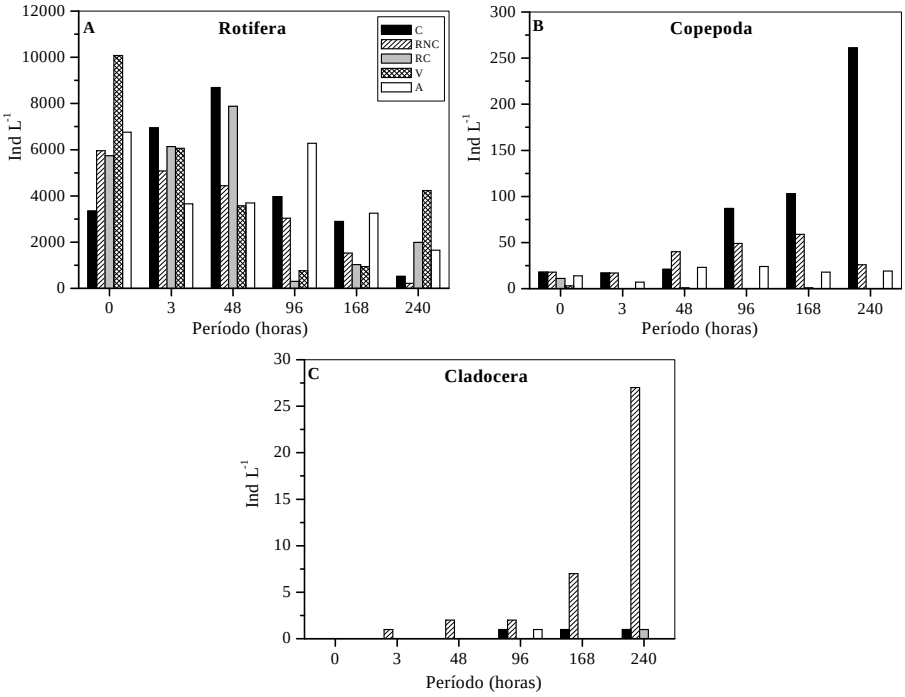


Figura 6. Densidade numérica da comunidade zooplanctônica nos mesocosmos durante o período amostral. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).

3.2.1.1. Rotifera

As maiores densidades observadas de zooplâncton, em todos os mesocosmos, foram para Rotifera, e entre os tratamentos não foram observadas diferenças significativas ao longo do período ($p > 0,05$). Entretanto, houve uma diminuição crescente da densidade, em todos os tratamentos, durante o período experimental, e embora as populações de Rotifera não tenham apresentado alterações estatisticamente significativas, nos tratamentos contaminados registrou-se sua menor densidade em relação ao controle às 96h, nos tratamentos RC e V, sendo 301 e 764 ind L^{-1}, respectivamente (Figura 6A).

As espécies dominantes até as 48h foram *Anuraeopsis fissa* e *H. thomassoni*, entretanto, no decorrer do experimento, houve uma mudança na dominância das espécies, com substituição das mesmas por *Epiphanes* cf. *macrourus* das 96h até o final do experimento (Figura 7A). Na Tabela 13 e Figura 1A, apêndice A, se encontram os valores da abundância relativa para o grupo Rotifera.

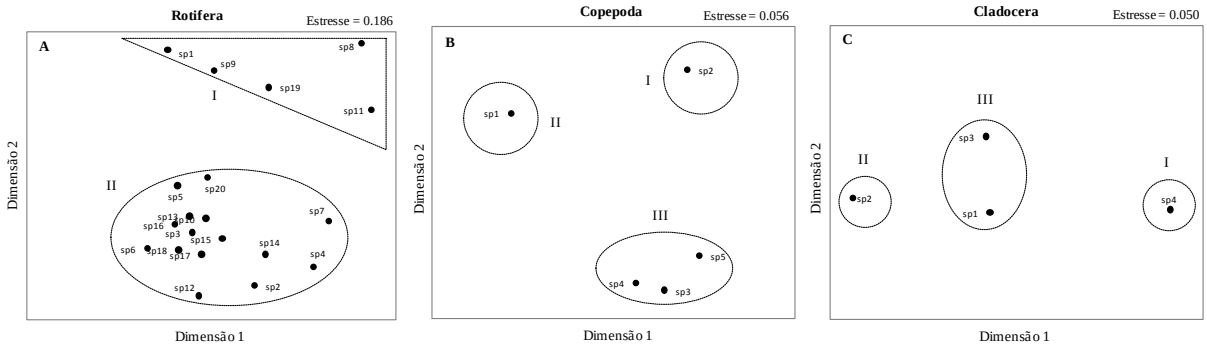


Figura 7. Ordenação MDS da composição da comunidade zooplanctônica ao longo do período experimental, baseado na dissimilaridade de Canberra. Em **A** (**Rotifera**) o grupo I é formado pelas espécies mais abundantes incluindo sp1: *Anuraeopsis fissa*, sp8: *Epiphanes* cf. *macrourus*, sp9: *Horaella thomassoni*, sp11: *Keratela t. reducta* e sp19: *Trichocerca pusilla*. O grupo II é formado pelas espécies menos abundantes, como sp7: *Cephalodella gibba*, sp4: Bdelloidea (3), sp14: *Lecane bulla*, sp2: Bdelloidea (1), sp5: *Brachionus dolabratus*, sp20: *Taphrocampa anulosa*, sp12: *Keratela. t. tropica*, sp17: *Polyartra vulgaris*, sp18: *Squatinela mutica mutica*, sp6: *Brachionus quadridentatus*, sp15: *Lecane hamata*, sp16: *Lepadella acuminata*, sp10: *Kellicotia bostonienses*, sp3: Bdelloidea (3) e sp13: *Keratela americana*. Em **B** (**Copepoda)** os grupos I e II são formados pelos mais abundantes, como sp1: jovens de Calanoida e sp2: adultos de *Notodiaptomus iheringi*. O grupo III representa os menos abundantes, incluindo sp3: adultos de *Argyrodiaptomus furcatus*, sp4: jovens de Cyclopoida e sp5: jovens de Harpaticoida. Em **C** (**Cladocera)** os grupos I e II são formados pelos mais abundantes; sp4: *Diaphanosoma birgei*, sp2: *Ceriodaphnia silvestrii*, sendo que o grupo III representa os menos abundantes, como sp1: *Bosmina freyi* e sp3: *Alona guttata*.

Embora o grupo Protozoa não tenha sido analisado neste trabalho, durante a contagem de Rotifera foi verificada a presença da espécie *Bursaridium pseudobursaria*, típica de

ambientes lênticos, a qual não foi correlacionada com a contaminação do agrotóxico ($p > 0,05$).

Com relação aos índices de diversidade, equitabilidade e riqueza de espécies não foram registradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), com os menores valores ocorrendo em RNC (96h) (Figura 8 e Tabela 16, apêndice A).

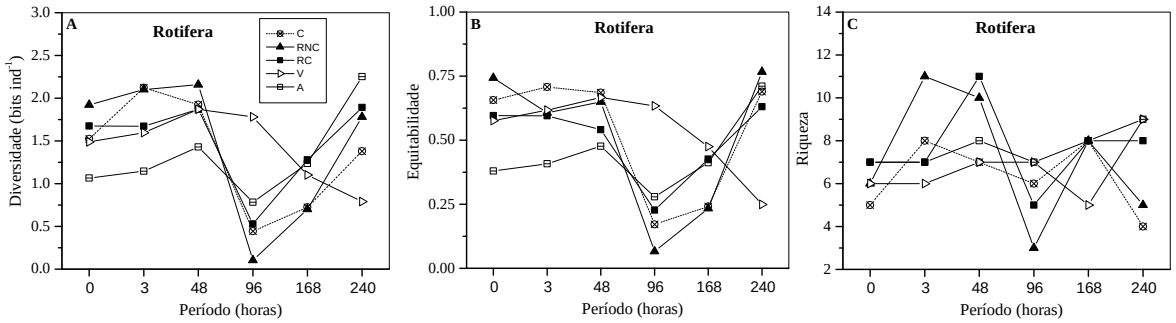


Figura 8. Índices ecológicos calculados para Rotifera da comunidade zooplanctônica nos mesocosmos durante o período amostral. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório), sendo A: Diversidade de Shannon-Wiener (H'), B: Equitabilidade de Pielou (J') e C: Riqueza de espécies.

3.2.1.2. Microcrustáceos

As populações de Copepoda foram afetadas pelo agrotóxico nos mesocosmos contaminados, relacionados aos tratamentos RC e V ($p < 0,05$). Esse efeito ocorreu a partir da contaminação (período 3h), permanecendo até o final do experimento (240h), em ambos os tratamentos, demonstrando o efeito tóxico agudo e crônico do Vertimec® 18CE. Nos tratamentos C e RNC, por outro lado, foi observado um aumento progressivo na densidade das populações até o final do experimento (Figura 6B).

As formas jovens de Calanoida (nauplii e copepodito) foram dominantes, seguidos de adultos de *Notodiaptomus iheringi* (macho e fêmea). Em geral, durante todo o período experimental as formas jovens de Calanoida foram dominantes nos tratamentos não contaminados (Figura 7B). Na Tabela 14 e Figura 1B, apêndice A, também se encontram os valores da abundância relativa.

Cladocera, por sua vez, foi pouco abundante, verificando-se reduzida contribuição na fase inicial do experimento (0 até 48h) e crescimento acentuado na densidade a partir de 96h, especialmente no tratamento RNC. Mesmo considerando a baixa representatividade de Cladocera, foi possível observar o efeito tóxico de Vertimec® 18CE nos mesocosmos contaminados, especialmente naquele que recebeu a concentração mais elevada (V) (Figura

6C). *Ceriodaphnia silvestrii* foi a espécie com maior ocorrência e também a mais abundante durante o período amostral, com valor máximo de 17 ind L^{-1} (RNC-240h), seguida por *Diaphanosoma birgei* (Figura 7C). Os resultados da abundância relativa também estão apresentados na Tabela 15 e Figura 1C, apêndice A.

Para Copepoda e Cladocera os índices ecológicos foram calculados conjuntamente, tendo em vista que foram registradas poucas espécies desses grupos. Corroborando com os valores da densidade, os resultados dos índices ecológicos também demonstraram o efeito tóxico do Vertimec® 18CE nos tratamentos RC e V, uma vez que os valores da diversidade, equitabilidade e riqueza, obtidos em ambos os tratamentos, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$). Para RC e V os valores da diversidade e equitabilidade de Copepoda e Cladocera foram nulos, sendo os maiores valores registrados durante todo o período amostral nos tratamentos C e RNC (Figura 9). Na Tabela 17, apêndice A, também podem ser observados os valores dos índices ecológicos.

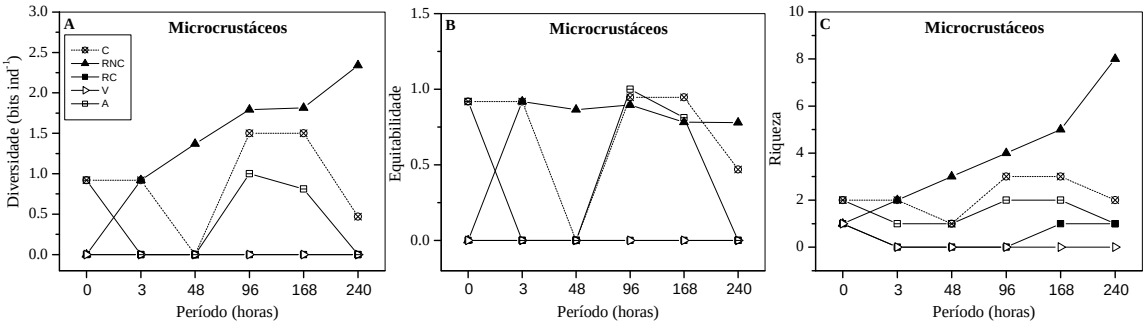


Figura 9. Índices ecológicos calculados para microcrustáceos da comunidade zooplanctônica dos mesocosmos durante o período amostral (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório), sendo A: Diversidade de Shannon-Wiener (H'), B: Equitabilidade de Pielou (J') e C: Riqueza de espécies.

O tratamento A (Aleatório) teve por objetivo verificar a existência da contaminação entre os mesocosmos. Em função da baixa representatividade de Cladocera nos diferentes tratamentos, incluindo o tratamento A, não foi possível realizar essa avaliação. Entretanto, pelos resultados obtidos para Copepoda, é possível inferir que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, demonstrando, por sua vez, a não contaminação entre os mesocosmos, o que poderia interferir nos resultados. Salienta-se que o delineamento experimental foi concebido na ordem C – RNC – RC – V, ou seja, de um tratamento controle (sem contaminante) para aquele que recebeu a maior contaminação (V), o que também foi

similar a direção do fluxo da água do tanque de concreto no qual os mesocosmos foram inseridos.

Com relação à possível influência física da turbidez nos microcrustáceos nos tratamentos que receberam o *runoff* (RNC e RC), não se verificou efeito significativo no RNC ($p > 0,05$), demonstrando, dessa maneira, apenas a resposta dos organismos em função da presença do contaminante no tratamento RC. Ao final do experimento não foi observado aumento na densidade dos microcrustáceos nos mesocosmos contaminados, sendo registrada apenas as espécies *Ceriodaphnia silvestrii* (240h) e *N. iheringi* (168h) no tratamento RC, ambas com 1 ind L^{-1}.

4. Discussão

4.1. Efeitos diretos e indiretos do Vertimec®18CE na comunidade zooplanctônica

Com relação à hipótese inicial desse trabalho, verificou-se que o Vertimec® 18CE, associado ao *runoff* e adicionado diretamente nos mesocosmos, causou alterações na estrutura da comunidade zooplanctônica, com efeitos agudos e crônicos especialmente em Copepoda e Cladocera, sendo menos prejudicial para Rotifera, que se mostrou menos sensível a presença do contaminante.

Os resultados do presente estudo também demonstraram que o período de 10 dias não foi suficiente para os microcrustáceos se recuperarem da única contaminação do agrotóxico, evidenciando, dessa forma, a alta toxicidade do Vertimec® 18CE para tais organismos. Embora conste na literatura que a taxa de degradação é elevada, na coluna d'água chega ser menor do que 4 dias (WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989), essa relação recuperação/tempo nos microcrustáceos não foi observada. Corroborando tais resultados, referente aos testes de toxicidade com *Daphnia similis* anteriormente apresentados no capítulo 3, verifica-se que o efeito tóxico permaneceu no tratamento RC em alguns períodos (de 48h até 168h pós-contaminação) e no tratamento V durante todo o período experimental. Esses resultados confirmam a hipótese de que a formulação comercial acaba se tornando mais tóxica em função de permanecer por um período de tempo maior no ambiente, pois o produto comercial contém em sua formulação, além do ingrediente ativo (i.a), outros compostos, como surfactantes, que são adicionados para aumentar a eficácia do agrotóxico. Isto pode ocasionar reações diferenciadas daquelas que ocorrem apenas com o i.a., podendo muitas vezes aumentar a toxicidade do agrotóxico que é utilizado na agricultura. Nesse sentido diversos estudos têm demonstrado a elevada toxicidade dos surfactantes para os organismos

aquáticos (HENRY; HIGGINS e BUHL 1994; LEWIS, 1999; VAN DE PLASSCHE et al. 1999; YING, 2006).

Na literatura, entretanto, são raros os experimentos *in situ* que avaliam a interação da formulação comercial nos ecossistemas aquáticos, pois a grande maioria aborda apenas o ingrediente ativo (i.a.). Dentre os raros trabalhos encontrados, o de Ali; Xue e Alam (1997), corroboram os resultados do presente estudo. Os autores contaminaram lagoas experimentais com o agrotóxico AVID® 0.15CE (abamectina), em 5 tratamentos, sendo as concentrações nominais com valores bem próximos aos do presente estudo, com a mínima e máxima de 3,13 e 50 $\mu g\ L^{-1}$, respectivamente. Os resultados encontrados demonstram toxicidade elevada em baixas concentrações para a comunidade de invertebrados aquáticos. Cladocera foi a população mais afetada, com redução da abundância em todos os tratamentos, ocorrendo a recuperação entre 14 e 53 dias após a contaminação nas concentrações mínima e máxima, respectivamente. Copepoda também apresentou redução significativa na abundância em praticamente todos os tratamentos, com recuperação entre 27 e 53 dias na concentração mais elevada. Entretanto, para Rotifera não se verificou redução significativa em relação ao controle.

A aparente ausência de sensibilidade de Rotifera a abamectina registrada no presente estudo, bem como no anteriormente citado, pode ser devido às diferenças fisiológicas e/ou bioquímicas entre rotíferos e microcrustáceos (KAUSHIK et al., 1985). Além disso, esse grupo apresenta várias características especiais que o torna oportunista, típico r-estrategista, adaptando-se a ambientes instáveis. Tais características incluem, por exemplo, uma alimentação menos especializada, elevada fecundidade e reprodução partenogenética freqüente (ALLAN, 1976; MATSUMURA-TUNDISI et al., 1990). Existem diversos trabalhos correlatos na literatura, os quais abordam estudos em campo com agrotóxicos/comunidade zooplanctônica, relatando a aparente ausência de efeito tóxico em Rotifera (PEITHER et al., 1996; FRIBERG-JENSEN et al., 2003; CHANG; SAKAMOTO e HANAZATO CHANG, 2005; LÓPEZ-MANCISIDOR et al., 2008).

Sanderson et al. (2007) também realizaram estudos em mesocosmos, com um agrotóxico da mesma família utilizada na presente pesquisa, a ivermectina (i.a.), derivado sintético da abamectina (LANKAS e GORDON, 1989). Nesse sentido, os autores contaminaram os mesocosmos em 4 concentrações, variando de 30 a 1000 ng L^{-1}, durante um período experimental de 265 dias. Cladocera foi o mais sensível, com total eliminação desses indivíduos em até 32 dias pós-contaminação, sendo a recuperação total do sistema em 229 dias, para todos os tratamentos. Copepoda foi menos sensível do que Cladocera, verificando-

se efeito significativo na abundância e riqueza somente na concentração mais elevada (1000 ng L^{-1}), ocorrendo recuperação após 229 dias. Os autores concluíram que a ivermectina é altamente persistente no sedimento, com a concentração permanecendo estável até o término do experimento (265 dias). Os organismos bentônicos sensíveis a este agrotóxico não se restabeleceram durante o período. No presente estudo, as concentrações nominais utilizadas nos mesocosmos foram de 4 a 40 vezes superiores às do trabalho exposto acima, demonstrando que a toxicidade da ivermectina é elevada e em concentrações inferiores a da abamectina. Tais resultados confirmam que os compostos da família das avermectinas são tóxicos a organismos não-alvo, principalmente para os organismos zooplanctônicos.

Os resultados da toxicidade das avermectinas encontradas na literatura reportam valores baixos para os dafnídeos. Para *Daphnia magna*, mais comumente encontrados, os valores da CE_{50},48h variam de 0,25 a 0,34 μg L^{-1} de abamectina (TIŠLER e ERŽEN, 2006; WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989, respectivamente). Para ivermectina, o valor é ainda mais baixo, entre 25 e 5,7 ng L^{-1} (HALLEY; NESSEL e LU, 1989; GARRIC et al., 2007, respectivamente). Nas demais investigações realizadas nesta tese com a abamectina (Capítulo 5), *D. similis* é 55 vezes mais sensível do que *D. magna*, com o valor da CE_{50},48h de 5,1 ng L^{-1}.

Neste mesmo experimento, em paralelo, foi analisada a comunidade fitoplanctônica por Vieira (2010). A autora não verificou efeito do agrotóxico sobre o fitoplâncton em nenhum dos tratamentos contaminados, o que pode estar relacionado com a ação neurotóxica do Vertimec® 18CE, que teria uma maior influência sobre o zooplâncton. Nesse sentido, diversos trabalhos têm demonstrado que a sensibilidade de algas a abamectina é bem menor do que a dos invertebrados aquáticos. Segundo os estudos realizados por Tišler e Eržen (op. cit.), os valores de CE_{50},72h para *Scenedesmus subspicatus* foi de 4,4 mg L^{-1} e para *Pseudokirchneriella subcapitata*, segundo Vieira (op. cit.), foi ainda menos sensível (15,5 mg L^{-1}). Estes resultados demonstram, sobretudo, que a toxicidade da abamectina é menor para as algas e mais elevada para o zooplâncton, podendo, em tais situações, ocasionar um sério distúrbio no equilíbrio do sistema, com a mortalidade de zooplâncton e o conseqüente aumento de fitoplâncton em função da diminuição da pressão do *grazing*. Esta relação pôde ser constatada no presente estudo, no tratamento V, no qual foi registrada, a partir de 144h pós-contaminação, a maior abundância relativa das algas da classe Chlorophyceae em relação aos demais tratamentos, evidenciando, dessa forma, a diminuição da pressão do *grazing* em função da ausência dos microcrustáceos registrados neste tratamento.

Os índices ecológicos (diversidade, equitabilidade e riqueza) avaliados para Rotifera, assim como a densidade, não demonstraram efeito significativo do agrotóxico e, em geral, os maiores valores foram observados no RNC. Com relação aos microcrustáceos, os tratamentos RC e V apresentaram valores nulos para tais índices, evidenciando o efeito tóxico do contaminante. O tratamento A, por não apresentar o efeito do enclausuramento, apresentou os menores índices em relação ao C para a comunidade zooplanctônica como um todo. Dos tratamentos controle (C e RNC), o tratamento C foi o que apresentou os menores valores de densidade e também dos índices ecológicos avaliados especificamente para Cladocera. No RNC, por outro lado, foram registrados valores progressivamente mais elevados ao longo do período experimental, corroborando a pesquisa de Vieira (2010), na qual a autora registrou as menores e maiores densidades de algas nos tratamentos C e RNC, respectivamente. Tais resultados ocorreram provavelmente em função do enriquecimento do sistema após a introdução do *runoff*, pois os tratamentos que receberam o *runoff* (RNC e RC) apresentaram as maiores alterações nas características físicas e químicas da água, especialmente as formas fosfatadas e material em suspensão (MS). As formas nitrogenadas, entretanto, não apresentaram um aumento significativo nestes sistemas quando comparados aos demais, com exceção do nitrito e do íon amônio no RC.

Se por um lado o RNC foi favorecido pelo maior aporte de nutrientes e partículas inorgânico-orgânicas, contribuindo para uma re-estruturação química, física e biológica diferencial nesse sistema, por outro lado verificou-se em RC situação similar, no entanto, associado à contaminação do agrotóxico, representando um fator adicional ao aumento da toxicidade registrada nesse tratamento. Sabe-se que elevadas concentrações de MS podem causar danos ao sistema filtrador dos organismos aquáticos, que associados à contaminação por agrotóxicos podem deixá-los mais suscetíveis, inclusive à predação (HANAZATO, 2001; SUREN e JOWETT, 2001 e BILOTTA e BRAZIER, 2008).

Como o objetivo desse experimento foi simular cenários reais da contaminação de áreas agrícolas a corpos d' água (via *runoff*), e associados neste contexto todos os fatores que interferem no potencial risco do Vertimec® 18CE à comunidade zooplanctônica, pode-se destacar que as concentrações elevadas de MS, observadas principalmente na fase inicial do experimento, representam a quantidade esperada de MS provenientes de áreas agrícolas durante a estação chuvosa, bem como seus efeitos físicos a biota aquática. Os estudos de Bakri; Rahman e Bowling (2008) demonstram de forma clara essa relação. Os autores registraram valores elevados de MST em corpos d'água próximos a áreas rurais, com o valor máximo de 387 mg L^{-1}. Deve-se ressaltar que a turbidez não afetou *D. similis* nos ensaios

ecotoxicológicos laboratoriais no RNC e sim no RC, demonstrando o efeito do contaminante e não da turbidez no sistema, como exposto anteriormente.

O delineamento experimental para avaliar os efeitos diretos e indiretos do Vertimec® 18CE na comunidade zooplanctônica, em regime de exposição *in situ*, atendeu ao objetivo proposto. Dos resultados obtidos pode-se inferir que a concentração nominal estimada de Vertimec® 18CE de 4 $\mu g\ L^{-1}$, no tratamento RC, associado aos materiais particulados, bem como na concentração nominal de 40 $\mu g\ L^{-1}$ (V), ocasionaram desequilíbrios na estrutura dos sistemas avaliados, demonstrando o efeito tóxico mesmo em baixas concentrações desse composto. As informações apresentadas no Capítulo 1 corroboram tais resultados, pois os valores dos testes de toxicidade com as diluições seriadas do *runoff* para *D. similis* (CE_{50}, 48h de 7,77%) representam uma concentração média nominal de 3,10 $\mu g\ L^{-1}$. Ambos os resultados (laboratoriais e experimento *in situ*) responderam de forma similar com relação à concentração do Vertimec® 18CE, que ocasionou toxicidade para Cladocera.

Algumas questões relacionadas ao delineamento experimental também merecem discussão, entre elas, a das réplicas, uma vez que cada unidade experimental, em cada tratamento (C, RNC, RC, V e A), respondeu de forma muito diferenciada, levando a utilização de apenas uma das réplicas. Vieira (2010) também relatou os mesmos efeitos na comunidade fitoplanctônica, utilizando, dessa forma, apenas uma das réplicas. Nesse sentido diversos estudos em campo têm relatado esse mesmo efeito (BARRY e LOGAN, 1998; GUSMÃO, 2004; MASUTTI, 2004; REIS-FILHO, 2004). De acordo com Petersen; Cornwell e Kemp (1999), a estabilidade e similaridade entre as réplicas está estreitamente relacionada com o volume das estruturas experimentais, uma vez que as condições em pequenos recipientes acabam divergindo mais rapidamente entre si do que aquelas em estruturas experimentais maiores. Segundo Graney; Giesy e Clark (1995), as divergências entre as réplicas do sistema ocorrerão dentro de uma escala temporal, ao ponto em que a classificação destes como réplicas se torna questionável. De maneira geral, o estresse aumenta a variabilidade de atributos biológicos em diferentes níveis de organização, reduzindo, dessa forma, a estabilidade e diversidade dos ecossistemas. Isso, por sua vez, acaba refletindo no aumento das flutuações temporais e espaciais da população (FORBES e DEPLEDGE, 1996). A ausência de réplicas, no entanto, não invalida o estudo, significando apenas que o pesquisador deve interpretar seus resultados dentro dos limites do seu delineamento experimental (GRANEY; GIESY e CLARK, op. cit.). Deste modo, no presente estudo, a

decisão de se utilizar apenas uma das réplicas dos diferentes tratamentos testados não invalida o trabalho, pois os resultados obtidos estão adequados aos objetivos propostos da pesquisa.

Diante dos resultados expostos, verifica-se que os mesocosmos são estruturas experimentais eficientes na avaliação do impacto do Vertimec® 18CE sobre a comunidade zooplanctônica. Além disso, os estudos em mesocosmos, associados aos de laboratório, podem ser uma ferramenta adicional na avaliação dos riscos ambientais de quaisquer produtos químicos ao ambiente aquático.

Outra análise importante relaciona-se com a abamectina, pois embora não tenha sido desenvolvida para uso direto em ambientes aquáticos, a possibilidade de atingir os corpos de água é real. As concentrações utilizadas neste estudo representam o *runoff* contaminado das parcelas de solo pulverizadas com o Vertimec® 18CE em áreas agrícolas, com concentrações nominais de 4 $\mu g\ L^{-1}$ (em RC), que representa 10 % do *runoff*, e uma mais alta, de 40 $\mu g\ L^{-1}$ (em V), que representa o pior cenário, no qual 100% do agrotóxico poderia chegar ao ambiente aquático via *runoff*. A concentração mais alta é improvável que alcance os ecossistemas aquáticos por deriva ou *runoff*, no entanto, na avaliação realizada junto aos agricultores verificou-se que os materiais utilizados para aplicação do agrotóxico (como pulverizadores, frascos para preparo das soluções, roupas, etc) são lavados diretamente nos corpos de água, o que poderia ser um fator de risco complementar. De forma adicional, em muitos locais (como as pequenas propriedades agrícolas) as lavouras margeiam os ambientes aquáticos, caracterizando áreas desprovidas de vegetação marginal, nas quais a distância entre a área de plantio e a água é praticamente inexistente.

4.2. Ação da avermectina nos organismos

Embora a atividade antiparasitária das AVM tenha sido descrita em 1979, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado. A dificuldade em identificar os mecanismos de ação se deve ao fato do agrotóxico atuar em múltiplos sítios de ligação, e também por ser avaliado em sistemas biológicos distintos, e portanto, com sensibilidades diferentes (TURNER e SCHAEFFER, 1989).

Em insetos e crustáceos, o mecanismo de ação das AVM consiste em induzir paralisia tônica da musculatura (faringe e músculos somáticos) e imobilização. A exposição à AVM pode resultar na ligação desse agrotóxico no sítio do receptor GABA, ativando canais de cloreto na membrana pós-sináptica. Isso vai ocasionar um influxo de íons cloreto levando a uma hiperpolarização irreversível, inibindo, conseqüentemente, a condução de impulsos nervosos. Contudo, a AVM pode funcionar tanto como um agonista do GABA quanto um

estimulador da liberação do GABA, a partir de terminais pré-sinápticos inibitórios (ZUFALL; FRANKE e HATT, 1989; FREITAS et al., 1996; TIŠLER e ERŽEN, 2006). As AVM podem interagir com canais de cloreto mediados por outros neurotransmissores como o glutamato (MARTIN, 1997; SANDERSON et al., 2007; ŎMURA, 2008). Por outro lado, segundo Turner e Schaffer (1989), as AVM também podem ligar-se diretamente em sítios de canais do íon cloreto.

As conseqüências fisiológicas das AVM ainda não estão bem claras. No entanto, independentemente dos sítios de ligação das AVM, é de consenso entre os autores que a toxicidade é elevada para invertebrados aquáticos mesmo em baixas concentrações (FISHER e MROZIK, 1992; TIŠLER e ERŽEN, 2006; SANDERSON et al. op. cit.).

5. Referências bibliográficas

ADDINSOFT, T. M. XLSTAT your data analysis solution. Versão 4.04. EasyStat® Soluções Estatísticas Ltda, Campinas, Brasilm, 2010.

ALI, A.; XUE, R. D.; ALAM, S. K. Ecotoxicological effects of abamectin (MK-936) on natural populations of selected invertebrates in man-made ponds. **Med. Entomol. Zool.** 48, p. 233–241, 1997.

ALLAN, J. D. Life history patterns in zooplankton. **Am. Nat**., 110, p. 165-176, 1976.

APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 Ed. Washington D. C., 1268 p., 1995.

AYRES, M.; et al. **BioEstat 2.0: Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas**. Belém, Sociedade Civil Manirauá e CNPq., 2000.

BAKRI, D. A.L; RAHMAN, S.; BOWLING, L. Sources and management of urban stormwater pollution in rural catchments, Australia. **Journal of Hydrology**, 356, p. 299– 311, 2008.

BARRY, M. J.; LOGAN, D.C. The use of temporary pond microcosms for aquatic toxicity testing: direct and indirect effects of endosulfan on community structure. **Aquat. Toxicol**., 41, p.101–124, 1998.

BILOTTA, G.S; BRAZIER, R.E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. **Water Research,** 42, p. 2849 – 2861, 2008.

CAIRNS, J. JR.; BIDWELL, J. R.; ARNEGARD, M. E. **Toxicity testing with communities: microcosms, mesocosm, and whole-system manipulations**. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, vol 47. Spring Verlag, New York, Inc., 1996.

CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. 363 p., 1989.

CHANG, K. H.; SAKAMOTO, M.; HANAZATO, T. Impact of pesticide application on zooplankton communities with different densities of invertebrate predators: An experimental analysis using small-scale mesocosms. **Aquatic Toxicology**, 72, p. 373–382, 2005.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. **Environ Health Perspect.,** 114, p. 1803–1806, 2006.

CRANE, M., 1997. Research needs for predictive multispecies tests in aquatic toxicology. **Hydrobiologia** 346, p. 149-155.

DODSON, S.I.; HANAZATO, T.; GORSKI, P.R. Behavioral responses of *Daphnia pulex* exposed to carbaryl and *Chaoborus* kairomone. **Environ. Toxicol. Chem**., 14, p. 43–50, 1995.

DOWNING, A. L. et al. Community an ecosystem responses to a pulsed pesticide disturbance in freshwater ecosystems. **Ecotoxicology**, 17, p. 539-548, 2008.

FILIZOLA, H. F. et al. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em águas superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 37:5, p. 659-667, 2002.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. Chemistry. *In*: Campbell, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. p. 1-23, 1989.

FORBES, V. F.; DEPLEDGE, M. H. Environmental stress and the distribution of traits within populations. *In*: BAIRDY, et al. **Ecotoxicology: Ecological Dimensions**. Chapman & Hall, London. p. 71-86, 1996.

FREITAS, R. M. C. et al. Effects of ivermectin on *Culex quinquefasciatus* larvae. **Rev. Inst. Med. trop.** São Paulo. 38:4, p. 293-297, 1996.

FRIBERG-JENSEN, U. et al. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. **Aquatic Toxicology** 63, p. 357-371, 2003.

GARRIC, J. et al. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**, 69, p. 903-910, 2007.

GRANEY, R. L.; GIESY, J. P.; CLARK, J. R. Field Studies *In:* RAND, G. M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, Environmental Fate and Risk Assessment**. Taylor & Francis, Washington, USA, p. 257-305, 1995.

GRAVILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Eng. Life Sci**., 5:6. p. 497-526, 2005.

GUSMÃO, L. F. M. **Efeitos do cobre e cromo na comunidade zooplanctônica: um estudo experimental em mesocosmos**. Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 268 p., 2004.

HALLEY, B. A.; NESSEL, R. J.; LU, A. Y. H. Environmental aspects of ivermectin usage in livestock: general considerations. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York. p.162-172, 1989.

HANAZATO, T. Pesticides as chemical agents inducing helmet formation in *Daphnia ambigua*. **Freshwater Biology**, 26, p. 419-424, 1991.

HANAZATO, T. Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities. **Environ. Pollut**. 101, p. 361–373, 1998.

HANAZATO, T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. **Environ. Pollut**. 112, p. 1–10, 2001.

HENRY, C. J.; HIGGINS, K. F.; BUHL, K. J. Acute Toxicity and Hazard Assessment of Rodeo®, X-77 Spreader®, and Chem-Trol® to Aquatic Invertebrates. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**. 27: p. 392-399, 1994.

HUBER, A.; BACH, M.; FREDE, H.G. Modeling pesticide losses with surface runoff in Germany. **The Science of the Total Environment**, 223, p. 177-191, 1998.

KAUSHIK, N.K. et al. Impact of permethrin on zooplankton communities in limnocorrals. Can. **J. Fish Aquat. Sci.,** 42, p. 77-85, 1985.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. *In*: GRASSOHOF, K. (ed). **Methods of seawater analysis**. Verlag. Chemie. Weinhein. p. 117-181, 1976.

LAABS, V. et al. Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: An aquatic microcosm study under semi-field conditions. **Chemosphere,** 67, p. 975–989, 2007.

LANÇAS, F. L. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos. Ed. Rima, 46 p., 2004.

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. *In*: CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 89-112, 1989.

LERCH, R.N.; BLANCHARD, P.E. Watershed vulnerability to herbicide transport in northern Missouri and southern Iowa streams. **Environ. Sci. Technol**., 37, p. 5518-5527, 2003.

LEWIS, M. A. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment. **War. Res.** 25:1, p. 101-113, 1991.

LOPES, I. et al. In situ assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. **Chemosphere**, 67, p. 2250–2256, 2007.

LÓPEZ-MANCISIDOR, P. et al. Zooplankton community responses to chlorpyrifos in mesocosms under Mediterranean conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 71, p. 16–25, 2008.

MACKERETH, S.J.H.; HERON, J.; TALLING, J.S. **Water analysis some revised methodsfor limnology**. Kendal, freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ. 36., Wilson and Sons, 117 p, 1978.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Agrofit, Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em:> http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 20 de julho de 2009.

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **Vet J**., 154, p. 11–34, 1997.

MASUTTI, M. B. **Distribuição e efeitos de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos: uma análise laboratorial e in situ (experimentos em micro e mesocosmos)**. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 371 p., 2004.

MATSUMURA-TUNDISI, T. et al. Eutrofização da represa de Barra Bonita: estrutura e organização da comunidade de Rotifera. **Rev. Brasil. Biol**., 50:4, p. 923-935, 1990.

MAYER, F. L., JR.; ELLERSIECK, M. R. **Manual of acute toxicity: Interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals**. Resource Publication 160, U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, DC., 1986.

MILLS, E.L.; FORNEY, J.L. Trophic dynamics and development of freshwater pelagic food webs. *In*: CARPENTER, S.R. (Ed.), **Complex Interactions in Lake Communities**. Springer Verlag, New York, p. 11-30, 1988.

NUNES, M. E. T. et al. Uso de agrotóxicos no município de Bom Repouso, Minas Gerais, Brasil e efeito sobre organismos aquáticos e do solo. *In*: DI LEO, N.; MONTICO, S.; NARDÓN, G. **Avances em ingeniería rural 2007/2009**. 1ª Ed. Rosario: UNR Editora. ISBN: 978-950-673-752-8. CD-ROM, p. 505-513, 2009.

ŎMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. **Int. J. Antimicrob**. Agents 31, p. 91–98, 2008.

PABLO, F.; HYNE, R. V. Endosulfan Application to a Stream Mesocosm: Studies on Fate, Uptake into Passive Samplers and Caged Toxicity Test with the Fish *M. ambigua*. **Arch Environ Contam Toxicol**., 56, p. 525–535, 2009.

PEITHER, A. et al. A pond mesocosm study to determine direct and indirect effects of lindane on a natural zooplankton community. **Environmental pollution**, 93:1, p. 49-56, 1996.

PEREIRA, J. L. et al. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. **Ecotoxicology**, 18, p. 455–463, 2009.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. *In*: PERES, F.; MOREIRA, J. C., (Ed). **É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ. p. 21-41, 2003.

PETERSEN, J. E.; CORNWELL, J.C.; KEMP, W. M. Implicit scaling in the design of experimental aquatic ecosystems. **Oikos** (Copenhagen), 85, p. 3-18, 1999.

PIELOU, E. C. The measurement of diversity in different types of biological collection. **J. Theor. Biol**., 13, p. 131-144, 1966.

PRATT, J .R.; BOWERS, N. J.; CAIRNS, J. JR. Effect of sediment on estimates of diquat toxicity in laboratory microcosms. **Water Res**., 24, p. 51-57, 1990.

REIS-FILHO, R. W. **Avaliação ecotoxicológica do sedimento da represa do Lobo (SP), em mesocosmos submetidos aos metais cobre e cromo**. Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 114 p., 2004.

SANDERSON. H. et al. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. **Aquatic Toxicology**, 85, p. 229–240, 2007.

SANTOS, R. L. **O uso de praguicidas nas atividades Aqüícolas: destino e efeitos após aplicações em tanques experimentais e avaliação nas psiculturas e pesqueiros da bacia do rio Mogi-Guaçu**. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 142 p., 2007.

SCHÄFER, R. B. et al. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. **Science of the Total Environment**, 382, p. 272–285, 2007.

SCHROER, A. F. W. et al. Comparison of laboratory single species and field population-level effects of the pyrethroid insecticide λ-Cyhalothrin on freshwater invertebrates. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**., 46, p. 324–335, 2004.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. University of Illinois Press, Urbana, 117 p., 1949.

STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com., 2004.

SUREN, A. M.; JOWETT, I. G. Effects of deposited sediment on invertebrate drift: an experimental study. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, 35, p. 725–737, 2001.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J.G.; KUTNER, M. B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standing stock and some ecological factors. **Bol. Inst.Oceanogr**., 24, p. 23-41, 1965.

TIŠLER, T., ERŽEN, N. K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**, 15, p. 495-502, 2006.

TURNER, M. J.; SCHAEFFER, J. M. Mode of action of ivermectin. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. New York, p. 73-88, 1989.

VAN DE PLASSCHE, E. J. et al. Predicted no-effect concentrations and risk characterization of four surfactants: linear alkyl benzene sulfonate, alcohol ethoxylates, alcohol ethoxylated sulfates, and soap. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 18:11, p. 2653–2663, 1999.

VEIGA, M. M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 22:11, p. 2391-2399, 2006.

VIEIRA, B. H. **Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton: um estudo laboratorial e "*in situ*"**. Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 181 p., 2010.

WISLOCKI, P.G; GROSSO, L.S; DYBAS, R.A. Environmental aspects of abamectin use in crop protection. *In*: CAMPBELL, W. C. (Eds). **Ivermectin and abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 182–200, 1989.

WONG, D. C. L. et al. Multivariate analyses of invertebrate community reponses to a C(12-15)AE-3S anionic surfactant in stream mesocosmo. **Aquatic Toxicology**, 62, p. 105-117, 2003.

YING, G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. **Environment International**, 32, p. 417 – 431, 2006.

ZUFALL, F.; FRANKE, CH.; HATT, H. The insecticide avermectin B_{1a} activates a chloride channel in crayfish muscle membrane. **Biol**. 142, p. 191-205, 1989.

Capítulo 5

Efeito da abamectina em *Daphnia similis, Chironomus xanthus* e *Danio rerio*

Resumo

A abamectina é utilizada como acaricida e inseticida em fruticulturas, horticulturas, plantas ornamentais e também como parasiticida em animais. Um dos maiores problemas da aplicação de agrotóxicos em culturas agrícolas consiste na possibilidade de contaminação, por deriva ou escorrimento superficial, dos ecossistemas aquáticos. Neste sentido, testes de toxicidade realizados em laboratório são ferramentas importantes para prever os efeitos de substâncias químicas nos ecossistemas aquáticos. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar a faixa de sensibilidade da abamectina para os organismos aquáticos *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*. A abamectina demonstrou ser altamente tóxica, sendo os valores de CE_{50}, 48h para *D similis* de 5,1 ng L^{-1}, a CL_{50}, 96h para *C. xanthus* de 2,67 μg L^{-1} e CL_{50}, 48h para *Danio rerio* de 33 μg L^{-1}.

Palavras-chave: abamectina, testes de toxicidade, *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*.

1. Introdução

As avermectinas (AVM) são compostos derivados da fermentação da bactéria do solo *Streptomyces avermitilis.* Neste grupo, estão incluídos as abamectina, ivermectina e doramectina, as quais têm elevada eficácia contra um amplo espectro de pragas comuns na agricultura, fazendo das avermectinas um dos parasiticidas mais utilizados no mundo. (CAMPBELL, 1989; KÖVECSES e MARCOGLIESE, 2005).

A ivermectina foi a primeira a ser comercializada, sendo utilizada principalmente para controlar ecto e endoparasitas na pecuária, aqüicultura, animais domésticos e em seres humanos. Posteriormente, a abamectina (ABM) foi comercializada como acaricida e inseticida em fruticulturas, horticulturas, plantas ornamentais e também como anti-helmíntico em animais (CAMPBELL op. cit.; ALI; XUE e ALAM, 1997). A abamectina é uma mistura que contém cerca de 80% de avermectina B_{1a} e 20% avermectina B_{1b}, as quais têm propriedades biológicas e toxicológicas similares (CAMPBELL, 1989; LANKAS e GORDON, 1989; FISHER e MROZIK, 1992).

As AVM atuam principalmente sobre o sistema nervoso dos organismos e embora a atividade antiparasitária das AVM tenha sido descrita em 1979, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado. Contudo, em geral, está relacionado com os receptores GABAérgicos (ácido gama aminobutírico) tanto em invertebrados quanto em vertebrados, e com canais de cloreto ativados por glutamato em invertebrados. A maioria dos autores menciona que as AVM podem atuar não só como agonista do GABA como também estimular a liberação do GABA nos terminais pré-sinápticos inibitórios. Em ambos os processos, levam ao aumento da permeabilidade para íons cloreto, hiperpolarizando as células nervosas e musculares, o que acaba interferindo na transmissão neuromuscular, podendo levar os indivíduos à morte (MELLIN; BUSCH e WANG,1983; TURNER e SCHAEFFER, 1989; CULLY et al., 1994). Em peixes as AVM podem atravessar a barreira hematoencefálica e causar toxicidade (HØY; HORSBERG e NAFSTAD, 1990).

A ABM, por outro lado, tem baixa toxicidade para mamíferos, mas é extremamente tóxica para microcrustáceos e peixes. Os valores da CE_{50},48h descritos na literatura para *Daphnia magna* é de 0,25 μg L^{-1} e a CL_{50},96h para *Danio rerio* de 55,1 μg L^{-1}(TIŠLER e ERŽEN, 2006). Apesar de não ser diretamente utilizada em ecossistemas aquáticos, a abamectina pode ter efeitos adversos na biota aquática, uma vez que nos estudos em mesocosmos foram verificados os efeitos do Vertimec®18CE, cujo princípio ativo é a abamectina, sobre o zooplâncton (presente estudo) e fitoplâncton (VIEIRA, 2010), tanto em decorrência da aplicação direta como também por meio do *runoff*, o que se aproxima da situação real da agricultura.

Considerando que introduções acidentais da ABM podem ocorrer em ecossistemas aquáticos e que o aporte via *runoff* em corpos de água adjacentes às áreas agrícolas é uma situação real, representando uma potencial ameaça à comunidade aquática, procurou-se nessa etapa da pesquisa avaliar o efeito deste contaminante em organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos, incluindo *Daphnia similis* (zooplâncton), *Chironomus xanthus* (inseto) e *Danio rerio* (peixe).

2. Materiais e métodos

2.1. Cultivo dos organismos-teste

Neonatos de *Daphnia similis* e larvas de *Chironomus xanthus* foram obtidos das culturas mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP, Brasil).

As culturas de *Daphnia similis* foram mantidas em condições controladas de temperatura (24±2°C) e fotoperíodo (16:8h claro/escuro), em água reconstituída com pH entre 7,0-7,6, condutividade de 160 µS cm^{-1} e dureza entre 40 e 48 mg L^{-1} de $CaCO_3$. Os organismos foram alimentados diariamente com a alga clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata* (10^{6} células mL^{-1}) e o Vitormonio® (1 mL L^{-1}), um composto preparado com levedura e ração comercial para peixe. Todos os procedimentos seguiram a norma brasileira ABNT, NBR 12713/2004.

As culturas de *Chironomus xanthus* foram mantidas em bandejas plásticas cobertas por gaiolas de nylon para a retenção dos organismos adultos. Nessas bandejas foram colocados sedimento de origem natural e água reconstituída (pH entre 6,5-7,0, condutividade entre 25-55 µS cm^{-1} e dureza entre 12 e 16 mg L^{-1} de $CaCO_3$). O cultivo dos organismos foram mantidos sob aeração constante, com temperatura controlada 23±2°C e fotoperíodo de 12:12h claro/escuro. As larvas foram alimentadas com a ração comercial para peixes (0,04 mg mL^{-1}/dia) e a alga *P. subcapitata* (10^{5} células mL^{-1}) apenas no primeiro dia de cultivo (FONSECA e ROCHA 2004).

Os juvenis de *Danio rerio* foram obtidos comercialmente e mantidos no laboratório para aclimatação em aquários de 25 litros, em água reconstituída (pH entre 7,0-7,6 e dureza entre 40 e 48 mg L^{-1} de $CaCO_3$). O cultivo dos organismos foram mantidos sob aeração constante, com temperatura controlada (25± 2°C) e fotoperíodo de 12:12h claro/escuro. A alimentação ministrada foi a ração comercial Tetramin®, duas vezes ao dia, a qual foi suspensa 24h antes da realização dos testes de toxicidade. Os procedimentos seguiram a norma brasileira ABNT, NBR 15088/2004.

Testes agudos com a substância de referência cloreto de potássio foram realizados durante o período de ensaios, com o objetivo de avaliar as condições fisiológicas dos organismos, validando dessa forma os testes.

2.2. Teste de toxicidade

A abamectina (CAS - n° 71751-41-2; 80% avermectina B_{1a} e 4% avermectina B_{1b}) foi obtida da Sigma-Aldrich (Brasil). A solução estoque de abamectina foi preparada no momento da realização de cada ensaio, dissolvendo-se a abamectina em acetona (grau analítico). A solução estoque foi protegida da luz para evitar a fotodegradação.

Todas as soluções-teste foram preparadas por diluições seriadas da solução estoque, diluídas em água reconstituída das culturas, respectivas de cada organismo-teste. Assim, para os testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* as concentrações nominais foram 2,5; 5;

10; 20; 40 e 80 ng L^{-1}; para *Chironomus xanthus* 0,2; 0,6; 1,8; 5,4; 16,4 e 48,6 μg L^{-1} e para *Danio rerio* 20; 40; 60; 80 e 100 μg L^{-1}. Para excluir a possibilidade do efeito tóxico do solvente interferir nos resultados de toxicidade, foi montado um controle negativo, com a maior concentração de acetona utilizada no teste de toxicidade, nunca ultrapassando a concentração máxima de 100 μl L^{-1}. No total, foram realizados quatro testes definitivos com cada organismo-teste, sendo que no último teste realizado foram quantificadas, por cromatografia, as concentrações iniciais e finais de abamectina de cada ensaio.

Nos testes de toxicidade aguda com *D. similis* foram utilizados 5 organismos em quatro réplicas, expostos em copos plásticos atóxicos contendo 10 mL da solução-teste. Os testes foram mantidos em condições controladas de temperatura (24± 2°C) e fotoperíodo (16:8h claro/escuro), com duração de 48 horas.

Para a realização dos testes com *C. xanthus*, foram adicionadas 6 larvas (IV instar – 7/8 dias) em 200 mL da solução-teste, com 50 g de substrato natural e em três réplicas. Os testes foram mantidos em sala com temperatura de 23ºC ±2, fotoperíodo de 12:12h claro/escuro e com alimento apenas no primeiro dia. A duração do teste foi de 96 horas, efetuando-se após esse período a contagem dos organismos vivos.

Nos testes agudos com *D. rerio* (estáticos) foram utilizados 5 organismos, em duas réplicas. A duração do teste foi de 48 horas, mantidos sob condições controladas de temperatura (25°C ±2) e fotoperíodo (12:12h claro/escuro).

As medidas de pH (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 145A) e oxigênio dissolvido (medidor de OD YSI) das amostras de água testadas foram realizadas no início e final de todos os testes de toxicidade com os organismos-teste.

2.3. Análise de abamectina da água

Foram quantificadas as concentrações iniciais e finais da abamectina nas soluções-testes, referentes ao último teste realizado, sendo determinado nas amostras o maior componente de avemectina (avermectina B_{1a}), que apresentou maior intensidade do sinal para análise em HPLC/FLU (*High Performance Liquid Chromatography/fluorometric detector*) (Agilent® 1200 séries).

Antes da extração da amostra, 200 mL foram previamente filtradas em membrana de acetato de celulose (0,45µm). A seguir, a amostra foi percolada através do cartucho contendo o adsorvente C-18 (SampliQ, Agilent Technologies®, 30 x 6 mL, 500 mg). Para a extração da amostra de água, foi condicionado o adsorvente com 10 mL de acetonitrila (P.A.) e 5 mL de

acetonitrila (P.A.): água livre de orgânicos: trietilamina (P.A.) (30:70:0,2, v/v/v). Após essa etapa, a amostra foi percolada no cartucho, seca por três minutos e, posteriormente, o analito foi eluído com 20 mL de diclorometano (P.A.). Todo o procedimento descrito acima foi realizado sob a pressão de 15 kPa.

O extrato eluído do cartucho contendo o adsorvente C-18 foi seco sob suave fluxo de nitrogênio e reconstituído com 1 mL de acetonitrila (P.A.). Procedeu-se então a derivatização, que foi realizada em frasco escuro de âmbar, com 200 µL de 1-metilmidazol (> 99%) e 200 µL de solução acetonitrila: anidrido trifluoacético (2:1). Após uma hora, 100 µL da amostra foram injetadas em HPLC/FLU.

Para a análise da abamectina por HPLC/FLU foram utilizadas as seguintes condições cromatográficas: fase móvel isocrática (água livre de orgânicos, acetonitrila p.a. e tetrahidrofurano na proporção de 14:80:6, respectivamente); fluxo (1,0 mL min^{-1}); injeção (100µL); temperatura da coluna (25ºC); coluna (Partisil 5 ODS-3, 4,6 mm x 250 mm, 5µm, Whatman®); detector de fluorescência (excitação em 364 nm e emissão em 475 nm) e tempo de corrida (14 minutos).

Os parâmetros utilizados para a validação do método foram seletividade, limites de detecção e quantificação, linearidade, precisão, exatidão e recuperação (LANÇAS, 2004). O cromatograma gerado demonstrou que o método para análise da abamectina em água foi seletivo. Para o limite de detecção (LD) foi considerada a concentração em que o sinal da abamectina foi três vezes maior que o sinal ruído, e para o limite de quantificação (LQ) foi considerado a concentração em que o sinal do analito foi cinco vezes maior que o ruído. Os resultados de LD foram 0,1 µg L^{-1} e do LQ de 0,2 µg L^{-1}. As concentrações utilizadas para o cálculo da linearidade foram entre 0,2 e 10,0 µg L^{-1}, sendo 7 pontos em triplicatas. O resultado do coeficiente de correlação linear da curva foi 0,994, e os resultados do desvio padrão relativo da precisão e exatidão do método de 112,46% e 103,64%, respectivamente. A média da recuperação do método foi de 108,70%.

2.4. Análise dos dados

Os resultados dos testes de toxicidade aguda foram analisados através do método estatístico Trimmed Spearman-Karber e expressos em CE_{50},48h (*D. similis*), CL_{50},96h (*C. xanthus*) e CL_{50},48h (*D. rerio*) (HAMILTON; RUSSO e THURSTON, 1977).

O teste de Fisher foi utilizado para a verificação da diferença significativa na sobrevivência dos organismos-teste, comparando-se os dois controles. Os testes estatísticos

foram realizados com o auxílio do programa computacional Toxstat 3.3 (GULLEY; BOELTER e BERGMAN, 1994).

3. Resultados

3.1. Teste de toxicidade e análises químicas

A faixa de sensibilidade dos organismos-teste *D. similis*, *C. xanthus* e *D. rerio* ao cloreto de potássio, durante o período de ensaios, ficou estabelecida entre 373 e 638 mg L^{-1}, 2,58 e 6,30 g L^{-1} e 554 e 919 mg L^{-1}, respectivamente (Figuras 2, 4 e 5 em apêndice C). Os resultados obtidos demonstram que os indivíduos se encontravam em condições fisiológicas adequadas para utilização em testes ecotoxicológicos.

O valor médio da CE_{50},48h para *D. similis* expostas a abamectina, num total de 4 testes, foi de 5,1 ng L^{-1} (baseada na concentração nominal), com limites inferior e superior de 1,98 e 12,18 ng L^{-1}, respectivamente (Tabela 1). Os resultados de CE_{50} apresentaram uma alta variabilidade dentro de uma faixa relativamente estreita, sendo o coeficiente de variação (CV) de 69,43% (Tabela 14, apêndice C). Não foram medidas cromatograficamente as concentrações de abamectina nas soluções-teste, uma vez que as mesmas ficaram abaixo do limite de quantificação pelo método analítico.

C. xanthus também foi sensível a abamectina, obtendo-se um valor médio da CL_{50},96h de 2,67 μg L^{-1} (baseada na concentração nominal), em 4 testes, com limites inferior e superior de 0,58 e 4,84 μg L^{-1}, respectivamente (Tabela 1). Os resultados dos testes com *C. xanthus* evidenciaram uma menor variabilidade quando comparados aos de *D. similis*, uma vez que os valores da CL_{50},96h variaram de 1,33 a 3,75 μg L^{-1}. As concentrações de abamectina nas soluções-teste foram medidas no início e final do último ensaio (4° ensaio). As concentrações medidas nas soluções-teste (amostra fresca) apresentavam, em média, valores mínimo e máximo de 83 e 100% da concentração nominal (Figura 1A). Os resultados demonstraram uma elevada degradação da abamectina em 96h, restando apenas uma pequena fração do produto no final do teste, de forma que somente nas três últimas soluções-teste foram observadas frações de abamectina, representando 4,5; 6,05 e 4,58 % da concentração inicial. O valor da CL_{50},96h, baseado na concentração medida neste último teste foi de 1,16 μg L^{-1} (intervalo de confiança: 0,92 – 1,45). Na Tabela 15, apêndice C, também podem ser observados os resultados dos testes de toxicidade com *C. xanthus*.

Dos organismos-teste avaliados no presente estudo, *D. rerio* foi o menos sensível a abamectina, obtendo-se um valor médio da CL_{50},48h de 33 μg L^{-1} (baseada na concentração

nominal), com os limites inferior e superior de 29,17 e 36,77 μg L^{-1}, respectivamente (Tabela 1). Os resultados evidenciaram uma baixa variabilidade, com CV de 5,76%. As concentrações medidas nas soluções-teste (fresca) apresentaram valores médios entre 91 e 98% da concentração nominal (Figura 1B). O valor da CL_{50},48h, baseado na concentração medida neste último teste, foi de 29,91 μg L^{-1} (IC: 26,20 – 34,15). A degradação da abamectina no teste com *D. rerio,* proporcionalmente, foi mais rápida em 48h do que em 96h com *C. xanthus*, sendo registrada, no final do teste, uma fração restante de abamectina de 2,7% (primeira concentração) e 3,5% (última concentração), em relação à concentração quantificada no início (Figura 1B). Tais resultados demonstram que provavelmente o sedimento tenha interferido na taxa de degradação da abamectina e, comparativamente, ocasionado uma menor taxa de degradação no teste com *C. xanthus*. No entanto, em ambos os testes, verifica-se que a degradação da abamectina foi rápida, demonstrando que o tempo de permanência desse composto no ambiente é relativamente curto. Os resultados dos testes de toxicidade com *Danio rerio* também estão apresentados na Tabela 16, em apêndice C.

Os controles negativo (solvente) dos testes de toxicidade aguda com os diferentes organismos-teste não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle do laboratório ($p > 0,05$).

Tabela 1. Sumário dos resultados dos testes de toxicidade aguda com abamectina.

Organismo	***D. similis***	***C. xanthus***	***D. rerio***
Duração	48h	96h	48h
Concentração mínima e máxima	2,5 - 80 ng L^{-1}	0,2 – 48,6 μg L^{-1}	20 - 40 μg L^{-1}
CE_{50} /CL_{50} e DP* (n = 4)	5,1 ±3,54 ng L^{-1}	2,67 ±1,08 μg L^{-1}	33 ±1,90 μg L^{-1}
Faixa de sensibilidade	1,98 – 12,18 ng L^{-1}	0,58 – 4,84 μg L^{-1}	29,17 – 36,77μg L^{-1}
Coeficiente de variação	69,43%	40,50%	5,76%

Obs.: Todas as concentrações são baseadas na concentração nominal. *DP: Desvio padrão.

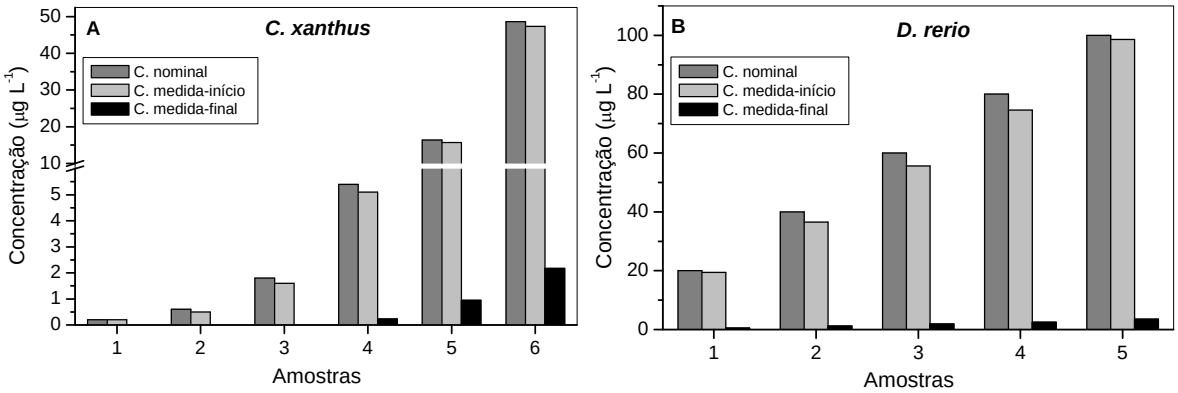


Figura 1. Resultado das análises químicas das amostras de água dos ensaios de toxicidade aguda com *C. xanthus* e *D. rerio* expostos à abamectina. Em A, valores dos testes com *C. xanthus*, nas concentrações nominais de 0,2; 0,6; 1,8; 5,4; 16,4 e 48,6 µg L^{-1} e as medidas no início e final do teste (96h). Em B, valores dos testes com *D. rerio*, nas concentrações nominais de 20; 40; 60; 80 e 100 µg L^{-1} e as medidas no início e final do teste (48h).

4. Discussão

4.1. Testes de toxicidade

A abamectina é um agente antiparasitário usado há muitos anos em criação de animais, além de ser um importante inseticida e acaricida utilizados na produção agrícola (CAMPBELL, 1989). Porém, quando aplicados nas lavouras ou em animais, os resíduos dos produtos podem atingir espécies não-alvo. Nesse sentido, os resultados do presente estudo demonstraram que as concentrações testadas foram muito tóxicas em baixas concentrações para todos os organismos-teste, sendo a espécie *D. similis* a mais sensível. Para este organismo-teste, a concentração nominal média que ocasionou toxicidade em 50% dos indivíduos foi 5,1 ng L^{-1}.

Os resultados encontrados na literatura corroboram os do presente estudo, nos quais os diversos autores também registraram valores baixos para os dafnídeos expostos às avermectinas, obtendo-se apenas para *D. magna* valores da CE_{50},48h de 0,25 e 0,34 µg L^{-1} de abamectina (TIŠLER e ERŽEN, 2006; WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989, respectivamente). Para ivermectina, derivado sintético da abamectina (LANKAS & GORDON, 1989), o valor foi ainda mais baixo (2,5 e 5,7 ng L^{-1}) (HALLEY; NESSEL e LU, 1989; GARRIC et al., 2007, respectivamente). Segundo Stuhlbacher et al. (1993), Suedel; Rodgers e Deaver (1997); Barata; Baird e Markichand (1998) a variação da sensibilidade depende das diferenças genéticas das espécies e também de uma série de fatores bióticos (disponibilidade alimentar ou estágio do ciclo de vida) e abióticos (temperatura, pH e dureza). A sensibilidade de *D. similis* neste estudo foi em média 55 vezes maior do que a registrada em literatura para *D. magna*. Nesse sentido, diversos estudos têm demonstrado que a

sensibilidade de *D. similis* geralmente é maior do que a de *D. magna*, isso tanto para amostras ambientais como também para compostos químicos (KOIVISTO; KETOLA e WALLS, 1992; SÁNCHEZ-BAYO, 2006; JARDIM; ARMAS e MONTEIRO, 2008).

Já os valores de CEO (Concentração de Efeito Observado) e CENO registrados nos estudos de Tišler e Eržen (2006) para *D. magna* expostas à abamectina, por um período de 21 dias, foram de 9,4 e 4,7 ng L^{-1}, respectivamente. Tais valores estão 26 vezes abaixo da concentração registrada pelos autores nos testes de toxicidade aguda (250 ng L^{-1}). Segundo Heath (1995), Newman e Clements (2008), o aumento da toxicidade para zooplâncton está estreitamente relacionado com o tempo de exposição.

Os efeitos tóxicos da abamectina para *C. xanthus* também foram observados em baixas concentrações, sendo a CL_{50},96h de 2,67 μg L^{-1}. Existem poucos estudos na literatura que relatam a toxicidade da abamectina para quironomídeos. Dentre estes, o desenvolvido por Ali e Nayar (1985), no qual os autores registraram para *C. crassicaudatus* o valor da CL_{50},96h de 1,63 μg L^{-1}, corroborando os resultados da presente pesquisa. Em outro experimento, também desenvolvimento por Ali; Xue e Alam (1997), os autores observaram os mesmos efeitos, com toxicidade para quironomídeos da ordem de μg L^{-1}. Nesse experimento os autores contaminaram lagoas experimentais com o agrotóxico AVID® 0,15 CE (abamectina), em cinco tratamentos, sendo as concentrações mínima e máxima de 3,13 e 50,0 μg L^{-1}. Pelos resultados obtidos os autores verificaram redução significativa na abundância das larvas de Chironomidae em todos os tratamentos, em até 14 dias após a aplicação. Egeler et al. (2010) também realizaram testes de toxicidade crônica com *C. riparius* expostos a ivermectina, registrando efeitos tóxicos na sobrevivência, crescimento e emergência dos organismos, com o valor da CEO de 6,3 μg kg^{-1} (sedimento seco).

Dos organismos-teste avaliados neste estudo, *Danio rerio* foi o menos sensível à abamectina. No entanto, os resultados evidenciaram o efeito tóxico em concentrações muito baixas, com a CL_{50},48h de 33 μg L^{-1}. Tišler e Eržen (2006) registraram o valor da CL_{50},96h de 55,1 μg L^{-1}, estando dentro da faixa registrada nesse estudo. Os resultados de sensibilidade para peixes à abamectina, reportados na literatura, variam de acordo com as espécies testadas. Entretanto, todos os valores observados demonstram o efeito tóxico em concentrações muito baixas, da ordem de μg L^{-1}. Os resultados da CL_{50}, 96h de abamectina para as diferentes espécies de peixes são de 3,2; 9,6; 24 e 40 μg L^{-1} para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), "bluegill sunfish" (*Lepomis macrochirus*) "channel catfish" (*Ictalurus punctatus*) e carpa (*Cyprinus carpio*), respectivamente (WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, 1989). Nos estudos

realizados por Halley; Nessel e Lu (1989) com ivermectina, podem ser observados valores de sensibilidade bem próximos aos da abamectina (3,0 μg L^{-1} para *O. mykiss* e 4,8 μg L^{-1} para *L. macrochirus*).

No ambiente, a abamectina é rapidamente degradada por mecanismos de oxidação e foto-oxidação. No solo, a meia vida é de 21h, na lâmina d'água varia de 4 a 6h e na coluna d'água chega ser menor do que 4 dias (WISLOCKI; GROSSO e DYBAS, op. cit.). Esta elevada taxa de degradação pôde ser constatada neste estudo. No ensaio com *C. xanthus*, em 96h, houve uma degradação em média de 95% em relação à concentração inicial. Já com *D. rerio*, a taxa de degradação foi sensivelmente maior (97% em 48h). Essa elevada degradação também foi observada por Tišler e Eržen (op. cit.). Os autores registraram uma degradação em média de 40% nos testes com *D. magna* (48h), e para *D. rerio*, em 96h, a degradação foi maior, cerca de 90%. Por outro lado, nos estudos de Garric et al. (2007), os autores registraram apenas um ligeiro decréscimo da concentração de ivermectina nos testes de toxicidade com *D. magna*. Entretanto, como os testes foram conduzidos no escuro, os efeitos da fotodegradação não foram evidentes.

A persistência das AVM no ambiente, bem como seus efeitos tóxicos, depende dos processos de degradação e da quantidade dos resíduos liberados no ambiente (ERŽEN et al., 2005). Entretanto, além desses fatores mencionados acima, a formulação comercial pode se tornar mais tóxica do que apenas o princípio ativo. Estas formulações são conhecidas por apresentarem, além do ingrediente ativo, outros compostos, como surfactantes, adicionados ao composto-mãe para aumentar a eficácia física e química do agrotóxico. No entanto, tais compostos podem aumentar significativamente a toxicidade em organismos não-alvo (COX e SURGAN, 2006; PEREIRA et al., 2009). Nesse sentido, nas demais investigações realizadas nesta tese com a formulação comercial da abamectina (Capítulo 3), verificou-se efeito tóxico do Vertimec® 18CE para *D. similis* por um período de tempo maior do que o mencionado na literatura, e também do apresentado neste estudo. O efeito tóxico permaneceu durante todo o período do experimento (10 dias) no tratamento com a aplicação direta com o Vertimec® 18CE, confirmando a hipótese de que a formulação comercial acaba se tornando muitas vezes mais tóxica em função de permanecer por um período de tempo maior. Dessa forma, a toxicidade registrada em baixas concentrações para os organismos não-alvo pode ser ainda ampliada, uma vez que a aplicação na agricultura e nos animais é feita pela formulação comercial.

4.2. Ação da avermectina nos organismos-teste

Embora a atividade antiparasitária das AVM tenha sido descrita em 1979, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado. A dificuldade em identificar os mecanismos de ação se deve ao fato do agrotóxico atuar em múltiplos sítios de ligação e também por ser avaliado em sistemas biológicos distintos e, portanto, com sensibilidades diferentes (TURNER e SCHAEFFER, 1989).

Nos vertebrados, as AVM causam a neurotoxicidade e o mecanismo de ação está associado com o GABA, ácido gama-aminobutírico, presentes no sistema nervoso central (SNC). As AVM para os mamíferos são bem menos tóxicas, pois apresentam alto peso molecular e não atravessam facilmente a barreira hematoencefálica (BHE) no SNC (LANKAS e GORDON, 1989). De maneira geral, as AVM ligam-se aos receptores do GABA presentes na membrana pós-sináptica estimulando o fluxo de íons cloreto para o interior da célula nervosa, simulando o efeito "calmante" do GABA (PAYNE e SODERLUND, 1993; BLOOMQUIST, 2003). Neste estudo, a elevada toxicidade registrada para *D. rerio* pode ser atribuída, segundo Høy; Horsberg e Nafstad (1990), ao fato da AVM atravessar facilmente a barreira hematoencefálica dos peixes, sendo, portanto, mais susceptível aos efeitos tóxicos em peixes do que para mamíferos.

Em insetos e crustáceos, o mecanismo de ação das AVM consiste em induzir paralisia tônica da musculatura (faringe e músculos somáticos) e imobilização. A exposição à AVM pode resultar na ligação desse agrotóxico no sítio do receptor GABAérgico, ativando canais de cloreto na membrana pós-sináptica. Isso vai ocasionar um influxo de íons cloreto levando a uma hiperpolarização irreversível e, conseqüentemente, inibindo a condução de impulsos nervosos. Contudo, a AVM pode funcionar tanto como um agonista do GABA, quanto um estimulador da liberação do GABA, a partir de terminais pré-sinápticos inibitórios (ZUFALL; FRANKE e HATT, 1989; FREITAS et al., 1996; TIŠLER e ERŽEN, 2006). As AVM podem interagir com canais de cloreto mediados por outros neurotransmissores como o glutamato (MARTIN, 1997; SANDERSON et al., 2007; ŌMURA, 2008). Por outro lado, segundo Turner e Schaffer (1989), as AVM também podem ligar-se diretamente em sítios de canais do íon cloreto.

As conseqüências fisiológicas das AVM ainda não estão bem claras. No entanto, independentemente dos sítios de ligação das AVM, é de consenso entre os autores que a toxicidade é elevada para invertebrados aquáticos mesmo em baixas concentrações (FISHER e MROZIK, 1992; TIŠLER e ERŽEN, op. cit.; SANDERSON et al., op. cit.).

Conclui-se, diante do exposto, que a abamectina é extremamente tóxica para os organismos aquáticos em diferentes níveis tróficos (zooplâncton, inseto e peixe), em baixos níveis de concentrações (na ordem de ng L^{-1} para zooplâncton), mesmo considerando sua elevada taxa de degradação (praticamente desaparecendo em 48h). Pelos resultados obtidos salienta-se a necessidade de um maior controle no uso do produto na agricultura (dosagem, manipulação/carência da aplicação, bem como a forma como é comercializado), com especial atenção aos efeitos em organismos não-alvo do ecossistema terrestre e, conforme demonstrado no presente estudo, aos efeitos deletérios na biota aquática, principalmente em áreas agrícolas limítrofes aos recursos hídricos.

5. Referências bibliográficas

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnica, NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia* ssp (Cladocera, crustácea). 21p, 2004.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 15088. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. 19 p., 2004.

ALI, A.; NAYAR, J. K. Activity of an avermectin insecticide, abamectin (MK-936), against mosquitoes and chironomid midges in the laboratory. **J. Am. Mosq. Control. Assoc**., 1:3, p. 384-386, 1985.

ALI, A.; XUE, R. D.; ALAM, S. K. Ecotoxicological effects of abamectin (MK-936) on natural populations of selected invertebrates in man-made ponds. **Med. Entomol. Zool**. 48, p. 233–241, 1997.

BARATA, C.; BAIRD, D. J; MARKICHAND S. J. Influence of genetic and environmental factors on the tolerance of *Daphnia magna* Straus to essential and non-essential metals. **Aquatic Toxicology**. 42, p. 115-137, 1998.

BLOOMQUIST, J. R. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology** 54, p. 145–156, 2003.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin.** Springer Verlag. New York, 363 p., 1989.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. **Environ. Health Perspect.** 114, p.1803–1806, 2006.

CULLY, D. F. et al. Cloning of an avermectina-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, 371, 1994.

EGELER, P. Chronic toxicity of ivermectin to the benthic invertebrates *Chironomus riparius* and *Lumbriculus variegatus*. **J. Soils Sediments**, 10:3, p. 368-376, 2010.

ERŽER, N.K. Degradation of abamectin and doramectin on Sheep Grazed Pasture. **Ecotoxicology**, 14, p. 627–635, 2005.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. The chemistry and pharmacology of avermectinas. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**., 32, p. 537-53, 1992.

FONSECA A. L; ROCHA O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensis**, 16, p. 153–161, 2004.

FREITAS, R. M. C. et al. Effects of ivermectin on *Culex quinquefasciatus* larvae. **Rev. Inst. Med. trop**. São Paulo. 38:4, p. 293-297, 1996.

GARRIC, J. et al. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**, 69, p. 903-910, 2007.

GULLEY, D. D.; BOELTER, A. M. ; BERGMAN, H. L. Toxtat 3.4 Computer Program, 1994.

HALLEY, B. A.; NESSEL, R. J.; LU, A. Y. H. Environmental aspects of ivermectin usage in livestock: general considerations. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York. p.162-172, 1989.

HAMILTON, M.; RUSSO,R. C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentracions in toxicity biossays. **Environ. Sci. Tech**., 11, p. 714-719, 1977.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. 2 Ed. Lewis Publishers, Boca Raton, F. L. 384 p., 1995.

HØY, T.; HORSBERG, T. E.; NAFSTAD I. The disposition of ivermectin in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Pharmacol Toxicol.,** 67, p. 307–312, 1990.

JARDIM, G. M.; ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R. Ecotoxicological assessment of water and sediment of the Corumbataí River, SP, Brazil. **Braz. J. Biol.,** 68:1, p. 51-59, 2008.

KOIVISTO, S.; KETOLA, M.; WALLS, M. Comparison of five cladoceran species in short - and long-term copper exposure. **Hydrobiologia**, 248, p. 125-136, 1992.

KÖVECSES, J.; MARCOGLIESE, D.J. **Avermectins: Potential environmental risks and impacts on freshwater ecosystems in Quebec**. Scientific and Technical Report ST-233E. Environment Canada – Quebec Region, Environmental Conservation, St. Lawrence Centre. 72 p., 2005.

LANÇAS, F. L. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos. Ed. Rima, 46, p. 2004.

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. *In*: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 89-112, 1989.

MARTIN, R. J., Modes of action of anthelmintic drugs. **Vet J**., 154, p. 11–34, 1997.

MELLIN, T.; BUSCH, R.D.; WANG, C.C. Postsynaptic inhibition of invertebrate neuromuscular transmission by avermectin B_{1a}. **Neuropharmacology**, 22, p. 89–96, 1983.

NEWMAN, M. C.; CLEMENTS, W. H. **Ecotoxicology: a comprehensive treatment**. CRC Press, Boca Raton, New York. 852 p., 2008.

ŎMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 31, p. 91–98, 2008.

PAYNE, G.T.; SODERLUND, D.M. Actions of avermectin analogs on γ-aminobutyric acid (GABA)-sensitive and GABA-insensitive chloride channels in mouse brain. **Pestic. Bioch. Physiol.**, 47:3, p. 178-184, 1993.

PEREIRA, J. L. et al. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. **Ecotoxicology**, 18, p. 455–463, 2009.

SÁNCHEZ-BAYO, F. Comparative acute toxicity of organic pollutants and reference values for crustaceans. I. Branchiopoda, Copepoda and Ostracoda. **Environmental Pollution**, 139, p. 385-420, 2006.

SANDERSON. H. et al. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. **Aquatic Toxicology**, 85, p. 229–240, 2007.

STUHLBACHER, A. et al. Variation in the development of cadmium resistance in *Daphnia magna* straus; Effect of temperature, nutrition, age and genotype. **Environmental Pollution**, 80, p. 153-158, 1993.

SUEDEL, B. C.; RODGERS JR, J. H.; DEAVER, E. Experimental Factors That May Affect Toxicity of Cadmium to Freshwater Organisms. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**., 33, p. 188–193, 1997.

TIŠLER, T.; ERŽEN, N. K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**, 15, p. 495-502, 2006.

TURNER, M. J.; SCHAEFFER, J. M. Mode of action of ivermectin. *In*: CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. Springer Verlag. New York, p. 73-88, 1989.

WISLOCKI, P. G; GROSSO, L. S; DYBAS, R. A. Environmental aspects of abamectin use in crop protection. *In*: CAMPBELL W.C. **Ivermectin and abamectin**. Springer Verlag, New York, p. 182–200, 1989.

ZUFALL, F.; FRANKE, CH.; HATT, H. The insecticide avermectin B_{1a} activates a chloride channel in crayfish muscle membrane. **Biol**., 142, p. 191-205, 1989.

Considerações finais

Em relação à hipótese apresentada no início da tese, os resultados obtidos permitem concluir que o agrotóxico Vertimec® 18CE (associado ao *runoff* e lançado diretamente no corpo hídrico) e o seu princípio ativo, a abamectina, causaram efeito tóxico mesmo em baixas concentrações para os organismos aquáticos pertencentes a diferentes níveis tróficos (zooplâncton, inseto e peixe). Tal afirmação se baseia nos seguintes pontos:

- Em experimentos laboratoriais, o *runoff* proveniente de parcelas de solo contaminadas com o Vertimec® 18CE, na concentração comumente aplicada em culturas de morango, ocasionou toxicidade aguda e crônica aos organismos-teste zooplanctônicos e bentônicos. Concentrações subletais do *runoff* ocasionaram danos estruturais nas brânquias de juvenis de *Danio rerio* (peixe);
- Nos mesocosmos, o Vertimec® 18CE, associado a partículas de solo (via *runoff*, cerca de 4 $\mu g\ L^{-1}$ da concentração nominal) e puro (40 $\mu g\ L^{-1}$ da concentração nominal), ocasionou alterações na estrutura (composição e densidade) da comunidade zooplanctônica, com efeitos agudos e crônicos para Copepoda e Cladocera (redução da densidade e alteração na composição), sendo menos tóxico para Rotifera;
- A abamectina, ingrediente ativo do Vertimec® 18CE, demonstrou ser muito tóxica, mesmo em baixas concentrações, para os organismos aquáticos em diferentes níveis tróficos (zooplâncton, inseto e peixe), verificando-se que zooplâncton (representado por *D. similis*) foi mais sensível (concentração efetiva média em $ng\ L^{-1}$) do que insetos (*C. xanthus*) e peixes (*D. rerio*).

Com relação à degradação da abamectina (meia-vida), foi verificada sua acentuada degradação nas soluções-teste, restando apenas o valor médio de cerca de 3% da concentração inicial do produto em 48 horas de exposição. Entretanto, a formulação comercial demonstrou ter uma permanência maior nas amostras de água, tendo sido registrados valores crescentes de toxicidade ao longo do tempo (conforme demonstrado no capítulo 1). Pelos resultados obtidos para *D. similis* (avaliação da toxicidade do *runoff*) verificou-se um aumento da toxicidade em função do tempo de armazenamento da amostra, de forma que após 11 dias a mesma amostra foi cerca de 3 vezes mais tóxica do que a do primeiro dia. Corroborando estes resultados, os experimentos realizados com a água dos tratamentos RC (*runoff* contaminado) e V (adição direta do Vertimec® 18CE) dos mesocosmos demonstraram toxicidade aguda para *D. similis*

em até 168h e durante todo o período experimental (240h), respectivamente, evidenciando, dessa forma, uma degradação mais lenta da formulação comercial e, de forma adicional, os efeitos de outras substâncias de igual ou maior toxicidade do que a abamectina (ingrediente ativo), o que aumenta a possibilidade de risco em relação ao uso do produto.

As propriedades da abamectina, mencionadas em literatura e no presente estudo (Capítulo 5), como a sua rápida fotodegradação na água e a sua afinidade por partículas sólidas, sugerem que este produto não ficaria muito tempo no ambiente aquático. No entanto, os resultados deste trabalho com a fórmula comercial demonstraram uma permanência maior no ambiente quando comparado ao ingrediente ativo, aumentando, dessa forma, a toxicidade para os organismos aquáticos numa escala temporal. Diante dos resultados aqui expostos, pode-se inferir que o escoamento superficial de culturas tratadas com esse agrotóxico representa um sério risco à estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos, demonstrando o potencial tóxico do produto mesmo em concentrações muito baixas, o que ressalta a necessidade de se realizar estudos com cenários mais realísticos para poder subsidiar as agências ambientais à tomada de decisões das práticas agrícolas e áreas afins.

Apesar dos riscos apontados neste estudo, recentemente a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), por meio da resolução n° 2.248, publicada no Diário Oficial da União em 19/05/2010, ainda continua autorizando o uso agrícola da abamectina (BRASIL, 2010; ANVISA 2010a). Para a cultura de morango, por exemplo, a concentração permitida é de 0,02 mg Kg^{-1} com intervalo de segurança de três dias (Figura 1, Anexo A). Tal resolução torna-se ainda mais preocupante, uma vez que os resultados do presente estudo evidenciaram não só uma permanência maior do produto no ambiente como também as baixas concentrações que ocasionaram toxicidade para os organismos em questão, as quais foram em média da ordem de $\mu g\ L^{-1}$. Outro ponto a ser destacado é com relação à classificação toxicológica do ingrediente ativo e da formulação comercial. Embora a ANVISA classifique a abamectina na classe toxicológica I (extremamente tóxica), a formulação comercial (Vertimec® 18CE) continua classificada como III (medianamente tóxico) (Figura 2, Anexo A) (ANVISA, 2010b).

Também deve ser considerada a forma de registro dos agrotóxicos. No Brasil, em geral, o registro é baseado, no que se refere aos estudos ecotoxicológicos, somente no ingrediente ativo, em vez da formulação comercial. No entanto, os estudos vêm indicando que outros compostos adicionados ao ingrediente ativo podem aumentar significativamente a toxicidade em organismos não-alvo (COX e SURGAN, 2006; PEREIRA et al., 2009), sendo que para esses compostos não são previstos testes de toxicidade convencionais de forma

similar ao ingrediente ativo. Diante desse fato, torna-se eminente a necessidade de revisão da forma pela qual os registros dos agrotóxicos no Brasil vêm sendo aprovados.

Outra questão adicional a ser mencionada relaciona-se aos usos incorretos do produto, o que se verifica desde a aquisição (às vezes sem receituário) até a aplicação (sem qualquer forma de proteção, como o uso de Equipamentos de Proteção Individual - EPIs) e comercialização do produto final, uma vez que não se verifica o efetivo controle na dose e no período de carência (ESPÍNDOLA e BRIGANTE, 2009). Tais fatores, de forma isolada ou combinada, colocam em risco não apenas os ecossistemas terrestres e aquáticos, mas também de forma direta os agricultores, os usuários das águas (considerando o abastecimento nas zonas rurais sem qualquer tipo de tratamento) de áreas próximas as dos plantios (como é o caso de Bom Repouso, em Minas Gerais, local que justificou essa pesquisa) bem como os consumidores finais dos produtos gerados na região.

Assim, a adoção de medidas de segurança visando o agricultor, o meio ambiente e o consumidor se faz prioritária, sendo de fundamental importância um controle mais efetivo no registro do produto, na venda do agrotóxico ao agricultor, no controle sobre o uso e na comercialização do produto final, contribuindo para a redução dos riscos à saúde humana e dos ecossistemas.

Referências bibliográficas

ANVISA a – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de agrotóxicos. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/f6007e8041a333e185abd5255d42da10/A18++ Abamectina.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 07/09/2010.

ANVISA b - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. SIA: sistema de informações sobre agrotóxicos. Disponível em:< http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_agrotoxico. asp?iVarAux=1 &MarcaCod=573>. Acesso em: 7/09/2010.

BRASIL. Resolução - RE nº 2.248, de 18 de maio de 2010. Regimento Interno aprovado considerando a necessidade de adequação da "Relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos". Disponível em: <http://www.in.gov.br/imprensa/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=38&data= 19/05/2010>. Acesso em: 07/09/2010.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. **Environ. Health Perspect.**, 114, p. 1803–1806, 2006.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J. **Projeto Mogi-Guaçu: desenvolvendo ações socioambientais.** 1 ed. São Carlos, SP: Rima Editora, v. 1. 382 p., 2009.

PEREIRA, J. L. et al. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. **Ecotoxicology**, 18, p. 455–463, 2009.

Apêndice A
Resultados limnológicos

Tabela 1. Valores de pH, condutividade (Cond), oxigênio dissolvido (OD), dureza, turbidez (Turb), material em suspensão total (MST), material em suspensão inorgânico (MSI) e material em suspensão orgânico (MSO) obtidos das amostras do *runoff* não contaminado e contaminado (Experimento realizado em fevereiro de 2008).

Amostras	pH	Cond ($\mu S\ cm^{-1}$)	OD ($mg\ L^{-1}$)	Dureza ($mg\ L^{-1}$)	Turb (NTU)	MST ($mg\ L^{-1}$)	MSI ($mg\ L^{-1}$)	MSO ($mg\ L^{-1}$)
RNC 3,125%	7,71	182,60	6,81	42	37	37,38	26,23	11,15
RNC 6,25	7,60	151,00	6,82	42	78	77,93	64,00	13,93
RNC 12,5%	7,52	141,80	6,82	38	166	155,67	132,90	22,77
RNC 25%	7,38	124,80	6,84	38	356	381,35	321,15	60,20
RNC 50%	7,08	92,00	6,81	24	550	900,30	754,00	146,30
RNC 100%	6,59	25,90	6,77	4	930	4111,09	3371,91	739,18
RC 3,125%	7,57	152,70	6,81	42	30	50,27	39,87	10,40
RC 6,25%	7,50	148,30	6,85	44	68	159,43	131,97	27,47
RC 12,5%	7,41	139,60	6,8	36	128	262,77	222,43	40,33
RC 25%	7,11	120,60	6,76	32	262	760,60	633,65	126,95
RC 50%	6,92	86,90	6,76	24	400	1163,45	898,40	265,05
RC 100%	6,36	20,50	6,62	4	890	4419,10	3724,00	695,10

Tabela 2. Valores dos componentes principais e fatores de explicação dos parâmetros avaliados nos mesocosmos ao longo do período experimental (Capítulo 3).

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
MSI	0,936	0,197	-0,102
MSO	0,919	0,226	-0,078
pH	0,350	-0,836	0,286
Condutividade	-0,735	0,287	0,356
OD	0,295	-0,824	0,023
Turbidez	0,939	0,261	-0,110
Temperatura	0,293	-0,532	-0,375
Nitrogênio T.	-0,423	0,184	-0,779
Fósforo T.	0,652	0,525	0,317

Tabela 3. Valores dos componentes principais e fatores de explicação dos parâmetros avaliados nos mesocosmos ao longo do período experimental (Capítulo 4).

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
Nitrogênio Total	0,158	0,351	0,576
Nitrito	-0,973	0,081	0,068
Nitrato	0,070	-0,354	0,728
Íon amônio	-0,272	-0,117	0,739
Fósforo Total	-0,714	0,264	-0,298
Fosfato Inorgânico	-0,989	0,046	0,007
Fosfato Total Dissolvido	-0,797	0,521	0,060
Mat. Susp. Inorgânico	-0,950	-0,150	-0,050
Mat. Susp. Orgânico	-0,876	-0,026	-0,011
pH	0,001	-0,888	-0,225
Condutividade	0,604	0,466	-0,193
OD	-0,021	-0,898	-0,074
Temperatura	-0,061	-0,572	0,010
Turbidez	-0,940	-0,177	-0,029

Tabela 4. Valores das variáveis físicas e químicas da água obtidos nos mesocosmos (segunda réplica), durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos) (Resultados do Capítulo 4).

Período (horas)	**0**	**3**	**48**	**96**	**168**	**240**
			Fósforo total (µg L^{-1})			
C	45,24	81,08	71,88	59,36	78,71	53,58
RNC	32,6	58,66	295,42	84,64	103,78	58,38
RC	45,05	267,67	328,43	128,94	139,86	70,34
V	32,41	176,65	186,59	69,36	121,25	109,12
A	45,24	82,24	223,7	104,46	130,57	188,72
			Fosfato total dissolvido (µg L^{-1})			
C	9,91	3,52	19,04	21,27	16,73	11,95
RNC	12,14	24,30	54,04	31,28	21,18	16,88
RC	9,29	34,16	64,53	52,75	33,84	22,19
V	12,79	6,56	28,8	28,7	22,05	16,49
A	15,12	4,77	23,18	21,09	22,83	18,11
			Fosfato inorgânico (µg L^{-1})			
C	5,59	3,00	5,31	6,98	3,64	3,41
RNC	4,93	23,03	31,1	11,44	3,77	3,31
RC	4,91	32,53	37,76	21,06	10,87	4,71
V	4,78	4,08	5,97	6,33	4,83	4,51
A	5,5	3,31	7,56	4,15	5,00	2,67
			Nitrogênio total (mg L^{-1})			
C	0,89	0,19	0,47	0,07	1,35	0,84
RNC	0,89	0,33	0,33	0,61	1,17	0,61
RC	1,35	0,19	0,93	1,45	1,21	0,56
V	1,7	0,19	0,51	0,56	0,98	0,07
A	2,29	0,33	0,65	1,17	0,61	0,7
			Nitrito (µg L^{-1})			
C	1,46	1,51	1,93	1,56	0,94	0,83
RNC	1,79	13,23	18,44	5,28	2,84	2,16
RC	2,15	16,51	20,75	13,14	8,3	2,69
V	1,37	1,50	1,95	1,26	0,83	0,88
A	2,93	1,34	1,46	1,05	1,47	1,43
			Nitrato (µg L^{-1})			
C	21,53	24,6	14,71	13,9	25,69	12,62
RNC	20,44	18,41	15,73	16,41	8,72	12,63
RC	28,91	16,33	19,22	16,0	8,74	49,11
V	27,65	16,21	19,54	15,63	10,61	19,03
A	24,99	16,48	17,42	14,6	8,99	9,32
			Íon amônio (µg L^{-1})			
C	52,07	154,54	30,29	64,65	39,19	18,73
RNC	84,96	25,74	67,72	4,09	50,01	38,79
RC	22,08	147,86	68,45	100,94	148,18	192,35
V	74,22	19,6	43,19	63,22	37,8	16,03
A	107,64	26,29	42,71	48,48	33,73	14,62

Tabela 5. Valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura obtidos *in situ*, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (segunda réplica), (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório) (Resultados do Capítulo 4).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			pH			
C	7,89	8,45	7,36	6,83	6,63	6,70
RNC	7,64	7,97	6,7	6,57	6,53	6,41
RC	7,21	7,72	6,68	6,72	5,85	6,69
V	6,95	8,27	7,7	7,63	6,51	7,43
A	6,82	8,24	7,25	6,96	6,08	6,68
			Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})			
C	10,20	11,00	6,51	5,03	4,21	6,76
RNC	8,93	10,17	6,12	3,68	3,42	5,52
RC	10,79	10,75	5,68	3,98	3,00	5,14
V	9,39	11,00	5,84	5,65	5,65	8,64
A	8,64	11,42	5,60	4,82	3,65	6,47
			Condutividade (μS cm^{-1})			
C	71,67	73,00	74,00	77,00	79,00	83,00
RNC	71,67	59,50	65,00	71,00	76,00	78,00
RC	71,00	58,00	66,00	71,00	78,00	83,00
V	75,00	75,00	76,00	78,00	80,00	83,00
A	84,00	83,00	88,5	94,00	104,00	111,00
			Temperatura (^oC)			
C	25,47	28,20	23,6	25,05	26,60	22,75
RNC	25,63	27,75	23,6	25,05	26,60	22,80
RC	25,83	27,40	23,7	25,00	26,50	22,85
V	25,57	27,90	23,7	25,00	26,40	22,85
A	25,4	27,55	23,7	25,10	26,50	22,75

Tabela 6. Valores de material em suspensão inorgânico e orgânico das amostras de água coletadas dos mesocosmos (segunda réplica), durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos) (Resultados do Capítulo 4).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			Material em suspensão inorgânico (mg L^{-1})			
C	1,72	2,07	4,55	3,22	0,57	0,55
RNC	1,62	55,35	34,12	13,12	1,55	0,32
RC	1,72	72,70	56,5	19,70	7,45	2,55
V	0,17	0,64	1,50	0,20	1,72	1,50
A	1,22	2,54	3,15	1,77	2,12	2,22
			Material em suspensão orgânico (mg L^{-1})			
C	7,72	8,55	6,37	4,12	3,65	8,00
RNC	7,30	13,02	11,45	12,95	4,02	8,05
RC	6,80	25,53	38,15	11,9	9,25	5,52
V	6,35	8,52	7,15	3,60	3,35	4,42
A	7,72	8,90	7,95	6,10	6,95	6,50
			Turbidez (NTU)			
C	14	18	14	17	8	10
RNC	14	226	143	49	12	9
RC	13	282	194	95	38	15
V	14	11	13	17	9	8
A	17	17	17	14	10	12

Tabela 7. Lista de ocorrência das espécies de zooplâncton presentes nos mesocosmos, durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: aplicação direta do Vertimec e A: amostras aleatórias entre os mesocosmos).

Período (horas)	**0**					**3**					**48**					**96**					**168**					**240**				
Taxa Tratamentos	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
Anuraeopsis fissa	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x		x	x	x			x		x		x	x
Bdelloidea sp1					x		x				x	x	x	x				x					x			x		x	x	
Bdelloidea sp2						x										x			x		x	x								
Bdelloidea sp3		x		x			x			x			x	x	x				x	x		x	x					x		
Brachionus dolabratus			x		x							x	x		x										x					
Brachionus quadridentatus												x				x	x		x			x		x			x		x	
Cephalodella gibba			x				x	x	x	x			x		x			x		x	x	x	x	x	x			x	x	x
Epiphanes cf. *macrourus*	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Horaella thomassoni	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					x					x					x
Kellicotia bostonienses								x															x							
Keratela tropica reducta	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x				x	x
keratela tropica tropica																x					x	x	x		x	x	x	x	x	x
Keratela americana																						x					x			
Lecane bulla						x						x	x						x		x		x	x				x	x	x
Lecane hamata												x							x									x	x	
Lecane leontina																														
Lepadella acuminata																x														
Polyartra vulgaris													x									x					x	x		x
Squatinela mutica mutica																					x					x				
Trichocerca pusilla	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					x					x					x
Taphrocampa annulosa			x			x	x	x			x	x						x												
COPEPODA																														
Calanoida																														
Náuplio	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x		x	x	x			x	x	x			x	x	x			x
Copepodito	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x			x	x	x			x	x	x			x	x	x			x
Notodiaptomus iheringi ♂	x	x	x		x	x	x			x		x			x	x	x				x	x			x	x	x			x
Notodiaptomus iheringi ♀	x	x	x		x	x	x				x	x			x	x	x			x	x	x	x		x	x	x			x
Argyrodiaptomus furcatus ♂																											x			
Argyrodiaptomus furcatus ♀																											x			
Cyclopoida																														
Náuplio	x				x																						x			
Copepodito	x																								x		x			
Harpaticoida																														
Náuplio						x										x	x				x						x			
CLADOCERA																														
Bosmina freyi																	x					x					x			
Ceriodaphnia silvestrii		x					x					x					x					x					x	x		
Alona guttata												x				x					x	x				x	x			
Diaphanosoma birgei																				x		x					x			

Tabela 8. Densidade (ind L^{-1}) do zooplâncton no mesocosmo controle (C).

Taxa	0h	3h	48h	96h	168h	240h
ROTIFERA						
Anuraeopsis fissa	2187	2524	3929	0	142	0
Bdelloidea sp1	0	0	18	0	0	18
Bdelloidea sp3	0	18	0	18	18	0
Brachionus quadridentatus	0	0	0	18	0	0
Cephalodella gibba	0	0	0	0	18	0
Epiphanes cf. *macrourus*	320	1191	1564	3733	2613	302
Horaella thomassoni	551	2133	2311	0	0	0
Keratela tropica reducta	213	391	658	142	36	0
keratela tropica tropica	0	0	0	36	36	142
Lecane bulla	0	18	0	0	18	0
Lepadella acuminata	0	0	0	18	0	0
Squatinela mutica mutica	0	0	0	0	18	53
Trichocerca pusilla	71	640	124	0	0	0
Taphrocampa annulosa	0	36	89	0	0	0
Subtotal	3342	6951	8693	3964	2898	516
COPEPODA						
Calanoida						
Náuplio	11	11	16	71	69	123
Copepodito	4	3	4	13	32	129
Notodiaptomus iheringi ♂	1	1	0	1	1	3
Notodiaptomus iheringi ♀	1	1	1	1	1	6
Subtotal	16	16	21	86	102	261
Cyclopoida						
Náuplio	1	0	0	0	0	0
Copepodito	1	0	0	0	0	0
Subtotal	2	0	0	0	0	0
Harpaticoida						
Náuplio	0	1	0	1	1	0
Subtotal	0	1	0	1	1	0
CLADOCERA						
Diaphanosoma birgei	0	0	0	1	1	1
Subtotal	0	0	0	1	1	1
TOTAL	3360	6968	8714	4052	3002	778

Tabela 9. Densidade (ind L^{-1}) do zooplâncton no mesocosmo *runoff* não contaminado (RNC).

Taxa	0h	3h	48h	96h	168h	240h
Anuraeopsis fissa	2169	1778	1653	0	18	18
Bdelloidea sp1	0	18	18	0	0	0
Bdelloidea sp2	0	0	0	0	18	0
Bdelloidea sp3	18	18	0	0	18	0
Brachionus dolabratus	0	0	18	0	0	0
Brachionus quadridentatus	0	0	53	18	36	36
Cephalodella gibba	0	18	0	0	18	0
Epiphanes cf. *macrourus*	1422	462	729	3004	1387	18
Horaella thomassoni	1884	2009	1351	0	0	0
Keratela tropica reducta	356	302	498	18	0	0
keratela tropica tropica	0	0	0	0	18	18
Keratela americana	0	0	18	0	0	0
Lecane bulla	0	18	0	0	0	0
Lecane hamata	0	18	0	0	0	0
Polyartra vulgaris	0	0	0	0	18	124
Trichocerca pusilla	107	409	71	0	0	0
Taphrocampa annulosa	0	36	36	0	0	0
Subtotal	5956	5084	4444	3040	1529	213
COPEPODA						
Calanoida						
Náuplio	9	11	27	29	15	11
Copepodito	7	4	10	16	36	4
Notodiaptomus iheringi ♂	1	1	2	1	3	1
Notodiaptomus iheringi ♀	1	1	1	2	5	2
A. furcatus ♂	0	0	0	0	0	2
A.furcatus fêmea ♀	0	0	0	0	0	3
Subtotal	18	17	40	48	59	23
Cyclopoida						
Náuplio	0	0	0	0	0	1
Copepodito	0	0	0	0	0	1
Subtotal	0	0	0	0	0	2
Harpaticoida						
Náuplio	0	0	0	1	0	1
Subtotal	0	0	0	1	0	1
CLADOCERA						
Bosmina freyi	0	0	0	1	1	1
Ceriodaphnia silvestrii	0	1	1	1	4	17
Alona guttata	0	0	1	0	1	1
Diaphanosoma birgei	0	0	0	0	1	8
Subtotal	0	1	2	1	7	27
TOTAL	5974	5102	4486	3090	1595	264

Tabela 10. Densidade (ind L^{-1}) do zooplâncton no mesocosmo *runoff* contaminado (RC).

Taxa	0h	3h	48h	96h	168h	240h
Anuraeopsis fissa	2436	3182	4053	5	0	0
Bdelloidea sp1	0	0	18	5	18	107
Bdelloidea sp3	0	0	18	0	18	36
Brachionus dolabratus	18	0	18	0	0	0
Cephalodella gibba	18	18	18	3	53	124
Epiphanes cf. *macrourus*	178	107	747	280	818	1227
Horaella thomassoni	2542	2080	2027	0	0	0
Kellicotia bostonienses	0	18	0	0	18	0
Keratela tropica reducta	391	356	836	3	18	0
keratela tropica tropica	0	0	0	0	36	267
Lecane bulla	0	0	36	0	53	53
Lecane hamata	0	0	0	0	0	18
Polyartra vulgaris	0	0	18	0	0	160
Squatinela mutica mutica	0	0	0	0	0	0
Trichocerca pusilla	142	356	89	0	0	0
Taphrocampa annulosa	18	18	0	5	0	0
Subtotal	5742	6133	7876	301	1031	1991
COPEPODA						
Calanoida						
Náuplio	6	0	1	0	0	0
Copepodito	3	0	0	0	0	0
Notodiaptomus iheringi ♂	1	0	0	0	0	0
Notodiaptomus iheringi ♀	1	0	0	0	1	0
Subtotal	11	0	1	0	1	0
CLADOCERA						
Ceriodaphnia silvestrii	0	0	0	0	0	1
Subtotal	0	0	0	0	0	1
TOTAL	5753	6133	7877	301	1032	1992

Tabela 11. Densidade (ind L^{-1}) do zooplâncton no mesocosmo com Vertimec® 18CE puro (V).

Taxa	0h	3h	48h	96h	168h	240h
Anuraeopsis fissa	4320	1902	711	0	0	36
Bdelloidea sp1	0	0	18	0	0	18
Bdelloidea sp2	0	0	0	18	0	0
Bdelloidea sp3	18	0	18	18	0	0
Brachionus quadridentatus	0	0	0	18	18	18
Cephalodella gibba	0	18	0	0	18	160
Epiphanes cf. *macrourus*	53	71	53	587	800	3769
Horaella thomassoni	5013	3413	1778	0	0	0
Keratela tropica reducta	462	356	747	89	89	160
keratela tropica tropica	0	0	0	0	0	18
Lecane bulla	0	0	0	18	18	18
Lecane hamata	0	0	0	18	0	36
Trichocerca pusilla	213	302	249	0	0	0
Taphrocampa annulosa	0	0	0	0	0	0
Subtotal	10080	6062	3573	764	942	4231
COPEPODA						
Calanoida						
Náuplio	1	0	0	0	0	0
Copepodito	1	0	0	0	0	0
Subtotal	3	0	0	0	0	0
TOTAL	10083	6062	3573	764	942	4231

Tabela 12. Densidade (ind L^{-1}) do zooplâncton no tratamento aleatório (A).

Taxa	0h	3h	48h	96h	168h	240h
Anuraeopsis fissa	5298	2809	2560	5547	2524	658
Bdelloidea sp1	18	0	0	0	0	0
Bdelloidea sp3	0	18	18	36	0	0
Brachionus dolabratus	18	0	18	0	18	0
Cephalodella gibba	0	18	18	36	18	18
Epiphanes cf. *macrourus*	36	18	36	71	36	160
Horaella thomassoni	978	533	658	196	124	18
Keratela tropica reducta	249	71	249	196	213	249
keratela tropica tropica	0	0	0	0	18	71
Lecane bulla	0	0	0	0	0	18
Polyartra vulgaris	0	0	0	0	0	18
Squatinela mutica mutica	0	0	0	0	0	0
Trichocerca pusilla	160	196	142	196	302	444
Subtotal	6756	3662	3698	6276	3253	1653
COPEPODA						
Calanoida						
Náuplio	9	4	18	21	7	3
Copepodito	1	2	3	2	7	11
Notodiaptomus iheringi ♂	1	1	1	0	2	4
Notodiaptomus iheringi ♀	1	0	1	1	1	1
Subtotal	13	7	23	24	17	19
Cyclopoida						
Náuplio	1	0	0	0	0	0
Copepodito	0	0	0	0	1	0
Subtotal	1	0	0	0	1	0
CLADOCERA						
Diaphanosoma birgei	0	0	0	1	0	0
Subtotal	0	0	0	1	0	0
TOTAL	6769	3669	3721	6301	3272	1672

Tabela 13. Abundância relativa (%) do grupo Rotifera nos mesocosmos ao longo do período experimental.

Período (horas)	**0**	**3**	**48**	**96**	**168**	**240**
Controle (C)						
Anuraeopsis fissa	65,45	36,32	45,20	0	4,90	0
Epiphanes macrourus	9,57	17,14	17,99	94,17	90,20	58,64
Horaella thomassoni	16,49	30,70	26,59	0	0	0
keratela tropica tropica	0	0	0	0,88	1,20	27,58
Outros	8,49	15,84	10,22	4,95	3,70	13,78
***Runoff* não contaminado (RNC)**						
Anuraeopsis fissa	36,42	34,97	37,2	0	1,16	8,34
B.quadridentatus	0	0	1,2	0,58	2,32	16,66
Epiphanes cf. *macrourus*	23,88	9,09	16,4	98,84	90,70	8,34
Horaella thomassoni	31,65	39,51	30,4	0	0	0
Keratela tropica reducta	5,98	5,95	11,2	0,58	0	0
Polyartra vulgaris	0	0	0	0	1,17	58,33
Outros	2,07	10,48	3,6	0	4,65	8,33
***Runoff* contaminado (RC)**						
Anuraeopsis fissa	42,42	51,88	51,47	1,77	0	0
Epiphanes cf. *macrourus*	3,09	1,74	9,48	92,92	79,31	61,60
Horaella thomassoni	44,27	33,92	25,73	0	0	0
Keratela tropica reducta	6,82	5,80	10,61	0,88	1,72	0
keratela tropica tropica	0	0	0	0	3,45	13,40
Outros	3,40	6,66	2,71	4,43	15,52	25
Vertimec® 18CE puro (V)						
Anuraeopsis fissa	42,87	31,38	19,90	0	0	0,84
Epiphanes cf. *macrourus*	0,53	1,18	1,50	76,74	84,90	89,08
Horaella thomassoni	49,73	56,30	49,75	0	0	0
Keratela tropica reducta	4,58	5,86	20,89	11,62	9,43	3,78
Outros	2,29	5,28	7,96	11,62	5,67	6,30
Aleatório (A)						
Anuraeopsis fissa	78,42	76,70	69,24	88,38	77,59	39,79
Horaella thomassoni	14,47	14,56	17,79	3,12	3,82	1,07
Keratela tropica reducta	3,69	1,95	6,72	3,12	6,56	15,05
Trichocerca pusilla	2,37	5,34	3,85	3,12	9,29	26,89
Outros	1,05	1,45	2,40	2,26	2,74	17,20

Tabela 14. Abundância relativa (%) de Copepoda nos mesocosmos ao longo do período experimental.

Período (horas)	**0**	**3**	**48**	**96**	**168**	**240**
Controle (C)						
N. iheringi ♂	5,45	5,88	0	1,15	0,97	1,28
N. iheringi ♀	5,45	5,88	4,76	1,54	0,97	2,30
Jovens Calanoida	78,19	82,35	95,24	96,15	97,10	96,42
Jovens Cyclopoida	10,91	0	0	0	0	0
Jovens Harpaticoida	0	5,89	0	1,16	0,96	0
***Runoff* não contaminado (RNC)**						
N. iheringi ♂	5,45	5,88	4,17	2,04	4,55	5,19
N. iheringi ♀	7,27	5,88	3,33	3,40	7,95	7,79
A. furcatus ♂	0	0	0	0	0	6,50
A. furcatus ♀	0	0	0	0	0	11,69
Jovens Calanoida	87,28	88,24	92,5	92,52	87,5	57,14
Jovens Cyclopoida	0	0	0	0	0	7,79
Jovens Harpaticoida	0	0	0	2,04	0	3,90
***Runoff* contaminado (RC)**						
N. iheringi ♂	9,09	0	0	0	0	0
N. iheringi ♀	9,09	0	0	0	100	0
Jovens Calanoida	81,82	0	100	0	0	0
Vertimec® 18CE puro (V)						
Jovens Calanoida	100	0	0	0	0	0
Aleatório (A)						
N. iheringi ♂	7,32	15	4,35	0	10,91	19,64
N. iheringi ♀	9,76	0	4,35	4,17	5,45	5,36
Jovens Calanoida	75,60	85	91,30	95,83	78,19	75
Jovens Cyclopoida	7,32	0	0	0	5,45	0

Tabela 15. Abundância relativa (%) do grupo Cladocera nos mesocosmos ao longo do período experimental.

Período (horas)	**0**	**3**	**48**	**96**	**168**	**240**
Controle (C)						
Diaphanosoma birgei	0	0	0	100	100	100
***Runoff* não contaminado (RNC)**						
Bosmina freyi	0	0	0	50	13,64	4,88
Ceriodaphnia silvestrii	0	100	50	50	54,54	62,20
Alona guttata	0	0	50	0	18,18	3,66
Diaphanosoma birgei	0	0	0	0	13,64	29,26
***Runoff* contaminado (RC)**						
Ceriodaphnia silvestrii	0	0	0	0	0	100
Aleatório (A)						
Diaphanosoma birgei	0	0	0	100	0	0

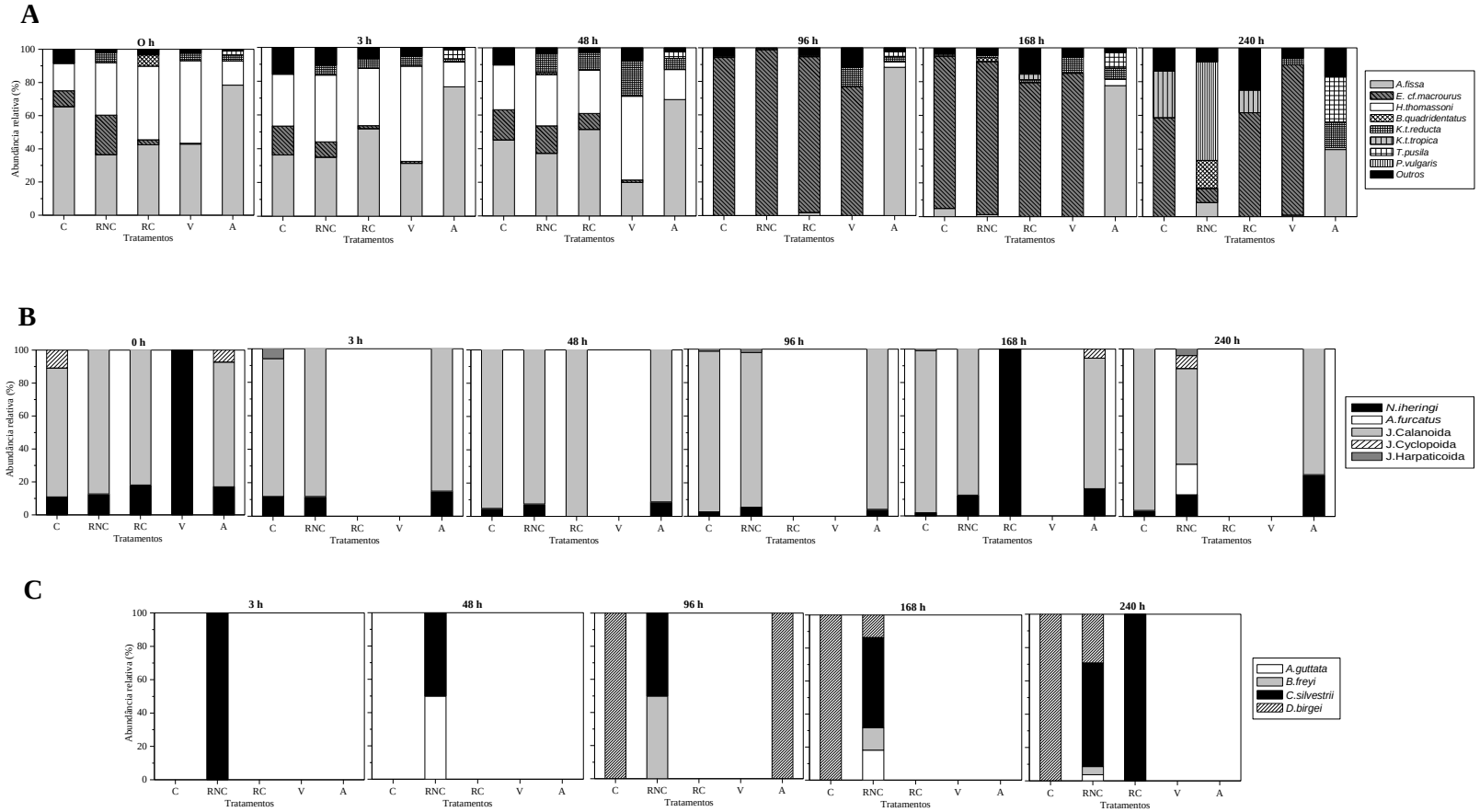


Figura 1. Variação temporal da abundância relativa da comunidade zooplanctônica nos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório). Em A: Rotífera; em B: Copepoda *N. inheringi* (machos e fêmeas), *Argyrodiaptomus furcatus* (machos e fêmeas) e Jovens (nauplii e copepodito), e em C: Cladocera.

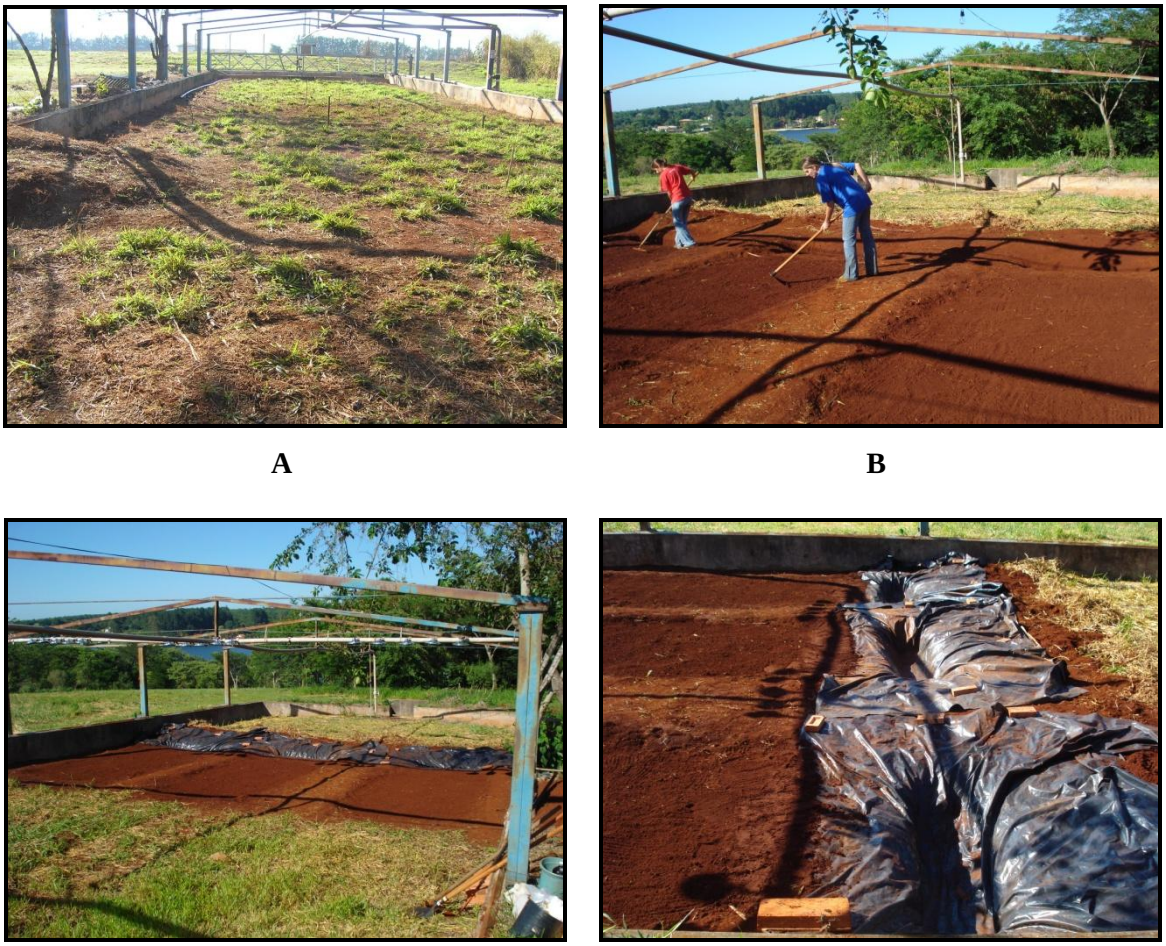
Tabela 16. Índices ecológicos calculados para Rotifera nos diferentes tratamentos dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			Diversidade Shannon (bits ind^{-1})			
C	1,52	2,12	1,92	0,44	0,72	1,38
RNC	1,92	2,10	2,16	0,10	0,70	1,78
RC	1,67	1,67	1,87	0,53	1,28	1,89
V	1,49	1,60	1,87	1,78	1,10	0,79
A	1,07	1,15	1,43	0,78	1,23	2,25
			Riqueza			
C	5	8	7	6	8	4
RNC	6	11	10	3	8	5
RC	7	7	11	5	8	8
V	6	6	7	7	5	9
A	7	7	8	7	8	9
			Equitabilidade			
C	0,66	0,71	0,69	0,17	0,24	0,69
RNC	0,74	0,61	0,65	0,07	0,23	0,77
RC	0,60	0,60	0,54	0,23	0,43	0,63
V	0,58	0,62	0,67	0,63	0,47	0,25
A	0,38	0,41	0,48	0,28	0,41	0,71

Tabela 17. Índices ecológicos calculados para microcrustáceos nos diferentes tratamentos dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).

Período (horas)	0	3	48	96	168	240
			Diversidade Shannon (bits ind^{-1})			
C	0,91	0,91	0	1,5	1,5	0,47
RNC	0	0,91	1,37	1,79	1,81	2,34
RC	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
A	0,91	0	0	1	0,81	0
			Riqueza			
C	2	2	1	3	3	2
RNC	1	2	3	4	5	8
RC	1	0	0	0	1	1
V	1	0	0	0	0	0
A	2	1	1	2	2	1
			Equitabilidade			
C	0,92	0,92	0	0,94	0,95	0,47
RNC	0	0,92	0,86	0,90	0,78	0,79
RC	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0
A	0,92	0	0	1	0,81	0

Apêndice B
Fotos do experimento



A **B**

C **D**

Figura 1. A figura A, ilustra o local onde o experimento foi realizado. Em B, ilustra a preparação da parcela de solo. C e D ilustram o solo já preparado e os sulcos revestidos por lona para armazenagem da água escoada superficialmente.

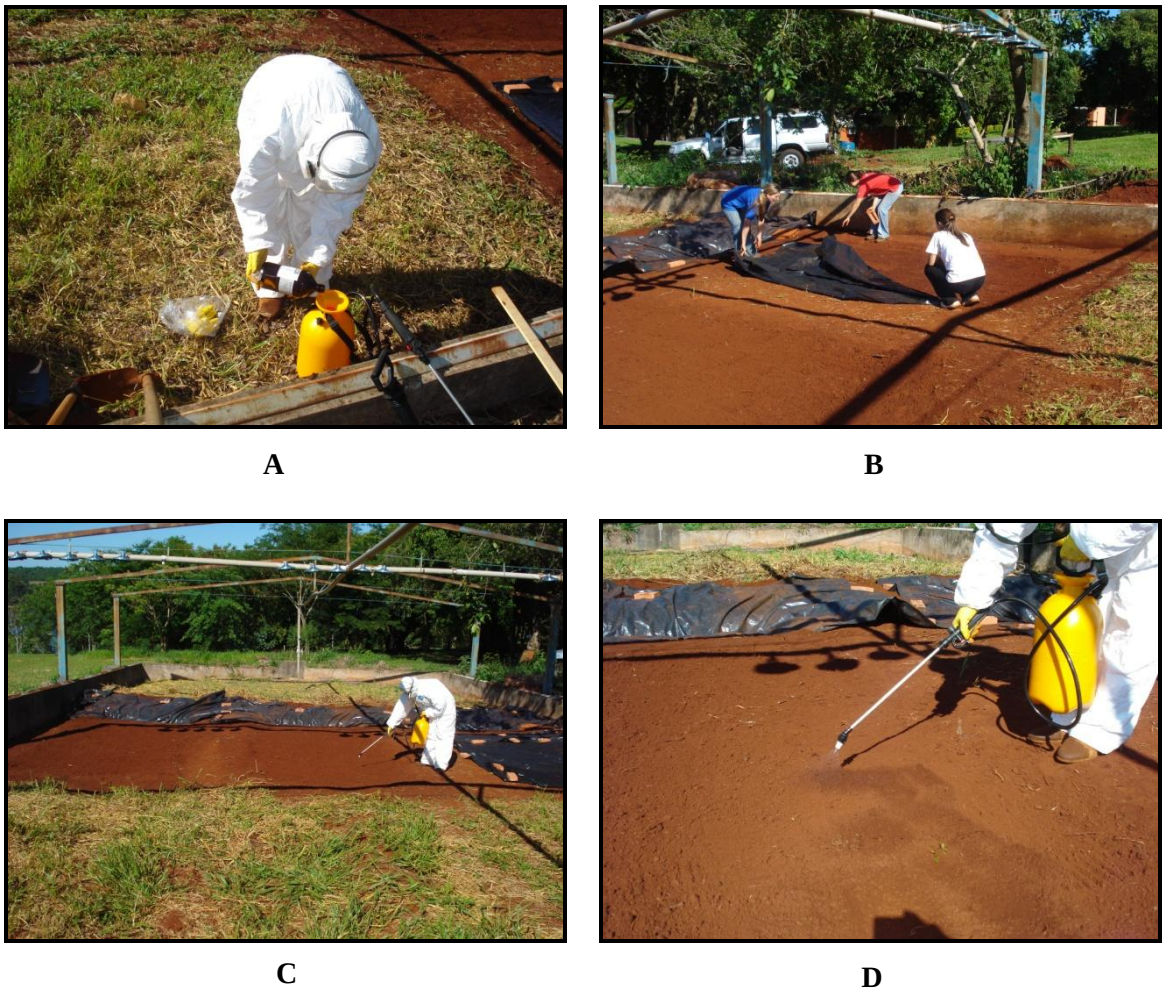


Figura 2. A figura A ilustra a preparação do pulverizador com o Vertimec® 18CE. Em B, a parcela controle sendo coberta com uma manta plástica para evitar contaminação. As figuras C e D ilustram a pulverização com o produto.

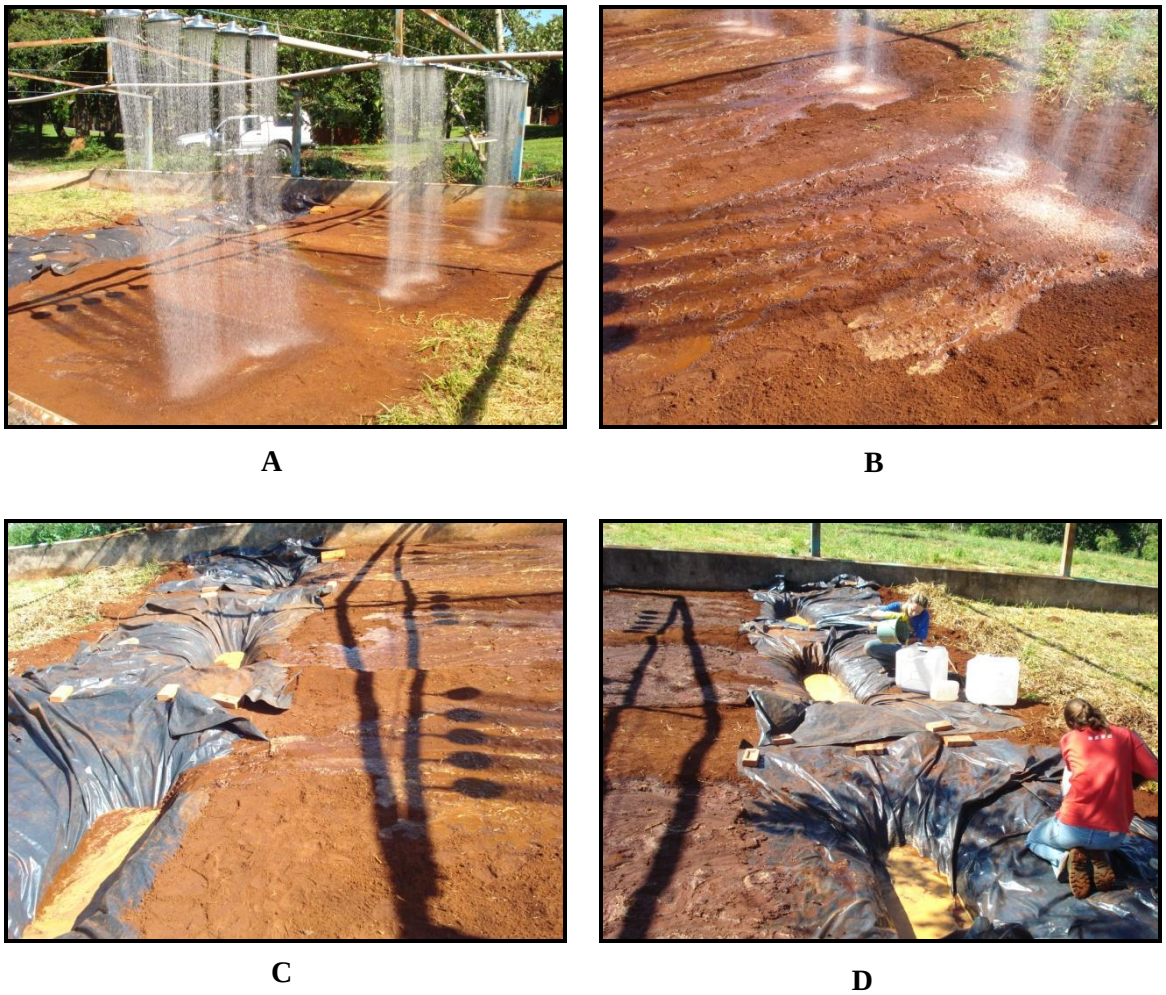
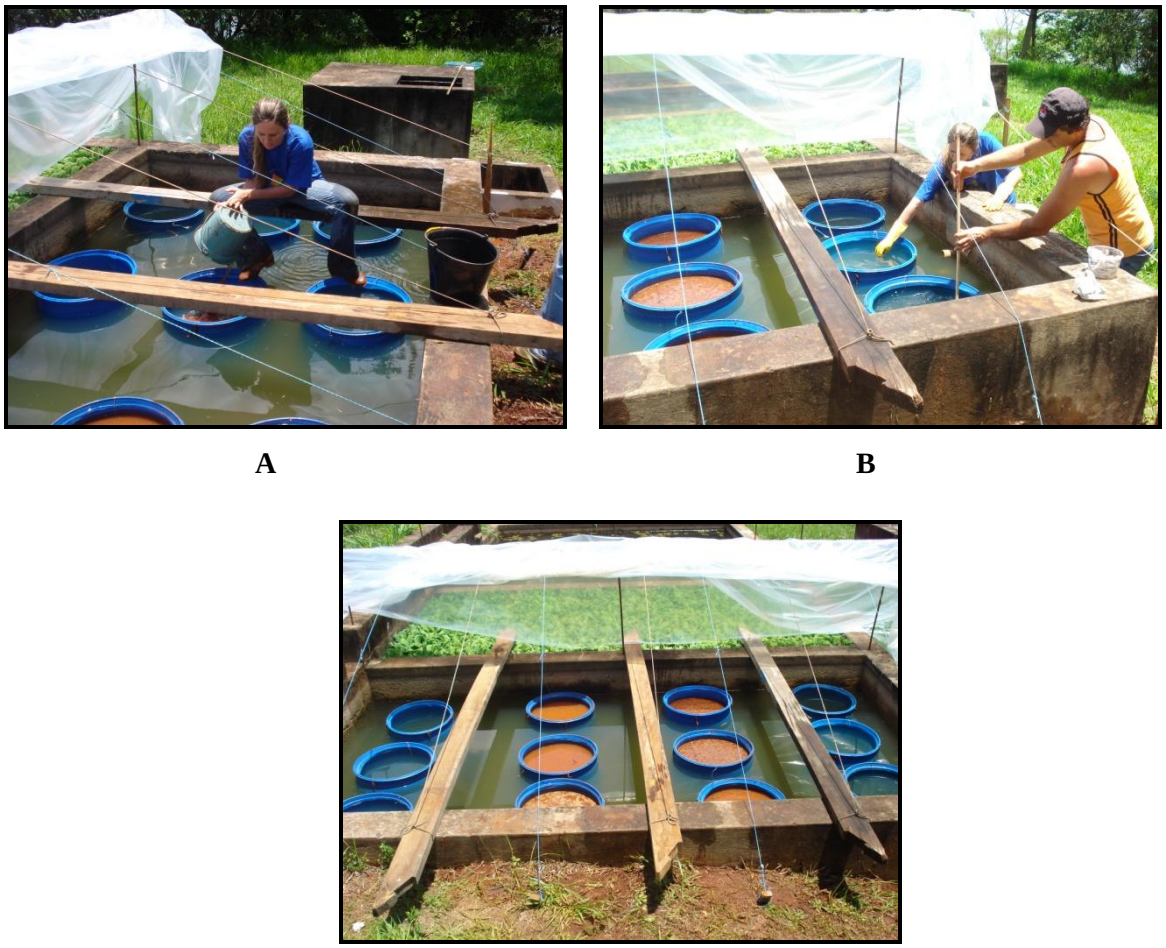


Figura 3. A figura A ilustra a simulação da chuva torrencial nas parcelas do solo previamente contaminadas com o agrotóxico. Em B ilustra a água escoando superficialmente. C ilustra o *runoff* armazenado nos sulcos após o escoamento superficial e a figura D ilustra o recolhimento do *runoff* para posterior realização dos experimentos *in situ* e no laboratório.

A **B**

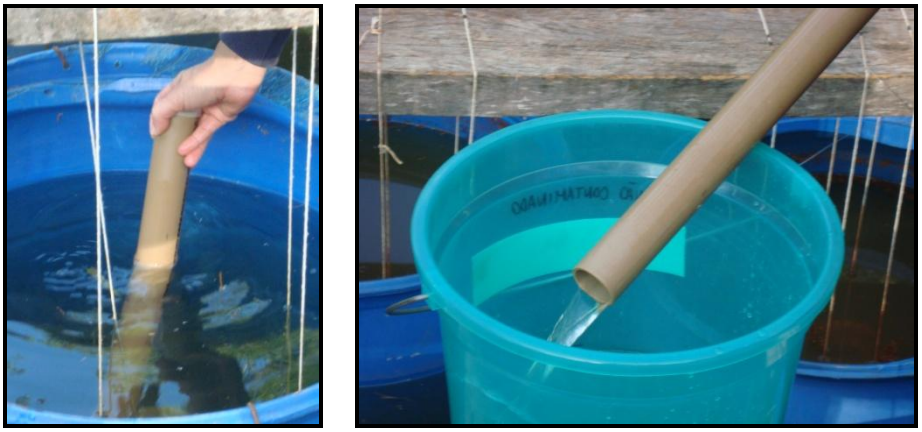
Figura 4. A figura A ilustra o tanque cilíndrico de polietileno utilizado como mesocosmos, em detalhe para os pesos de concreto. Na figura B demonstra-se a disposição dos mesocosmos no tanque de concreto, localizado às margens da represa do Lobo.



A **B**

C

Figura 5. As figuras A e B ilustram a contaminação dos mesocosmos pelo agrotóxico, sendo que em A caracteriza a adição do *runoff* das parcelas contamina e não contaminada, B a adição do Vertimec® 18CE puro e C ilustra o tanque de concreto com os mesocosmos previamente contaminados.



A **B**

Figura 6. As figuras A e B demonstram o tubo cilíndrico de plástico (PVC) utilizado para coleta das amostras da comunidade zooplanctônica.

Apêndice C
Testes ecotoxicológicos

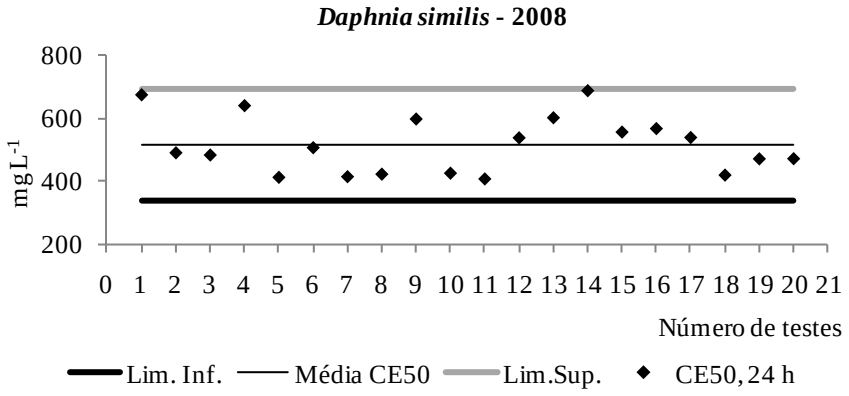


Figura 1. Resultados dos testes de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cloreto de potássio como substância de referência (Carta Controle de 2008).

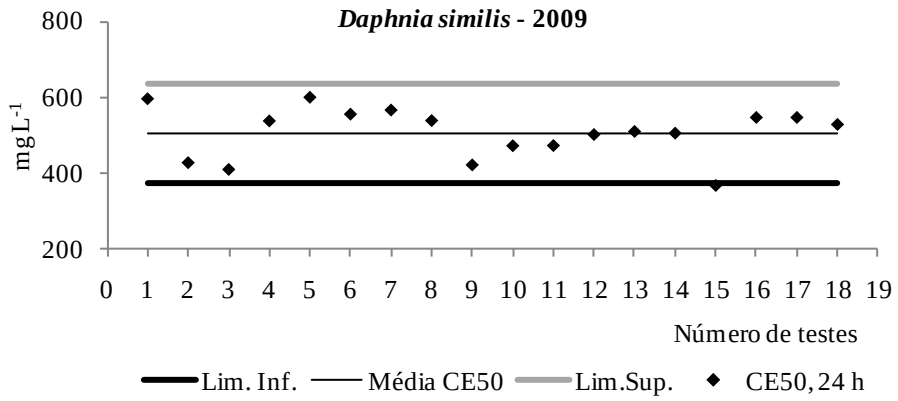


Figura 2. Resultados dos testes de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cloreto de potássio como substância de referência (Carta Controle de 2009).

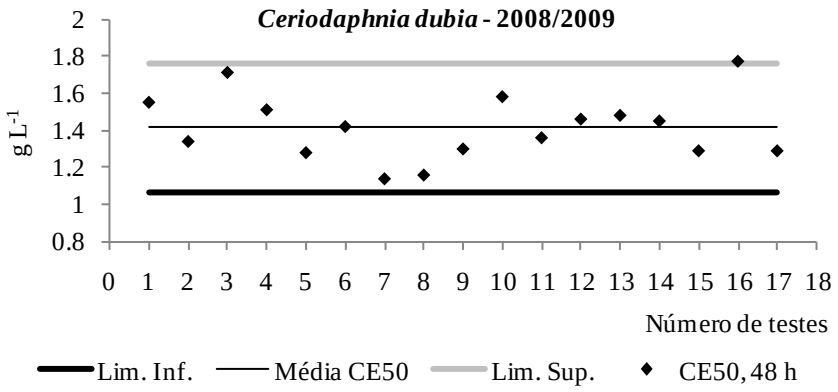


Figura 3. Resultados dos testes de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cloreto de sódio como substância de referência (Carta Controle de 2008/2009).

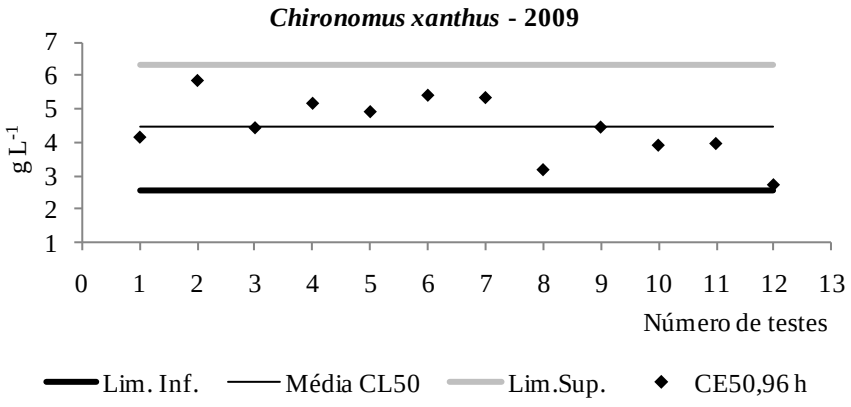


Figura 4. Resultados dos testes de sensibilidade de *Chironomus xanthus* ao cloreto de potássio como substância de referência (Carta Controle de 2009).

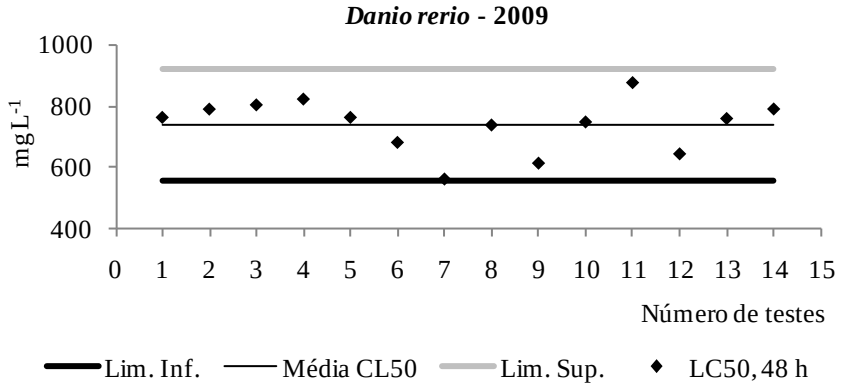


Figura 5. Resultados dos testes de sensibilidade de *Danio rerio* ao cloreto de potássio como substância de referência (Carta Controle de 2009).

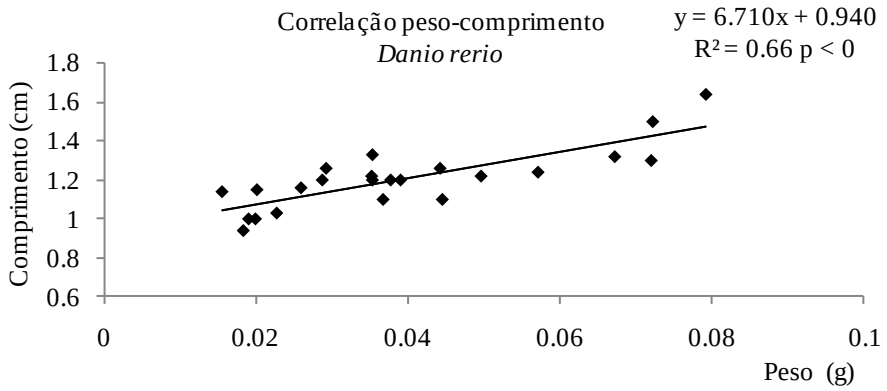


Figura 6. Correlação peso-comprimento dos organismos-teste utilizados nos testes de toxicidade crônica parcial com as amostras do *runoff*.

1. Registro dos resultados dos testes de toxicidade com as amostras do *runoff (*referente aos Capítulos 1 e 2) (RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado).

Daphnia similis

Tabela 1. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*.
Início do teste: 27/02/2008 e Término do teste: 29/02/2008 (Primeiro teste).

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. (µS cm^{-1})	Turb. (NTU)	Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	OD (mg L^{-1})		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,51	7,75	185,7	0	44	7,51	6,85	0	0
RNC 3,125	7,71	7,65	182,6	37	42	-	6,81	0	0
RNC 6,25	7,60	7,65	151	78	42	-	6,82	0	0
RNC 12,5	7,52	7,65	141,8	166	38	-	6,82	4	20
RNC 25	7,38	7,57	124,8	356	38	-	6,84	0	0
RNC 50	7,08	7,44	92	550	24	-	6,81	2	10
RNC 100	6,59	7,02	25,9	930	4	-	6,77	6	30
RC 3,125	7,57	7,68	152,7	30	42	-	6,81	0	0
RC 6,25	7,50	7,67	148,3	68	44	-	6,85	0	0
RC 12,5	7,41	7,63	139,6	128	36	-	6,80	7	35
RC 25	7,11	7,52	120,6	262	32	-	6,76	20	100
RC 50	6,92	7,38	86,9	400	24	-	6,76	20	100
RC 100	6,36	6,87	20,5	890	4	-	6,62	20	100

Resultado: CE_{50}, 48h = 13,87 %

Intervalo de Confiança (95%) = (11,96 – 16,08)

Tabela 2: Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*.
Início do teste: 02/03/2008 e Término do teste: 04/03/2008 (Segundo teste).

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. (µS cm^{-1})	Turb. (NTU)	Dureza (mg.L^{-1} $CaCO_3$)	OD (mg L^{-1})		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,51	7,46	187,1	0	44	7,60	7,40	0	0
RNC 3,125	7,71	7,58	182,6	37	42	-	7,40	0	0
RNC 6,25	7,60	7,58	151	78	42	-	7,41	0	0
RNC 12,5	7,52	7,35	141,8	166	38	-	7,33	2	10
RNC 25	7,38	7,28	124,8	356	38	-	7,31	0	0
RNC 50	7,08	7,32	92	550	24	-	7,30	2	10
RNC 100	6,59	6,85	25,9	930	4	-	7,23	3	15
RC 3,125	7,57	7,38	152,7	30	42	-	7,38	2	10
RC 6,25	7,50	7,54	148,3	68	44	-	7,41	15	75
RC 12,5	7,41	7,40	139,6	128	36	-	7,35	18	90
RC 25	7,11	7,27	120,6	262	32	-	7,35	20	100
RC 50	6,92	7,08	86,9	400	24	-	7,33	20	100
RC 100	6,36	6,82	20,5	890	4	-	7,28	20	100

Resultado: CE_{50}, 48h = 5,03%

Intervalo de Confiança (95%) = (4,18 - 6,07)

Tabela 3: Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*.
Início do teste: 08/03/2008 e Término do teste: 10/03/2008 (Terceiro teste).

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. (µS cm^{-1})	Turb. (NTU)	Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	OD (mg L^{-1})		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,51	7,48	186,3	0	44	7,60	7,19	1	5
RNC 3,125	7,71	7,60	182,6	37	42	-	7,15	1	5
RNC 6,25	7,60	7,68	151	78	42	-	7,18	0	0
RNC 12,5	7,52	7,68	141,8	166	38	-	7,19	0	0
RNC 25	7,38	7,60	124,8	356	38	-	7,20	2	10
RNC 50	7,08	7,60	92	550	24	-	7,20	2	10
RNC 100	6,59	7,60	25,9	930	4	-	7,18	6	30
RC 3,125	7,57	7,53	152,7	30	42	-	7,18	5	25
RC 6,25	7,50	7,67	148,3	68	44	-	7,17	16	80
RC 12,5	7,41	7,65	139,6	128	36	-	7,18	18	90
RC 25	7,11	7,61	120,6	262	32	-	7,18	18	90
RC 50	6,92	7,36	86,9	400	24	-	7,20	20	100
RC 100	6,36	7,08	20,5	890	4	-	7,16	20	100

Resultado: CE_{50}, 48h = 4,42%

Intervalo de Confiança (95%) = (3,79 – 5,16)

Ceriodaphnia dubia

Tabela 4. Resultado do teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*.
Início do teste: 27/02/2008 e Término do teste: 08/03/2008.

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. (µS cm^{-1})	Turb. (NTU)	Imobilidade adultas		N^0 de neonatos gerados
	i	f	f	i	Total	%	f
Controle lab.	7,51	7,71	185,7	0	1	10	156
RNC 3,125♦	7,71	7,71	152,0	37	0	0	131
RNC 6,25	7,60	7,72	150,3	78	0	0	137
RNC 12,5♦	7,52	7,71	142,1	166	1	10	89
RNC 25♦	7,38	7,63	129,3	356	0	0	89
RNC 50*♦	7,08	7,56	101,8	550	9	90	5
RNC 100*♦	6,59	7,54	45,4	930	10	100	0
RC 3,125♦	7,57	7,52	160,1	30	2	20	97
RC 6,25*♦	7,50	7,68	147,0	68	10	100	66
RC 12,5*♦	7,41	7,62	125,4	128	10	100	41
RC 25*♦	7,11	7,63	110,3	262	10	100	16
RC 50*♦	6,92	7,50	89,4	400	10	100	0
RC 100*♦	6,36	7,52	37,5	890	10	100	0

* Nas concentrações acima são verificadas diferenças significativas na sobrevivência (método estatístico de Fischer), e ♦ diferenças significativas na reprodução (análise de Many-One de Steel).

Chironomus xanthus

Tabela 5. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Chironomus xanthus*.
Início do teste: 27/02/2008 e Término do teste: 02/03/2008.

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Turb. (NTU)	Dureza ($mg\ L^{-1}$ $CaCO_3$)	OD ($mg\ L^{-1}$)		N^0 Organismos mortos	
	i	f	f	f	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,60	6,93	40	0	12	7,00	6,98	1	5,5
RNC 3,125	7,71	6,96	40,4	37	10	-	6,92	0	0
RNC 6,25	7,60	6,95	38	78	10	-	6,88	0	0
RNC 12,5	7,52	6,92	37,5	166	10	-	6,99	0	0
RNC 25	7,38	6,78	36,6	356	10	-	6,46	1	5,5
RNC 50	7,08	6,71	35,3	550	10	-	6,92	2	11,11
RNC 100	6,59	6,71	32,1	930	10	-	6,81	2	11,11
RC 3,125	7,57	6,88	39	30	10	-	6,90	1	5,5
RC 6,25	7,50	6,88	37,7	68	8	-	6,77	2	11,11
RC 12,5	7,41	6,88	36,7	128	8	-	6,85	6	33,33
RC 25	7,11	6,85	36,8	262	10	-	7,00	14	77,77
RC 50	6,92	6,72	35,8	400	10	-	6,80	18	100
RC 100	6,36	6,67	26,4	890	10	-	6,89	18	100

Resultado: CL_{50}, 96h = 16,24 %
Intervalo de Confiança (95%) = (13,05 – 20,22)

Danio rerio

Tabela 6. Resultado do teste de toxicidade crônica com *Danio rerio*.
Início do teste: 27/02/2008 e Término do teste: 05/03/2008.

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Turb. (NTU)	Dureza ($mg\ L^{-1}$ $CaCO_3$)	OD ($mg\ L^{-1}$)		N^0 Organismos mortos	
	i	f	f	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,50	7,29	186,0	0	48	7,62	6,16	1	5
RNC 6,25	7,60	6.95	185,8	78	48	-	5,98	1	5
RNC 12,5	7,52	7,10	182,4	166	46	-	4,80	3	15
RNC 25	7,38	6,99	145,1	356	36	-	4,60	4	20
RNC 50	7,08	6,85	116,3	550	30	-	5,37	0	0
RNC 100	6,59	6.84	45,2	930	10	-	6,56	0	0
RC 6,25	7,50	6,56	199,5	68	48	-	4,19	0	0
RC 12,5	7,41	7,01	188,1	128	48	-	5,80	1	5
RC 25	7,11	6,98	153,6	262	34	-	4,30	0	0
RC 50	6,92	5,28	116,5	400	28	-	5,54	0	0
RC 100	6,36	7,05	44,5	890	12	-	5,04	0	0

De acordo com a análise feita pelo método estatístico de Fischer, não foram verificadas nas concentrações acima diferenças significativas na sobrevivência ($p > 0,05$).

Tabela 7. Biometria inicial e final de juvenis de *Danio rerio* expostos às amostras do *runoff* contaminado e não contamindo (Capítulo 2).

Biometria Inicial - lote de peixes

Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,33	0,0354	**14**	1,50	0,0723
2	1,22	0,0497	**15**	1,20	0,0354
3	1,10	0,0368	**16**	1,00	0,0191
4	1,26	0,0293	**17**	1,20	0,0288
5	1,16	0,0260	**18**	1,20	0,0378
6	1,64	0,0793	**19**	1,22	0,0353
7	1,10	0,0446	**20**	0,94	0,0184
8	1,32	0,0673	**21**	1,00	0,0200
9	1,03	0,0228	**22**	1,15	0,0202
10	1,20	0,0391	**23**	1,14	0,0156
11	1,26	0,0443	**13**	1,24	0,0572
12	1,30	0,0721			

Biometria Final – controle laboratorial

Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,20	0,0210	**11**	1,10	0,0285
2	1,04	0,0249	**12**	1,20	0,0307
3	1,00	0,0252	**13**	1,10	0,0219
4	1,20	0,0408	**14**	1,20	0,0222
5	1,10	0,0298	**15**	1,20	0,0204
6	1,06	0,0169	**16**	1,16	0,0169
7	1,10	0,0299	**17**	1,24	0,0202
8	1,30	0,0350	**18**	1,23	0,0257
9	1,10	0,0262	**19**	1,10	0,0215
10	1,08	0,0168	**20**		

Biometria Final – *runoff* não contaminado 6,25%

Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,26	0,0352	**11**	1,16	0,0272
2	1,00	0,0241	**12**	1,20	0,0258
3	1,00	0,0203	**13**	1,20	0,0227
4	1,00	0,0276	**14**	1,30	0,0277
5	1,40	0,0399	**15**	1,30	0,0271
6	1,10	0,0210	**16**	1,30	0,0321
7	1,10	0,0221	**17**	1,24	0,0169
8	1,20	0,0272	**18**	1,00	0,0091
9	1,30	0,0330	**19**	1,15	0,0156
10	1,10	0,0225	**20**		

Continuação da Tabela 7.

Biometria Final – *runoff* não contaminado 12,50%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,04	0,0170	**11**	1,10	0,0255
2	1,10	0,0210	**12**	1,10	0,0198
3	1,00	0,0173	**13**	1,10	0,0168
4	1,53	0,0661	**14**	1,00	0,0166
5	1,10	0,0270	**15**	1,10	0,0269
6	1,30	0,0557	**16**	1,06	0,0160
7	1,40	0,0389	**17**	1,00	0,0121
8	1,26	0,0297	**18**		
9	1,30	0,0395	**19**		
10	1,30	0,0487	**20**		

Biometria Final – *runoff* não contaminado 25%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,17	0,0465	**11**	1,10	0,0239
2	1,10	0,0347	**12**	1,30	0,0441
3	1,16	0,0381	**13**	1,00	0,0169
4	1,14	0,0302	**14**	1,20	0,0214
5	1,20	0,0365	**15**	1,15	0,0249
6	1,16	0,0339	**16**	1,20	0,0269
7	1,24	0,0302	**17**		
8	1,20	0,0372	**18**		
9	1,10	0,0158	**19**		
10	1,26	0,0274	**20**		

Biometria Final – *runoff* não contaminado 50%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,47	0,0648	**11**	1,14	0,0140
2	1,43	0,0595	**12**	1,14	0,0220
3	1,31	0,0399	**13**	1,10	0,0187
4	1,24	0,0230	**14**	1,14	0,0117
5	1,20	0,0251	**15**	1,10	0,0177
6	1,20	0,0213	**16**	1,10	0,0131
7	1,20	0,0208	**17**	1,10	0,0143
8	1,34	0,0213	**18**	1,14	0,0299
9	1,15	0,0176	**19**	1,00	0,0119
10	1,18	0,0197	**20**	1,15	0,0110

Continuação da Tabela 7.

Biometria Final – *runoff* não contaminado 100%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,10	0,0316	**11**	1,12	0,0240
2	1,30	0,0284	**12**	1,17	0,0322
3	1,20	0,0245	**13**	1,10	0,0186
4	1,20	0,0238	**14**	1,00	0,0186
5	1,20	0,0356	**15**	1,22	0,0322
6	1,12	0,0237	**16**	1,16	0,0318
7	1,20	0,0360	**17**	0,80	0,0136
8	1,30	0,0323	**18**	1,00	0,0130
9	1,13	0,0225	**19**		
10	1,30	0,0287	**20**		

Biometria Final – *runoff* contaminado 6,25%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,29	0,0495	**11**	1,15	0,0256
2	1,16	0,0396	**12**	1,30	0,0406
3	1,22	0,0329	**13**	1,10	0,0332
4	1,00	0,0198	**14**	1,20	0,0346
5	1,60	0,0760	**15**	1,14	0,0194
6	1,23	0,0392	**16**	1,20	0,0307
7	1,20	0,0321	**17**	1,10	0,0275
8	1,30	0,0338	**18**	1,10	0,0261
9	1,20	0,0313	**19**	1,20	0,0337
10	1,20	0,0370	**20**	1,10	0,0242

Biometria Final – *runoff* contaminado 12,5%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,10	0,0292	**11**	1,30	0,0374
2	1,50	0,0785	**12**	1,13	0,0199
3	1,40	0,0554	**13**	1,17	0,0221
4	1,14	0,0414	**14**	1,00	0,0268
5	1,24	0,0276	**15**	1,24	0,0342
6	1,25	0,0428	**16**	1,20	0,0302
7	1,37	0,0381	**17**	1,00	0,0262
8	1,26	0,0326	**18**	1,20	0,0320
9	1,40	0,0473	**19**	1,00	0,0220
10	1,24	0,0330	**20**		

Continuação da Tabela 7.

Biometria Final – *runoff* contaminado 25%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,60	0,0848	**11**	1,26	0,0324
2	1,22	0,0357	**12**	1,27	0,0363
3	1,30	0,0427	**13**	1,20	0,0305
4	1,10	0,0230	**14**	1,20	0,0313
5	1,20	0,0351	**15**	1,10	0,0301
6	1,33	0,0413	**16**	1,10	0,0221
7	1,00	0,0227	**17**	1,10	0,0178
8	1,16	0,0352	**18**	1,10	0,0225
9	1,10	0,0250	**19**	1,04	0,0229
10	1,10	0,0241	**20**	0,90	0,0142

Biometria Final – *runoff* contaminado 50%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,40	0,0513	**11**	1,06	0,0189
2	1,26	0,0368	**12**	1,23	0,0247
3	1,37	0,0443	**13**	1,30	0,0281
4	1,10	0,0258	**14**	1,20	0,0306
5	1,35	0,0333	**15**	1,20	0,0247
6	1,21	0,0255	**16**	1,20	0,0290
7	1,30	0,0310	**17**	1,30	0,0351
8	1,40	0,0413	**18**	1,15	0,0244
9	1,20	0,0273	**19**	1,25	0,0238
10	1,14	0,0193	**20**	1,26	0,0273

Biometria Final – *runoff* contaminado 100%					
Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)	Organismo	Comprimento padrão (cm)	Peso (g)
1	1,30	0,0438	**11**	1,30	0,0408
2	1,22	0,0255	**12**	1,20	0,0290
3	1,30	0,0357	**13**	1,15	0,0306
4	1,40	0,0390	**14**	1,34	0,0351
5	1,40	0,0453	**15**	1,21	0,0304
6	1,40	0,0496	**16**	1,26	0,0301
7	1,30	0,0332	**17**	1,20	0,0271
8	1,40	0,0464	**18**	1,16	0,0272
9	1,26	0,0326	**19**	1,20	0,0254
10	1,17	0,0264	**20**	1,16	0,0194

2. Registro dos resultados dos testes de toxicidade com as amostras do *runoff* e dos mesocosmos *(*referente ao Capítulo 3).

Tabela 8. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado e RC: *runoff* contaminado).
Início do teste: 07/12/2008 e Término do teste: 09/12/2008.

Concentração da solução teste (%)	pH		Cond. (µS cm^{-1})	Turb. (NTU)	Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	OD (mg L^{-1})		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,60	7,85	182,7	0	44	7,30	7,10	0	0
RNC 3,125	7,74	7,42	176,6	64	42	-	7,10	0	0
RNC 6,25	7,59	7,25	153	181	42	-	6,82	0	0
RNC 12,5	7,48	7,65	144,6	371	40	-	6,88	0	0
RNC 25	7,26	7,53	116,7	600	38	-	6,87	1	5
RNC 50	7,10	7,42	89	1350	32	-	6,65	0	0
RNC 100	6,57	7,10	24,8	4370	10	-	6,44	0	0
RC 3,125	7,57	7,58	164,7	35	44	-	6,99	1	5
RC 6,25	7,50	7,77	149,3	79	42	-	6,85	12	60
RC 12,5	7,42	7,66	136,6	180	40	-	6,45	8	40
RC 25	7,10	7,54	123,4	470	36	-	6,36	16	80
RC 50	6,94	7,50	89,4	1790	28	-	6,26	20	100
RC 100	6,46	6,87	25,4	2444	12	-	6,28	20	100

Resultado: CE_{50}, 48h = 9,78%

Intervalo de Confiança (95%) = (7,39 – 12,94)

Tabela 9. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras dos mesocosmos (3 horas após a contaminação). (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).
Início do teste: 05/12/2008 e Término do teste: 07/12/2008.

Tratamentos	pH		Cond. (µS cm^{-1})	Turb. (NTU)	Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	OD (mg L^{-1})		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,60	7,75	180,4	0	44	7,30	7,37	0	0
C1	8,44	7,85	85,5	13	40	7,53	7,23	0	0
C2	9,08	7,85	78,9	18	38	7,78	7,24	0	0
C3	9,03	7,86	74,5	14	36	7,82	7,78	0	0
RNC1	8,73	7,84	67,7	184	32	7,58	7,11	0	0
RNC2	8,40	7,79	63,9	226	32	7,70	7,06	0	0
RNC3	7,66	7,78	63,5	320	30	7,52	7,02	0	0
RC1	7,77	7,81	66,3	346	38	7,52	7,02	0	0
RC2	8,06	7,77	61,4	282	34	7,44	6,96	0	0
RC3	7,96	7,82	66,3	294	36	7,46	7,03	0	0
V1*	9,02	7,98	75,2	14	34	7,81	7,29	20	100
V2*	8,85	7,93	75,3	11	38	7,68	7,22	20	100
V3*	9,09	7,98	76,4	14	40	7,64	7,23	20	100
A1	8,91	7,94	84,8	13	42	7,64	7,20	0	0
A2	8,96	7,96	84,3	17	38	7,73	7,24	0	0
A3	8,81	7,92	84,1	14	38	7,71	7,22	0	0

* Nas concentrações acima são verificadas diferenças significativas na sobrevivência (método estatístico de Fischer).

Tabela 10. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras dos mesocosmos (48 horas após a contaminação). (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).
Início do teste: 07/12/2008 e Término do teste: 09/12/2008.

Tratamentos	pH		Cond. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Turb. (NTU)	Dureza ($mg\ L^{-1}$ $CaCO_3$)	OD ($mg\ L^{-1}$)		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,60	7,75	180,4	0	44	7,26	7,20	0	0
C1	-	7,78	-	11	40	-	7,18	1	5
C2	-	7,78	-	14	38	-	7,05	0	0
C3	-	7,85	-	14	36	-	6,96	0	0
RNC1	-	7,88	-	118	32	-	6,90	0	0
RNC2	-	7,80	-	143	32	-	6,87	0	0
RNC3	-	7,78	-	339	30	-	6,89	2	10
RC1*	-	7,72	-	197	38	-	6,98	10	50
RC2*	-	7,72	-	194	34	-	6,94	8	40
RC3*	-	7,72	-	193	36	-	6,92	5	25
V1*	-	7,88	-	16	34	-	6,98	20	100
V2*	-	7,84	-	13	38	-	6,98	20	100
V3*	-	7,82	-	14	40	-	6,94	20	100
A1	-	7,90	-	16	42	-	7,00	0	0
A2	-	7,96	-	17	38	-	7,00	0	0
A3	-	7,96	-	17	38	-	7,04	0	0

* Nas concentrações acima são verificadas diferenças significativas na sobrevivência (método estatístico de Fischer).

Tabela 11. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras dos mesocosmos (96 horas após a contaminação). (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).
Início do teste: 09/12/2008 e Término do teste: 11/12/2008.

Tratamentos	pH		Cond. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Turb. (NTU)	Dureza ($mg\ L^{-1}$ $CaCO_3$)	OD ($mg\ L^{-1}$)		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,60	7,54	182,6	0	44	7,40	7,34	0	0
C1	7,48	7,72	94,2	15	42	7,71	7,20	0	0
C2	7,82	7,66	82,2	17	38	7,89	7,30	0	0
C3	8,28	7,74	83,4	22	38	7,85	7,26	0	0
RNC1	7,55	7,73	88,9	49	40	7,17	7,18	0	0
RNC2	7,52	7,72	75,7	49	34	7,12	7,27	0	0
RNC3	7,32	7,76	83,6	181	36	6,24	7,31	0	0
RC1*	7,43	7,76	83,6	96	36	6,88	7,27	10	50
RC2	7,48	7,71	74,9	95	38	7,18	7,30	0	0
RC3	7,39	7,68	81,4	92	36	6,73	7,23	3	15
V1*	8,61	7,80	98,6	20	46	7,61	7,52	20	100
V2*	8,22	7,79	99,1	17	48	7,35	7,44	20	100
V3*	8,65	7,80	99,0	16	48	7,35	7,35	20	100
A1	7,95	7,85	82,9	18	40	7,91	7,27	0	0
A2	8,05	7,80	81,2	14	40	7,61	7,31	0	0
A3	8,09	7,83	81,2	16	40	7,82	7,29	0	0

* Nas concentrações acima são verificadas diferenças significativas na sobrevivência (método estatístico de Fischer).

Tabela 12. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras dos mesocosmos (168 horas após a contaminação). (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).
Início do teste: 11/12/2008 e Término do teste: 13/12/2008.

Tratamentos	pH		Cond. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Turb. (NTU)	Dureza ($mg\ L^{-1}$ $CaCO_3$)	OD ($mg\ L^{-1}$)		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,56	7,48	184	0	44	8,10	7,93	0	0
C1	7,38	7,76	94,3	14	40	5,89	7,83	1	5
C2	7,60	7,75	84,7	8	40	6,41	7,84	0	0
C3	7,63	7,78	91,8	10	40	6,50	7,80	1	5
RNC1	7,53	7,92	91,6	28	42	6,29	7,81	0	0
RNC2	7,42	7,82	79,4	12	36	6,20	7,82	0	0
RNC3	7,21	7,80	91,5	115	40	5,43	7,80	0	0
RC1*	7,50	7,89	89,7	34	40	6,40	7,76	7	35
RC2	7,49	7,75	82,4	38	40	6,16	7,76	4	20
RC3	7,34	7,85	87,8	26	40	6,05	7,77	2	10
V1*	8,09	7,86	89,1	6	40	6,90	7,71	20	100
V2*	8,12	7,88	85,6	9	40	7,12	7,72	20	100
V3*	7,94	7,85	86,8	4	40	6,93	7,70	20	100
A1	7,67	7,85	108,5	12	48	6,54	7,70	0	0
A2	7,68	7,88	109,5	10	48	6,61	7,73	0	0
A3	7,73	7,87	108,8	10	48	6,70	7,71	0	0

* Nas concentrações acima são verificadas diferenças significativas na sobrevivência (método estatístico de Fischer).

Tabela 13. Resultado do teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expostas às amostras dos mesocosmos (240 horas após a contaminação). (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® 18CE e A: aleatório).
Início do teste: 14/12/2008 e Término do teste: 16/12/2008.

Tratamentos	pH		Cond. ($\mu S\ cm^{-1}$)	Turb. (NTU)	Dureza ($mg\ L^{-1}$ $CaCO_3$)	OD ($mg\ L^{-1}$)		N^0 Organismos Imóveis	
	i	f	i	i	i	i	f	Total	%
Controle lab.	7,75	7,44	182	0	44	7,93	7,65	0	0
C1	-	7,64	-	10	40	-	7,83	1	5
C2	-	7,64	-	10	40	-	7,84	0	0
C3	-	7,66	-	8	40	-	7,80	0	0
RNC1	-	7,88	-	9	42	-	7,81	0	0
RNC2	-	7,87	-	9	36	-	7,82	0	0
RNC3	-	7,84	-	65	40	-	7,80	0	0
RC1	-	7,96	-	10	40	-	7,76	0	0
RC2	-	7,96	-	15	40	-	7,76	0	0
RC3	-	7,95	-	12	40	-	7,77	0	0
V1*	-	7,77	-	8	40	-	7,71	20	100
V2*	-	7,78	-	8	40	-	7,72	20	100
V3*	-	7,78	-	9	40	-	7,70	20	100
A1	-	7,92	-	12	48	-	7,70	0	0
A2	-	7,92	-	12	48	-	7,73	0	0
A3	-	7,92	-	11	48	-	7,71	0	0

* Nas concentrações acima são verificadas diferenças significativas na sobrevivência (método estatístico de Fischer).

3. Registro dos resultados dos testes de toxicidade aguda com a abamectina (Capítulo 5).

Daphnia similis

Tabela 14. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* expostas à abamectina.

Solução Teste ng L^{-1}	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos móveis		Imobilidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,60	6,97	7,80	7,67	42	20	20	0	0
Acetona	7,60	7,43	7,80	7,64	42	20	18	2	10
10	7,60	7,48	7,80	7,63	42	20	10	10	50
20	7,60	7,68	7,80	7,64	42	20	4	16	80
40	7,60	7,64	7,80	7,66	42	20	1	19	95
80	7,60	7,64	7,80	7,48	42	20	0	20	100
160	7,60	7,43	7,80	7,63	42	20	7	13	65

Resultado aproximado: CE_{50}, 48h = 10 ng L^{-1}

Solução Teste ng L^{-1}	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos móveis		Imobilidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,32	7,12	7,90	7,75	44	20	20	0	0
Acetona	7,32	7,18	7,90	7,21	44	20	20	0	0
5	7,32	7,15	7,90	7,20	44	20	11	9	45
10	7,32	7,14	7,90	7,22	44	20	2	18	90
20	7,32	7,10	7,90	7,18	44	20	0	20	100
40	7,32	7,12	7,90	7,18	44	20	2	18	90
80	7,32	7,00	7,90	7,19	44	20	0	20	100
160	7,32	7,38	7,90	7,20	44	20	0	20	100
320	7,32	7,34	7,90	7,22	44	20	0	20	100
640	7,32	7,14	7,90	7,16	44	20	0	20	100
1280	7,32	7,16	7,90	7,14	44	20	0	20	100

Resultado: CE_{50}, 48h = 5,40 ng L^{-1}

Intervalo de Confiança (95%) = (3,98 – 7,33)

Solução Teste ng L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos móveis		Imobilidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,44	7,22	7,78	7,65	44	20	20	0	0
Acetona	7,44	7,23	7,78	7,45	44	20	19	1	5
2,5	7,44	7,25	7,78	7,66	44	20	8	12	60
5	7,44	7,22	7,78	7,62	44	20	11	9	45
10	7,44	7,24	7,78	7,61	44	20	0	20	100
20	7,44	7,18	7,78	7,63	44	20	3	17	85
40	7,44	7,15	7,78	7,61	44	20	8	12	60
80	7,44	7,12	7,78	7,64	44	20	11	9	45

Resultado aproximado: CE_{50}, 48h =2,5 ng L $^{-1}$

Solução Teste ng L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos móveis		Imobilidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,53	7,72	7,51	7,39	44	20	20	0	0
Acetona	7,53	7,70	7,51	7,35	44	20	16	4	20
2,5	7,53	7,71	7,51	7,38	44	20	10	10	50
5	7,53	7,73	7,51	7,36	44	20	17	3	15
10	7,53	7,72	7,51	7,35	44	20	10	10	50
20	7,53	7,70	7,51	7,44	44	20	10	10	50
40	7,53	7,73	7,51	7,46	44	20	11	9	45
80	7,53	7,73	7,51	7,59	44	20	9	11	55

Resultado aproximado: CE_{50}, 48h =2,5 ng L $^{-1}$

Chironomus xanthus

Tabela 15. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Chironomus xanthus* expostos à abamectina.

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,18	6,97	7,60	7,05	14	18	18	0	0
Acetona	7,18	6,95	7,60	5,89	14	18	18	0	0
0,5	7,18	5,78	7,60	6,97	14	18	18	0	0
1,5	7,18	6,79	7,60	6,72	14	18	11	7	38,88
4,5	7,18	6,84	7,60	6,98	14	18	11	7	38,88
13,5	7,18	6,87	7,60	6,18	14	18	2	16	88,88
40,5	7,18	6,92	7,60	6,86	14	18	0	18	100
121,5	7,18	6,58	7,60	6,24	14	18	0	18	100

Resultado: CL_{50}, 96h = 3,75 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (2,53 – 5,55)

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,24	6,86	7,94	7,06	10	18	18	0	0
Acetona	7,24	6,36	7,94	4,52	10	18	18	0	0
0,2	7,24	6,99	7,94	6,97	10	18	18	0	0
0,6	7,24	6,96	7,94	6,75	10	18	14	4	22,22
1,8	7,24	6,90	7,94	6,89	10	18	16	2	11,11
5,4	7,24	6,51	7,94	5,16	10	18	1	17	94,44
16,4	7,24	6,85	7,94	6,88	10	18	0	18	100
48,6	7,24	6,72	7,94	6,23	10	18	0	18	100

Resultado: CL_{50}, 96h = 2,30 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (1,71 – 3,10)

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,34	7,18	7,60	8,00	10	18	18	0	0
Acetona	7,34	6,20	7,60	4,59	10	18	18	0	0
0,2	7,34	6,83	7,60	7,20	10	18	18	0	0
0,6	7,34	6,78	7,60	7,10	10	18	17	1	5,55
1,8	7,34	6,74	7,60	6,70	10	18	13	5	27,77
5,4	7,34	6,55	7,60	5,60	10	18	7	11	61,11
16,4	7,34	6,47	7,60	4,20	10	18	0	18	100
48,6	7,34	6,52	7,60	4,61	10	18	0	18	100

Resultado: CL_{50}, 96h = 3,32 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (2,31 – 4,78)

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,50	7,33	7,82	7,15	14	18	18	0	0
Acetona	7,50	7,42	7,82	6,15	14	18	18	0	0
0,2	7,50	7,39	7,82	7,03	14	18	18	0	0
0,6	7,50	7,20	7,82	7,00	14	18	18	0	0
1,8	7,50	7,00	7,82	6,17	14	18	4	14	77,77
5,4	7,50	7,12	7,82	6,89	14	18	0	18	100
16,4	7,50	6,98	7,82	6,66	14	18	0	18	100
48,6	7,50	7,25	7,82	6,59	14	18	0	18	100

Resultado: CL_{50}, 96h = 1,33 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (1,07 – 1,65)

Danio rerio

Tabela 16. Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Danio rerio* expostos à abamectina.

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,54	7,33	8,10	7,43	42	10	10	0	0
Acetona	7,54	7,26	8,10	7,36	42	10	10	0	0
20	7,54	7,20	8,10	7,57	42	10	10	0	0
40	7,54	7,18	8,10	7,48	42	10	1	9	90
60	7,54	7,20	8,10	7,26	42	10	1	9	90
80	7,54	7,48	8,10	7,12	42	10	1	9	90
100	7,54	7,36	8,10	7,02	42	10	0	10	100

Resultado: CL_{50}, 48h = 31,74 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (27,8 – 36,23)

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,55	7,35	7,92	8,06	42	10	0	0	0
Acetona	7,55	7,40	7,92	8,20	42	10	0	0	0
20	7,55	7,38	7,92	8,20	42	10	0	0	0
40	7,55	7,38	7,92	8,00	42	10	3	7	70
60	7,55	7,40	7,92	7,89	42	10	2	8	80
80	7,55	7,41	7,92	7,87	42	10	0	10	100
100	7,55	7,35	7,92	7,86	42	10	0	10	100

Resultado: CL_{50}, 48h = 35,75 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (29,8 – 42,87)

Solução Teste µg L $^{-1}$	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,48	7,28	7,80	7,41	44	10	0	0	0
Acetona	7,48	7,26	7,80	7,38	44	10	0	0	0
20	7,48	7,19	7,80	7,35	44	10	0	0	0
40	7,48	7,32	7,80	7,36	44	10	2	8	80
60	7,48	7,22	7,80	7,23	44	10	1	9	90
80	7,48	7,28	7,80	7,28	44	10	0	10	100
100	7,48	7,18	7,80	7,19	44	10	0	10	100

Resultado: CL_{50}, 48h = 32,68 µg L $^{-1}$

Intervalo de Confiança (95%) = (28,02 – 38,11)

Solução Teste µg L^{-1}	pH		OD (mg L^{-1})		Dureza (mg L^{-1} $CaCO_3$)	N^0 Organismos vivos		Mortalidade	
	i	f	i	f	i	i	f	Total	%
Controle	7,36	7,18	7,67	7,38	42	10	10	0	0
Acetona	7,36	6,99	7,67	7,36	42	10	10	0	0
20	7,36	7,20	7,67	7,28	42	10	10	0	0
40	7,36	7,00	7,67	7,19	42	10	1	9	90
60	7,36	6,86	7,67	7,21	42	10	1	9	90
80	7,36	6,88	7,67	7,12	42	10	1	9	90
100	7,36	6,98	7,67	7,10	42	10	0	10	100

Resultado: CL_{50}, 48h = 31,74 µg L^{-1}

Intervalo de Confiança (95%) = (27,8 – 36,23)

Anexo A

g) Grupo químico: Avermectinas

h) Classe: Acaricida, inseticida e nematicida

i) Classificação toxicológica: Classe I

j) Uso agrícola: autorizado conforme indicado.

Modalidade de emprego: aplicação foliar nas culturas de algodão, batata, café, citros, coco, cravo, crisântemo, ervilha, feijão, feijão-vagem, figo, maçã, mamão, manga, melancia, melão, morango, pepino, pêra, pêssego, pimentão, rosa, tomate e uva.
Aplicação em bulbilhos de alho.

Culturas	Modalidade de Emprego (Aplicação)	LMR (mg/kg)	Intervalo de Segurança
Algodão	Foliar	0,005	21 dias
Algodão	Sementes	0,005	(1)
Alho	Bulbilhos	0,005	(1)
Batata	Foliar	0,005	14 dias
Café	Foliar	0,002	14 dias
Cana-de-açúcar	Tratamento industrial de propágulos vegetativos (mudas) antes do plantio	0,005	(1)
Citros	Foliar	0,005	7 dias
Coco	Foliar	0,005	14 dias
Cravo	Foliar	UNA	
Crisântemo	Foliar	UNA	
Ervilha	Foliar	0,005	4 dias
Feijão	Foliar	0,005	14 dias
Feijão-vagem	Foliar	0,005	4 dias
Figo	Foliar	0,005	7 dias
Maçã	Foliar	0,01	14 dias
Mamão	Foliar	0,005	14 dias
Manga	Foliar	0,01	7 dias
Melancia	Foliar	0,01	7 dias
Melão	Foliar	0,005	7 dias
Milho	Sementes	0,005	(1)
Morango	Foliar	0,02	3 dias
Pepino	Foliar	0,01	3 dias
Pêra	Foliar	0,005	7 dias
Pêssego	Foliar	0,02	21 dias
Pimentão	Foliar	0,01	3 dias
Rosa	Foliar	UNA	
Soja	Sementes	0,005	(1)
Tomate	Foliar	0,01	3 dias
Uva	Foliar	0,005	28 dias

Figura 1. Trechos extraídos da monografia da abamectina, de acordo com a RESOLUÇÃO - RE nº 2.248, de 18 de maio de 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/f6007e8041a333e185abd5255d42da10/A18++Abamectina.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 07/09/2010.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente | Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento | Ministério da Saúde

SIA - Sistema de Informações sobre Agrotóxicos

Módulo Pós-Registro

Página Inicial | Atualizar CD | Legislação | Fale conosco | Ajuda

Produtos Formulados (Agrotóxicos)		Produtos Técnicos		Monografias (Ingredientes Ativos)	
Marca Comercial	Pesquisar	Marca Comercial	Pesquisar	Ingredientes Ativos	Pesquisar

RELATÓRIO DO AGROTÓXICO

Marca Comercial: Vertimec 18 CE	Nº Registro MAPA: **0618895**
Registrante: **Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.**	
Classe(s): **Acaricida - Inseticida -**	Formulação: **EC - Concentrado Emulsionável**
Ingrediente Ativo: **abamectina**	Concentração de IA: **18 g/L**
Grupo Químico: **avermectinas**	
Modo de Ação:	Modo de Aplicação: **Terrestre/Aéreo**
Modalidade de Emprego: **(Foliar)**	Restrição UF:
Corrosivo: **Não**	Inflamável: **Combustível**
Classificação Toxicológica: **III - Medianamente tóxico**	Classificação Ambiental: **II - Produto muito perigoso**

Figura 2. Relatório do agrotóxico Vertimec® 18CE. Em detalhe para a classificação toxicológica III (medianamente tóxico). Disponível em: < http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_agrotoxico.asp?iVarAux=1&MarcaCod=573. Acesso em 07/09/2010.