

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

Marina Reghini Vanderlei

Efeitos dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC (e seus princípios ativos) em ecossistemas aquáticos: análises comparativas e ecossistêmicas

São Carlos - SP
2015

MARINA REGHINI VANDERLEI

Efeitos dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC (e seus princípios ativos) em ecossistemas aquáticos: análises comparativas e ecossistêmicas

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos pré-requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Evaldo L. G. Espíndola

**São Carlos - SP
2015**

AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo auxílio financeiro,

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental (EESC/USP),

Ao orientador Evaldo Espíndola pelo incentivo, pelo apoio durante este período e, principalmente, pela confiança depositada em mim.

Ao Michiel Daam pela disciplina ministrada que contribuiu para este trabalho e pela ajuda durante o decorrer do mesmo.

Aos membros da banca de qualificação e aos membros da banca de defesa pelas contribuições.

Aos companheiros e agora amigos de laboratório, Ana, André (Jin), Lucas, Juliana, Mirian, Vanessa, Thiago, Emily, Maressa, André, Mayra, Edna, Lívia, Laís, Clarisse, Janete, por me acolherem tão bem quando cheguei ao NEEA e por tornarem o trabalho mais alegre e mais leve. Em especial à Bruna, por toda a paciência da co-orientação e por todos os ensinamentos (que não foram poucos). E à Ana Letícia, que juntaente à Bruna foram minhas queridas companheiras de trabalho tanto no laboratório quanto no campo.

Aos técnicos Marcelo e Amandio pela ajuda no dia-a-dia.

As novas amigas, já tão queridas, que conheci em São Carlos: Mariana, Franciane, Heidi e Keila, por me ouvirem, me darem apoio e pelas horas de risadas que vocês me proporcionam.

Aos amigos de longa data do IBILCE/UNESP (fica difícil enumerar todos) em especial às amoras Mariana (Bix), Manuela e Aline por continuarem presentes na minha vida mesmo que distantes geograficamente. Pela constante preocupação, pelo incentivo incondicional e pelo carinho de todos os dias.

Aos professores de graduação e de Pós-Graduação que se tornaram exemplos para minha formação.

Finalmente, à toda minha família, em especial aos meus pais, Rose e Sidnei e à minha irmã, Diana, pelo amor, dedicação à minha felicidade e compreensão por todas as vezes que passei fins de semana trabalhando estando perto ou (na maioria das vezes), longe deles. Por toda fé que depositam em mim e por serem as pessoas que mais me apoiam na vida.

Ao Heitor pela paciência e companheirismo, por toda ajuda (inclusive no laboratório) e por tornar minha jornada mais alegre.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigada.

*“Por vezes sentimos que aquilo que
fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*
(Madre Teresa de Calcuta)

RESUMO

VANDERLEI, M. R. **Efeitos dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC (e seus princípios ativos) em ecossistemas aquáticos: análises comparativas e ecossistêmicas.** 2015. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

Com o advento da agricultura ampliou-se a produção alimentar e os bens de consumo, no entanto, os riscos ambientais também foram maximizados em função da adoção de técnicas produtivas baseadas no uso intensivo de insumos agrícolas. Esta problemática é mundial, embora mais evidenciada nos países em desenvolvimento e que tem, na produção agrícola, a base de sua economia. O Brasil enquadra-se nesta situação e desde 2009 é considerado o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, criando um cenário de risco ambiental e de saúde humana. Os efeitos ambientais, base deste estudo, estão relacionados não somente à perda de espécies não-alvo, uma vez que os agrotóxicos não são seletivos, mas também as alterações em nível ecossistêmico, a qual se relaciona com as perdas das funções e dos serviços gerados pelos sistemas naturais. Adiciona-se a esta complexidade, a forma de ação de cada agrotóxico, a distribuição dos mesmos nos diferentes compartimentos (ar, solo e água), o período de permanência de cada um, as relações sinérgicas decorrentes das interações entre diferentes produtos, a formação de subprodutos no processo de degradação, entre outros fatores, como as diferenças existentes entre o ingrediente ativo e a formulação comercial, na qual existem os chamados ingredientes inertes em sua composição, os quais podem ser muito mais tóxicos para espécies e ecossistemas. Considerando esta abordagem, a presente pesquisa foi desenvolvida com base na realidade de um local de referência, o município de Bom Repouso (MG/BR), no qual a intensificação da produção de morango e batata tem trazido uma série de riscos sociais e ambientais. Semelhante a outras regiões produtivas do país, o uso de agrotóxicos é recorrente, amplo e irrestrito, com destaque para as formulações comerciais Kraft®36EC e Score®250EC, as quais, juntamente com seus respectivos ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol), foram avaliadas por meio de testes de toxicidade com espécies de diferentes níveis tróficos representativas de um ecossistema aquático, gerando informações que foram avaliadas em nível de espécie e de ecossistema, simulando o cenário de aplicação dos produtos no local de referência. Os resultados obtidos permitiram concluir sobre as diferenças de sensibilidade das espécies e quais seriam as mais indicadas para se avaliar os efeitos tóxicos de ambos os agrotóxicos; os efeitos diferenciados entre a formulação comercial e os ingredientes ativos; bem como as respostas em termos de espécies e de ecossistemas, demonstrando a necessidade de que ambas as análises sejam consideradas na avaliação de risco ecológico.

Palavras-chave: toxicidade de agrotóxicos; abamectina; difenoconazol, produto formulado, sensibilidade, organismo-teste.

ABSTRACT

VANDERLEI, M. R. **Effects of pesticides Kraft®36EC and Score®250EC (and the active ingredients) on aquatic ecosystems: comparative and ecosystem analysis.** 2015. Dissertation (MSc) – School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2015.

With the advent of agriculture, food production and consumer goods has expanded, however, environmental risks were also maximized due to the adoption of production techniques based on intensive use of agricultural inputs. This worldwide problem is more evident in developing countries which have agricultural production as the basis of its economy. Brazil is into this situation and since 2009 it is considered the largest consumer of the world's pesticides, creating a scenario of environmental risk and human health. The environmental effects from this study are related not only to loss of non-targeted species, since pesticides are nonselective, but also changes in the ecosystem level, which relates to the loss of functions and services generated by natural systems. Add to this complexity, the mode of action of each pesticide, their distribution in the different compartments (air, soil and water), the period of stay of each, the synergistic relationships resulting from interactions between different products, the formation of by-products in the process of degradation, among other factors, such as differences between the active ingredient and the commercial formulation in which there are so-called ingredients inert in the composition, which may be more toxic to species and ecosystems. Considering this approach, this research was developed based on the reality of a reference site, the municipality of Bom Repouso (MG / BR), in which the intensification of production of strawberry and potato has brought a series of social and environmental risks. Similar to other productive regions of the country, the use of pesticides is recurrent, widespread and unrestrained, highlighting the commercial formulations Kraft®36EC and Score®250EC, which, along with their active ingredients (abamectin and difenoconazole) have been evaluated by toxicity tests with representative species of different trophic levels of an aquatic ecosystem, generating information that have been evaluated at the species level and ecosystem, simulating the application scenario of the products on the reference location. The results showed differences on the sensitivity of species and what are the most appropriate to evaluate the toxic effects of both pesticides; the differential effects between the commercial formulation and the active ingredients; as well as the responses in terms of species and ecosystems, demonstrating the need for both to be considered in ecological risk assessment.

Key-words: pesticide toxicity; abamectin; difenoconazole; formulated products; sensibility, test-organism.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1: Contextualização, importância e objetivos da pesquisa.

- Figura 1:** Crescimento da venda de agrotóxicos de 2000 a 2013 no Brasil. Gráfico confeccionado a partir de dados do IBAMA (2014) _____ 32
- Figura 2:** Formula química das avermectinas (B1a e B1b) que compõem o ingrediente ativo, abamectina. _____ 33
- Figura 3:** Formula química do ingrediente ativo difenoconazol da família dos triazóis. _____ 34
- Figura 4:** Transporte de agrotóxicos entre os compartimentos ambientais . _____ 35
- Figura 5:** Porcentagens de agrotóxico que atingem as áreas-alvo e que são dissipadas pelas adjacências do local de aplicação. _____ 36
- Figura 6:** Transporte de agrotóxicos e vias de contaminação do ambiente aquático. _____ 37

Capítulo 2: Efeitos da aplicação dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC na comunidade aquática.

- Figura 1:** Representação das vantagens e desvantagens metodológicas na utilização das diferentes abordagens em estudos ecotoxicológicos. _____ 48
- Figura 2:** Descrição dos níveis de complexidade do modelo matemático de fugacidade MacKay. __ 51
- Figura 3:** Mapa indicando a localização do município de Bom Repouso, MG (em destaque) e demais municípios adjacentes. _____ 53
- Figura 4:** Registro fotográfico no município de Bom Repouso, MG sendo: a) e b) plantações de morango; c) e d) destaque para as declividades presentes no local; e) e f) aplicação de agrotóxicos nos cultivos e g) e h) descarte inadequado de embalagens de agrotóxicos. _____ 55
- Figura 5:** a) Bandejas de cultivo de *C. sancticaroli* cobertas por gaiolas de nylon; b) desovas de *C. sancticaroli* inoculadas nas bandejas preparadas para cultivo. _____ 59
- Figura 6:** Representação esquemática dos quatro contaminantes testados com os cinco organismos expostos, sendo K: Kraft, A: abamectina, S: Score e D: difenoconazol _____ 61
- Figura 7:** Amostras de *P. subcapitata* em teste sob iluminação e agitação controladas e constantes. 62
- Figura 8:** Montagem dos testes de toxicidade aguda com *C. dubia* e *D. similis*. _____ 63
- Figura 9:** Montagem dos testes de toxicidade aguda com *C. sancticaroli*. _____ 64
- Figura 10:** Montagem dos testes de toxicidade aguda com *D. rerio*. _____ 65
- Figura 11:** Distribuição ambiental prevista (PED) com base no modelo de fugacidade MacKay Nível 1. _____ 67

- Figura 12:** Resultados obtidos nos testes de sensibilidade com *P. subcapitata*, exposta à substância de referência NaCl (g/L). _____ 69
- Figura 13:** Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina, e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC), com *P. subcapitata*. _____ 70
- Figura 14:** Teste de sensibilidade com *C. dubia* exposto à substância de referência NaCl (g/L). ____ 71
- Figura 15:** Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC), com *C. dubia*. _____ 72
- Figura 16:** Resultados dos testes de sensibilidade com *D. similis* exposto à substância de referência KCl (mg/L). _____ 73
- Figura 17:** Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) com *D. similis*. _____ 74
- Figura 18:** Resultados dos testes de sensibilidade com *C. sancti-caroli* exposto à substância de referência KCl (g/L). _____ 75
- Figura 19:** Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) com *C. sancti-caroli*. _____ 76
- Figura 20:** Resultados dos testes de sensibilidade com *D. rerio* exposto à substância de referência KCl (mg/L). _____ 77
- Figura 21:** Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) com *D. rerio*. _____ 78
- Figura 22:** Curvas SSDs obtidas para cada contaminante. O eixo x corresponde as CEs de cada organismo-teste (log10) e o eixo y às respectivas PAFs, sendo estas em ordem crescente: 10%; 30%; 50%; 70% e 90%. _____ 79
- Figura 23:** Representação do diagnóstico ambiental com base nos valores de PEC e CE₅₀ para os as diferentes espécies. Dados representados em log₁₀ por questão de escala para melhor visualização. _ 81

Capítulo 3: Análise comparativa da sensibilidade de organismos-teste aos agrotóxicos abamectina e difenoconazol.

- Figura 1:** Exemplo de organismos-teste de diferentes faixas tróficas (NT: níveis tróficos), recomendados para serem utilizados em ensaios ecotoxicológicos aquáticos. _____ 97
- Figura 2:** Representação gráfica dos dados obtidos por organismo-teste, considerando os ingredientes ativos abamectina e difenoconazol (base de dados da USEPA, OPP e Scopus), no período de 13 de julho a 10 de agosto. _____ 101
- Figura 3:** Curva de distribuição sensível das espécies (SSD) obtida pelos valores médios das CEs de cada espécie da base de dados (nas figuras representadas por pontos) de cada um dos contaminantes. _____ 107
- Figura 4:** Curva de distribuição sensível das espécies (SSD), obtida com base nos valores médios das CEs de cada espécie, obtidas nos testes de toxicidade para abamectina e difenoconazol. _____ 111

Capítulo 4: Análise comparativa da toxicidade entre as formulações comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) e seus ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol).

Figura 1: Representação gráfica da diferença de toxicidade entre os produtos formulados Kraft e Score e seus ingredientes ativos abamectina e difenoconazol. _____ 130

Figura 2: SSDs cumulativas dos compostos a) Kraft®36EC e abamectina e dos compostos b) Score®250EC e difenoconazol. _____ 132

Figura 3: Representação gráfica da diferença de concentração entre produto formulado e ingrediente ativo em relação às frações potencialmente afetadas (PAFs) para os compostos Kraft®36EC e abamectina (a) e para os compostos Score®250EC e difenoconazol (b). _____ 132

Anexo 1: Resultados dos testes de sensibilidade e toxicidade

Figura 1: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referencia NaCl (g/L). _____ 146

Figura 2: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referencia NaCl (g/L). _____ 146

Figura 3: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade para o organismo-teste *C. dubia* exposto a solução referencia NaCl (g/L). _____ 146

Figura 4: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. similis* exposto a solução referencia KCl (g/L). _____ 147

Figura 5: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *D. similis* exposto a solução referencia KCl (g/L). _____ 147

Figura 6: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *C. sancticarioli* exposto a solução referencia KCl (g/L). _____ 147

Figura 7: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *C. sancticarioli* exposto a solução referencia KCl (g/L). _____ 148

Figura 8: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referencia KCl (mg/L). _____ 148

Figura 9: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referencia KCl (mg/L). _____ 148

Figura 10: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 3 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referencia KCl (mg/L). _____ 149

Figura 11: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 156

Figura 12: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº1 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 156

- Figura 13:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº2 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 157
- Figura 14:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº3 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 157
- Figura 15:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score®250EC para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 158
- Figura 16:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 158
- Figura 17:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata*. _____ 159
- Figura 18:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *C. dubia*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%). _____ 159
- Figura 19:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com abamectina para o organismo-teste *C. dubia*.. _____ 160
- Figura 20:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score®250EC para o organismo-teste *C. dubia*.. _____ 160
- Figura 21:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*.. _____ 161
- Figura 22:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*.. _____ 161
- Figura 23:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 1 com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 162
- Figura 24:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 162
- Figura 25:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com abamectina para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 163
- Figura 26:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº1 com Score®250EC para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 163
- Figura 27:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº2 com Score®250EC para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 164
- Figura 28:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 164
- Figura 29:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*.. _____ 165
- Figura 30:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*. _____ 165

- Figura 31:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score@250EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*. _____ 166
- Figura 32:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com difenoconazol para o organismo-teste *C. sancticaroli*. _____ 166
- Figura 33:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft@36EC para o organismo-teste *D. rerio*. _____ 167
- Figura 34:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com abamectina para o organismo-teste *D. rerio*. _____ 167
- Figura 35:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score@250EC para o organismo-teste *D. rerio*. _____ 168
- Figura 36:** Gráfico com resultados do teste de toxicidade com difenoconazol para o organismo-teste *D. rerio*. _____ 168
- Figura 37:** À direita medições de peso e comprimento do primeiro lote de organismos *D. rerio*. À esquerda gráficos da biometria com reta que descreve o coeficiente de correlação (R2). _____ 169
- Figura 38:** À direita medições de peso e comprimento do segundo lote de organismos *D. rerio*. À esquerda gráficos da biometria com reta que descreve o coeficiente de correlação (R2). _____ 170
- Figura 39:** À direita medições de peso e comprimento do terceiro lote de organismos *D. rerio*. À esquerda gráficos da biometria com reta que descreve o coeficiente de correlação (R2). _____ 171

Anexo 2: Análises estatísticas

- Figura 1:** Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite do testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com Kraft@36EC. _____ 192
- Figura 2:** Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite do testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com abamectina. _____ 193
- Figura 3:** Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite do testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com Score@250EC. _____ 193
- Figura 4:** Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite do testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com difenoconazol. _____ 193
- Figura 5:** Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite do testes de normalidade de Anderson-Darling para a análise SSD feita a partir da base se dados de resultados de bioensaios com abamectina. _____ 194
- Figura 6:** Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite do testes de normalidade de Anderson-Darling para a análise SSD feita a partir da base se dados de resultados de bioensaios com difenoconazol. _____ 194

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1: Contextualização, importância e objetivos da pesquisa.

Tabela 1: Classificação de agrotóxicos quanto ao seu modo de ação. Fonte: modificado de Gavrilesco, (2005) _____ 27

Tabela 2: Classificação da toxicidade dos agrotóxicos baseada nas doses letais a 50% dos organismos-teste (DL50) e identificação dos produtos pelas faixas coloridas presentes nas embalagens de produtos comercializados (Fonte: Peres & Moreira, 2007). _____ 28

Tabela 3: Classificação dos agrotóxicos quanto a sua persistência no ambiente. (Fonte: baseado em Estefanello Júnior *et al*, 2012). _____ 28

Capítulo 2: Efeitos da aplicação dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC na comunidade aquática.

Tabela 1: Dados de entrada utilizados para os cálculos de PED (Predicted Environmental Distribution) e PEC (Predicted Environmental Concentration) nos modelos matemáticos Mackay Nível 1 e FOCUS Passo 1 & Passo 2. _____ 57

Tabela 2: Faixa de concentrações das substâncias de referências (NaCl e KCl) para as diferentes espécies avaliadas. _____ 60

Tabela 3: Volume de solvente (acetona) contido nos volumes totais dos testes com os ingredientes ativos para cada organismo-teste. _____ 61

Tabela 4: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *P. subcapitata*. _____ 63

Tabela 5: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *C. dubia*. _____ 64

Tabela 6: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *D. similis*. _____ 64

Tabela 7: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *C. sancticaroli*. _____ 65

Tabela 8: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *D. rerio*. _____ 65

Tabela 9: Concentrações ambientais previstas pelos Steps 1 e 2, segundo dados físico-químicos dos ingredientes ativos abamectina e difenoconazol para o compartimento aquático (onde: PEC_w – Predicted Environmental Concentration on Water). _____ 68

Tabela 10: Peso e comprimento médios e desvio padrão de cada lote obtido comercialmente. A coluna TOTAL representa as médias e desvio padrão entre os lotes. _____ 77

Tabela 11: Concentração perigosa para 5% da comunidade (HC₅), calculada pelo software ETX 2.0, com base na curva de dados preditivos gerada a partir dos dados ecotoxicológicos (CE₅₀). _____ 79

Tabela 12: Frações Potencialmente Afetadas (PAF) por contaminações iguais as CE₅₀ dos organismos teste para cada um dos contaminantes. _____ 80

Capítulo 3: Análise comparativa da sensibilidade de organismos-teste aos agrotóxicos abamectina e difenoconazol.

Tabela 1: Valores de toxicidade da abamectina para algas, crustáceos, insetos, peixes, plantas aquáticas, moluscos, bactérias e rotíferos, encontrados em bases de dados online e em artigos científicos. _____ 102

Tabela 2: Valores de toxicidade do difenoconazol para algas, crustáceos, insetos, peixes, plantas aquáticas, moluscos e fungos encontrados em bases de dados online e em artigos científicos. ____ 104

Tabela 3: Valores médios da CEs (em µg/L) e PAF (em %), apresentados em ordem decrescente, relacionados a sensibilidade mediante exposição a abamectina. _____ 108

Tabela 4: Valores médios da CEs (em µg/L) e PAF (em %), apresentados em ordem decrescente, relacionados a sensibilidade mediante exposição ao difenoconazol. _____ 109

Tabela 5: Lista de espécies, em ordem decrescente de sensibilidade, com as respectivas CEs, obtidas em testes laboratoriais, médias das CEs e as frações potencialmente afetadas (PAFs) referente a cada organismo-teste. _____ 112

Capítulo 4: Análise comparativa da toxicidade entre as formulações comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) e seus ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol).

Tabela 1: Lista com alguns exemplos de ingredientes inertes classificados pelo seu grau de toxicidade. _____ 125

Tabela 2: Valores médios de CEs obtidos para os contaminantes e seus respectivos fatores de toxicidades. Em vermelho: abamectina >Kraft; em laranja: Kraft >abamectina, em verde: difenoconazol>Score e em azul: Score>difenoconazol. _____ 129

Tabela 3: Concentrações perigosas à 5% da do ecossistema e limites inferiores e superiores para produtos formulados (Kraft®36EC e Score®250EC) e ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol). _____ 131

Anexo 1: Resultados dos testes de sensibilidade e toxicidade

Tabela 1: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referencia NaCl (g/L) _____ 144

Tabela 2: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referencia NaCl (g/L). _____ 144

Tabela 3: Resultado do teste de sensibilidade para o organismo-teste *C. dubia* exposto a solução referencia NaCl (g/L). _____ 144

Tabela 4: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste <i>D. similis</i> exposto a solução referencia KCl (g/L).	144
Tabela 5: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste <i>D. similis</i> exposto a solução referencia KCl (g/L).	144
Tabela 6: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste <i>C. sancticaroli</i> exposto a solução referencia KCl (g/L).	145
Tabela 7: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste <i>C. sancticaroli</i> exposto a solução referencia KCl (g/L).	145
Tabela 8: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste <i>D. rerio</i> exposto a solução referencia KCl (mg/L).	145
Tabela 9: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste <i>D. rerio</i> exposto a solução referencia KCl (mg/L).	145
Tabela 10: Resultado do teste de sensibilidade nº 3 para o organismo-teste <i>D. rerio</i> exposto a solução referencia KCl (mg/L).	145
Tabela 11: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	149
Tabela 12: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com abamectina para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	149
Tabela 13: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com abamectina para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	149
Tabela 14: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 3 com abamectina para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	150
Tabela 15: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	150
Tabela 16: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	150
Tabela 17: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste <i>P. subcapitata</i> .	150
Tabela 18: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste <i>C. dubia</i> .	151
Tabela 19: Resultado do teste de toxicidade aguda com abamectina para o organismo-teste <i>C. dubia</i> .	151
Tabela 20: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste <i>C. dubia</i> .	151
Tabela 21: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste <i>C. dubia</i> .	151
Tabela 22: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste <i>C. dubia</i> .	152

Tabela 23: Resultado do teste de toxicidade aguda n° 1 com Kraft®36EC para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	152
Tabela 24: Resultado do teste de toxicidade aguda n° 2 com Kraft®36EC para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	152
Tabela 25: Resultado do teste de toxicidade aguda com abamectina para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	152
Tabela 26: Resultado do teste de toxicidade aguda n°1 com Score®250EC para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	153
Tabela 27: Resultado do teste de toxicidade aguda n°2 com Score®250EC para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	153
Tabela 28: Resultado do teste de toxicidade aguda n° 1 com difenoconazol para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	153
Tabela 29: Resultado do teste de toxicidade aguda n° 2 com difenoconazol para o organismo-teste <i>D. similis</i> .	154
Tabela 30: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste <i>C. sancticaroli</i> .	154
Tabela 31: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste <i>C. sancticaroli</i> .	154
Tabela 32: Resultado do teste de toxicidade aguda com difenoconazol para o organismo-teste <i>C. sancticaroli</i> .	154
Tabela 33: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste <i>D. rerio</i> .	155
Tabela 34: Resultado do teste de toxicidade aguda com abamectina para o organismo-teste <i>D. rerio</i> .	155
Tabela 35: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste <i>D. rerio</i> .	155
Tabela 36: Resultado do teste de toxicidade aguda com difenoconazol para o organismo-teste <i>D. rerio</i> .	155
Tabela 37: Médias e desvios padrão dos três lotes de <i>D. rerio</i> utilizados nos bioensaios.	171

Anexo 2: Análises estatísticas

Tabela 1: Análise estatística da sensibilidade do organismos-teste <i>P. subcapitata</i> (IC50;96h) exposto a substancia de referencia NaCl (g/L). Tabela criada pelo software ICp 2.0.	173
Tabela 2: Análise estatística da sensibilidade do organismos-teste <i>C. dubia</i> exposto a substancia de referencia NaCl (g/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE ₅₀ ; 48h.	174
Tabela 3: Análise estatística da sensibilidade do organismos-teste <i>D. similis</i> exposto a substancia de referencia KCl (g/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE ₅₀ ; 48h.	175

- Tabela 4:** Análise estatística da sensibilidade do organismos-teste *C. sancticaroli* exposto a substancia de referencia KCl (g/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀; 96h. _____ 176
- Tabela 5:** Análise estatística da sensibilidade do organismos-teste *D. rerio* exposto a substancia de referencia KCl (mg/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀; 48h. _____ 177
- Tabela 6:** Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismos-teste *P. subcapitata* (IC50;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0. _____ 179
- Tabela 7:** Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismos-teste *P. subcapitata* (IC50;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0. _____ 179
- Tabela 8:** Análise estatística da toxicidade do Score®250EC para o organismos-teste *P. subcapitata* (IC50;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0. _____ 180
- Tabela 9:** Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismos-teste *P. subcapitata* (IC50;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0. _____ 181
- Tabela 10:** Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismos-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 182
- Tabela 11:** Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismos-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 182
- Tabela 12:** Análise estatística da toxicidade do Score®250EC para o organismos-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 183
- Tabela 13:** Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismos-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 184
- Tabela 14:** Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismos-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 185
- Tabela 15:** Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismos-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 186
- Tabela 16:** Análise estatística da toxicidade do Score®250EC para o organismos-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 187
- Tabela 17:** Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismos-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 188
- Tabela 18:** Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismos-teste *C. sancticaroli*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;96h. _____ 189
- Tabela 19:** Análise estatística da toxicidade do Score(R)250EC®250EC para o organismos-teste *C. sancticaroli*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;96h. _____ 189
- Tabela 20:** Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismos-teste *C. sancticaroli*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;96h. _____ 190
- Tabela 21:** Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismos-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h. _____ 190

Tabela 22: Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismos-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para $CE_{50;48h}$. _____ 191

Tabela 23: Análise estatística da toxicidade do Score®250EC para o organismos-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para $CE_{50;48h}$. _____ 191

Tabela 24: Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismos-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para $CE_{50;48h}$. _____ 192

Sumário

Capítulo 1: Contextualização, importância e objetivos da pesquisa.	22
1. Introdução	22
2. Revisão Bibliográfica	25
2.1. Agrotóxicos: definição e classificações	25
2.2. Histórico, regulamentação e contexto atual	28
2.3. Os agrotóxicos Kraft®36EC (i.a. abamectina) e Score®250EC (i.a. difenoconazol)	32
2.4. Problemática: transporte e contaminação	34
3. Justificativas	38
4. Objetivos	41
4.1. Objetivos Gerais	41
4.2. Objetivos Específicos	41
5. Referencias Bibliográficas	42
Capítulo 2: Efeitos da aplicação dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC na comunidade aquática.	47
1. Introdução	48
2. Material e Métodos	53
2.1. Área de Estudo (Local-referência)	53
2.2. Delineamento Experimental	56
2.3. Análise de dados	66
3. Resultados	66
3.1. Distribuição e Concentração Ambiental Prevista	66
3.2. Testes de Sensibilidade e Toxicidade	68
3.3. <i>Species Sensitivity Distribution (SSD)</i>	78
4. Discussão	81
5. Conclusões:	88
6. Referencias Bibliográficas	90

Capítulo 3: Análise comparativa da sensibilidade de organismos-teste aos agrotóxicos abamectina e difenoconazol.	95
1. Introdução	96
2. Material e Métodos	99
3. Resultados	101
4. Discussão	113
5. Conclusões:	118
6. Referencias Bibliográficas	120
Capítulo 4: Análise comparativa da toxicidade entre as formulações comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) e seus ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol).	123
1. Introdução	124
2. Material e Métodos	128
3. Resultados	128
4. Discussão	133
5. Conclusões	137
6. Referencias Bibliográficas	139
ANEXO 1: Resultados dos testes de sensibilidade e toxicidade	143
Testes de Sensibilidade	144
Gráficos dos testes de sensibilidade	146
Testes de Toxicidade	149
Gráficos dos testes de Toxicidade	156
Biometria <i>Danio rerio</i>	169
ANEXO 2: Análises estatísticas	172
Sensibilidades	173
Toxicidades	179
<i>Specie Sensitivity Distribution (SSD)</i>	192

APRESENTAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é fruto das pesquisas desenvolvidas durante o período de realização do mestrado da autora no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA), pelo Programa de pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP). De forma a facilitar a apresentação dos resultados obtidos, estruturou-se esta dissertação em quatro (4) capítulos, sendo que os capítulos 2, 3 e 4, que podem ser avaliados de forma independente, correspondem as diferentes abordagens e discussão dos resultados obtidos. Cada capítulo, com exceção do primeiro, é subdividido em: **resumo, introdução/objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões**, seguindo a estruturação proposta pelas normas para apresentação das teses e dissertações da EESC/USP. Informações detalhadas sobre os resultados e as análises estatísticas dos experimentos estão incluídas como elementos pós-textuais ao final da dissertação, nos itens **Apêndice 1** e **2**. Uma breve descrição do conteúdo de cada capítulo é apresentada a seguir:

Capítulo 1: Contextualização, importância e objetivos da pesquisa.

Neste capítulo foi introduzido o tema da dissertação e realizada uma breve revisão bibliográfica dos assuntos que permeiam o tema central, como a contaminação por agrotóxicos do ambiente aquático e a importância dos estudos limnológicos e ecotoxicológicos. Apresenta-se, ainda, a pertinência da pesquisa por meio da problematização do assunto e do contexto, explicitado no item **Justificativas**. Por fim, são apresentados os principais objetivos que foram abordados nos capítulos subsequentes.

Capítulo 2: Efeitos da aplicação dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC na comunidade aquática.

Neste capítulo foi feita uma simulação da contaminação aquática pelos agrotóxicos testados, abamectina e difenoconazol. Desta forma, pode-se discutir os efeitos das possíveis concentrações de contaminantes aos organismos não-alvo e ao ecossistema. Neste capítulo também foi incluída uma revisão bibliográfica (abordada no item **Discussão**) sobre os trabalhos realizados por este grupo de pesquisa na região

referência, o município de Bom Repouso, em Minas Gerais. Tais estudos embasaram parte da discussão do capítulo.

Capítulo 3: Análise comparativa da sensibilidade de organismos-teste aos agrotóxicos abamectina e difenoconazol.

Neste capítulo foi reunida uma série de informações provenientes de bases de dados e artigos científicos referentes ao efeito tóxico dos agrotóxicos abamectina e difenoconazol a diversos organismos aquáticos. Com base nessas informações e com os resultados obtidos em testes laboratoriais, foi possível avaliar quais espécies seriam as mais representativas no contexto da conservação ambiental para ambos os contaminantes e discutir a relevância na escolha das espécies-teste para bioensaios laboratoriais.

Capítulo 4: Análise comparativa da toxicidade entre as formulações comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) e seus ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol).

Neste capítulo foi feita uma abordagem comparativa entre os efeitos tóxicos dos ingredientes ativos e os produtos formulados (comerciais), demonstrando a importância de se reconhecer os possíveis efeitos ambientais dos ingredientes conhecidos como “inertes”. Embora estes efeitos tenham sido identificados e discutidos em alguns estudos recentes, ainda existe uma carência de informações que possam subsidiar uma melhor política de gerenciamento junto aos órgãos de controle ambiental. Desta forma, neste capítulo a discussão é novamente abordada, com base em uma análise comparativa entre os produtos comerciais Kraft e Score e seus princípios ativos abamectina e difenoconazol, respectivamente.

Capítulo 1: Contextualização, importância e objetivos da pesquisa.

1. Introdução

Há menos de 10.000 anos o ser humano alcançou uma de suas maiores conquistas, conferindo um marco histórico em seu desenvolvimento, que foi o cultivo de plantas e animais para sua subsistência. Assim, surgiu a agricultura que, em decorrência da crescente necessidade de produção de energia, alimentos e outros bens de consumo para os seres humanos, tem se intensificado, alterando cada vez mais os ambientes naturais (MAZOYER & ROUDART, 2010).

Uma das formas de potencialização da produção agrícola é feita pela adição de compostos químicos à área agricultável, seja para correções de solo, seja para adubação ou para o controle de organismos invasores, com os chamados agrotóxicos. Em especial, a partir dos anos 60, o uso destes produtos químicos foi intensificado devido à chamada Revolução Verde, que, por meio da mecanização e da inserção de novos produtos químicos, modificou o processo tradicional de produção agrícola (MAZOYER & ROUDART, 2010). No Brasil, os agrotóxicos têm papel relevante na agricultura atual, tendo em vista que, segundo Palaez *et al* (2013), somos o maior consumidor mundial destes produtos químicos. Dois dos grandes problemas nesta prática de produção é a falta de especificidade dos agroquímicos e o recorrente transporte dos compostos aos diversos compartimentos ambientais. Uma vez na natureza, eles passam não somente a atingir os invasores, mas também afetam organismos não-alvo (DORES & DE-LAMONICA, 1999), exercendo efeito tóxico à biota e passando a exercer papel de contaminante ambiental.

O compartimento água é muito suscetível a estes impactos, pois recebe contaminantes tanto diretamente, por meio de despejos domésticos e industriais, quanto indiretamente, em consequência dos materiais trazidos pelas águas pluviais e pelo escoamento superficial no solo (*runoff*) de culturas adjacentes (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003). Os efeitos destes contaminantes merecem especial atenção, pois os ambientes de água doce são ecossistemas de vital importância para os seres vivos deste planeta. Cobrindo por volta de 0,8% de toda a Terra (GLEICK, 1996), os ecossistemas aquáticos abrigam aproximadamente 10.000 espécies de peixes (LUNDBERG *et al.*, 2000), o que representa mais de um terço de todas as espécies

de vertebrados (DUDGEON *et al.*, 2006), além de constituir o hábitat de algas, macrófitas aquáticas e invertebrados, como insetos aquáticos e microcrustáceos.

Apesar de sua conhecida importância, os ambientes de água doce constituem um dos ecossistemas mais ameaçado atualmente (DUDGEON *et al.*, 2006), principalmente devido as interferências antrópicas (ESPÍNDOLA *et al.*, 2000), que causam alterações na composição química além da perda da biodiversidade (SALA *et al.*, 2000). Segundo Sala *et al* (*op cit*) o uso da terra está entre os principais fatores antrópicos que contribuem para a extinção ou redução na população de organismos aquáticos e terrestres, podendo-se destacar a aplicação de agrotóxicos, considerados defensivos agrícolas, como fator relevante para estes danos colaterais. A presença de agrotóxicos nos corpos d'água não apenas afetam a qualidade dos recursos hídricos como também alteram padrões naturais da biota aquática, causando danos à sustentação e funções dos ecossistemas aquáticos (HANAZATO, 1998). Dessa forma, a preocupação decorrente da aplicação de pesticidas em larga escala, como sua destinação e efeitos adversos tomou, nos últimos anos, grandes proporções (FAY & SILVA, 2004; DAAM & VAN DEN BRINK, 2009).

Dentre estas preocupações, uma relativamente recente é em relação ao potencial de contaminação dos ingredientes chamados de “inertes” nas formulações comercializadas. Comprovadamente muitas destas substâncias apresentam toxicidade ambiental e à saúde humana, no entanto, ainda existem poucos estudos que abordam o tema. A dificuldade na realização de pesquisas com ingredientes inertes é dada pela falta de transparência no que tange a composição dos produtos formulados presentes no mercado atual. As empresas formuladoras afirmam que caso a identidade dos ingredientes seja revelada, uma competição perigosa poderia ocorrer no mercado e, portanto, esta informação é protegida por lei pelo “segredo empresarial”. No entanto, porcentagens elevadas destes ingredientes compõem as fórmulas dos agrotóxicos (até 99%), causando grande preocupação quanto aos possíveis efeitos que estes podem causar na biota e para a saúde pública (EPISTEIN, 2003; COX & SURGAN, 2007).

Nota-se, assim, a relevância dos estudos ecotoxicológicos frente aos possíveis meios de contaminação ambiental. Na Ecotoxicologia aquática, bioensaios ecotoxicológicos são ferramentas importantes na avaliação da qualidade das águas. Por meio da utilização de organismos-testes é possível a identificação de compostos que afetam, de fato, os sistemas biológicos, permitindo a avaliação do potencial de risco ambiental de determinados contaminantes, como os de origem agrícola (COSTA *et al*, 2008; ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). A escolha destes organismos-teste é igualmente importante para estes

estudos ambientais. Uma análise conjunta referente ao modo de ação do contaminante investigado e dos organismos não-alvo relevantes ao ecossistema é de extrema importância no delineamento experimental, uma vez que diferentes espécies apresentam sensibilidades distintas e diferentes modos de ação correspondem a efeitos específicos também distintos. Dessa forma, estudos de toxicidade podem ser utilizados na comparação de compostos químicos bem como na comparação entre sensibilidades das espécies frente a exposição a uma mesma substância.

No entanto, não existe apenas uma espécie que possa ser representativa dos possíveis efeitos de contaminantes sobre toda uma comunidade ou um ecossistema. Dessa forma, os dados obtidos em ensaios laboratoriais devem servir como fonte de informação e devem ser conectados a modelos populacionais (COSTA *et al*, 2008). Neste sentido, apesar de serem amplamente utilizados e terem grande relevância nos estudos ecotoxicológicos, os bioensaios laboratoriais apresentam algumas desvantagens, como por exemplo, não traduzir uma abordagem realística devido à falta de complexidade ecológica (BROCK *et al*, 2000). Assim, a associação de mais de um modelo de estudo contribui para a robustez das análises ambientais. Modelos matemáticos e computacionais são ótimos exemplos que exercem muito bem este papel, pois são capazes de prever a distribuição de compostos químicos dentre os compartimentos ambientais, as possíveis concentrações presentes em situações reais de campo ou organizar informações e calcular índices que expressem um nível mais complexo de organização, permitindo interpretações mais realísticas. Portanto, modelos matemáticos podem constituir ótimas ferramentas que equilibram vantagens das análises laboratoriais com aquelas desenvolvidas no campo, permitindo a extrapolação de dados a níveis ecossistêmicos. Neste sentido, segundo Rand *et al* (1995), análises estatísticas e modelagem matemática têm sido utilizadas como ferramentas importantes para quantificar e prever os efeitos biológicos e determinar sua probabilidade de ocorrência sobre diferentes condições ambientais.

Neste contexto, ressalta-se a importância dos estudos ecotoxicológicos tanto pelo cenário de risco em que os ambientes aquáticos podem estar expostos frente ao uso descontrolado de agrotóxicos, quanto pela necessidade de se preencher lacunas de conhecimento que impossibilitam a real compreensão dos efeitos nocivos destes compostos ao meio ambiente e à saúde pública. Portanto, esta pesquisa visa contribuir com discussões pertinentes a alguns dos problemas atuais que vem sendo abordados dentro da Ecotoxicologia.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Agrotóxicos: definição e classificações

Primeiramente é importante ressaltar que o termo agrotóxico, apesar de ser o mais amplamente empregado e o utilizado em lei (7.802/89), não é o único existente. Na realidade a lista de nomenclaturas para estes compostos químicos é vasta e vai desde o termo agroquímicos, derivada do inglês “agrochemicals”, até os termos “remédio” e “veneno”, decorrentes do uso destes em campo. Outras nomenclaturas são: pesticidas, praguicidas, biocidas e defensivos agrícolas (PERES & MOREIRA, 2007). Esta última denominação (defensivos agrícolas), apesar de sua conotação errônea que não explicita as possíveis ações danosas dos produtos, foi amplamente empregada pela legislação Brasileira até a constituição de 1989 (Lei Federal 7.802 de 11 de julho de 1989), conhecida como “A lei dos agrotóxicos”. Segundo esta lei, o termo agrotóxicos e afins são definidos como:

“...produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso no setor de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas, como também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, assim como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (Brasil, 1989).”

Segundo Peres & Moreira (2007), esta nova nomenclatura, mais apropriada, começou a ser utilizada por englobar maior quantidade de características necessárias à descrição das substâncias que formam este universo. Outra definição semelhante é utilizada pela Norma Regulamentadora Rural nº 5 (NRR5), na qual encontra-se a seguinte definição para agrotóxicos:

“...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” (NRR 5, 2008)

A FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) também tem uma definição própria, sendo que a terminologia empregada pelo órgão é “*pesticides*” (ou pesticidas, em português) como genericamente e internacionalmente é mais encontrado em

publicações (OPAS, 1996). Nesta definição inclui-se a possível utilização de compostos químicos no tratamento de doenças em animais, em humanos e em vegetais. Segundo esta organização, os pesticidas significam:

“...qualquer substância ou misturas de substâncias cuja função é prevenir, destruir ou controlar qualquer peste, incluindo vetores de doenças humanas ou animais, espécies indesejadas de plantas ou animais que estejam causando danos ou interferindo no processo de produção, processamento, estocagem, transporte ou venda de alimentos, commodities, madeira e derivados, alimentos para animais, ou substâncias que podem ser administradas em animais para controle de insetos, aracnídeos ou outras pestes parasitas (FAO, 2003).”

Este termo inclui substâncias intencionalmente aplicadas como reguladores de crescimento, desfolhantes, dissecantes, agentes amadurecedores de frutas ou preventivos de queda prematura e substâncias aplicadas para proteção dos *commodities* da deterioração durante fases de estocagem e transporte (FAO, 2003).

No registro junto ao Ministério da Agricultura, Meio Ambiente e Saúde do Brasil, as empresas formuladoras de agrotóxicos necessitam realizar testes de toxicidade com organismos não-alvo, testes de mobilidade, persistência e degradação do produto, além de fornecer informações físico-químicas dos compostos ao órgão regulador, no caso representado pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). Os resultados destes testes classificam os produtos de diferentes maneiras, incluindo o modo de ação (MoA) do agrotóxico (quanto ao grupo de organismos-alvo atingidos pelo produto), toxicidade, persistência e estrutura química dos compostos.

Em relação à classificação quanto aos organismos-alvo ou modo de ação, os principais tipos são os herbicidas, inseticidas e fungicidas, no entanto, existe uma série de outros produtos com ação danosa a outros organismos-alvo. Estes podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Classificação de agrotóxicos quanto ao seu modo de ação. Fonte: modificado de Gavrilesco (2005)

Classificação quanto ao MoA de agrotóxicos	
TIPO	AÇÃO
Algicidas	Controle de algas em corpos d'água e piscinas
Antimicrobianos	Controle de microorganismos patogênicos
Atrativos	Atraem pragas específicas usando ferormônios naturais que confundem o comportamento de acasalamento de insetos
Avicidas	Controle de aves
Biopesticidas	Substâncias naturais com propriedades pesticidas
Desfolhantes	Causa a queda da folhagem, normalmente para auxiliar no processo de colheita
Dessecantes	Auxilia no processo de secagem de plantas ou insetos
Fumigantes	Produzem vapores ou gases para controle de insetos e doenças comuns ao solo e ar
Fungicidas	Controle de fungos
Herbicidas	Controle de ervas daninhas
Inseticidas	Controle de insetos
Acaricidas	Controle de ácaros
Moluscicidas	Controle de moluscos
Nematicidas	Controle de nematóides e organismos do solo
Ovicidas	Controle de ovos de insetos
Piscicidas	Controle de peixes
Reguladores de Crescimento vegetal	Acelera ou retarda o crescimento vegetal
Praguicidas	Controle de pestes (vertebrados)
Repelentes	Repele mosquitos, carrapatos e outros animais
Rodenticidas	Controle de roedores

A toxicidade de um agrotóxico é distribuída em quatro classes que devem ser indicadas por cores nas embalagens dos produtos (Tabela 2), sendo que no Brasil todos os agrotóxicos devem ser classificados de acordo com seu potencial tóxico (Decreto nº 98.816/90). Nesta classificação, a classe 1 corresponde a um produto extremamente tóxico cuja DL_{50} é maior de 5mg/kg e recebe a cor vermelha na embalagem. A classe 2 corresponde a um produto altamente tóxico, cuja DL_{50} está entre 5mg/kg e 50mg/kg e recebe a coloração amarela. A classe 3 é referente a um produto moderadamente tóxico cuja DL_{50} está entre 50mg/kg e 500mg/kg, recebendo a cor azul e a classe 4 é a de produtos pouco tóxicos, com DL_{50} compreendida entre 500mg/kg e 5.000mg/kg, recebendo a coloração verde nas embalagens dos produtos comercializados (PERES & MOREIRA, 2007). Similarmente, Who (1990) relacionou estas quantidades com doses capazes de matar uma pessoa, sendo estas descritas como: uma pitada ou algumas gotas; de algumas gotas a uma colher de chá; de uma colher de chá a duas gotas; duas colheres de sopa a um copo e de um copo a alguns litros

respectivamente. Como visto, esta classificação é baseada no conceito toxicológico chamado de DL₅₀, que corresponde a dose que leva a mortalidade a 50% dos organismos testados. Dessa forma a toxicidade aumenta conforme diminui a dose necessária para levar a letalidade de 50% da população-teste (COSTA *et al*, 2008).

Tabela 2: Classificação da toxicidade dos agrotóxicos baseada nas doses letais a 50% dos organismos-teste (DL₅₀) e identificação dos produtos pelas faixas coloridas presentes nas embalagens de produtos comercializados (Fonte: Peres & Moreira, 2007).

Classe toxicológica	Toxicidade	DL ₅₀ (mg/Kg)	Faixa colorida
I	Extremamente tóxico	≤ 5	Vermelha
II	Altamente tóxico	Entre 5 e 50	Amarela
III	Medianamente tóxico	Entre 50 e 500	Azul
IV	Pouco tóxico	Entre 500 e 5.000	Verde

Os agrotóxicos também podem ser classificados quanto a sua persistência no ambiente em compostos de vida curta (persistência menor de 5 dias no ambiente), levemente persistentes (permanecem de 5 a 15 dias no ambiente), moderadamente persistente (16 – 30 dias) e persistentes (permanecem mais de 30 dias no ambiente) (ESTEFANELLO JÚNIOR *et al*, 2012), como apresentado na Tabela 3. Esta classificação tem importância por demonstrar o potencial de contaminação do composto, já que determina seu tempo de disponibilidade aos organismos vivos presentes no ambiente.

Tabela 3: Classificação dos agrotóxicos quanto a sua persistência no ambiente. (Fonte: baseado em Estefanello Júnior *et al*, 2012).

Classe	Persistência	Dias
1	Vida Curta	< 5
2	Levemente Persistente	5 – 15
3	Moderadamente Persistente	16 – 30
4	Persistente	>30

2.2. Histórico, regulamentação e contexto atual

A utilização de produtos químicos para matar ou repelir insetos e outros “invasores” indesejados é uma prática antiga. Já nos anos 2.500 A.C. esta prática pode ser observada quando os sumérios utilizavam compostos a base de enxofre no combate aos insetos, bem como em 400 A.C. quando um pó feito com o macerado da flor *Chrysanthemum cinerariaefolium* era utilizado como remédio contra piolhos (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012). Um pouco mais recentemente, na idade média, surgem as chamadas pragas que, até então, não eram associadas à presença de vetores, mas sim eram consideradas “castigo dos deuses”.

Nesta época, pessoas “suspeitas” que “mereciam ser castigadas”, eram submetidas a um julgamento e os considerados culpados eram executados, prática considerada eficaz tendo em vista que, por vezes, as condenações coincidiam com o ciclo natural de vida das pragas. No século XIV os chineses utilizavam compostos a base de arsênio contra insetos e no século XVII a nicotina começava a ser usada para a proteção de jardins (EDWARDS,1998). No fim deste mesmo século, o mercúrio era utilizado contra pragas em geral e sementes eram tratadas com ervas, óleos e cinzas para o armazenamento (CARSON, 1962).

Alguns tipos de carbamatos têm registros de utilização primeiramente durante o século XIX, quando eram utilizados em “julgamentos de feitiçaria” no oeste da Ásia (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012). Quando uma pessoa era suspeita por praticar feitiçaria esta deveria tomar o extrato aquoso de feijão-de-calabar (*Physostigma venenosum*) e, caso ela sobrevivesse, era considerada inocente, caso morresse era culpada (BRANCO, 2003). Os carbamatos são ésteres do ácido carbâmico (NH₂COOH) e são instáveis, com toxicidade aguda média (ANVISA, 2010).

Até então, os compostos químicos não eram processados e, tampouco, aplicados em ampla escala na produção agrícola, porém, em meados do século XIX, misturas de compostos inorgânicos começaram a ser produzidas e aplicadas na agricultura como defensivos. Estas eram: enxofre e cal que formavam um potente fungicida no combate a sarna-da-maça; sulfato de cobre e cal que compunham a “calda bordalesa”, outro fungicida utilizado para combate ao míldio da uva e sulfato-feroso a base de fluoreto de sódio para controle de formigas (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012). Ainda não era de conhecimento geral, porém muitos destes agrotóxicos inorgânicos eram muito tóxicos, como é o caso do aceto-arsenito de cobre ou, mais comumente conhecido, como “verde de Paris”. Este era comercializado em 1814 como uma tinta de coloração verde, porém seu potencial tóxico só foi notado após artistas e colecionadores da época morrerem por intoxicação pelo contato com o composto. Assim, em 1867, o “verde de Paris” começou a ser utilizado como inseticida contra o besouro da batata nos EUA. Alguns anos mais tarde, após a primeira legislação que regulamenta o uso de inseticidas entrar em vigor (1900), este inseticida foi banido também para este fim.

Ainda neste século iniciaram-se os primeiros estudos sobre a utilização de compostos orgânicos na agricultura. Os primeiros agrotóxicos orgânicos foram as “piretrinas” provenientes do “pó da Pérsia”, extraídos das flores *Chrysanthemum cinerariaefolium* e *Chrysanthemum coccineum*, inicialmente na Iugoslávia e no Cálcaso. Porém estes compostos eram muito fotoinstáveis e não obtiveram muito sucesso na agricultura (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012), sendo posteriormente substituídos pelos piretróides, compostos orgânico-

sintéticos derivados do mesmo composto, o piretro. Na época a nicotina e a rotenona também eram extraídas (da *Derris elliptica* e de plantas do gênero *Lonchocarpus*, respectivamente) e utilizadas para o controle de lagartas (CARSON, 1962).

Nesta época acreditava-se que compostos orgânicos não poderiam ser produzidos artificialmente e, portanto, todos eram de origem vegetal. Esta crença caiu por terra em 1828 quando o alemão Friedrich Wohler transformou um composto inorgânico, o cianeto de amônio, em uréia, um composto orgânico. A partir deste momento, já no século XX, a produção de compostos orgânicos foi potencializada e culminou com o início da segunda guerra mundial, em 1940, com a produção dos organofosforados, utilizados como armas químicas, e os organoclorados utilizados no controle de doenças.

Neste contexto, surgiu o famoso DDT, um organoclorado utilizado contra piolhos e tifo por soldados durante combates na África e na Ásia (CARSON, 1962). Na época, o DDT foi tão importante para a saúde pública que rendeu ao químico suíço Paul Hermann Muller, em 1948, o prêmio Nobel de medicina pela erradicação da malária na Europa e na América do Norte (CARSON, 1962). Outro composto químico importante durante as guerras foi o herbicida “Agente Laranja”, utilizado durante a guerra do Vietnã (1964 – 1975) como desfolhante para encontrar os soldados escondidos nas vegetações do sudeste asiático. Os efeitos colaterais da exposição a este tóxico atingiram 4,8 milhões de pessoas, provocando má formação, câncer e síndromes neurológicas em Vietnamitas e soldados estadunidenses.

No contexto da agricultura, ocorria em 1950 a chamada “Revolução Verde”, na qual por meio da mecanização e da aplicação de agrotóxicos em larga escala, dentre eles o DDT, a produção agrícola mundial foi potencializada. Dessa forma, cresceu substancialmente o consumo de agrotóxicos, as áreas cultivadas (não proporcionalmente) e a produção de insumos agrícolas entre as décadas de 60 e 90 (ARMAS *et al*, 2005).

Até então pouco se sabia a respeito da periculosidade do uso desregulado destes agrotóxicos. Foi em 1962, com o lançamento do livro “Primavera Silenciosa”, da cientista Rachel Carson, que chamou-se pela primeira vez a atenção aos efeitos negativos tanto para a biodiversidade, quanto para a saúde humana frente ao uso de agroquímicos. Neste livro, a autora reuniu seus trabalhos e de outros cientistas em uma narrativa que denunciava a alta toxicidade dos agrotóxicos e os danos causados por estes aos seres vivos, em especial, a aves, como o falcão-peregrino, que quase foram levados a extinção devido a ação do DDT e outros organoclorados. Estes agem bloqueando a absorção de cálcio pelas aves, tornando seus ovos frágeis e quebradiços e, conseqüentemente, influenciam na sobrevivência dos filhotes (CARSON, 1962). O livro teve grande repercussão na época, sendo um marco importante na

história dos agrotóxicos e no início de uma maior conscientização a respeito destes compostos químicos.

No Brasil, apesar dos programas de saúde pública ter sido porta de entrada para estes produtos, a agricultura foi o meio que mais difundiu em larga escala as utilizações dos agrotóxicos. Além de terem sido criados o Sistema Nacional de Crédito Rural (SNCR) e o Programa Nacional de Defensivos Agrícolas entre as décadas de 60 e 70, vários tipos de incentivos para compra de agrotóxicos foram dados pelo governo, como isenções fiscais e tributárias no final dos anos 90, redução de ICMS (Imposto sobre Circulação e Mercadorias e Serviços) em 1997 e isenção de IPI (Impostos sobre Produtos Industrializados) em 2006, uma vez que esta prática era vista como moderna e progressista (LONDRES, 2011). Neste contexto, em 2008 o Brasil alcançou o primeiro lugar em consumo de agrotóxicos. Entre 1991 a 2001, o aumento na utilização destes foi de quase 400% e os gastos de aquisição do produto até 1997 cresceu de um para 2,2 bilhões de dólares por ano. Em 1998 foram consumidos em campo cerca de 310 mil toneladas (em ingredientes ativos) de produtos comerciais.

A regulamentação no registro dos agrotóxicos deu-se pela Lei Federal 7.802 em 1989 (a “Lei dos Agrotóxicos”), como citado, e esta tratava desde a pesquisa, a experimentação, a fabricação, o registro, até sua comercialização, aplicação, controle, fiscalização dos agrotóxicos, seus componentes e afins (BRASIL, 1989). Porém, somente a partir de meados dos anos 2000 houve avanços importantes no cenário regulatório destes compostos, principalmente no que diz respeito às maiores preocupações com efeitos ambientais e à saúde pública. No ano 2000, foi publicada uma lei federal (Lei nº 9.974, de 06 de Junho de 2000) baseada na logística reversa que regulamentava o recolhimento de embalagens vazias de agrotóxicos. Posteriormente, o decreto 4.074, de 04 de janeiro de 2002, regulamentou a lei de 1989 quanto a importantes diretrizes relacionadas à saúde pública e à proteção ambiental.

Atualmente, o Brasil gasta em média 7,3 bilhões de dólares por ano com estes tóxicos (SINDAG, 2010), além de consumir mais de 400 mil toneladas anualmente desde 2011 (IBAMA, 2014). A taxa de consumo de agrotóxicos no Brasil ainda cresce exponencialmente. Segundo dados fornecidos no site do IBAMA (IBAMA, 2014), em 2013 (dados ainda não atualizados para os anos de 2014 e 2015) o país bateu recorde de consumo pela venda de 495.764,55 em toneladas de ingredientes ativos, representando crescimento de 3,76% em relação ao ano anterior (2012), cujo crescimento havia sido de 13,16% em relação a 2011. Tais aumentos, segundo dados disponíveis, vêm ocorrendo anualmente desde 2009 (Figura 1).



Figura 1: Crescimento da venda de agrotóxicos de 2000 a 2013 no Brasil. Gráfico confeccionado a partir de dados do IBAMA (2014), disponíveis em: <http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>.

As regiões que mais consomem agrotóxicos no Brasil são, em ordem decrescente: Centro-Oeste (159.853 ton de i.a.); Sul (119.179 ton de i.a.); Sudeste (112.926 ton de i.a.); Nordeste (45.280 ton de i.a.) e Norte (13.631 ton de i.a.), sendo que o estado de Mato Grosso (MT) é o que mais consome agrotóxicos no país (87.520 ton de i.a., aproximadamente duas vezes mais que o segundo maior consumidor, Goiás (GO)). Dentre estes produtos, os que compõem maior quantidade em toneladas de ingredientes ativos são, em primeiro lugar, os herbicidas (303.573), seguido dos inseticidas (56.993) e os fungicidas (54.030). Do total de agrotóxicos comercializados no Brasil atualmente, a grande maioria é pertencente às classes III (62%) e II (31%) quanto ao grau de periculosidade, o que correspondem a produtos perigosos ao meio ambiente e produtos muito perigosos ao meio ambiente, respectivamente. Ressalta-se ainda que 1% das 495.764 ton de i.a., ou seja, aproximadamente 5 mil toneladas de i.a. comercializados no Brasil, são altamente perigosos ao meio ambiente (IBAMA, 2014).

2.3. Os agrotóxicos Kraft®36EC (i.a. abamectina) e Score®250EC (i.a. difenoconazol)

O agrotóxico Kraft®36EC é um produto formulado cuja composição é dada por 3,6% do ingrediente ativo chamado abamectina (em uma concentração de 36g/L) e 93,02% dos chamados ingredientes inertes (em uma concentração de 930,20g/L). Quanto a sua toxicidade

é classificado pela ANVISA como extremamente tóxico a saúde humana (classe 1) e como muito tóxico ao meio ambiente pelo IBAMA (classe 2).

A abamectina (Figura 2), juntamente a outros dois compostos (ivermectina e doramectina), pertence ao grupo químico das avermectinas, derivados da fermentação da bactéria do solo *Streptomyces avermitilis*. Ela é composta pela mistura de duas moléculas, a Avermectina B_{1a} (mais de 80%) e a Avermectina B_{1b} (demais 20%), cuja única diferença estrutural é a presença de um grupo etil (Avermectina B_{1a}) ou um grupo metil (Avermectina B_{1b}) na posição 26-C da cadeia (CAMPBELL, 1989; DAR, 2006). Quanto a sua funcionalidade é classificado como um inseticida/acaricida/nematicida de origem biológica, além de ser um agente antiparasitário em animais de criação e estimação (KOLAR *et al.*, 2008). Seu mecanismo de ação estimula a liberação do ácido gama aminobutírico (GABA) que resulta num estado de repouso forçado, ataxia e paralisia.

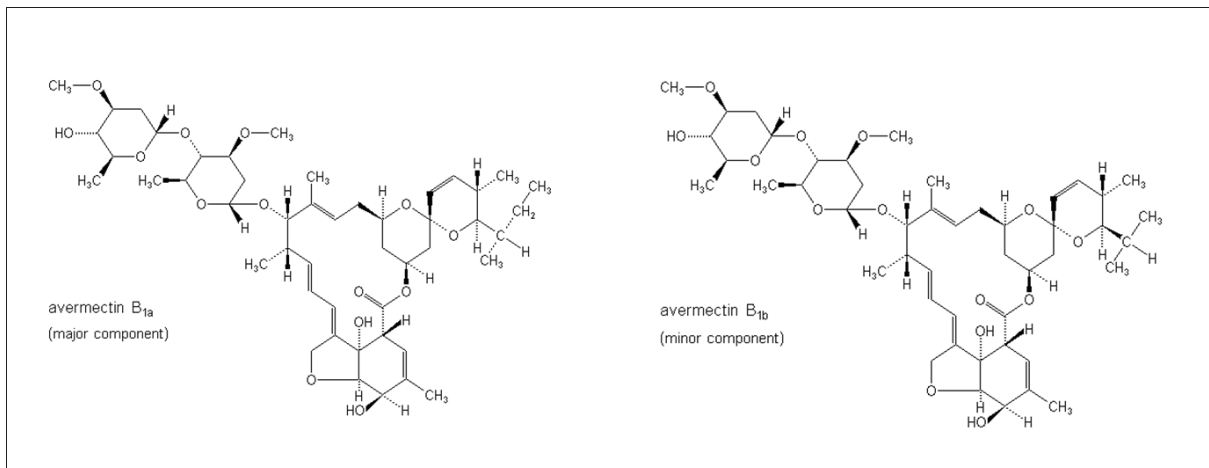


Figura 2: Fórmula química das avermectinas (B1a e B1b) que compõem o ingrediente ativo, abamectina. (Fonte: PTID: Pesticide Target Interaction Database: <http://lilab.ecust.edu.cn/ptid/compound/detail/163.html>)

O agroquímico pode ser usado como defensivo agrícola em diversas culturas como algodão, batata, feijão, maçã, mamão, citros, crisântemo, tomate e morango. Nesta última, o produto formulado costuma ser aplicado para erradicação do ácaro-rajado da espécie *Tetranychus urticae*, segundo a bula, respeitando-se a dose de 25 a 30ml a cada 100L de água aplicada na plantação e um máximo de duas a três aplicações intervaladas de sete dias.

O agrotóxico Score®250EC é um produto formulado cuja composição é dada por 25% do ingrediente ativo chamado difenoconazol (em uma concentração de 250g/L) e 75% dos chamados ingredientes inertes (em uma concentração de 750g/L). Quanto a sua toxicidade, assim como o Kraft®36EC é classificado pela ANVISA como extremamente tóxico a saúde humana (classe 1) e como muito tóxico ao meio ambiente pelo IBAMA (classe 2), além de ser considerado altamente persistente no meio ambiente.

O difenoconazol (Figura 3), trazido para o mercado em 1989, pertence ao grupo químico do triazol e é um fungicida sistêmico destinado ao controle de doenças de frutas, vegetais e plantas ornamentais. É Inibidor da biosíntese de ergosterol provocando rompimentos na biossíntese da parede celular de fungos além de inibir a germinação de esporos destes organismos.

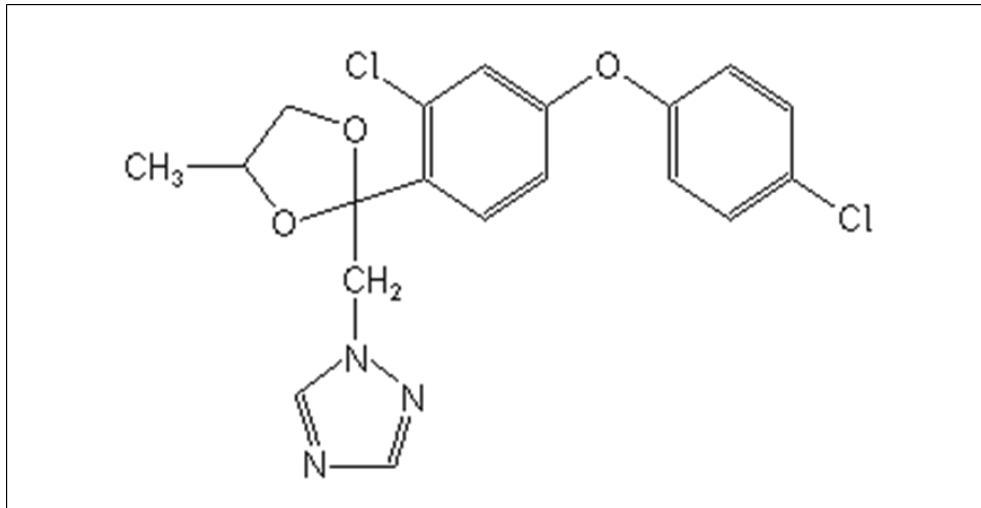


Figura 3: Fórmula química do ingrediente ativo difenoconazol da família dos triazóis. (Fonte: PTID: Pesticide Target Interaction Database: <http://lilab.ecust.edu.cn/ptid/compound/detail/163.html>).

O agroquímico pode ser usado como defensivo agrícola em diversas culturas como algodão, alface, abobrinha, alho, amendoim, arroz, banana, batata, berinjela, beterraba, café, cenoura, cebola, citros, couve-flor, ervilha, feijão, maçã, mamão, manga, maracuja, melancia, melão, pepino, pimentão, soja, uva e morango. Nesta última, o produto formulado costuma ser aplicado para erradicação da mancha *mycosphaerella* causada pelo fungo *Mycosphaerella fragariae*, segundo a bula, respeitando-se a dose de 40ml a cada 100L de água aplicada na plantação com intervalos mínimos de 14 dias.

2.4. Problemática: transporte e contaminação

O uso do solo é uma das influências antrópicas que mais modificam ecossistemas naturais, sendo, atualmente, as aplicações indiscriminadas de agrotóxicos, considerada uma das maiores fontes poluidoras dos recursos hídricos, contribuindo com uma ampla diversidade de classes de poluentes (ONGLEY, 1996). Apesar de sua função de proteção de áreas agrícolas contra invasores, uma vez aplicado no ambiente os agroquímicos podem ser transportados atingindo também os organismos não-alvo. Segundo alguns autores, o movimento das águas representa a principal forma de transporte destas substâncias (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003). Em plantações, por exemplo, o escoamento da água

da chuva (*runoff*) sobre solos que receberam aplicação de agrotóxicos, é uma das principais fontes de contaminação das águas superficiais (LERCH & BLANCHARD, 2003).

Tendo em vista que os compartimentos ar, solo, água e sedimento não são isolados, e sim, apresentam uma forte conectividade, os agrotóxicos se dispersam pelo meio ambiente e contaminam até mesmo áreas distantes ao local de aplicação (DORES & DE-LAMONICA, 1999; GAVRILESCU, 2005). São muitas as formas que estes compostos podem atingir os diversos compartimentos ambientais, sendo que uma delas é o escoamento superficial das águas, outras, por exemplo, são por meio de volatilização e deposição das substâncias, por meio de precipitações e dissoluções do contaminante, sedimentação e ressuspensão, translocação, lixiviação e decantação (Figura 4).

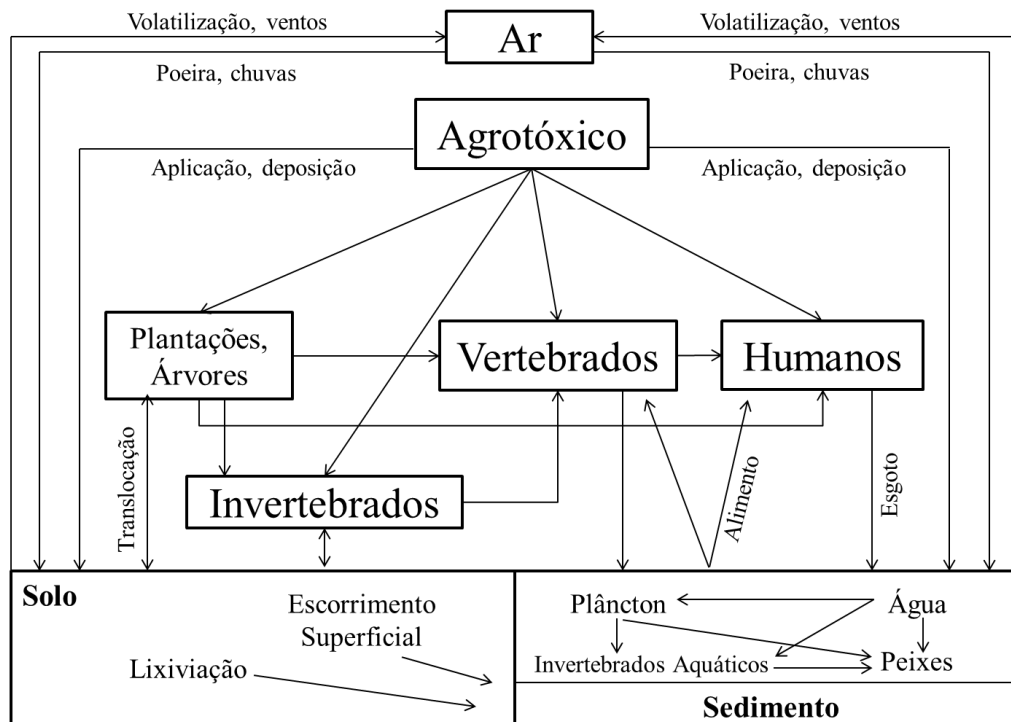


Figura 4: Transporte de agrotóxicos entre os compartimentos ambientais (Fonte: modificado de Gavrilescu, 2005).

Segundo Bettiol & Guine (2003), estima-se que aproximadamente 90% dos compostos químicos aplicados em cultivos agrícolas são dissipados atingindo reservatórios de água e solo. Outros autores apresentam visão mais pessimista, aferindo uma porcentagem apenas de 0,3% ou menos dos agrotóxicos administrados em cultivos por meio de pulverização que atingiriam, de fato, organismos-alvo (PIMENTEL, 1991). Em contrapartida, outros estudos chegaram a diferentes porcentagens, como é o caso de Chaim (2003), que afirma que por volta de 30% do composto podem ser “perdidos” e, ainda, Gavrilescu (2005), menciona que

45% do produto permanece na área aplicada enquanto os 55% restantes se dissipam pelas adjacências (Figura 5).

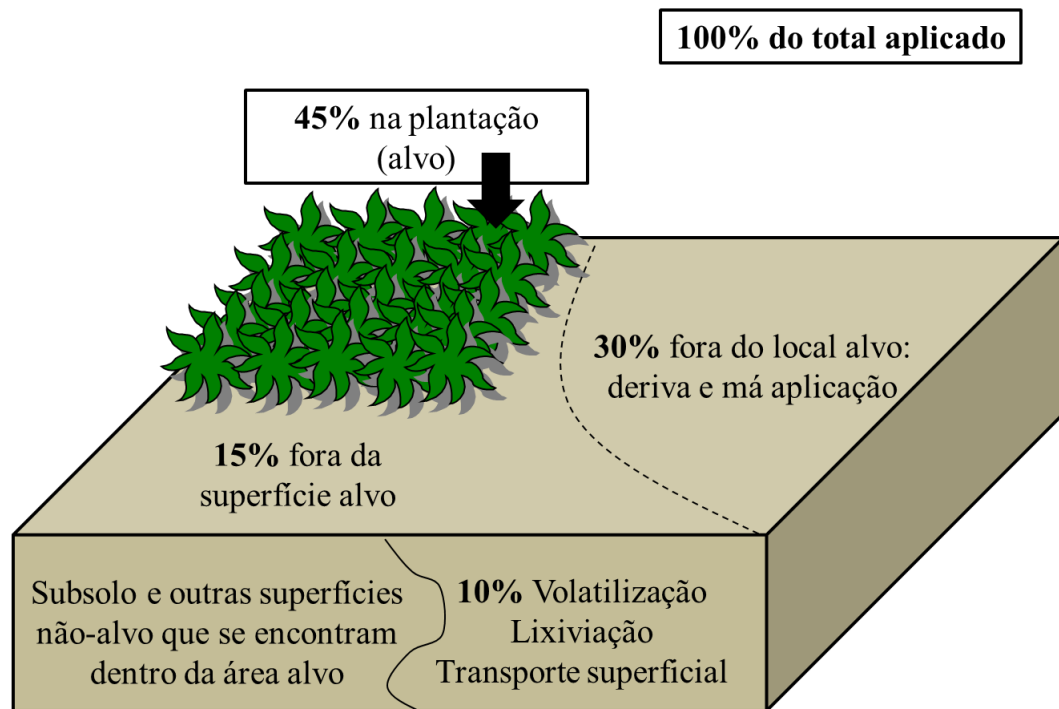


Figura 5: Porcentagens de agrotóxico que atingem as áreas-alvo e que são dissipadas pelas adjacências do local de aplicação. (Fonte: modificado de Gavrilescu, 2005).

Além do transporte, os agrotóxicos podem sofrer uma série de modificações durante sua permanência no ambiente. Transformações como fotólise, hidrólise, biodegradação, complexação e adsorção são recorrentes e podem tornar os compostos químicos em subprodutos com características físico-químicas diferentes das do produto inicial (COSTA *et al*, 2008). Muitas vezes, estes compostos modificados são ainda mais tóxicos para certos organismos não-alvo que os primeiros, assim como o transporte destes contaminantes a outros compartimentos tornam os poluentes disponíveis a outros organismos-não alvo.

As características físico-químicas destes produtos são fatores importantes que determinam o transporte, pois elas ditam o grau de lixiviação, a fugacidade, a capacidade de retenção a até os potenciais de acumulação do composto em determinado compartimento ambiental ou no organismo de seres vivos. As principais propriedades físicas e químicas relacionadas a seu comportamento ambiental são: solubilidade em água (S_w), pressão de vapor (P), coeficiente de partição n-octanol-água (K_{ow}), constante de ionização ácido (pK_a) ou base (pK_b), constante da lei de Henry (K_H) e a reatividade ou meia vida ($T_{1/2}$) (DEUBER, 1992). Dessa forma, o ambiente aquático é um destino potencial de agrotóxicos uma vez que este compartimento pode ser atingido por diversas vias como: ação dos ventos durante a pulverização, lixiviação atingindo as águas subterrâneas, erosão e carreamento de

solo para dentro de corpos d'água, transporte de vapor e poeira que podem ser depositados por precipitações além de aplicações diretas intencionais ou acidentais ou decorrentes de manejo inadequado como lavagem e descarte de material de aplicação ou embalagens (DORES & DE-LAMONICA, 1999) (Figura 6).

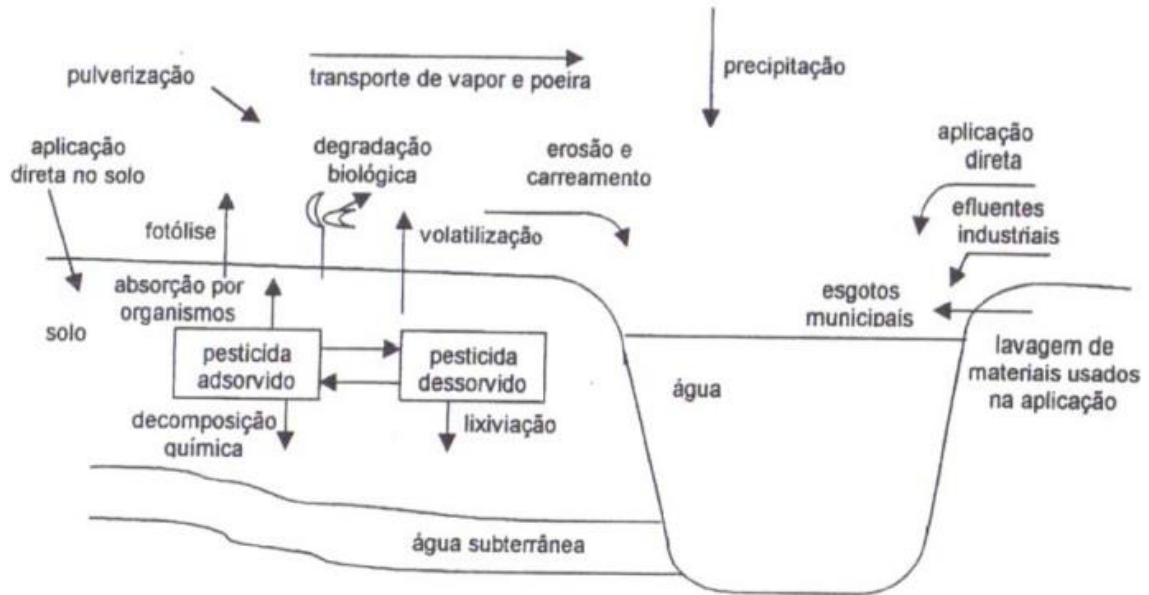


Figura 6: Transporte de agrotóxicos e vias de contaminação do ambiente aquático. (Fonte: Dores & De-Lamonica, 1999).

Desde os anos 60, quando os agrotóxicos ganharam espaço no Brasil (PERES & MOREIRA, 2007) até os dias de hoje, estes xenobióticos vem desempenhando papel de grandes contaminantes ambientais e das populações de animais relacionados a estes ambientes (ANVISA, 2002). Dentre os danos causados por agrotóxicos estão a perda de qualidade da água como um recurso para o ser humano, interferindo diretamente na saúde pública (SILVA & SANTOS, 2007), e as possíveis alterações nas comunidades, como perda de biodiversidade, redução na abundância e modificações de grupos funcionais daquele ambiente, possivelmente interferindo em processos ecossistêmicos como a respiração do solo e ciclagem de nutrientes além de causar mortalidade da fauna (EDWARDS, 2002). É importante lembrar que estes efeitos estão intimamente relacionados tendo em vista que os danos causados por contaminantes na qualidade dos recursos naturais são refletidos na biota que acabam por ter sua biologia alterada, gerando malefícios aos serviços ecossistêmicos que, consequentemente, promovem a perda de qualidade de vida humana.

Ademais, estes contaminantes são absorvidos pelos seres vivos e transferidos pela cadeia trófica atingindo altos níveis tróficos, sendo o homem um deles (WHO, 1990). Uma vez no ambiente, o agrotóxico entra em contato com as superfícies respiratórias e dérmicas da

fauna local, sendo absorvida. A diferença entre a concentração absorvida e a excretada é a chamada “bioconcentração”. Neste caso, não é incluso o que foi ingerido pelo organismo, ao contrário da “bioacumulação” que inclui todas as rotas de exposição a um contaminante, seja ela por superfícies ou alimentar. Por fim, chama-se “biomagnificação” o aumento desta concentração nos tecidos com o avanço dos níveis tróficos, colocando os organismos dos mais altos níveis tróficos como consumidores de toda uma cadeia de acumulação (COSTA *et al.*, 2008).

Em conclusão, é necessário que haja cuidado na aplicação dos insumos agrícolas uma vez que o gerenciamento errôneo pode causar externalidades negativas a muitas esferas diferentes. A contaminação de apenas um compartimento, seja ele o ar, solo, sedimento, águas superficiais ou subterrâneas, introduz o tóxico na cadeia de transporte possibilitando sua dispersão bem como sua incorporação na cadeia trófica, gerando danos não somente ao meio ambiente como aos que dele usufruem, como o ser humano.

3. Justificativas

Tendo em vista o panorama da utilização de agrotóxicos no Brasil e no mundo, várias são as problemáticas que devem ser focadas. Primeiramente pode-se dar maior atenção à desenfreada inserção dos agroquímicos de forma inadequada na agricultura, que gera uma gama de misturas e interações com efeitos ainda pouco estudados e não previstos para a biota local. Neste cenário, encontra-se também a imprevisível ação dos ingredientes inertes presentes em formulações de agroquímicos que, por terem sua identidade protegida pelas empresas formuladoras, permanecem incógnitas quanto aos possíveis efeitos tóxicos para organismos vivos.

Em um quadro próximo, menciona-se a região de Bom Reposo, onde a aplicação de abamectina e difenoconazol, sob as formas dos produtos comerciais Kraft®36EC (atualmente), Vertimec®18EC (recentemente substituído pelo Kraft®36EC) e Score®250EC, nas plantações de morango, são exemplos de formulações que atingem os ecossistemas aquáticos. Esta região constitui um local de risco também devido às influências das características climáticas e físicas. A alta declividade encontrada em Minas Gerais, em especial do município em questão, contribui amplamente para o escoamento superficial (*runoff*) da água da chuva nos solos, carreando grande parte dos contaminantes tóxicos aplicados nas plantações (BRIGANTE & ESPÍNDOLA, 2003). Além disso, destaca-se a prática de aplicação por parte dos agricultores, muitas vezes próximas aos leitos de rios, e o

descarte inadequado de embalagens, ou mesmo sua lavagem, dentro dos corpos d'água, constituindo agravantes para a entrada de contaminantes no meio aquático.

A problemática deste município já é de longa data conhecida. Desde o ano 2000, o NEEA (Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada), vem desenvolvendo pesquisa na bacia hidrográfica do rio Mogi-Guaçu, incluindo a região de montante no estado de Minas Gerais até sua jusante, já no estado de São Paulo. Ao longo dos anos, o monitoramento desta região permitiu, ao grupo de pesquisa, construir uma base de dados robusta acerca de diversos parâmetros limnológicos, ecológicos e socioambiental, resultando na publicação de dois livros (Limnologia Fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu, editado por BRIGANTE & ESPINDOLA, em 2009; e Projeto Mogi-Guaçu: desenvolvendo ações socioambientais, editado pelos mesmos autores, em 2010), além de estudos mais específicos relacionados ao uso de agrotóxicos, notadamente avaliando o efeito do produto comercial Vertimec® 18EC (abamectina) sobre representantes da fauna edáfica e aquática (RODRIGUES, 2007; DECINA, 2007; VIEIRA, 2008; BRAUN, 2008; MENDES, 2009; RESENDE, 2009; CUNHA, 2009; NUNES, 2010; LIMA, 2010; BARBOSA, 2010; ESPÍNDOLA, 2011; DORNELES, 2011; NUNES et al, 2012; BRAUN et al, 2012; NOVELLI et al, 2012a; NOVELLI et al, 2012b; RAMOS, 2013; VASCONCELLOS, 2014). No entanto, no decorrer do anos, verificou-se uma substituição do uso do Vertimec® 18EC pelo Kraft® 36EC, que tem o mesmo princípio ativo (abamectina), cujo efeito tóxico ainda não foram avaliados. Adicionalmente verificou-se a intensificação do uso do agrotóxico Score®250EC (difenoconazol), um produto ainda não avaliado e com desconhecimento dos seus potenciais efeitos ambientais em regiões tropicais.

Desta forma, a presente pesquisa visou caracterizar a região referência descrita anteriormente quanto a exposição aos agrotóxicos citados, analisar o efeito desta exposição provável em organismos não-alvo representativos de ecossistemas de água doce, além de complementar a base de dados iniciada pelo NEEA e discutir os resultados de forma comparativa com o produto formulado Kraft®36EC e seu respectivo ingredientes ativo, abamectina, contribuindo com novos dados referentes ao produto formulado Score®250EC e seu ingrediente ativo, difenoconazol. Espera-se, ainda, avaliar possíveis diferenças nos efeitos tóxicos das formulações comerciais Vertimec® 18EC e Kraft® 36EC, que apresentam o mesmo ingrediente ativo (abamectina).

Por outro lado, os estudos ecotoxicológicos frequentemente lançam mão da utilização de organismos representativos da biota aquática nos testes laboratoriais, obtendo respostas de efeitos de contaminantes como os agrotóxicos. É necessário, no entanto, que esta escolha leve

em consideração a menor porcentagem de efeito ambiental possível, ou seja, que os organismos escolhidos sejam sensíveis o suficiente para garantir um menor dano ambiental. Dentro desta premissa, deve-se atentar tanto aos organismos que serão submetidos aos testes quanto ao modo de ação do composto testado, afim de que esta associação garanta a maior proteção ambiental. Este trabalho abordou esta temática de forma comparativa baseado em dados publicados e discutiu possíveis organismos-teste mais recomendados para cada um dos contaminantes testados, baseado em suas sensibilidades.

Ademais, como citado anteriormente, a utilização dos produtos formulados cuja composição é desconhecida, afora os ingredientes ativos, gera preocupações quanto aos efeitos na toxicidade, disponibilidade de agentes tóxicos, transporte, degradação e volatilização também na região em questão com os produtos supracitados (Kraft®36EC e Score®250EC). Desta forma, esta pesquisa também objetivou contribuir neste sentido, aumentando a base de dados que corroboram os efeitos distintos entre produtos formulados e ingredientes ativos, além de inovar aplicando uma análise ecossistêmica comparativa dos efeitos destes contaminantes às frações ecossistêmicas, possibilitando uma visão holística e mais próxima ao cenário real.

4. Objetivos

4.1. Objetivos Gerais

O objetivo desta dissertação de mestrado foi avaliar a toxicidade dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC e de seus ingredientes ativos, abamectina e difenoconazol, para o compartimento aquático, frente à exposição de diferentes organismos-teste não-alvos, simulando o cenário do local referência, o município de Bom Repouso, MG.

4.2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos, contemplados em seus respectivos capítulos, foram:

- i. Simular o cenário real do local-referência, e prever com base nas concentrações tóxicas, os possíveis efeitos dos agrotóxicos aos organismos não-alvo do compartimento aquático (Capítulo 2).
- ii. Comparar a sensibilidade de diferentes organismos-teste com base em testes ecotoxicológicos e em dados de literatura, procurando eleger os mais sensíveis aos agrotóxicos testados (Capítulo 3).
- iii. Determinar se existe ou não diferença significativa de toxicidade entre os produtos formulados (Kraft®36EC e Score®250EC) e seus ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) para os organismos testados (Capítulo 4).

5. Referencias Bibliográficas

ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R.; AMÂNCIO, A. V.; CORREA, R. M. L.; GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. **Química Nova**, 2005, v.28, p.975-982.

BARBOSA, D. S. 2010. Avaliação e identificação de toxicidade (fase 1) em nascentes da bacia do rio Mogi-Guaçu, município de Bom Repouso/MG. (**Dissertação de Mestrado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

BRAIBANTE, M. E. F. & ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na escola**. V. 34, n 1, p. 10-15, 2012

BRANCO, S. M. Natureza e agroquímicos. 2. ed. São Paulo: **Moderna**, 2003.

BRASIL, 2006 **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)** Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/15967/1/documentos58.pdf>> (acessado em 20/10/2013).

BRASIL, Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, e seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acessado em: 15/06/2014.

BRASIL. 1989. **Ministério do Meio-Ambiente (MMA)**. Informativo MMA. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/sitio/>> (acessado em 15/06/2014).

BRASIL. 2002. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Resolução n.4704, de 21 de fevereiro de 2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br>>. Acessado em 12/06/2014.

BRASIL. 2007. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Consulta Pública nº 12, de 13 de fevereiro de 2007. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br>>. Acessado em 07/06/2014.

BRASIL. 2010. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br>>. Acessado em 16/07/2014.

BRAUN, A. S., 2008. Efeitos dos resíduos do Vertimec utilizado na agricultura em organismos planctônicos. (**Monografia**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

BRAUN, A. S.; NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Ecotoxicological effects of Vertimec ® 18EC on plankton. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**. Vol. 7, Nº 2, 2012.

BRIGANTE, J. ESPÍNDOLA, E. L. G. (Eds.) Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: **RiMa** Editora, 2003. 255 p.

Brock, T.C.M., J. Lahr & P.J. Van den Brink. Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems. Part 1: **Herbicides. Alterra-Rapport**, Wageningen, The Netherlands, 2000.

CAMPANHOLA, C. & BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Ed.). Métodos alternativos de controle fitossanitário. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, p.13-51, 2003.

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

CARSON, R. Primavera Silenciosa. 1ª ed. São Paulo. **Gaia**, 1962.

CHAIM, A.; BOTTON, M.; SCRAMIN, S.; PESSOA, M. C. P. Y. SANHUEZA, R. M. V.; KOVALESKI, A. Deposição de agrotóxicos pulverizados na cultura da maçã. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, vol. 38, Nº. 7, p. 889-892, 2003.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R. & ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em Ambientes Aquáticos: discussão e métodos de Avaliação. **Química Nova**, V. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

Cox, C. & Sorgan, M. Unidentified Inert Ingredients in Pesticides: Implications for Human and Environmental Health. **Environmental Health Perspectives**, Vol. 114, No. 12; pp. 1803-1806, 2007. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/4119588>. Acessado em: 13-08-2015.

CUNHA, G. P. Q. 2009. Caracterização ambiental da região de montante do rio Mogi-Guaçu (Bom Repouso – MG): estratégias para replicabilidade e diretrizes para elaboração do plano de adequação ambiental. (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

DAAM, M. A. & VAN DEN BRINK, P. J. Implications of differences between temperate and tropical freshwater ecosystems for the ecological risk assessment of pesticides. **Ecotoxicology**, 19:24–37, 2010.

DAAM, M. A.; VAN DEN BRINK, P. J. & NOGUEIRA, A. J. A. Comparison of fate and ecological effects of the herbicide linuron in freshwater model ecosystems between tropical and temperate regions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 72:424–433, 2009.

DECINA, T. G. T., 2007. Avaliação do efeito do Vertimec 18EC sobre a comunidade edáfica: um estudo experimental. . (**Monografia**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

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

DORES, E. F. G. C. & DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do Ambiente Aquático por pesticidas: Vias de Contaminação e Dinâmica dos Pesticidas no Ambiente Aquático. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 9:18, 1999.

DORNELLES, C. T. A. 2011. Avaliação das ações e da efetividade de projetos socioambientais: uma análise do projeto Mogi-Guaçu. (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

DUDGEON, D.; ARTHINGTON, A. H.; GESSNER, M. O.; KAWABATA, Z.; KNOWLER, D. J.; LÉVÊQUE, C; NAIMAN, R. J.; PRIEUR-RICHARD, A.; SOTO, D.; STIASSNY, M. L. J.; SULLIVAN, C. A. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. **Biological Reviews**, 81:163–182, 2006.

EDWARDS, C. A. PollutionIssues – **Pesticides**. 1998. Disponível em: <<http://www.pollutionissues.com/NaPh/Pesticides.html>>. Acesso em: 16/07/2014.

EPSTEIN, D. J. Secret Ingredients: “Inert” compounds may be chemically active and toxic. **Scientific American**, Inc. 2003.

ESPÍNDOLA, E. A. 2011. Análise da percepção de risco do uso de agrotóxicos em áreas rurais: um estudo junto aos agricultores no município de Bom Repouso (MG). (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

ESPÍNDOLA, E. L. G.; PASCHOAL, C. M. R. B.; ROCHA, O.; BOHER, M. B. C.; OLIVEIRA NETO, A. L. Ecotoxicologia. Perspectivas para o século XXI. São Carlos: **RiMa**, 2000. 575p, 2000.

FAO (**Food and Agriculture Organization**). Agriculture database, 2003. Disponível em <http://www.fao.org> Acessado em: outubro/2015.

FAY, E. F. & SILVA, C. M. M. S. Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. Agrotóxicos e Ambiente. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 108-143, 2004.

FONSECA, A. L. Avaliação da qualidade da água na bacia do Rio Piracicaba/SP, através de testes de toxicidade com invertebrados. (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (USP), 216p, 1997.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Engineering in life sciences**, 5(6) p. 497-526. 2005.

GLEICK, P. H. Basic water requirements for human activities: Meeting basic needs. **Water international**, 21: 83-92, 1996.

HANAZATO, T. Response of 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.** 101:361 – 373, 1998.

IBAMA, 2014 - Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos - **Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>. Acessado em: agosto de 2015.

KOLAR, L.; KOZUH ERZEN, N. K.; HOGERWERF, L.; VAN GESTEL, C. A. N. Toxicity of abamectin and doramectin to soil invertebrates. **Environmental Pollution**, 151:182-189, 2008.

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y.; LUI, G. S. G.; CHU, V. K. H.; LAM, P. K. S.; MORRITT, D. MALTBY, L.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J.; WARNE, M. S. J. & CRANE, M. Comparison of Tropical and Temperate Freshwater Animal Species Acute Sensitivities to Chemicals: Implications for Deriving Safe Extrapolation Factors. **Integrated Environmental Assessment and Management**, 3: 49–67, 2007.

LERCH, R. N.; BLANCHARD, P. E. Watershed vulnerability to herbicide transport in northern Missouri and southern Iowa streams. **Environmental Science and Technology**, 37: 5518–5527, 2003.

LIMA, N. C. 2010. Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos.). (**Dissertação de Mestrado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida. – Rio de Janeiro: AS-PTA – **Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa**, 2011, 190 p.

LUNDBERG, J. G.; KOTTELAT, M.; SMITH, G. R.; STIASSNY, M. L. J. & GILL, A. C. So many fishes, so little time: an overview of recent ichthyological discovery in continental waters. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 87:26-62, 2000.

MALTBY, L.; BLAKE, N.; BROCK, T. C. M. & VAN DEN BRINK, P. J. Insecticide species sensitivity distributions: importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. **Environmental toxicology and chemistry**, 24:379–388, 2005.

MAZOYER, M. & ROUDART, L. História das agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea. – São Paulo: Editora **UNESP**; Brasília, DF, 568p, 2010.

MENDES, L. B. 2009. Utilização de *Danio rerio* (Pisces) para avaliação da toxicidade do Vertimec. (**Dissertação de Mestrado**) Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

NNR 5, 2008 – Produtos Químicos (155.00-4). Disponível em: http://www.ceset.com.br/dbf/ler/NNR_5.pdf

NOVELLI, A. VIEIRA, B. H.; VASCONCELOS, A. M. PERET, A. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Field and laboratory studies to assess the effects of Vertimec® 18EC on *Daphnia similis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Vol. 75, p. 87 – 93, 2012.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; CORDEIRO, D.; CAPPELINI, L. T. D.; VIEIRA, E. M.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal effects of abamectina on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. **Chemosphere**, Vol. 86, p. 36 – 40, 2012.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; VASCONCELOS, A. M.; PERET, A. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Field and laboratory studies to assess the effects of Vertimec 18EC on *Daphnia similis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 75, p. 87-93, 2012.

NUNES, M. E. T. 2010. Avaliação dos efeitos de agrotóxicos sobre a fauna edáfica por meio de ensaios ecotoxicológicos em *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) e com comunidade natural do solo. (**Tese de doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**. Vol. 21, p. 1063 – 1071, 2012.

ONGLEY, E. D. Controlo of water pollution from agriculture – FAO Irrigation and Drainage Paper 55. **Food and Agriculture of the United Nations**: Rome. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/W2598E/W2598E00.htm>

PERES, F. & MOREIRA, J. C. Saúde e ambiente em sua relação com o consumo de agrotóxicos em um polo agrícola do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 2007.

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

RAMOS, R. C. 2013. Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18CE em ecossistemas de água doce por meio de estudos experimentais em laboratório e in situ. (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

RAND, P. S.; STEWART, D. J.; LANTRY, B. F.; RUDSTAM, L.G.; JOHANSSON, O. E.; GOYKE, A. P.; BRANDT, S. B.; O' GORMAN, R. & ECK, G. W. Effect of lake-wide planktivory by the pelagic community in lakes Ontario and Michigan. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 52:1546-1563, 1995.

RESENDE, J. C., 2009. Avaliação das águas de abastecimento da área rural do município de Bom Repouso, MG. (**Monografia**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

RODRIGUES, B. K. 2007. Avaliação dos Impactos de Agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae). (**Dissertação de Mestrado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

SALA, O. E.; CHAPIN, F. S.; ARMESTO, J. J.; BERLOW, E.; BLOOMFIELD, J. DIRZO, R.; HUBER-SANWALD, E.; HUENNEKE, L. F.; JACKSON, R. B.; KINZIG, A.; LEEMANS, R.; LODGE, D. M.; MOONEY, H. A.; OESTERHELD, M.; POFF, N. L.; SYKES, M. T.; WALKER, B. H.; WALKER, M.; WALL, D. H. Global biodiversity scenarios for the year 2100. **Science**, 287: 1770-1774, 2000.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, 11:565-573, 2007.

SINDAG, 2010. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – **Estatísticas de consumo de defensivos agrícolas no Brasil**. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.sindag.com.br/dados_mercado.php>. Acessado em: 12/06/2014.

STEFANELLO JR., G. J.; GRUTZMACHER, A. D.; SPAGNOL, D.; PASINI, R. A.; BONEZ, C.; MOREIRA, D. C. Persistence of pesticides used in corn field to the parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, Vol. 42, Nº 1, p. 17-23, 2012.

VAN VLAARDINGEN, P. TRAAS TP, ALDENBERG T. Normal distribution based hazardous concentration and potentially affected fraction. ETX-2000. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, **The Netherlands**, 2004.

VASCONCELLOS, A. M. Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec 18CE sobre girinos de *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae). (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M.C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**. v. 27. p. 139-145. 2004.

VIEIRA, B. H. Efeitos do pesticidas Vertimec na estrutura da comunidade de fitoplâncton: um estudo laboratorial e in situ (mesocosmos). (Dissertação de Mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP)

WHO (World Health Organization). Public health impact of pesticides used in agriculture. Geneva: **World Health Organization**, 1990.

ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática, princípios e aplicações. São Carlos: **Rima** editora 478 pp, 2006.

Capítulo 2: Efeitos da aplicação dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC na comunidade aquática.

Resumo

A utilização em larga escala de insumos agrícolas é uma das principais formas de contaminação ambiental desde a potencialização da agricultura em meados dos anos 50. Uma vez lançados no ambiente, fertilizantes e agrotóxicos podem ser transportados e distribuídos por todos os compartimentos ambientais, atingindo concentrações nocivas a organismos não-alvo. O município de Bom Repouso (MG) está inserido em um destes cenários preocupantes, tendo em vista as altas taxas de aplicação de praguicidas nas plantações de morango e batata, localizadas em regiões montanhosas e com pluviosidade elevada. Acrescenta-se ainda o grande potencial hídrico do local que abriga cerca de 1.000 nascentes, além de cachoeiras e rios. Neste contexto, para fins preventivos e de mitigação de contaminação ambiental, faz-se necessária a previsão de possíveis concentrações de contaminantes no meio ambiente. Para tal, é possível a aplicação de modelos matemáticos como uma alternativa a experimentação em campo cuja praticidade, viabilidade e custo são mais acessíveis além de proporcionarem uma visão aproximada da realidade. Assim, por meio de testes ecotoxicológicos com organismos-teste de uma ampla faixa trófica (*P. subcapitata*, *C. dubia*, *D. similis*, *C. sancti-caroli* e *D. rerio*), em associação com modelos preditivos de distribuição e concentração para os agrotóxicos mais utilizados no local referência, Kraft®36EC (abamectina) e Score®250EC (difenoconazol), procurou-se caracterizar os efeitos tóxicos no compartimento aquático da região e discutir as possíveis consequências para diferentes parcelas da comunidade. Os resultados obtidos demonstram que o município está sujeito a concentrações de abamectina em uma faixa de 0,47 e 2,63 µg/L e de 5,62 a 21,67µg/L de difenoconazol. Os testes ecotoxicológicos mostraram que alguns dos organismos avaliados (*C. dubia*, *D. similis* e *C. sancti-caroli*) apresentam CE₅₀ inferiores as concentrações de abamectina previstas de ocorrência na região. Além disso, a distribuição sensível das espécies (SSDs) permite concluir que a concentração do contaminante que possivelmente ocorre no local é até 800 vezes mais elevada que a concentração considerada segura para 95% das espécies. Em contrapartida, nenhum dos organismos apresentou CE₅₀ inferior as concentrações previstas de ocorrência do difenoconazol e a concentração segura deste contaminante para 95% das espécies é até 11 vezes maior que as previstas de ocorrência. Por fim, pode-se concluir que os resultados dos modelos preditivos para a concentração ambiental podem ser extrapolados para o município de Bom Repouso, reconhecendo-se que a comunidade aquática está em risco frente a exposição ao inseticida abamectina. Em relação ao fungicida difenoconazol, os organismos-testes utilizados mostraram-se pouco eficientes em termos de conservação ambiental e sugere-se que outros estudos sejam realizados utilizando-se diferentes espécies de fungos com organismos-teste.

Palavras-chave: modelos preditivos; concentração ambiental prevista; toxicidade; comunidade aquática.

1. Introdução

Agroquímicos são amplamente utilizados nas culturas agrícolas com finalidades diversas que incluem desde a prevenção da predação por espécies invasoras até o controle de doenças fúngicas ou aumento de fertilidade do solo. Porém, segundo alguns autores (PIMENTEL, 1991; CHAIM, 2003; BETTIOL & GHINE, 2003; GAVRILESCU, 2005), porcentagens consideráveis destes compostos atingem compartimentos ambientais não previstos, exercendo efeitos secundários às diversas outras espécies não-alvo, como por exemplo à comunidade aquática. Para mensurar o efeito de contaminantes agrícolas aos organismos aquáticos, amostragens em campo e testes laboratoriais constituem bons métodos de análise, todavia, ambos apresentam também suas desvantagens metodológicas. Enquanto as amostragens em campo proporcionam alto grau de realidade ecológica, este também é, muitas vezes, um método trabalhoso, caro e que pode gerar difícil interpretação dos dados devido a sua alta complexidade. Por sua vez, os testes laboratoriais são mais baratos, mais simples de serem realizados, porém não traduzem uma abordagem realística devido à falta de complexidade ecológica (BROCK *et al*, 2000). Neste contexto, uma alternativa que reúne algumas vantagens de ambas as metodologias são as modelagens matemáticas (Figura 1), uma vez que esta é de baixo custo e se aproxima à complexidade ecológica do campo.

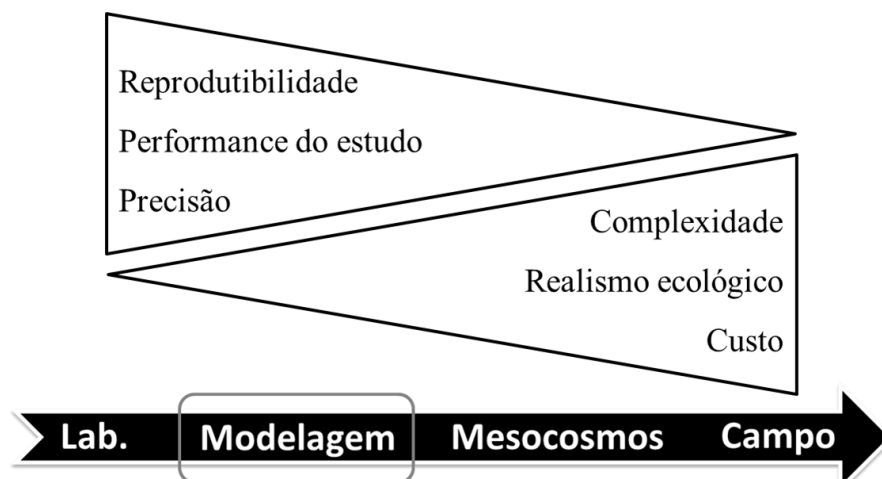


Figura 1: Representação das vantagens e desvantagens metodológicas na utilização das diferentes abordagens em estudos ecotoxicológicos. (Fonte: modificado de Brock *et al*, 2000)

O transporte de agrotóxicos para o ambiente aquático pode ocorrer por várias maneiras distintas como, por exemplo, por escoamento superficial (*runoff*), aspersão (*spray drift*), lixiviação, etc (DORES & DE-LAMONICA, 1999), tornando difícil a previsão dos compartimentos atingidos e as concentrações que estes podem estar expostos. Neste sentido, a utilização de modelos matemáticos também possibilita prever o comportamento e o destino dos agrotóxicos no ambiente. Estudos com modelagem e contaminação ambiental começaram

por volta dos anos 60, porém apenas 10 anos depois é que surgiram os primeiros modelos validados (SPADOTTO *et al*, 2010). Atualmente estes são usados nas análises de transferência entre todos os compartimentos ambientais, como o aéreo (GIL & SINFORT, 2005), de águas subterrâneas (ARIAS-ESTEVEZ *et al*, 2008), solo (REICHENBERGER *et al*, 2007), águas superficiais (KONSTANTINOU *et al*, 2006; SCHRIEVER *et al*, 2007), dentre outros.

Inao *et al* (2008), por exemplo, utilizaram dois modelos matemáticos desenvolvidos no Japão (PADDY e PCPF) e um modelo europeu (RICEWQ) simulando o transporte de agroquímicos aplicados em plantações de arroz do Japão. Com os resultados obtidos os autores desenvolveram recomendações de aplicação que diminuíssem o escoamento superficial nas plantações e também recomendaram o desenvolvimento de modelos mais específicos para as plantações de arroz japonesas. Já Shrestha & Datta (2014), comprovaram a eficiência de outros dois modelos preditivos de fontes não-pontuais agrícolas de contaminação, o RZWQM (*Root Zone Water Quality Model*) e o PESTFADE (*PESTicide Fate and Dynamics in the Environment*). Os autores compararam os resultados da modelagem com determinações químicas de resíduos do agrotóxico metribuzin, amostrados em porções de água percoladas em diferentes profundidades do solo de plantações experimentais de soja da Tailândia. Em conclusão, ambos os modelos foram considerados adequados na previsão do transporte pela água de resíduos de metribuzin em solos tropicais.

Similarmente, outro estudo comprovou a eficiência do modelo matemático GLUE (General Likelihood Uncertainty Estimation), estimando e verificando concentrações do inseticida imidacloprid no solo, na água subterrânea e em rios adjacentes as plantações de arroz do Vietnã. Inclusive, nesta pesquisa concluiu-se que a perda deste agrotóxico para rios e riachos próximos a plantações pode atingir até 68% do total aplicado (LA *et al*, 2015). O modelo HYDRUS-1D também esteve de acordo com determinações experimentais do contaminante thiran, simulando adequadamente o transporte de pesticidas em culturas irrigadas (GUPTA *et al*, 2014), assim como o modelo MacKay testado para seis diferentes contaminantes nos compartimentos aéreo, aquático, solo e sedimento da região sul de Ontário, nos Estados Unidos da América (MACKAY & PETERSON, 1991).

No Brasil, somente a partir do Fórum Internacional Rio-92, a preocupação com a contaminação no meio rural tomou maiores proporções. Porém, mesmo com as propostas de investimento em pesquisas, os avanços ainda hoje são modestos e basicamente se limitam aos estudos pontuais. Dessa forma, pouco se investe no desenvolvimento de modelos matemáticos no país, sendo que a EMBRAPA anunciou em julho deste ano o lançamento previsto para

2017 de um modelo desenvolvido em parceria com a Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS).

Por outro lado existem modelos preditivos desenvolvidos para várias regiões da Europa, como é o caso dos modelos chamados MacKay e FOCUS, que são capazes de estimar a “distribuição ambiental prevista” (PED) e a “concentração ambiental prevista” (PEC). Segundo Spadotto *et al* (2010), cada modelo apresenta certo grau de simplificação, abstração e, portanto, limitação de uso. No entanto, a não exatidão das previsões não representam fracasso na simulação e sim a maior aproximação possível que representam o real com base nos conhecimentos atuais.

O modelo matemático MacKay é um modelo de “fugacidade”, ou seja, ele mensura o potencial de transformação de fase de um determinado composto, no caso os agrotóxicos, com base em suas características físico-químicas (massa molar, solubilidade em água, pressão de vapor, ponto de fusão e coeficiente de partição octanol-água). Relacionando estes dados com as características ambientais do local onde o composto se encontra, é possível determinar o potencial de transporte dos agrotóxicos pelos compartimentos água, solo, ar e sedimento. Desta forma o modelo utiliza a seguinte fórmula:

$$C = f * Z$$

onde C é a concentração do composto em determinado compartimento; f é a fugacidade do composto e Z é a capacidade de fugacidade do compartimento. Assim, pela relação entre as fugacidades dos compartimentos é possível a quantificação de retenção em cada um deles. O resultado da aplicação do modelo de fugacidade MacKay é resumido em uma imagem onde aparecem as PED – *Predicted environmental distribution* ou “distribuição ambiental prevista” com as porcentagens das concentrações do agrotóxico em cada um dos compartimentos. Este modelo possibilita a identificação do compartimento possivelmente mais contaminado além de prever as porcentagens de retenção do composto em todos os compartimentos (MACKAY, 1985).

Este modelo apresenta quatro níveis, sendo o quarto o mais complexo. O “nível 1” prevê a distribuição ambiental dos contaminantes segundo um equilíbrio em sistema fechado e sem levar em consideração as possíveis degradações destes. Este nível é considerado o “*pior caso*” para a contaminação. O “nível 2” também assume um equilíbrio, porém adiciona as possíveis degradações e advecções nos cálculos. O “nível 3” assume um cenário de não equilíbrio e adiciona as transferências dentro dos próprios compartimentos, enquanto o “nível 4” assume um sistema instável com os mesmos parâmetros utilizados no “nível 3” (Figura 2).

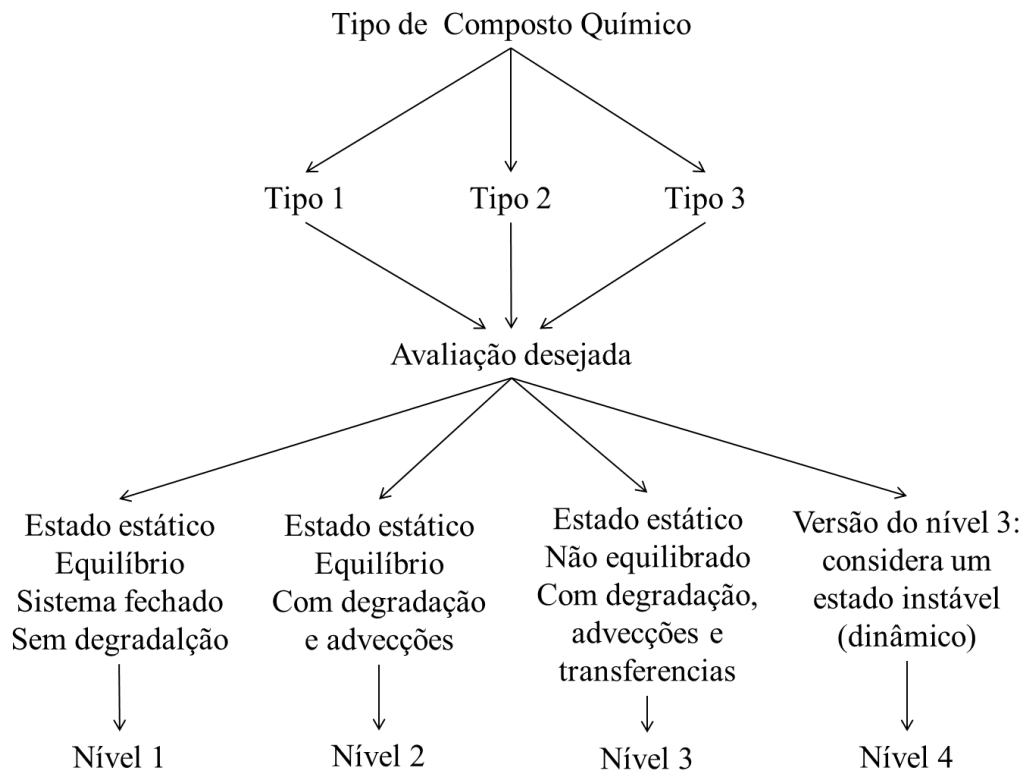


Figura 2: Descrição dos níveis de complexidade do modelo matemático de fugacidade MacKay. (Fonte: modificado de Mackay *et al*, 1996)

O modelo nomeado FOCUS – *Forum for the Co-ordination of Pesticide Fate Models and their Use* - fornece dados mais quantitativos. Também com base em características físico-químicas do agrotóxico (massa molar, solubilidade em água, DT50 no solo, DT50 na água, DT50 no sedimento, DT50 sedimento/água e Koc), além de outras informações referentes à aplicação e as características ambientais do local, o FOCUS calcula a chamada PEC – *Predicted environmental concentration* ou “distribuição ambiental prevista” tanto para o compartimento aquático quanto para o solo.

Este modelo apresenta quatro “passos” de acordo com sua complexidade e refinamento nos resultados gerados. O “Passo 1” é o de maior simplicidade e representa o “*pior cenário*” da aplicação de agrotóxicos, assumindo a entrada de contaminantes via *spray-drift*, *runoff*, erosão e/ou drenagem em uma única ocasião, ou seja, não leva em considerações o número de aplicações. Diferentemente, o “Passo 2” assume entradas sequenciais do contaminante, refinando o modelo para uma série de aplicações individuais. Ainda, nesta etapa há a possibilidade de refinamento por meio de escolhas de outros parâmetros a serem considerados, como estação do ano, região de aplicação (norte ou sul da Europa) e presença ou ausência de interceptação por plantações e tipo de plantações. Os demais passos são específicos para determinadas regiões da Europa e, portanto, muito mais

refinados, uma vez que levam em consideração as características físico-químicas destes locais especificamente (FOCUS, 2001).

Ambos os modelos MacKay e FOCUS foram desenvolvidos na Europa para serem utilizados em análise de risco ecológico em cenários dos países europeus. Sabe-se que existem diferenças climáticas, biológicas, físicas e de composição do solo entre ambientes tropicais e temperados e que provavelmente estes modelos não descrevem com precisão o cenário brasileiro. Porém, a falta destes recursos neste país gera deficiência na previsão de distribuição e concentração de agrotóxicos nos cenários estudados. Portanto, procurou-se neste trabalho utilizar estes dois modelos preditivos aplicando-se as informações requeridas pelo modelo da maneira mais parcimoniosa possível, levando-se em consideração as características do local de referência de estudo.

A análise SSD (*Specie Sensitivity Distribution*) não é um modelo matemático e sim uma distribuição estatística feita com os dados laboratoriais de toxicidade (CE_{50} , CL_{50} ou CENO) os quais são plotados gerando uma curva log-normal de dados preditivos. A partir deste gráfico uma série de informações de avaliação de risco pode ser inferida e usada como base para os programas de conservação. Este modelo pode ser usado tanto para análises de risco prospectivas quanto retrospectivas (POSTHUMA *et al.*, 2002). O gráfico resultante traz no eixo Y a PAF (*Potentially Affected Fraction* – fração potencialmente afetada) que se refere ao HC_p (*Hazardous concentration* – concentração perigosa) onde p é a porcentagem de espécies ameaçadas pelo contaminante. A porcentagem mais comumente utilizada é a de 95% de preservação, ou seja, HC₅ (MALTBY *et al.*, 2005; KWOK *et al.*, 2007).

O uso deste modelo vem crescendo na comunidade científica e gestores ambientais, principalmente por possuir vantagens como: possibilitar a comparação entre sensibilidades de diferentes táxons, habitats e ambientes; fornecer melhores dados de sensibilidade para toda a comunidade e assim maior representação da sensibilidade de todo o ecossistema (DAAM & VAN DEN BRINK, 2010). Neste contexto, esta análise também se enquadra como uma metodologia de aproximação entre testes laboratoriais e amostragens de campo e, portanto, foi utilizada neste trabalho.

Frente ao exposto, o objetivo desta pesquisa foi traçar um cenário de risco mais próximo ao real no município de Bom Repouso (local-referência), considerando a situação ambiental crítica relacionada ao uso de agrotóxicos, utilizando-se de modelos matemáticos e do cálculo da concentração tóxica para espécies de diferentes níveis tróficos, o que permitirá ainda uma análise dos possíveis efeitos tóxicos de Kraft e Score (e seus princípios ativos) em espécies não-alvo de água doce.

2. Material e Métodos

2.1. Área de Estudo (Local-referência)

Apesar deste trabalho não abranger amostragens no campo propriamente dito, ele se baseia em problemáticas reais que ocorrem no município de Bom Repouso, localizado no estado de Minas Gerais (MG), região do sudeste brasileiro. Assim, as especificações metodológicas adotadas e descritas a seguir, são fundamentadas nas características locais e nas práticas agrícolas desta região, que a partir deste momento, será chamada de “Local Referência” (Figura 3).

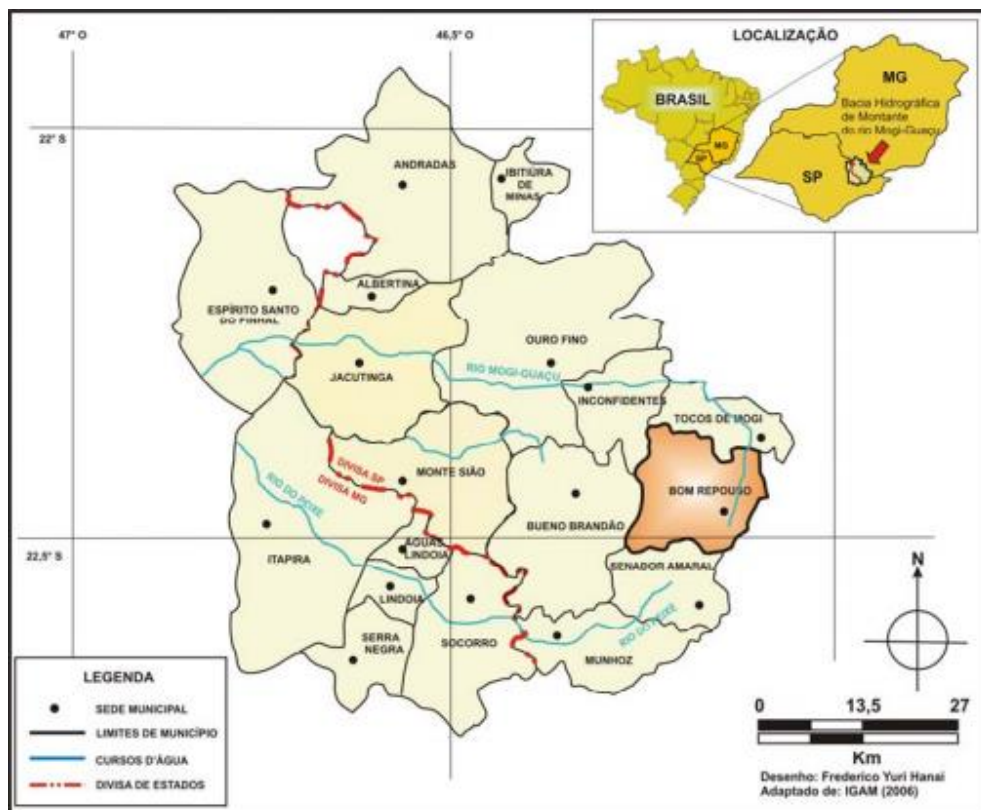


Figura 3: Mapa indicando a localização do município de Bom Repouso, MG (em destaque) e demais municípios adjacentes. (Fonte: Espíndola & Brigante, 2009)

A cidade de Bom Repouso possui área total de 231 km² e está localizada no alto da serra da Mantiqueira (BRIGANTE & ESPÍNDOLA, 2003), pertencendo à bacia hidrográfica do Rio Grande, formada pelos efluentes mineiros, rio Mogi-Guaçu e Pardo. O município se localiza em uma região de montante de grande potencial hídrico cujo levantamento (CUNHA, 2009) indica que o local abrange cerca de 1.000 nascentes, sendo que 759 foram catalogadas somente dentro do município. Dentre estas, a 1.594 m de altitude está a nascente do rio Mogi-Guaçu, rio de grandes dimensões, de comprimento total de 473 km e área de drenagem total

de 17.450 km². À margem esquerda estão seus efluentes: rio Espraiado, rio Eleutério, rio do Peixe, Rio Cachoeirinha e rio das Antas, enquanto na margem direita destaca-se o rio Jaguari-Mirim.

Além da riqueza hídrica característica desta região, o município apresenta contribuição agrícola ocupando importante posição nacional no cultivo de morangos, cuja produção representa 40% do montante comercializado nacionalmente (BRIGANTE & ESPÍNDOLA, 2003). Juntamente a intensa atividade agrícola está a ampla aplicação de defensivos associados à melhoria do potencial de produção agrícola. Neste local, os agroquímicos mais utilizados são o acaricida Kraft®36EC, que usa a abamectina como ingrediente ativo, e o fungicida Score®250EC, cujo ingrediente ativo é o difenoconazol.

Por estar situada em região de serra, o município de Bom Repouso apresenta elevadas altitudes (1.360 m acima do nível do mar) e declividade acentuada, o que implica em um grande potencial para o escoamento superficial de água (*runoff*) e, conseqüentemente, ao carreamento de vários agroquímicos para o interior das nascentes, rios e riachos nas regiões mais baixas (BRIGANTE & ESPÍNDOLA, 2003). Outro ponto importante a ser ressaltado são as inadequadas práticas agrícolas decorrentes do manejo dos produtos químicos, como a lavagem das embalagens nos corpos d'água próximos, o descarte inadequado diretamente no solo, rios ou lagoas e a aplicação descontrolada e sem o uso de proteção por parte dos trabalhadores rurais (Figura 4).

Neste contexto, o Local Referência, foi utilizado como base para a escolha dos compostos testados nos ensaios laboratoriais e aplicações dos modelos a fim de se obter dados próximos aos reais que ocorrem na região de Bom Repouso.



Figura 4: Registro fotográfico no município de Bom Repouso, MG sendo: a) e b) plantações de morango; c) e d) destaque para as declividades presentes no local; e) e f) aplicação de agrotóxicos nos cultivos e g) e h) descarte inadequado de embalagens de agrotóxicos. (Fotos: Marina Reghini Vanderlei, 2014).

2.2.Delineamento Experimental

Foram realizados testes ecotoxicológicos agudos com cinco espécies, utilizando os produtos formulados Kraft®36EC e Score®250EC, bem como seus respectivos ingredientes ativos, abamectina e difenoconazol, respectivamente. Desta forma o delineamento experimental se constituiu em uma análise comparativa entre a distribuição ambiental prevista nos compartimentos ambientais, a concentração ambiental prevista no compartimento aquático (ambos gerados por modelos matemáticos) e os valores obtidos com os testes ecotoxicológicos (CE_{50}), além de um diagnóstico para o município de Bom Repouso, MG, com base nas análises em nível de comunidade. Todas estas metodologias estão descritas a seguir.

2.2.1. Modelos Matemáticos

Como citado anteriormente os modelos utilizados, MacKay e FOCUS, utilizam as informações físico-químicas dos compostos e simulam a porcentagem de acumulação (distribuição) nos compartimentos ambientais (MacKay) ou preveem a concentração provável que pode ser encontrada nos compartimentos água e solo (FOCUS). Neste trabalho a ênfase foi o compartimento aquático, sendo que somente estas informações serão discutidas posteriormente. Para ambos os modelos foram escolhidas as formas mais simples para serem aplicadas neste trabalho, portanto, os considerados “piores casos”. Quanto ao MacKay este é o caso do “Nível 1” e quanto ao FOCUS este é o caso do “Passo 1”. Para este modelo também foi calculado o “Passo 2”, refinando um pouco mais os dados e levando em conta a sequência de aplicações dos contaminantes. Dessa forma, os dados utilizados em ambos os modelos, MacKey e FOCUS, estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Dados de entrada utilizados para os cálculos de PED (*Predicted Environmental Distribution*) e PEC (*Predicted Environmental Concentration*) nos modelos matemáticos Mackay Nível 1 e FOCUS Passo 1 & Passo 2. Fontes: PPDB – *Pesticide Properties DataBase* e DAR – *Draft Assessment Report* (EFSA – *Europe food safety Authority*).

Características	Abamectina		Difenoconazol	
	MacKay	FOCUS	MacKay	FOCUS
Massa molar	873,1 g/mol	873,1 g/mol	406,26 g/mol	406,26 g/mol
Solubilidade em água	1,21g/m ³	1,21 mg/L	15g/m ³	-
Pressão de vapor	0,0037 Pa	-	0,0333 Pa	-
Ponto de fusão	155°C	-	82,5°C	-
Log Kow	4,4	-	4,36	-
DT ₅₀ Água	-	4,9 dias	-	3 dias
DT ₅₀ Solo	-	66 dias	-	130 dias
DT ₅₀ sedimento/água	-	91 dias	-	1053 dias
DT ₅₀ Sedimento	-	100 dias	-	315,5 dias
Koc	-	6343 L/Kg	-	3759 L/Kg
Temperatura	25°C	-	20°C	-
Concentração de aplicação	-	10,8g/ha	-	100g/ha
Frequência de Reaplicação	-	3 aplicações 7 dias (intervalo)	-	2 aplicações 14 dias (intervalo)

Log Kow: Coeficiente de partição octanol-água; DT50: tempo de degradação de 50% do composto (meia-vida) e Koc: Coeficiente de adsorção à matéria orgânica.

Os resultados obtidos pelo modelo MacKay são importantes para a previsão do destino ambiental dos contaminantes e serve de base para discussões, possibilitando dar maior atenção a determinados compartimentos visivelmente mais afetados. Os resultados obtidos pelo modelo FOCUS são comparáveis aos valores de CE₅₀ obtidos em laboratório. Uma vez que o PEC é resultado da simulação da contaminação ambiental gerando uma concentração prevista para o compartimento água, é possível comparar esse valor com os valores obtidos de CE₅₀ nos testes de toxicidade para organismos aquáticos e, assim, associar as informações, prevendo para este ecossistema contaminado os organismos que serão atingidos de forma aguda. Ou seja, se a previsão dada pelo modelo estiver correta, pode-se dizer que os organismos cuja CE₅₀ forem menores que as concentrações ambientais previstas, em cenário real, estas terão sua população afetada em pelo menos 50% pela contaminação.

2.2.2. Testes de toxicidade

a) Cultivo e manutenção dos Organismos-teste

No presente estudo foram selecionadas as espécies *Pseudokirchneriella subcapitata*, representante dos produtores primários (fitoplâncton) *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, representantes dos consumidores primários (zooplâncton); *Chironomus sancti-caroli*, como representante dos consumidores intermediários (organismos bentônico - inseto) e *Danio rerio*,

como representante dos consumidores de topo (peixes). Os procedimentos adotados para manutenção e realização dos testes de toxicidade são apresentados a seguir:

Pseudokirchneriella subcapitata:

A micro-alga foi obtida na cultura-estoque mantida no Laboratório de Ecotoxicologia do NEEA/CRHEA/EESC/USP), a qual vem sendo mantida segundo as normas da ABNT (2011). O cultivo é feito em meio L.C. Oligo, previamente autoclavado a 121°C por 15 minutos. Uma porção do inóculo da cultura sólida de *P. subcapitata* é transferida para o meio de cultura em condições assépticas e posteriormente a cultura é incubada a 25±2°C, com agitação (100-175 rpm) e luminosidade (4.500 lux) contínuas, por um período de 5 a 7 dias, até atingir a fase exponencial de crescimento. Posteriormente os inóculos são mantidos em meio ágar inclinado com peptona protease, em condições controladas de temperatura e luminosidade.

Ceriodaphnia dubia e Daphnia similis:

Assim como a micro-alga *P. subcapitata*, ambos os cladóceros foram obtidos na cultura-estoque mantida no Laboratório de Ecotoxicologia do NEEA/CRHEA/EESC/USP, a qual vem sendo mantida segundo as normas da ABNT (2014) para a *C. dubia* e ABNT (2009) para *D. similis*. Grupos de organismos adultos são mantidos em cristalizadores de vidro de 2L, contendo água reconstituída filtrada e ajustada para pH entre 7,0 e 7,6 e dureza de 40 a 48 mgCaCO₃.L⁻¹. Estes permanecem em câmara incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), com temperatura de 23±2°C e 20±2°C, respectivamente, e fotoperíodo de 16h luz. O alimento é fornecido diariamente, constituindo-se de uma solução composta por ração microfloculada de alevinos de peixe e fermento tipo Fleishman, e uma suspensão algácea de *P. subcapitata* na concentração de 1x10⁶ células de alga por organismo.

Chironomus sancticaroli:

A espécie *C. sancticaroli* foi descrita por Strixino & Strixino (1981), porém, segundo os autores Spies & Reiss (1996), por aproximadamente 15 anos esta foi considerada como sinônimo júnior da espécie *Chironomus xanthus* (REMPEL,1939). No entanto, recentemente foi anulada a sinonímia entre as espécies devido a ausência de holótipos ou parátipos dos espécimes originais coletados no nordeste brasileiro. Sendo assim, foi mantida a denominação da espécie como *Chironomus sancticaroli* (TRIVINHO-STRIXINO, 2011).

As desovas para a início do cultivo de *C. sancticaroli* no NEEA/CRHEA/EESC/USP foram obtidas na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), unidade de Jaguariúna (SP). Após a eclosão das desovas, estas foram inoculadas e mantidas em bandejas plásticas contendo sedimento artificial e água reconstituída, mantendo-se as seguintes características: pH entre 6,5 - 7,0, condutividade entre 25 - 55 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e dureza entre 12 e 16 mgL^{-1} de CaCO_3 (Figura 5), sob aeração constante, temperatura controlada de $23\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12:12h claro/escuro. Para evitar a oviposição de outros organismos e retenção dos organismos adultos, as bandejas foram cobertas por gaiolas de nylon. As larvas são diariamente alimentadas com a ração comercial para peixes TETRAMIN® (10g/L) e a alga *P. subcapitata* (10^5 células ou aprox. 1mL) apenas no primeiro dia de cultivo. Devido a inexistência de uma norma ABNT que regulamente o cultivo do *C. sancticaroli*, a metodologia foi baseada nos métodos descritos por FONSECA & ROCHA (2004).

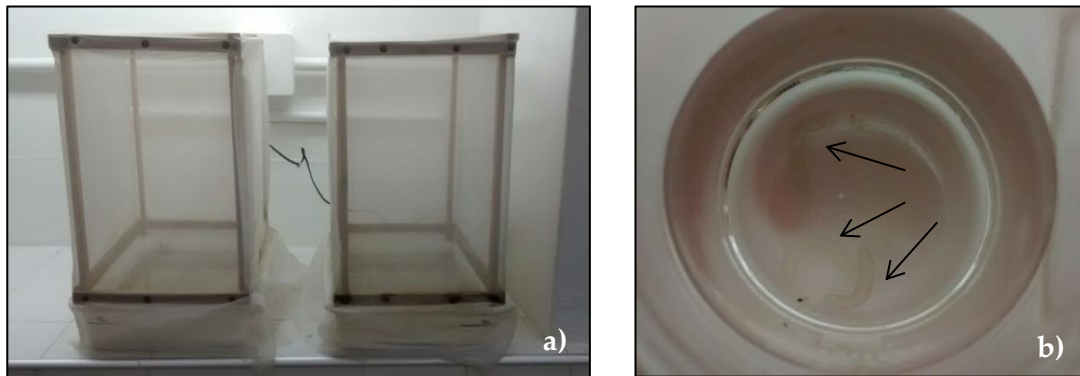


Figura 5: a) Bandejas de cultivo de *C. sancticaroli* cobertas por gaiolas de nylon; b) desovas de *C. sancticaroli* inoculadas nas bandejas preparadas para cultivo.

Danio rerio:

Os peixes da espécie *Danio rerio* foram obtidos comercialmente e mantidos no Laboratório de Ecotoxicologia do NEEA/CRHEA/EESC/USP, em aquários com capacidade de 100 litros, com água de manutenção recomendada pela norma ABTN (2004). Dentro dos aquários foram colocados filtros para a manutenção da limpeza da água e aeradores constantemente ligados. A temperatura da sala foi controlada em torno de $26^\circ\text{C}\pm 2^\circ\text{C}$, dureza da água mantida entre 40 e 48 mg/L e pH entre 7,0 e 7,6.

Procurou-se adquirir espécimes mais homogêneos em relação ao comprimento e peso, sendo que estes foram medidos a partir de uma amostragem de cada lote com o auxílio de um paquímetro manual e de balança de precisão analítica Mettler, modelo AE 240. As medidas de comprimento padrão e o peso total foram utilizados na plotagem de um gráfico (Figuras

37, 38 e 39 e Tabela 37 do Apêndice 1), gerando o coeficiente de relação (R^2) (ABNT, 2011). Os peixes utilizados na biometria foram sempre descartados devido ao estresse do manuseio.

b) Testes de sensibilidade

Antes do início dos bioensaios ecotoxicológicos todas as espécies foram submetidas a testes de sensibilidade com uma substância referência para verificação das condições do cultivo. Este teste é recomendado pela ABNT a fim de garantir que a mortalidade observada nos testes subsequentes sejam provenientes da toxicidade do composto e não a problemas relativos à saúde dos organismos-teste.

Os testes de sensibilidade foram realizados de acordo com as normas da ABNT (anteriormente mencionadas), sendo utilizadas diferentes concentrações das substâncias de referência. O cloreto de sódio (NaCl) foi utilizado para *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Ceriodaphnia dubia* e o cloreto de potássio (KCl) para *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*. A faixa de concentrações utilizadas para cada um dos organismos e a substância de referência adotada está descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Faixa de concentrações das substâncias de referências (NaCl e KCl) para as diferentes espécies avaliadas.

Organismo-teste	Substância de Referência	Concentrações	Unidade
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NaCl	0; 0,5; 2; 3,5; 5; 6,5	g/L
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	NaCl	0; 1; 1,3; 1,6; 2,2; 2,5	g/L
<i>Daphnia similis</i>	KCl	0; 150; 300; 450; 600; 900	mg/L
<i>Chironomus xanthus</i>	KCl	0; 1,5; 2,25; 3,5; 5; 7,5	mg/L
<i>Danio rerio</i>	KCl	0; 300; 600; 900; 1200; 1500	mg/L

c) Bioensaios Ecotoxicológicos

Além dos testes de sensibilidade, foram realizados quatro tipos de ensaios ecotoxicológicos para cada organismo-teste, correspondendo aos tratamentos com as diferentes concentrações dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC, além de seus ingredientes ativos, abamectina e difenoconazol (Figura 6), totalizando um mínimo de 20 testes laboratoriais montados com contaminantes.

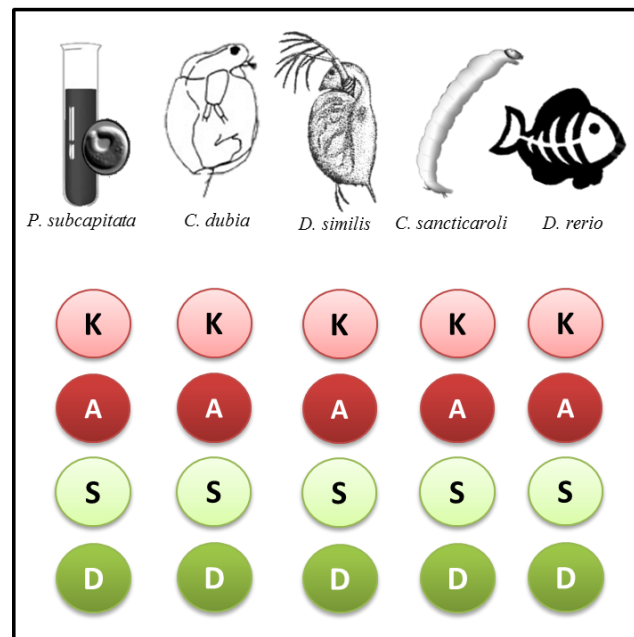


Figura 6: Representação esquemática dos quatro contaminantes testados com os cinco organismos expostos, sendo K: Kraft, A: abamectina, S: Score e D: difenoconazol

Anteriormente a realização dos ensaios definitivos, foram realizados pré-testes para ajuste da faixa de sensibilidade aos contaminantes e para determinação da concentração aceitável de solvente (acetona), no caso dos testes de toxicidade com os ingredientes ativos (Tabela 3), uma vez que os produtos formulados não necessitaram de solubilização em acetona. Testes de toxicidade que apresentaram mais de 10% de morte no controle ou no controle com solvente foram anulados e novos testes foram subsequentemente realizados, seguindo as recomendações das normas ABNT. Mesmo considerando a mortalidade dentro da porcentagem pré-estabelecida, os controles foram submetidos a análises estatísticas para verificação de diferenças significativas devido a presença do solvente e somente foram considerados os testes em que não houveram diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 3: Volume de solvente (acetona) contido nos volumes totais dos testes com os ingredientes ativos para cada organismo-teste.

	Abamectina	Difenoconazol
<i>P. subcapitata</i>	200µL/100ml	160µL/100mL
<i>C. dubia</i>	3uL/10mL	0,04µL
<i>D. similis</i>	5uL/10mL	4,27µL/10mL
<i>C. sancticaroli</i>	100mL/200mL	80µL/200mL
<i>D. rerio</i>	300µL/3L	750mL/3L

Para cada contaminante foram calculados os valores de CE_{50} e de seus respectivos limites inferior e superior, que encontram-se representados nos resultados em forma gráfica. Nos casos em que foram realizados múltiplos testes de toxicidade para o mesmo

contaminante, ou seja, quando houve réplica, o valor *outlier* foi desconsiderado e foi calculada a média, os limites inferior e superior e o coeficiente de variação (CV) entre os outros valores de CE_{50} . Sendo assim, todos os resultados do conjunto de testes de toxicidade estão representados em apenas um gráfico por contaminante para cada organismo-teste. As especificações dos testes de toxicidade são descritas a seguir para cada organismo-teste.

***Pseudokirchneriella subcapitata*:**

A micro-alga foi exposta durante 96h à 100 mL de uma solução teste contendo diferentes porcentagens dos produtos formulados e diferentes concentrações dos princípios ativos como descrito na Tabela 4. Os frascos permaneceram sobre uma mesa agitadora (Figura 7), com velocidade de agitação de 100 a 175 rpm e sob iluminação e temperatura controlados em torno de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante todo o decorrer do experimento, conforme recomendado pela ABNT (2011).



Figura 7: Amostras de *P. subcapitata* em teste sob iluminação e agitação controladas e constantes.

Para determinação da toxicidade foi mensurada a densidade celular por meio da contagem de células. Para tal, alíquotas de 5mL foram retiradas ao final do teste e fixadas em solução de lugol acético até a contagem ser realizada no microscópio óptico, com o auxílio da câmara de Neubauer.

Tabela 4: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *P. subcapitata*.

<i>Contaminante</i>	<i>Faixa de Concentrações</i>	<i>Unidade</i>
Kraft®36EC	1,56 – 100	%
Score®250EC	1,56 – 100	%
Abamectina	1 – 20	mg/L
Difenoconazol	1 - 16	mg/L

***Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*:**

Os testes de toxicidade aguda com estes cladóceros consistiram na exposição de cinco neonatos (entre 6 e 24 horas de idade) a 10 mL de solução-teste em pelo menos cinco diferentes diluições (concentrações), com quatro réplicas para cada diluição, totalizando 20 organismos expostos por concentração. O teste de toxicidade foi montado e mantido em recipientes plásticos atóxicos, em salas com temperaturas controladas de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ (*C. dubia*) e $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ (*D. similis*), fotoperíodo de 16:8h claro/escuro e intensidade luminosa de 1000lux, segundo normas da ABNT (2014) para a *C. dubia* e ABNT (2009) para *D. similis* (Figura 8).



Figura 8: Montagem dos testes de toxicidade aguda com *C. dubia* e *D. similis*.

De acordo com o estabelecido pela norma para testes de toxicidade aguda, não há alimentação durante o experimento e nem trocas de água. O *endpoint* do experimento de 48h é dado pela imobilidade ou mortalidade dos organismos. As concentrações utilizadas nos bioensaios com os cladóceros encontram-se nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *C. dubia*.

<i>Contaminante</i>	Faixa de Concentrações	Unidade
Kraft®36EC	0,0001953125 – 0,00625	%
Score®250EC	0,0003125 – 0,78	%
Abamectina	2,5 – 80	ng/L
Difenoconazol	0,03125 – 4	mg/L

Tabela 6: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *D. similis*.

<i>Contaminante</i>	Faixa de Concentrações	Unidade
Kraft®36EC	0,00325 – 0,78	%
Score®250EC	0,1 – 6,25	%
Abamectina	0,5 – 40	ng/L
Difenoconazol	0,2 – 6,4	mg/L

Chironomus sancticaroli

Larvas de *C. sancticaroli* (7 a 8 dias) foram expostas por 96h a 200mL da solução-teste e 50g de substrato artificial em potes atóxicos (Figura 9). O teste de toxicidade foi feito em triplicata, onde cada concentração recebeu um total de 18 organismos (6 por pote). A sala foi mantida com temperatura de 23°C±2, fotoperíodo de 12:12h claro/escuro e alimentação em dias alternados até a finalização do teste. O *endpoint* deste teste de toxicidade foi a mortalidade, dada pela contagem dos organismos vivos. As condições gerais dos experimentos foram baseadas no descrito por Fonseca & Rocha (2004).



Figura 9: Montagem dos testes de toxicidade aguda com *C. sancticaroli*.

Na Tabela 7 são apresentadas as concentrações utilizadas em cada teste de toxicidade aguda com a espécie *C. sancticaroli*.

Tabela 7: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *C. sancticaroli*.

<i>Contaminante</i>	<i>Faixa de Concentrações</i>	<i>Unidade</i>
Kraft®36EC	0,025 – 6,25	%
Score®250EC	0,025 – 25	%
Abamectina	0,2 – 48,6	µg/L
Difenoconazol	0,375 - 6	mg/L

Danio rerio:

Os testes de toxicidade com *D. rerio* tiveram duração de 96h. Durante este período dez organismos em cada concentração foram submetidos aos tratamentos em duplicata (cinco organismos por réplica). Segundo as normas, o teste é estático, ou seja, sem renovação da solução-teste e deve ocorrer sem alimentação (ABNT, 2011). Todos os dias os organismos mortos foram retirados e no último dia a imobilidade/mortalidade foi registrada como *endpoint* (Figura 10 e Tabela 8).



Figura 10: Montagem dos testes de toxicidade aguda com *D. rerio*.

Tabela 8: Faixa de concentrações de Kraft®36EC, Score®250EC, abamectina e difenoconazol utilizados em testes com a *D. rerio*.

<i>Contaminante</i>	<i>Faixa de Concentrações</i>	<i>Unidade</i>
Kraft®36EC	0,05 – 25	%
Score®250EC	0,18 – 6	%
Abamectina	20 – 100	µg/L
Difenoconazol	0,5 – 2,5	mg/L

Todos os testes de toxicidade foram realizados considerando as concentrações nominais dos contaminantes. Os ingredientes ativos foram pesados no início da execução de

cada teste, diluído em acetona e suas diluições feitas em água de cultivo. As caldas dos produtos formulados foram preparadas também no início de cada teste, seguindo as recomendações do fabricante (300µL/L de Kraft®36EC em água destilada e 400µL/L de Score®250EC em água destilada). Medidas do potencial hidrogeniônico – pH – (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 154A) e oxigênio dissolvido (oxímetro YSI) foram realizadas no início da montagem e também ao final dos testes de toxicidade (ver as tabelas do Apêndice 1).

2.3. Análise de dados

Com base nos dados físico-químicos dos agrotóxicos foram utilizados os *softwares* MacKay versão 3.0 Level 1 (MACKAY, 1985) para a previsão de concentração em porcentagem de cada um dos contaminantes nos compartimentos ambientais (PED – *Predicted environmental distribution*) e FOCUS versão 3.2 step 1 & step 2 para previsão da concentração ambiental dos contaminantes no compartimento aquático (PEC – *Predicted environmental concentration*) (FOCUS, 2001).

As concentrações efetivas para 50% da população (CE₅₀) e o intervalo de confiança (95%) foram analisadas com o auxílio do *software* PriProbit versão 1.63 (SAKUMA, 1998). Os gráficos, médias, desvio padrão, limites inferior e superior e coeficientes de variação foram calculados e confeccionados pela planilha do Excel 2010. Estes dados também foram utilizados na elaboração das curvas SSD (*Specie Sensitivity Distribution*) no programa ETX 2.0 (VAN VLAARDINGEN *et al.*, 2004), onde também se obteve as HC₅ (*Harzadous Concentration* ou concentração perigosa para 5% da população) e seus limites inferior e superior. Após testar a qualidade da distribuição dos dados pelo teste Anderson-Darling, com significância de 5%, o programa aceita ou rejeita os dados inseridos. Apenas os dados que foram aceitos no teste foram utilizados para a construção das curvas. Os valores de PAF (fração potencialmente afetada) foram calculados com o auxílio da planilha Excel 2010.

3. Resultados

3.1. Distribuição e Concentração Ambiental Prevista

Segundo o modelo MacKay, a abamectina apresenta baixa fugacidade (0,0629µPa) e, neste caso, o solo é o compartimento de maior acumulação do ingrediente ativo, ficando retido até 91,6%. Ainda assim, cerca de 4,12% do contaminante atinge o compartimento aquático, sendo este o segundo compartimento mais afetado por este ingrediente ativo. Os

demais compartimentos, ar e sedimento límnico, acumulam aproximadamente 2,22% e 2,03%, respectivamente, da abamectina lançada nas plantações próximas (Figura 11a).

Para o difenoconazol, segundo o mesmo modelo, a fugacidade é cerca de dez vezes maior ($0,672\mu\text{Pa}$), atingindo em maior proporção o compartimento aquático, o qual retém cerca de 60,6% do ingrediente ativo enquanto o sedimento retém 27,3% do contaminante. O compartimento ar ainda é o destino de 11,2% enquanto o solo é o compartimento menos atingido, acumulando apenas aproximadamente 0,9% do difenoconazol aplicado nas plantações (Figura 11b).

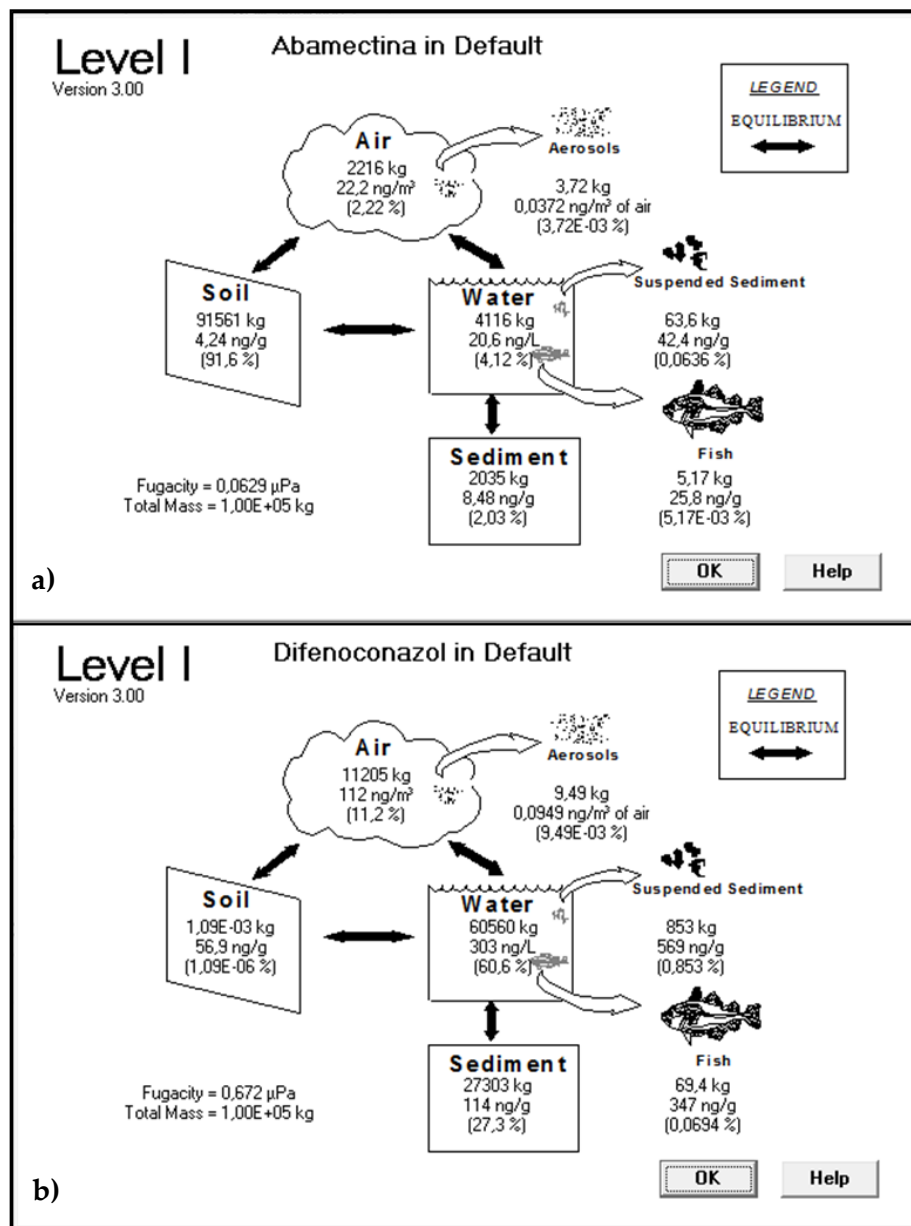


Figura 11: Distribuição ambiental prevista (PED) com base no modelo de fugacidade MacKay Nível 1.

Segundo o modelo FOCUS, pode-se então prever as concentrações que atingiriam o compartimento aquático, o que é o principal objetivo desta pesquisa. Na Tabela 9 são apresentados os valores, em $\mu\text{g/L}$, dos ingredientes ativos abamectina e difenoconazol que atingiriam os ambientes aquáticos da região de aplicação destes agrotóxicos. Como explicado anteriormente, o modelo apresenta quatro “Steps” e os utilizados neste trabalho foram o “Passo 1” e “Passo 2”.

Tabela 9: Concentrações ambientais previstas pelos Steps 1 e 2, segundo dados físico-químicos dos ingredientes ativos abamectina e difenoconazol para o compartimento aquático (onde: PEC_w – Predicted Environmental Concentration on Water).

Ingrediente ativo	Step 1 PEC _w ($\mu\text{g/L}$)	Step 2 PEC _w ($\mu\text{g/L}$)
Abamectina	2,63	0,47
Difenoconazol	21,57	5,62

Sendo o “Passo 1” considerado o “*pior caso*” e o “Passo 2” um cenário mais complexo, assumiu-se, neste trabalho, que a concentração ambiental prevista para a abamectina foi de $0,47\mu\text{g/L}$ a $2,63\mu\text{g/L}$ e para o difenoconazol de $5,62\mu\text{g/L}$ a $21,57\mu\text{g/L}$ no compartimento aquático da região de aplicação dos agrotóxicos.

3.2. Testes de Sensibilidade e Toxicidade

Pseudokirchneriella subcapitata:

O valor médio da $\text{CE}_{50;96\text{h}}$ foi de $3,49\text{g/L}$ de NaCl, com limite inferior igual a $1,11\text{g/L}$ e superior igual a $5,86\text{g/L}$ e coeficiente de variação CV: 34,06% (Figura 12). Os valores de $\text{CE}_{50;96\text{h}}$ encontram-se dentro da faixa de sensibilidade pré-estabelecida pela carta-controle do Laboratório de Ecotoxicologia do NEEA/CRHEA/EESC/USP ($\text{CE}_{50;96\text{h}}$: $1,85 - 3,69\text{g/L}$, com média igual a $\text{CE}_{50;96\text{h}}$: $3,11\text{g/L}$ e intervalo de confiança (95%) entre $1,74$ e $4,49\text{g/L}$ e coeficiente de variação CV: 22,05%). Nas Tabelas 1 e 2 e nas Figuras 1 e 2, constantes nos Apêndices 1 e 2, estão apresentados os resultados obtidos nos testes de sensibilidade, juntamente com as análises estatísticas.

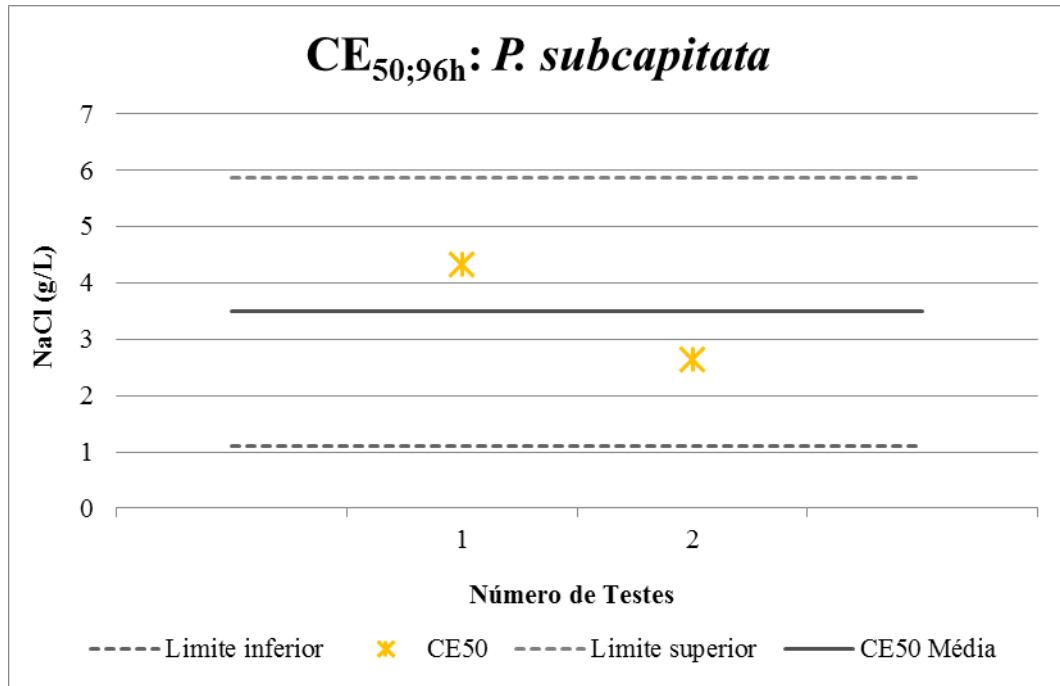


Figura 12: Resultados obtidos nos testes de sensibilidade com *P. subcapitata*, exposta à substância de referência NaCl (g/L).

Os resultados dos testes de toxicidade (CE_{50;96h}, valor médio, limites inferior e superior) com abamectina, difenoconazol, Kraft®36EC e Score®250EC estão representados na Figura 13. Nos casos em que foi realizado apenas um teste, os limites inferior e superior correspondem ao intervalo de confiança (95%) do teste de toxicidade. Para abamectina o valor da CE_{50;96h} média foi de 16,74mg/L, com limites inferior e superior igual a 12,32mg/L e 21,16mg/L, respectivamente, e coeficiente de variação (CV) igual a 13,19%. O valor médio da CE_{50;96h} para difenoconazol foi de 2,60mg/L, com limites inferior e superior igual a 0,005mg/L e 5,20mg/L, respectivamente, e coeficiente de variação (CV) igual a 49,90%. Para Kraft®36EC e Score®250EC os valores obtidos estão representados em porcentagem de calda. Para o Kraft®36EC, a CE_{50;96h} foi de 19,88% (equivalente a 2,15mg/L de abamectina), com limites inferior e superior de 16,18% e 21,39% (1,75mg/L e 2,31mg/L de abamectina) e do Score®250EC foi de CE_{50;96h}: 20,80% (equivalente a 20,80mg/L de difenoconazol), com limites inferior e superior de 16,83% e 26,92% (16,83mg/L e 26,92mg/L de difenoconazol). Para mais detalhes dos testes de toxicidade individuais, vide Apêndice 1 (Tabelas 11 a 17 e Figuras 11 a 17). As análises estatísticas são apresentadas no Apêndice 2 (Tabelas 6 a 9).

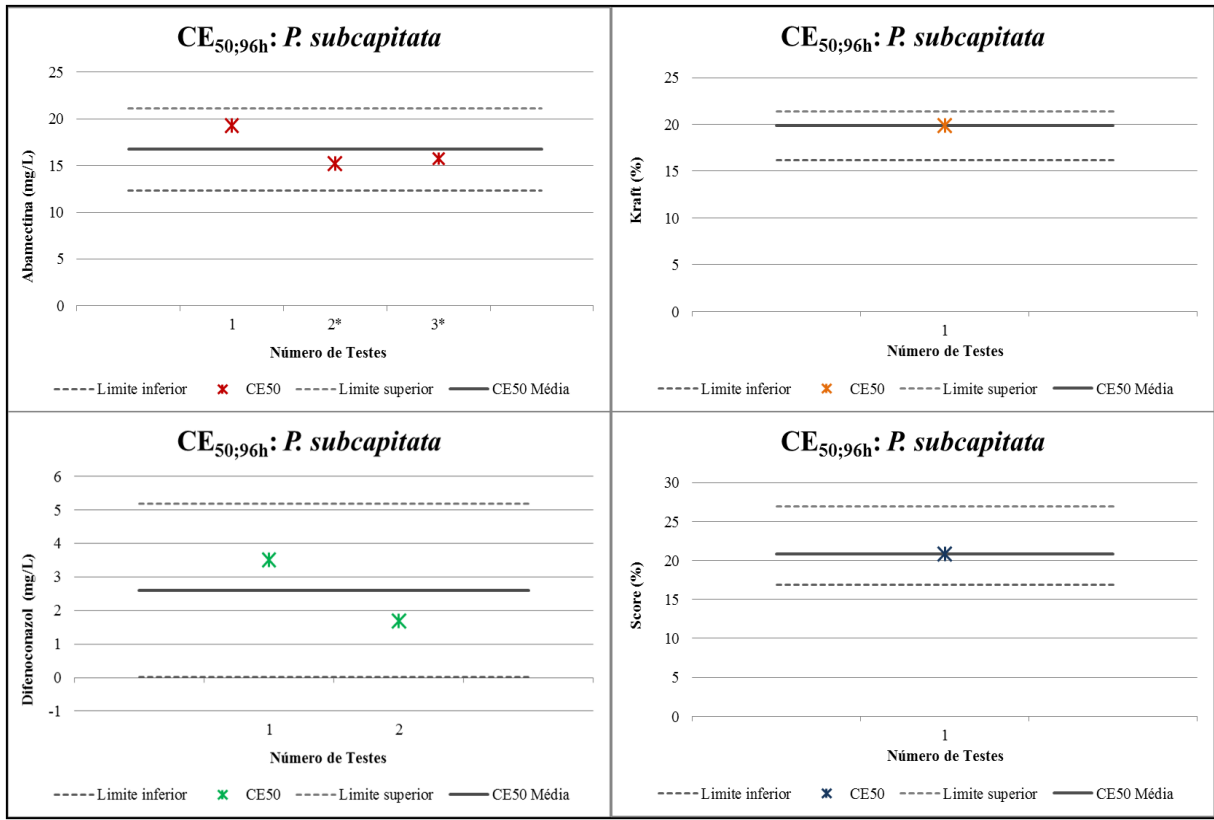


Figura 13: Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina, e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC), com *P. subcapitata*. Estão representados nos gráficos as CEs, as CEs médias e os limites inferior e superior. Os asteriscos (*) representam testes de toxicidade cujos valores de CE_{50} foram retirados da base de dados deste grupo de pesquisa para complementar o estudo (Vieira, 2010).

Ceriodaphnia dubia:

Para *C. dubia* foi realizado apenas um teste de sensibilidade, uma vez que todos os experimentos foram conduzidos em intervalo inferior a 30 dias, sendo os resultados apresentados na Figura 14. A sensibilidade da *C. dubia* foi de $CE_{50;48h}$: 1,36g/L de NaCl, com intervalo de confiança (95%) de 1,23 – 1,49g/L. Neste caso, a $CE_{50;48h}$ obtida e os limites superior e inferior são o próprio intervalo de confiança (95%) obtido no teste de toxicidade, bem como a $CE_{50;48h}$ média corresponde ao mesmo valor da $CE_{50;48h}$. Este valor encontra-se dentro da faixa de sensibilidade pré-estabelecida pela carta-controlé do laboratório de Ecotoxicologia do NEEA/CRHEA/EESC/USP, ($CE_{50;48h}$: 1,01 - 1,93g/L). Os valores obtidos, juntam ente com as análises estatísticas, constam na Tabela 3 e Figura 3 do Apêndice 1, e na Tabela 2, do Apêndice 2, respectivamente.

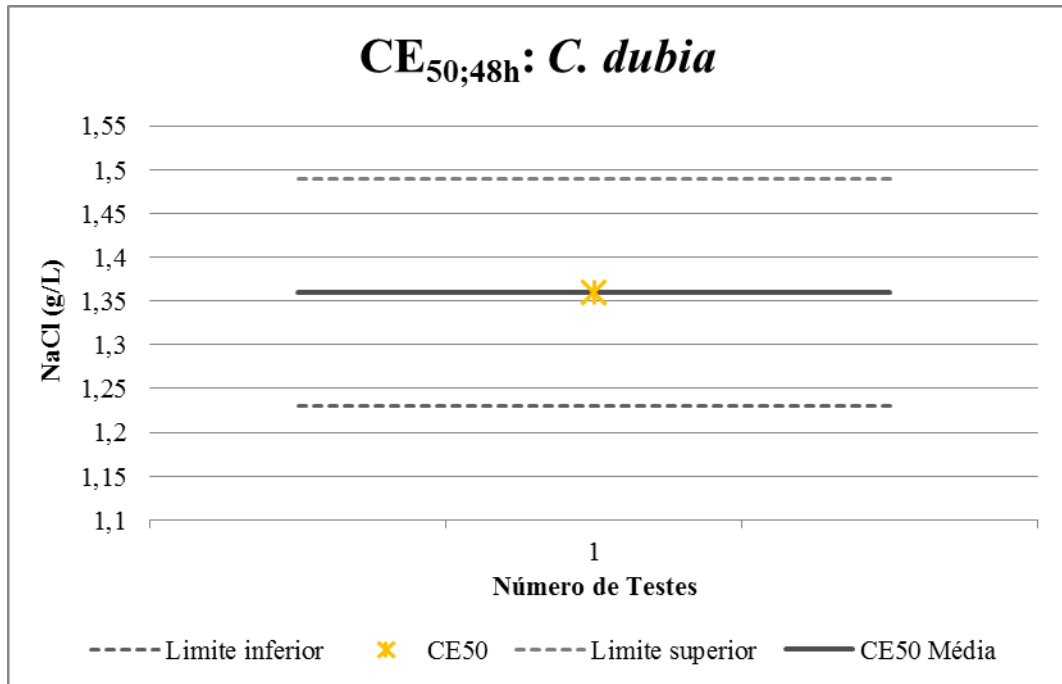


Figura 14: Teste de sensibilidade com *C. dubia* exposto à substância de referência NaCl (g/L).

Os resultados dos testes de toxicidade (CE_{50;48h}, valor médio e os limites inferior e superior) com abamectina, difenoconazol, Kraft®36EC e Score®250EC estão representados na Figura 15. Nos casos em que foi realizado apenas um experimento, os limites inferior e superior correspondem ao intervalo de confiança (95%) do teste de toxicidade. Para abamectina o valor da CE_{50;48h} foi de 40,28ng/L, com limites inferior e superior igual a 25,18ng/L e 94,65ng/L, respectivamente. A CE_{50;48h} média para difenoconazol foi 0,65mg/L, com limite superior e inferior de 1,52mg/L e coeficiente de variação (CV) de 67,69%. Os valores das CEs obtidas para Kraft®36EC e Score®250EC estão representados em porcentagem de calda. Para Kraft®36EC, a CE_{50;48h} obtida foi de 0,00062% (equivalente a 67ng/L de abamectina), com limites inferior e superior de 0,00042% e 0,0009% (0,045ng/L e 0,094ng/L), respectivamente. Para Score®250EC a CE_{50;48h} foi de 0,48% (equivalente a 0,48mg/L de difenoconazol) com limites inferior e superior de 0,22% e 1,21% (0,22mg/L e 1,21 mg/L de difenoconazol). Para mais detalhes dos testes de toxicidade individuais, vide Apêndice 1 (Tabelas 18 a 22 e Figuras 18 a 22). As análises estatísticas constam no Apêndice 2 (Tabelas 10 a 13).

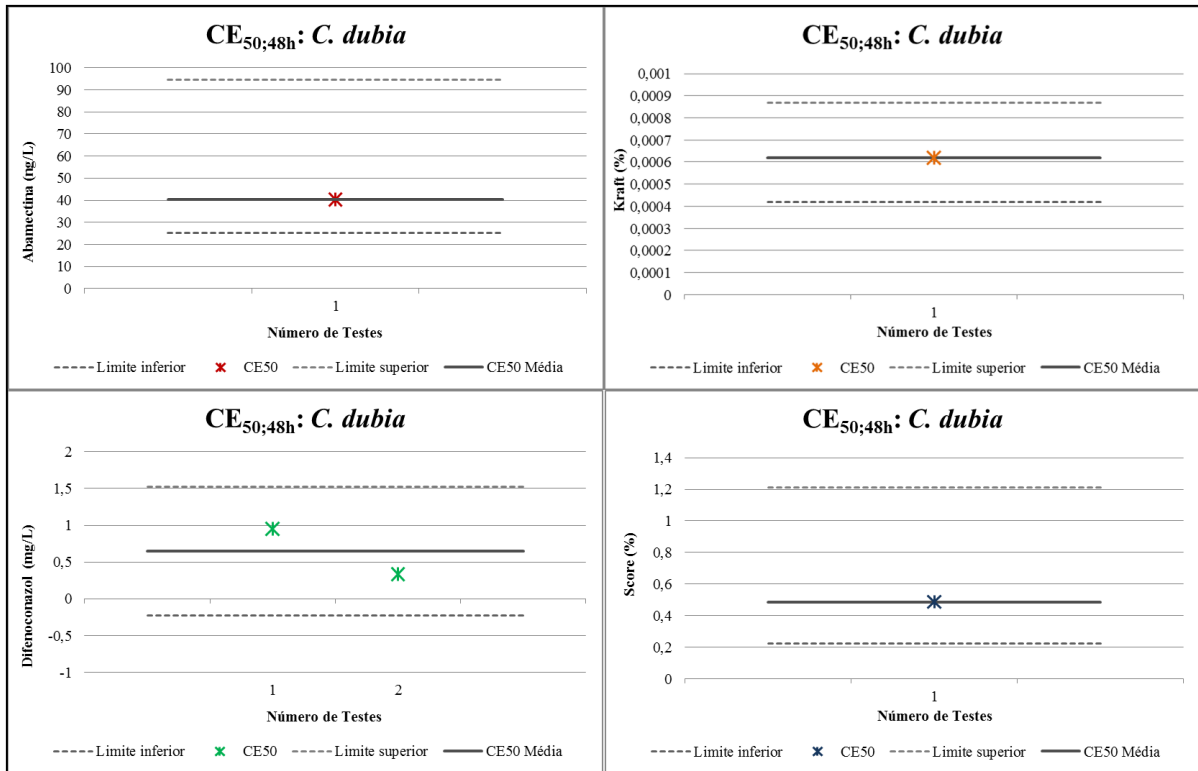


Figura 15: Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC), com *C. dubia*.

Daphnia similis:

Os resultados dos testes de sensibilidade realizados com *D. similis* encontram-se na Figura 16. A média entre as $CE_{50;48h}$ foi de 589,17mg/L, com limite inferior igual a 563,65mg/L e superior igual a 614,70mg/L. O coeficiente de variação (CV) entre os testes foi de 2,16% e ambos os valores de CEs encontram-se dentro da faixa de sensibilidade pré-estabelecida pela carta-controle do Laboratório de Ecotoxicologia, do NEEA/CRHEA/EESC/USP (475,35 – 617,1mg/L). Para mais detalhes dos testes de toxicidade individuais, vide Apêndice 1 (Tabelas 4 e 5 e Figuras 4 e 5). As análises estatísticas podem ser encontradas no Apêndice 2 (Tabela 3).

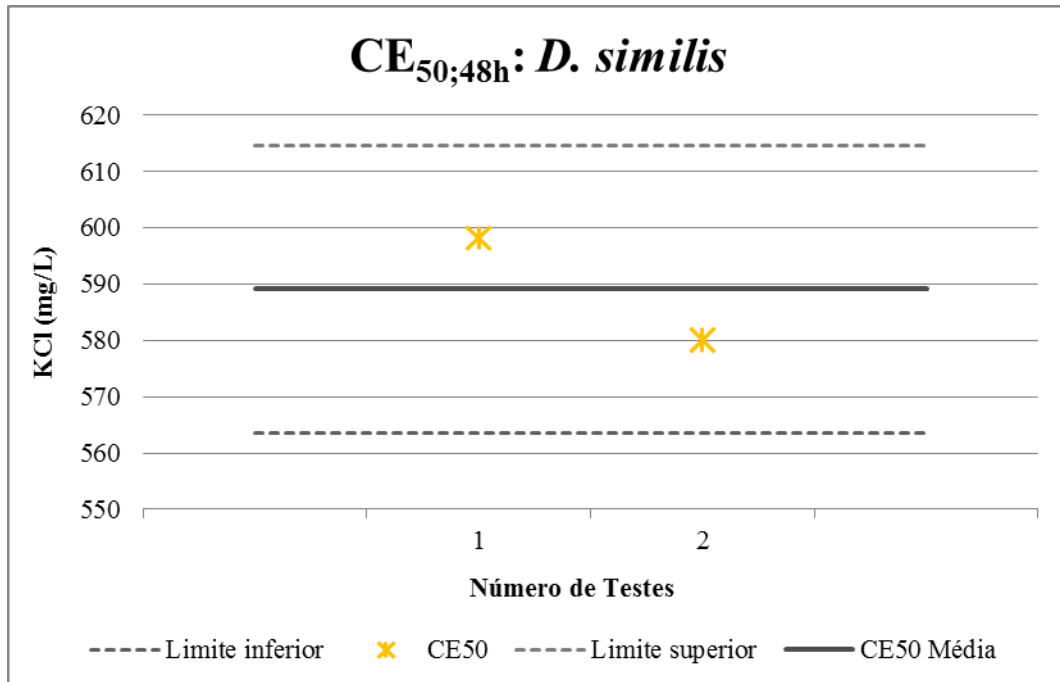


Figura 16: Resultados dos testes de sensibilidade com *D. similis* exposto à substância de referência KCl (mg/L).

Os resultados dos testes de toxicidade (CE_{50;48h}, valor médio das CE_{50;48h} e os limites inferior e superior) com abamectina, difenoconazol, Kraft®36EC e Score®250EC estão apresentados na Figura 17. Nos casos em que foi realizado apenas um teste de toxicidade, os limites inferior e superior correspondem ao intervalo de confiança (95%) do mesmo. Para a abamectina o valor da CE_{50;48h} foi 2,95ng/L, com limites inferior e superior igual a 1,46ng/L e 4,35ng/L, respectivamente. O valor médio da CE_{50;48h} para difenoconazol foi de 0,911mg/L, com limite inferior e superior de 0,036mg/L e 1,79mg/L e coeficiente de variação (CV) igual a 48,04%. Os resultados dos testes de toxicidade para Kraft®36EC e Score®250EC estão representados em porcentagem de calda. A CE_{50;48h} média obtida nos testes de toxicidade com Kraft®36EC foi de 0,005% (equivalente a 562ng de abamectina), com limites inferior e superior de 0,002% e 0,008% (216ng/L e 864ng/L, respectivamente) e coeficiente de variação (CV) de 25,98%. A CE_{50;48h} média obtida nos testes de toxicidade com Score®250EC foi de 0,69% (equivalente a 0,69mg/L de difenoconazol), com limites inferior e superior de 0,67% e 0,71% (0,67mg/L e 0,71mg/L de difenoconazol) e coeficiente de variação (CV) de 1,37%. Para mais detalhes dos testes de toxicidade, vide Apêndice 1 (Tabelas 23 a 29 e Figuras 23 a 29). Os resultados das análises estatísticas podem ser encontrados no Anexo 2 (Tabelas 14 a 17, do Apêndice 2).

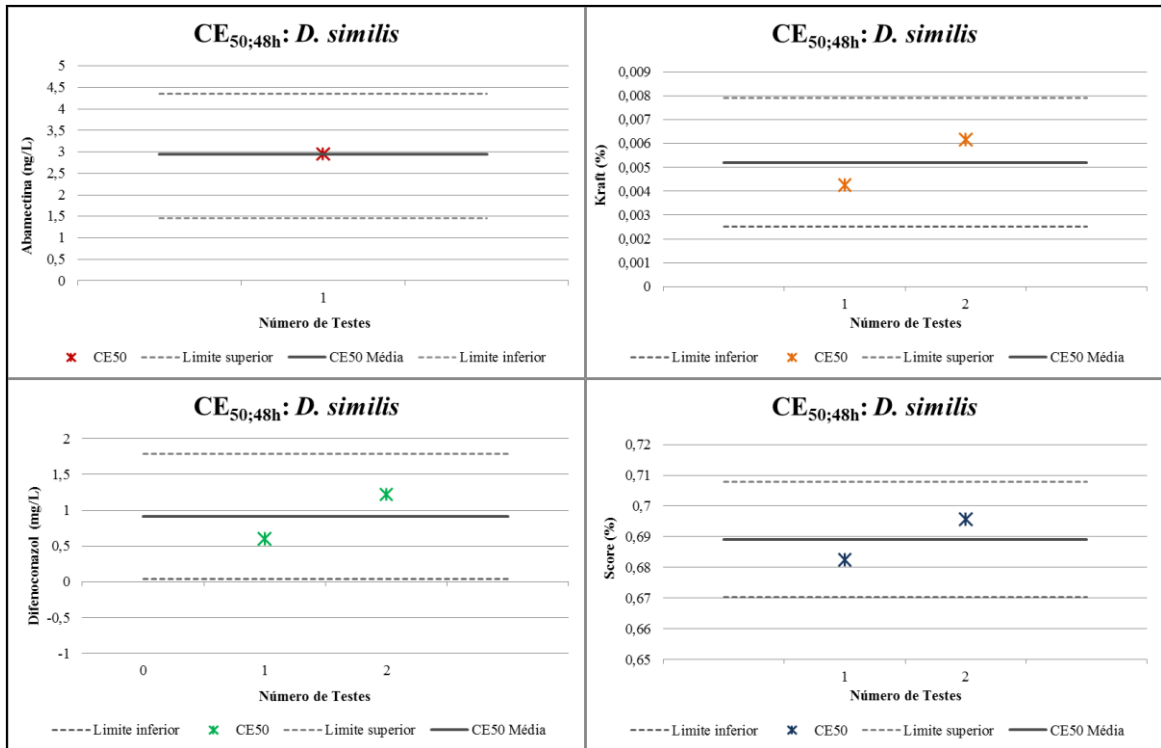


Figura 17: Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) com *D. similis*.

Chironomus sancticaroli:

Os resultados dos testes de sensibilidade com *C. sancticaroli* são apresentados na Figura 18, verificando-se que o valor médio da $CE_{50;96h}$ foi de 5,47g/L, com limite inferior de 3,29g/L e superior de 7,64g/L. O coeficiente de variação (CV) foi de 19,88%, sendo que os valores de $CE_{50;96h}$ encontram-se dentro da faixa de sensibilidade pré-estabelecida por Fonseca (1997), que é de 3,3 a 6,0g/L. Para mais detalhes sobre os testes de toxicidade, vide Apêndice 1 (Tabelas 6 e 7 e Figuras 6 e 7). Os resultados das análises estatísticas constam do Apêndice 2 (Tabela 4).

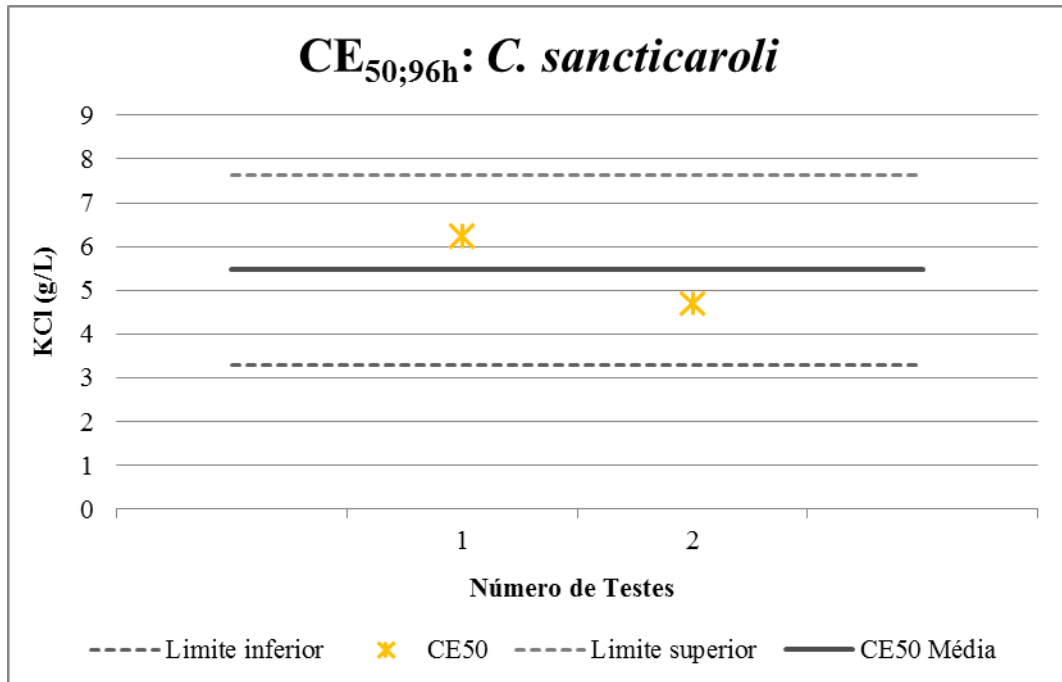


Figura 18: Resultados dos testes de sensibilidade com *C. sancticaroli* exposto à substância de referência KCl (g/L).

Os resultados dos testes de toxicidade (CE_{50;96h} de cada teste, as médias das CEs e os limites inferior e superior) com abamectina, difenoconazol, Kraft®36EC e Score®250EC estão representados na Figura 19. Nos casos em que foi realizado apenas um teste de toxicidade, os limites inferior e superior correspondem ao intervalo de confiança (95%) do mesmo. Para a abamectina a CE_{50;96h} média foi 2,31µg/L, com limites inferior e superior igual a 0,33µg/L e 4,30µg/L, respectivamente, e coeficiente de variação (CV) de 42,95%. Para difenoconazol a CE_{50;96h} foi de 4,66mg/L, não sendo definidos os limites inferior e superior. Os valores das CEs obtidos para Kraft®36EC e Score®250EC estão representados em porcentagem de calda. A CE_{50;96h} média obtida nos testes de toxicidade com Kraft®36EC foi de 0,036% (equivalente a 3,9µg/L de abamectina), com limites inferior e superior de 0,016% e 0,059% (1,72µg/L e 6,37µg/L de abamectina), respectivamente e para Score®250EC a CE_{50;96h} obtida foi de 1,52% (equivalente a 1,52mg/L de difenoconazol), com limites inferior e superior de 1,38% e 1,68% (1,38mg/L e 1,68mg/L de difenoconazol). Para mais detalhes dos resultados dos testes de toxicidade, vide Apêndice 1 (Tabelas 30 a 32 e Figuras 29 a 32). Os resultados das análises estatísticas constam no Apêndice 2 (Tabelas 18 a 20).

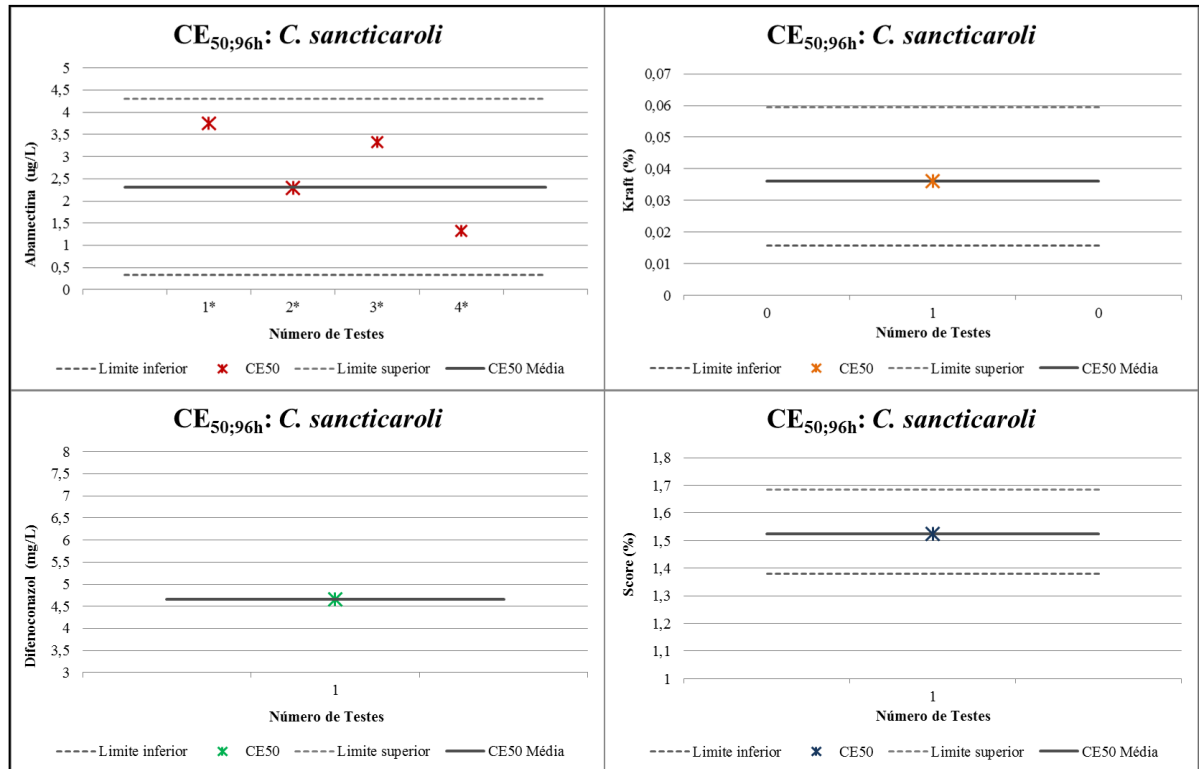


Figura 19: Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) com *C. sancticaroli*. Testes de toxicidade com asteriscos (*) representam valores de CE50 obtidos na base de dados do NEEA/CRHEA/EESC/USP para complementação da pesquisa (Novelli, 2010).

Danio rerio:

Os resultados dos testes de sensibilidade com *D. rerio* estão apresentados na Figura 20. A média entre as CE_{50;48h} foi de 1111,56mg/L, com limite inferior de 384,68mg/L e superior de 1838,44mg/L. Apesar do coeficiente de variação (CV) entre os testes ter sido elevado (32,70%), todos os valores de CE_{50;48h} encontram-se dentro da faixa de sensibilidade pré-estabelecida pela carta-controlé do NEEA/CRHEA/EESC/USP (média de 785,88mg/L, com limites inferior e superiores de 584,21 e 987,55 mg/L e coeficiente de variação de 12,83%). Para mais informações sobre os resultados dos testes de toxicidade, vide Apêndice 1 (Tabelas 8 a 10 e Figuras 8 a 10). As análises estatísticas podem ser encontradas no Apêndice 2 (Tabela 5).

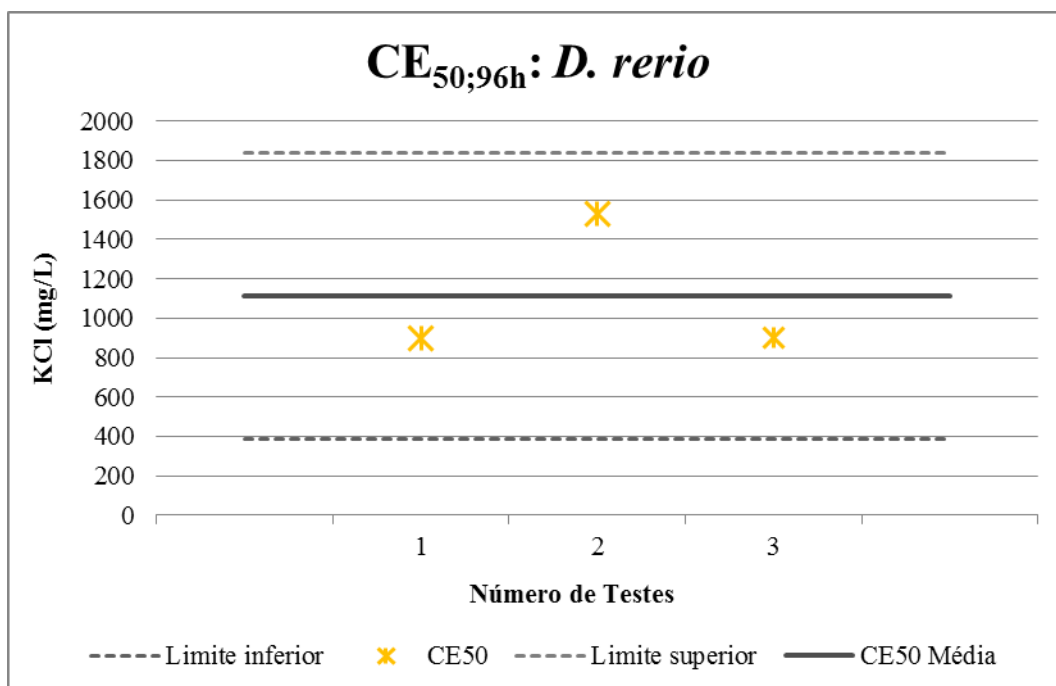


Figura 20: Resultados dos testes de sensibilidade com *D. rerio* exposto à substância de referência KCl (mg/L).

Quanto a biometria, que garante a homogeneidade dos lotes dos peixes obtidos comercialmente, os resultados encontram-se no Apêndice 1 (Figuras 37, 38 e 39 e na Tabela 37). As médias dos comprimentos e pesos dos três lotes obtidos comercialmente estão descritas na Tabela 10. O valor médio do peso obtido entre os três lotes foi de 0,32g (SD: 0,15) e a média do comprimento obtido entre eles foi de 2,47 (SD: 0,21).

Tabela 10: Peso e comprimento médios e desvio padrão de cada lote obtido comercialmente. A coluna TOTAL representa as médias e desvio padrão entre os lotes.

Médias/SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	TOTAL
Média Peso (g)	0,49	0,24	0,22	0,32
SD Peso	0,13	0,16	0,08	0,15
Média Comprimento (cm)	2,70	2,45	2,27	2,47
SD Comprimento	0,22	0,40	0,26	0,21

Os resultados dos testes de toxicidade (CE_{50;48h} de cada teste, as médias das CE_{50;48h} e os limites inferior e superior) com abamectina, difenoconazol, Kraft®36EC e Score®250EC estão representados na Figura 21. Nos casos em que foi realizado apenas um teste de toxicidade, os limites inferior e superior correspondem ao intervalo de confiança (95%) do mesmo. compara a abamectina a CE_{50;48h} foi de 91,53µg/L, com limites inferior e superior igual a 83,56µg/L e 100,77µg/L, respectivamente. Para o difenoconazol a CE_{50;48h} foi 2,08mg/L, com limite inferior e superior iguais a 2,01mg/L e 2,15mg/L. Os valores da CE_{50;48h} obtida para Kraft®36EC e Score®250EC estão representados em porcentagem de

calda, sendo que a $CE_{50;48h}$ média obtida nos testes de toxicidade com Kraft®36EC foi de 0,75% (equivalente a 81,15µg/L de abamectina), com limites inferior e superior de 0,67% e 0,84% (72,36µg/L e 90,72µg/L de abamectina), respectivamente. A $CE_{50;48h}$ obtida no teste de toxicidade com Score®250EC foi de 1,53% (equivalente a 1,53mg/L de difenoconazol), com limites superior e inferior não definidos. Para mais detalhes sobre os resultados obtidos nos testes de toxicidade, vide Apêndice 1 (Tabelas 33 a 36 e Figuras 33 a 36). Os resultados das análises estatísticas constam do Apêndice 2 (Tabelas 21 a 24).

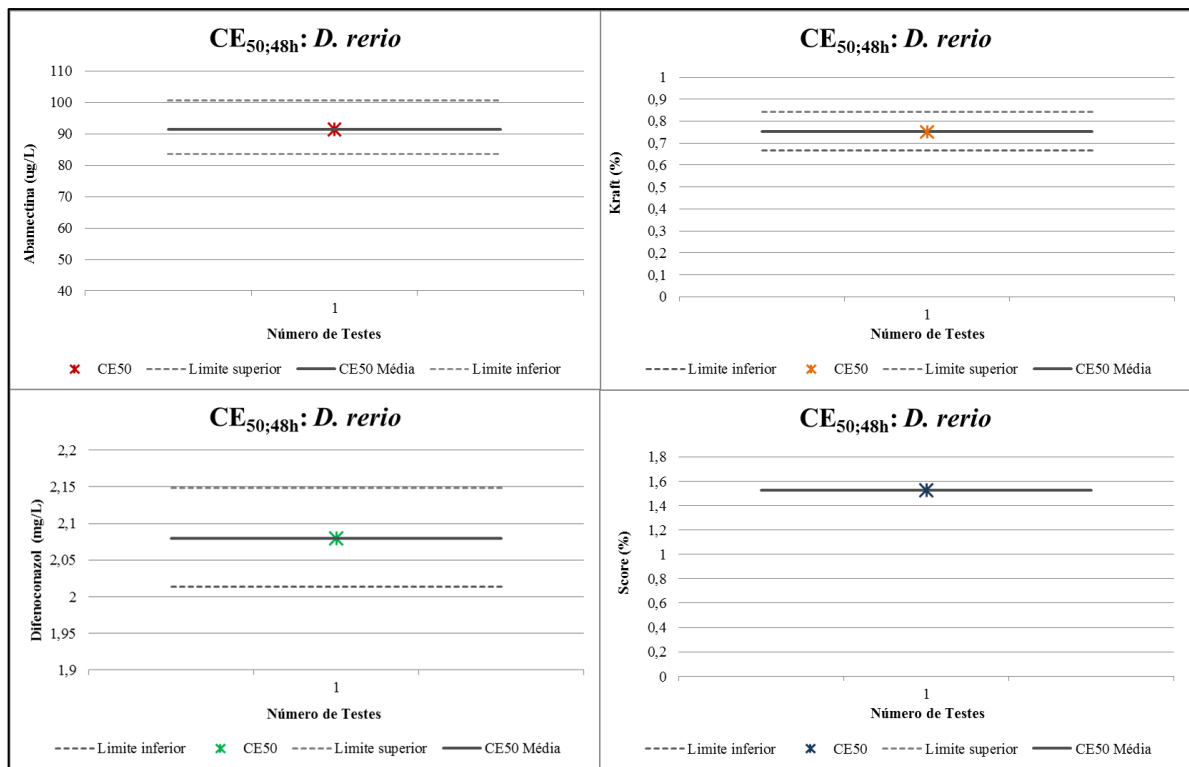


Figura 21: Resultados dos testes de toxicidade com ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol) e produtos comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) com *D. rerio*.

3.3. Species Sensitivity Distribution (SSD)

Os resultados apresentados na Tabela 11 possibilitam uma melhor visualização e comparação dos dados de CE_{50} em nível ecossistêmico. A menor HC_5 calculada foi registrada para o ingrediente ativo abamectina, cuja concentração de $5,8 \cdot 10^{-5} \mu\text{g/L}$, com base nos organismos testados, foi considerada perigosa para 5% da comunidade. A maior HC_5 foi obtida para os testes de toxicidade com o ingrediente ativo difenoconazol, cuja concentração de $244,57 \mu\text{g/L}$, com base nos organismos testados, foi considerada perigosa para 5% da comunidade aquática (Tabela 11).

Tabela 11: Concentração perigosa para 5% da comunidade (HC_5), calculada pelo software ETX 2.0, com base na curva de dados preditivos gerada a partir dos dados ecotoxicológicos (CE_{50}).

	HC_5 ($\mu\text{g/L}$)	Lim. Inferior	Lim. Superior	Média	SD
Abamectina	$5,8 * 10^{-5}$	$1,8 * 10^{-11}$	$2,2 * 10^{-2}$	$5,4 * 10^{-1}$	2,7
Difenoconazol	244,57	20,58:	652,98	3,2	$4,4 * 10^{-1}$
Kraft@36EC	$5,2 * 10^{-3}$	$2,6 * 10^{-7}$	$2,6 * 10^{-1}$	$8,8 * 10^{-1}$	1,8
Score@250EC	127,1	3,6	523,6	3,2	$6,4 * 10^{-1}$

As PAFs (Fração Potencialmente Afetada) foram calculadas e estão demonstradas com base nas CE_{50} das SSDs (Figura 22). Verifica-se que para três, dos quatro contaminantes (Kraft@36EC, difenoconazol e Score@250EC), a espécie mais sensível foi o cladóceros *C. dubia* e somente para o ingrediente ativo abamectina maior sensibilidade ocorreu para *D. similis*. A espécie menos sensível, na maioria dos testes (abamectina, Kraft@36EC e Score@250EC), foi a micro-alga *P. subcapitata*, exceção do teste de toxicidade com o produto formulado Score@250EC, uma vez que a menor sensibilidade foi registrada para *C. sancticaroli*.

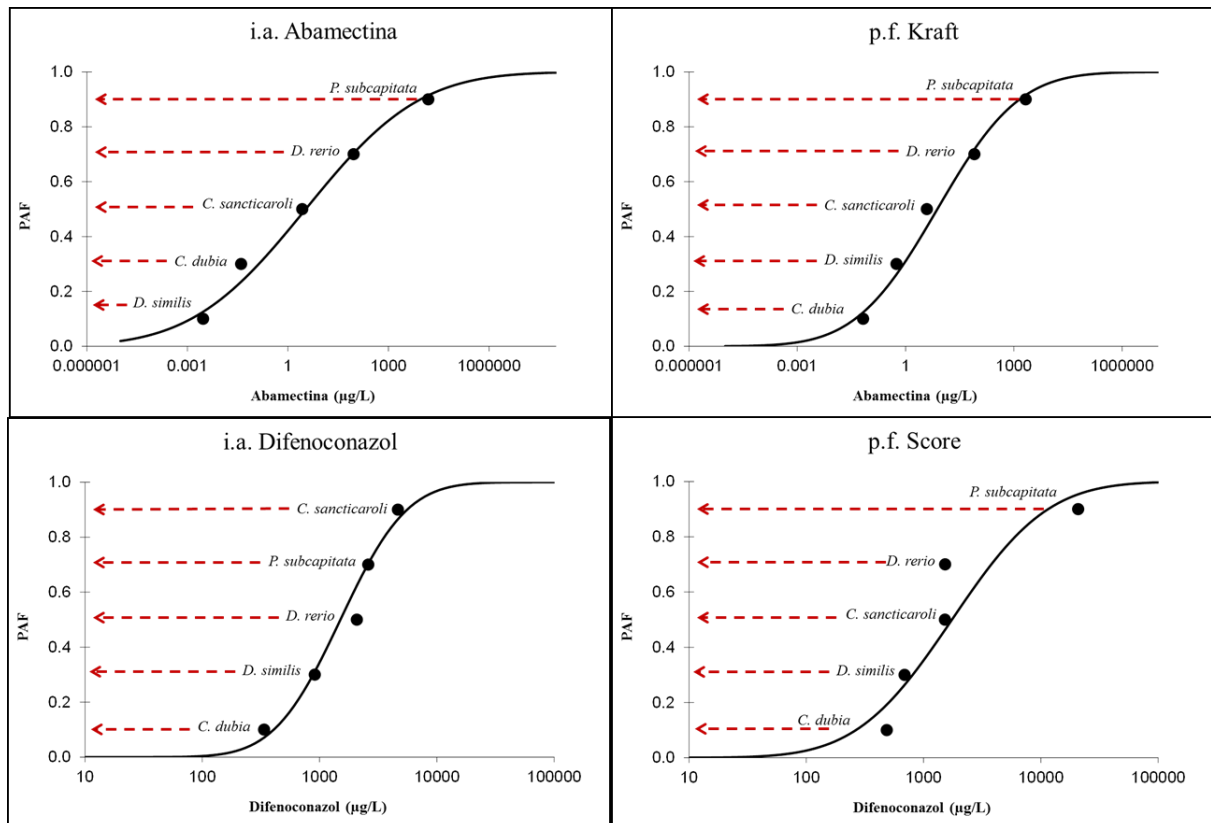


Figura 22: Curvas SSDs obtidas para cada contaminante. O eixo x corresponde as CEs de cada organismo-teste (log₁₀) e o eixo y às respectivas PAFs, sendo estas em ordem crescente: 10%; 30%; 50%; 70% e 90%.

As concentrações que causam efeitos sobre 10%; 30%; 50%; 70% e 90% da comunidade, com base nas SSDs, estão representados no Quadro 1. A partir dos gráficos da Figura 22, juntamente a Tabela 12, verifica-se que a CE₅₀ da espécie mais sensível determina uma fração potencialmente afetada da comunidade de 10%, enquanto a CE₅₀ da espécie menos sensível determina a fração potencialmente afetada da comunidade de 90%.

Tabela 12: Frações Potencialmente Afetadas (PAF) por contaminações iguais as CE₅₀ dos organismos teste para cada um dos contaminantes.

PAF	Abamectina		Kraft®36EC		Difenoconazol		Score®250EC	
	Spp.	CE ₅₀	Spp.	CE ₅₀	Spp.	CE ₅₀	Spp.	CE ₅₀
10%	<i>D. similis</i>	2,95ng/L	<i>C. dubia</i>	67ng/L	<i>C. dubia</i>	0,65mg/L	<i>C. dubia</i>	0,48mg/L
30%	<i>C. dubia</i>	40,28ng/L	<i>D. similis</i>	262ng/L	<i>D. similis</i>	0,91mg/L	<i>D. similis</i>	0,69mg/L
50%	<i>C. sancticaroli</i>	2,31 µg/L	<i>C. sancticaroli</i>	3,9µg/L	<i>D. rerio</i>	2,08mg/L	<i>C. sancticaroli</i>	1,52mg/L
70%	<i>D. rerio</i>	91,53µg/L	<i>D. rerio</i>	81,5µg/L	<i>P. subcapitata</i>	2,6mg/L	<i>D. rerio</i>	1,52mg/L
90%	<i>P. subcapitata</i>	16,74mg/L	<i>P. subcapitata</i>	2,15mg/L	<i>C. sancticaroli</i>	4,66mg/L	<i>P. subcapitata</i>	20,8mg/L

Com base na associação dos dados de CE₅₀, com as estimativas dos efeitos em comunidade e com os cálculos modelados de distribuição e concentração ambiental prevista, foi possível elaborar um diagnóstico ambiental para o efeito da aplicação dos agrotóxicos Kraft®36EC (abamectina) e Score®250EC (difenoconazol) nas plantações de morango do município de Bom Repouso. Os resultados deste diagnóstico estão exemplificados na Figura 23, na qual se verifica os organismos cuja CE₅₀ foram maiores que a faixa de concentrações previstas em modelagem e os que foram menores que esta faixa.

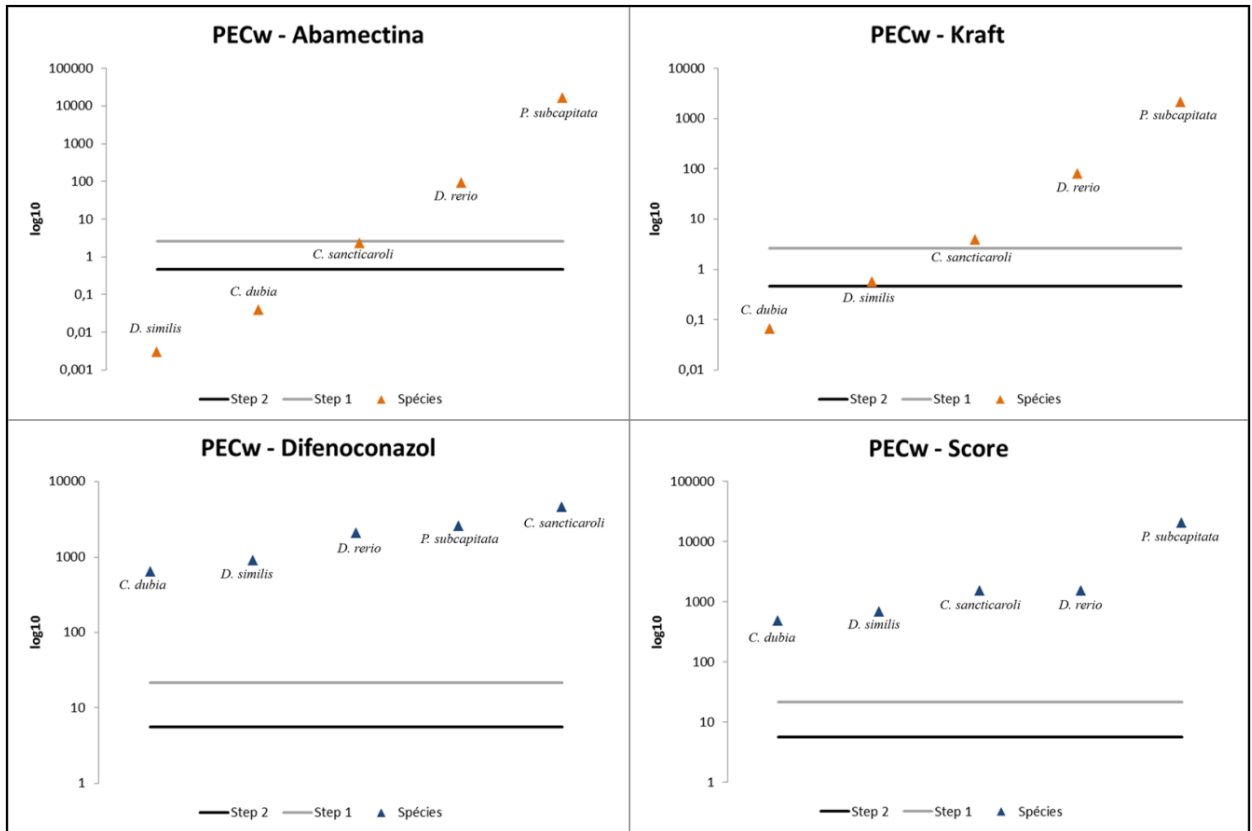


Figura 23: Representação do diagnóstico ambiental com base nos valores de PEC e CE_{50} para as diferentes espécies. Dados representados em \log_{10} por questão de escala para melhor visualização.

Os histogramas representando a distribuição normal dos dados bem como os testes de Anderson-Darling, gerados pelo software ETX 2.0 para os dados submetidos às análises, estão no Apêndice 2 (Figuras 1 a 4).

4. Discussão

Motivada pela localização, próximo ao mercado consumidor de São Paulo, e pelas condições climáticas, a produção de morango na Região de Bom Repouso (MG) teve início na década de 50. Porém, foi somente na década de 90 que a comercialização do produto tomou maiores proporções, substituindo aos poucos a produção de batata, embora esta cultura ainda seja exercida fortemente no município. Desde então a região ocupa o primeiro lugar na comercialização de morango no Brasil, sendo responsável por cerca de 40% da produção nacional (RODRIGUES, 2007). No entanto, com o passar dos anos e a potencialização da produção, o uso de insumos agrícolas tomou grandes proporções no local. Estudos na área apontam condições preocupantes relacionadas ao uso de mais de 60 tipos de agroquímicos como fertilizantes e praguicidas dos mais diversos tipos, tais como, fungicidas, inseticidas, acaricidas, herbicidas e dessecantes na região (NUNES, 2010).

O risco em potencial desta região ocorre por inúmeros motivos, incluindo desde a distribuição das terras, formada em sua grande maioria por pequenos proprietários que tendem a explorar o solo de maneira intensiva e, muitas vezes, suprimindo a vegetação nativa e circundante a cursos de rios, até as condições geográficas do local, que por ser de elevadas altitudes (de 1.100 a 1.700m) favorecem o escoamento superficial da água proveniente de chuvas e irrigação. A irrigação das plantações é outro aspecto relevante, tendo em vista que além de constituir um fator de entrada de contaminantes nos corpos d'água desprotegidos, também demandam grande volume da água, acarretando danos aos recursos hídricos do local.

Por abrigar a nascente do rio Mogi-Guaçu, bem como outras 759 nascentes catalogadas (com estimativa da existência de mais de 1.000 nascentes, cerca de 4 nascentes por km²), além de 17 cachoeiras, esta região apresenta alto potencial hídrico e tem grande importância ecológica, sendo considerada uma APP (Área de Preservação Permanente) por lei e uma APC (Área Prioritária de Conservação) por fazer parte da Serra da Mantiqueira (BRIGANTE & ESPINDOLA, 2003). Ainda assim, mesmo com sua conservação sendo garantida por lei, o município encontra-se em um cenário de risco tanto ecológico quanto para a saúde pública devido a contaminação por metais, por despejo de esgoto doméstico e pelo uso descontrolado de agroquímicos.

Dentre os mais de 60 produtos comercializados e aplicados nas lavouras do município de Bom Repouso (NUNES, 2010), três merecem destaque pela intensidade e frequência de uso. Um deles, o Vertimec®18EC, foi utilizado em larga escala na região há cerca de 10 a 15 anos atrás, mas com o passar dos anos foi substituído por outro produto formulado, o Kraft®36EC, cujo princípio ativo é o mesmo que o do Vertimec®18EC, a abamectina. O terceiro é o fungicida Score®250EC, cujo princípio ativo é o difenoconazol.

Poucos estudos foram realizados na região de Bom Repouso, mesmo dada a situação preocupante na qual o local está inserido. Alguns dos dados existentes são os publicados pelo Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA), em artigos provenientes de dissertações e teses e que, ainda, em 2003, deram origem aos livros “Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu” (2003) e “Projeto Mogi-Guaçu: desenvolvendo ações socioambientais” (2009), ambos sob edição de Janete Brigante e Evaldo Espíndola. Nestes estudos, foi possível caracterizar a região de Bom Repouso quanto a sua contaminação ambiental, gerando dados de quantificação de pesticidas, identificando a presença de metais e mensurando efeitos toxicológicos nos organismos aquáticos, bentônicos e terrestres (BRIGANTE & ESPINDOLA, 2003).

Em uma destas pesquisas, foram identificados como contaminantes os metais tanto na água quanto nos sedimentos, cuja presença foi atribuída ao intemperismo de rochas locais, mas também a ação antrópica, sendo que alguns deles encontravam-se em concentrações acima do permitido por resoluções nacionais do CONAMA, 20/86 (BRIGANTE & ESPINDOLA, 2003). Em outra ocasião, diversos inseticidas organoclorados e organofosforados foram detectados em sedimento, dentre eles – δ -BHC, Aldrin, Trans-heptachlor, α -endosulfan (organoclorados), paration metil e paration etil (organofosforados). Ainda, em estudos do solo, foram identificados os praguicidas aldrin, heptachloro, epóxido e endosulfan-I nas plantações de morango e os praguicidas aldrin, heptachloro, heptachloro epóxido, endosulfan-II, gama-BHC e clorpirifós, mesmo em locais cuja vegetação adjacente encontrava-se em estado mais preservado (RODRIGUES, 2006).

Por meio do levantamento da fauna bentônica da parcela pertencente a região de Bom Repouso da bacia hidrográfica do Rio Mogi-Guaçu, pode-se concluir que o sedimento dos locais amostrados apresentaram relativamente grande quantidade de táxons, porém com predominância de oligoquetos e quironomídeos, grupos que contém espécies indicativas de ambiente perturbado por atividade antrópica com grau de distúrbio elevado. Neste estudo, pelo índice BMWP, a maioria dos pontos de amostragem no município foi classificada entre águas muito contaminadas e fortemente contaminadas, consideradas situações críticas e muito críticas (BRIGANTE & ESPINDOLA, 2003).

Testes de toxicidade com água coletada em campo apontaram indício de toxicidade (imobilidade entre 10% e 50%) para os cladóceros *C. dubia* e *D. similis*, sendo que o primeiro mostrou-se mais sensível. Em estudos com toxicidade crônica os maiores efeitos foram para *D. similis*, onde se verificou um efeito muito significativo ($p < 0,001$) e em vários pontos de amostragem houve redução na produção de neonatos (BRIGANTE & ESPINDOLA, 2003). Na nascente do rio do Peixe e Mogi-Guaçu verificou-se toxicidade aguda para ambos os cladóceros, com imobilidade de 100%, além de vários indícios de toxicidade para os microcrustáceos em outros locais de amostragem. Em relação às amostras de sedimento, a *D. similis* mostrou-se mais sensível que a *C. dubia* e houve indício de toxicidade aguda em todos os pontos de coleta para *C. xanthus*, levando os autores a conclusão de que os sedimentos testados podem ser considerados degradados em função dos altos valores de mortalidade.

Embora estes últimos resultados tenham sido atribuídos a toxicidade por metais, a identificação de agroquímicos na região, associada a prática já conhecida de aplicação, não descarta a possibilidade da toxicidade ter sido decorrente da presença dos metais e da contaminação por outros compostos, como os agrotóxicos. Segundo Resende (2009), oito

agrotóxicos foram identificados em amostras de água (α -BHC; Aldrin; α -endosulfan; clordano; Endrin; γ -BHC; metacloro e dieldrin) e testes em 34 diferentes amostras de água da região (incluindo nascentes e postos de abastecimento da população), indicaram indícios de toxicidade aguda para *D. similis* (cerca de 40% dos pontos) e crônica para *C. silvestrii* (cerca de 80% dos pontos). Anteriormente, em 2007, foram verificados efeitos crônicos em peixes, com ocorrência de alterações histopatológicas em brânquias de *D. rerio* expostos a água percolada de solo de áreas de plantio e até mesmo de áreas com mata preservada, indicando possível contaminação indireta por transporte de contaminantes (RODRIGUES, 2007). Estudos posteriores também foram realizados na região, abordando outras temáticas como a questão socioeconômica (CUNHA, 2009), a toxicidade dos solos (LIMA, 2010; NUNES, 2010; NUNES & ESPINDOLA, 2012) e a saúde pública (ESPÍNDOLA, 2011), além de análise dos efeitos dos produtos formulados mais utilizados na região e seus ingredientes ativos (MENDES, 2010; NOVELI *et al* 2012a; NOVELLI *et al* 2012b; BRAUN *et al* 2012; VASCONCELOS, 2014).

Considerando os resultados obtidos e a associação dos mesmos aos atuais, é possível realizar um diagnóstico ambiental para a o local referência, o município de Bom Reposo (MG). Tendo em vista que a “concentração ambiental prevista” (PEC) gerada pelo modelo FOCUS para o ingrediente ativo abamectina foi de 0,47 a 2,63 μ g/L, pode-se concluir que as espécies *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, se presentes no local, teriam sua população afetada pela aplicação do inseticida nas plantações adjacentes. A CE_{50} obtida para estes organismos foram, respectivamente, de 40,28ng/L e 2,95ng/L quando testadas com o ingrediente ativo e de 67ng/L e 562ng/L de abamectina quando testados com o produto formulado Kraft®36EC. Sendo assim, a concentração possivelmente presente no ecossistema aquático é superior as concentrações determinadas em testes laboratoriais, o que nos leva a supor que possivelmente, mesmo aplicando-se a dose recomendada do agrotóxico nas plantações de morango adjacentes, este produto levaria a mortalidade de 50% da população de ambos os cladóceros, *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, o que implicaria em uma modificação da estrutura biológica do ecossistema aquático e, conseqüentemente, de seu funcionamento.

Tal afirmação é corroborada por resultados obtidos por Braun *et al* (2012); Novelli *et al* (2012a) e Novelli *et al* (2012b). Em testes de toxicidade com o produto formulado Vertimec®18EC, a primeira autora obteve $CE_{50,48h}$ igual a 0,71 μ g/L de abamectina para *D. similis*, enquanto que em testes de toxicidade com água de *runoff* contaminado considerando a dose recomendada para plantações de morango, ocorreu, em teste laboratorial, 100% de

mortalidade de *C. dubia*. Novelli *et al* (2012a) obteve $CE_{50;48h}$ igual a 5,1ng/L para *D. similis* em testes com o ingrediente ativo abamectina e em testes de toxicidade com água de *runoff* contaminado nas mesmas condições mencionadas (NOVELLI *et al* 2012b), a $CE_{50;48h}$ foi crescente com o passar do tempo, sendo que estas foram de 5,54µg/L; 2,01µg/L e 1,76µg/L de abamectina quanto testadas nos dias 1, 5 e 11 do experimento, respectivamente. Dessa forma, todas as concentrações que provocam efeito de mortalidade ou imobilidade a 50% da população de *C. dubia* e *D. similis* apresentadas, foram menores que as concentrações ambientais previstas, sugerindo que para ambos os cladóceros a presença de abamectina, nestas concentrações no compartimento aquático, acarretaria em danos populacionais, como também observado em testes de toxicidade com água de *runoff*, onde copépodos e cladóceros tiveram alterações significativas quanto a densidade, demonstrando alterações na estrutura da comunidade (NOVELLI *et al* 2012b).

Para a população de *Chironomus sancticaroli* o cenário não é diferente visto que a CE_{50} desta espécie foi de 2,31µg/L quando testado com o ingrediente ativo e em 3,90µg/L de abamectina quando testado com o produto formulado. Neste caso, mesmo que o valor encontrado para o produto formulado esteja acima do previsto pelo modelo, o fato dos mesmos estarem muito próximos e, do valor encontrado para ingrediente ativo ainda ser menor que a concentração ambiental prevista, demonstram que o inseto aquático também se encontra dentro de um cenário de risco. Deve-se considerar, ainda, que o efeito avaliado nesta pesquisa limitou-se aos testes agudos, o que significa que a concentração prevista provavelmente causaria efeitos subletais para *C. sancticaroli*, uma vez que sua $CE_{50;96h}$ encontra-se em valores muito próximos a faixa prevista pelo modelo. Da mesma forma, Novelli (2010) verificou diferenças significativas na reprodução de *C. xanthus* a partir da concentração 1,25µg/L de *runoff* contaminado por Vertimec®18EC, sendo que a autora somente observou diferenças na sobrevivência da espécie a partir de 2,5µg/L.

Pelos resultados obtidos verifica-se que somente as espécies *Danio rerio* (peixe) e *Pseudokirchneriella subcapitata* (microalga) apresentaram $CL_{50;48h}$ maiores que as previstas pelo modelo FOCUS, sendo estas de 91,53µg/L (de abamectina) e 81,15µg/L (de abamectina em testes com produto formulado Kraft®36EC) para o peixe e 16,74mg/L (de abamectina); 2,15mg/L (de abamectina em testes com produto formulado Kraft®36EC) para a alga. Estes valores também estão de acordo com testes anteriores realizados pelo grupo de pesquisa.

Mendes (2010), em testes laboratoriais com o produto formulado Vertimec®18EC, encontrou uma $CE_{50;48h}$ para *D. rerio* de 3,66µl/L, correspondendo a 65,88µg/L, enquanto para $CL_{50;48h}$ o autor registrou uma concentração de 4,74µl/L (85,32µg/L de abamectina).

Novelli *et al* (2012a), em testes com o ingrediente ativo, encontraram $CE_{50;48h}$ igual a $33\mu\text{g/L}$. Todos os valores registrados com o mesmo produto foram maiores que os previstos pela PEC. Porém, em um teste crônico de curta duração, o primeiro autor determinou a concentração de efeito observável (CEO) de $3\mu\text{l/L}$ (ou $54\mu\text{g/L}$ de abamectina), a concentração de efeito não observável (CENO) de $2\mu\text{l/L}$ (ou $36\mu\text{g/L}$) e um VC (valor crônico dado pela média geométrica entre CEO e CENO) de $2,5\mu\text{l/L}$ (ou $45\mu\text{g/L}$), demonstrando que efeitos podem ocorrer em menores concentrações (MENDES, 2010). Portanto, mesmo estes valores estando acima da concentração ambiental prevista, o risco da exposição da espécie à abamectina não pode ser excluído, uma vez que Novelli *et al* (2012b) em testes com *runoff* aplicados seguindo a dose recomendada, verificou em *D. rerio* alterações histopatológicas de grau 1 e 2 nas brânquias dos peixes que, dependendo do período de exposição a contaminantes, pode evoluir para o grau 3 ou posteriores, considerados irreversíveis.

Estudos posteriores foram desenvolvidos por Vasconcelos (2014), considerando o mesmo produto em testes laboratoriais e em experimentos em mesocosmos, utilizando girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* como organismo-teste, Nos testes de toxicidade aguda as concentrações letais foram superiores as PEC ($CL_{50;96h}(21G)$ ou seja, estágio de desenvolvimento mais basal): $54\mu\text{g/L}$ e $CL_{50;96h}(25G)$ ou seja, estágio de desenvolvimento mais avançado) sem registro de mortalidade, porém com alterações na capacidade de alimentação. Nos experimentos em mesocosmos, em dose recomendada do produto formulado Vertimec®18EC, verificou-se letalidade a *L. catesbeianus* em menos de 24h de exposição.

Tais resultados demonstram a importância de uma análise multi-espécie no diagnóstico ambiental, tendo em vista que existem espécies mais e menos sensíveis a determinados contaminantes. Neste contexto, em nível de comunidade, observa-se pelas SSDs que, mesmo analisando todas estas espécies representantes de uma ampla faixa de nível trófico, existem, ainda, espécies mais sensíveis que devem ser protegidas. Com base nos HC_5 calculados pelas SSDs, pode-se concluir que tanto para a abamectina quanto para o Kraft®36EC, a PEC prevista em modelagem é pelo menos nove vezes (9x) mais alta que a concentração segura para 95% da comunidade (HC_5) no caso dos testes com Kraft®36EC e pelo menos oitocentas vezes (800x) mais alta que a concentração segura para 95% da comunidade, no caso dos testes com abamectina (Tabela 11). Isso significa que, mesmo sendo estas últimas espécies (*D. rerio* e *P. subcapitata*) menos afetadas pela abamectina, a ocorrência das concentrações previstas (PEC) no ambiente ainda ultrapassa em muito os valores que poderiam manter a integridade do ambiente.

Em relação ao ingrediente ativo difenoconazol, apesar do modelo MacKay ter concluído que cerca de 60% do agrotóxico que é aplicado nos cultivos atinge o compartimento aquático e o modelo FOCUS ter previsto que a concentração ambiental encontra-se entre 5,62 e 21,67µg/L, o composto ofereceu menor risco à biota aquática testada, uma vez que todas as CE₅₀ foram maiores que a PEC.

Da mesma forma, os HC₅ obtidos pelas SSDs tanto para o ingrediente ativo quanto para o produto formulado foram pelo menos cerca de 11x e 6x, respectivamente, maiores que a PEC, sugerindo que as concentrações simuladas seriam seguras pelo menos para 95% da biota do compartimento aquático. Porém, certamente esta é uma conclusão que precisa ser analisada com maior critério, uma vez que para a elaboração das SSDs, apenas foram inseridos os resultados obtidos na presente pesquisa, incluindo somente testes de toxicidade laboratoriais com os cinco organismos-teste.

Como visto anteriormente na discussão dos efeitos da abamectina no ambiente aquático, existem espécies mais sensíveis e espécies menos sensíveis a determinados contaminantes. O fato de o difenoconazol ter sido pouco tóxico às espécies testadas não significa que ele não oferece risco ao meio ambiente e sim que os organismos-teste não são bons representantes para garantir a conservação ambiental frente a exposição a este produto. Certamente, o resultado seria diferente caso os testes de toxicidade tivessem sido realizados com diferentes espécies de fungos, tendo em vista que o difenoconazol é um fungicida de ação sistêmica do grupo dos triazóis, cujo modo de ação tóxica se dá por meio da inibição da biosíntese de ergosterol, provocando rompimentos na biossíntese da parede celular de fungos (vide bula). Assim, concluir que altas doses de Score®250EC ou difenoconazol não causa efeito nocivo ao ecossistema aquático é errôneo, uma vez que não se considerou uma parcela significativa de organismos com importância relevante na decomposição de substratos submersos (PARK, 1972; DIX & WEBSTER, 1995; MARANO *et al*, 2011), que são os fungos.

Estudos com fungos de águas continentais ainda são recentes, porém exemplos destes organismos são os quitridiomycetos, os blastocladiomycetos, os fungos anamorfos, as leveduras aquáticas, espécies de ascomycetos, algumas espécies de basidiomycetos e algumas de zigomycetos (DIX & WEBSTER, 1995). A importância dos fungos vai além da sua participação no processo de decomposição, uma vez que outros estudos apontam que fungos tem papel fundamental na modificação da maior parte da matéria orgânica particulada que entra no ambiente aquático, adicionando compostos nitrogenados que as torna mais palatáveis aos organismos detritívoros, realizando função importante que envolve grande quantidade de

energia (WITKAMP & VAN DER DRIFT, 1961; KAUSHIK & HYNES, 1968; BÄRLOCHER & KENDRICK, 1974; BÄRLOCHER, 1992).

É importante ressaltar que para o melhor diagnóstico ambiental da região referência também devem ser realizadas análises de campo para complementação dos dados. Segundo Villa *et al* (2002), a melhor previsão de exposição ambiental a contaminantes é dada pela combinação de modelagem do monitoramento ambiental. Segundo os autores, quando combinadas, as duas abordagens reduzem as incertezas de ambas as metodologias, gerando maior confiabilidade. Neste estudo com lagoas e rios de Orbetello, os autores também chegaram a conclusão de que a modelagem é mais eficiente para ambientes lênticos, uma vez que os modelos em ambientes lóticos superestimaram as concentrações previstas em relação às observadas. Tal fato foi relacionado, na pesquisa, a maior estabilidade de ambientes lênticos em comparação as variações de fluxo de água e dinâmica de chuvas em que os ecossistemas lóticos estão sujeitos (VILLA *et al*, 2002).

Com base nas informações que foram levantadas pelas pesquisas anteriores e no presente estudo, verifica-se que o município de Bom Repouso encontra-se inserido em um cenário de risco em função do uso de agrotóxicos, decorrente da expansão da sua principal atividade econômica, que é a produção agrícola baseada na produção de morango e batata. Os fatores de risco se agravam para o ecossistema aquático, compartimento que foi priorizado na presente pesquisa, em função do relevo (elevada declividade), condições climáticas (precipitação e vento) e a técnica de produção adotada pelos agricultores, a qual se baseia no uso de agroquímicos, isolados ou combinados, com reaplicações que não seguem as especificações do fabricante. No entanto, mesmo que as recomendações sejam cumpridas, os valores obtidos nos diferentes testes de toxicidade e modelos aplicados demonstram que a comunidade é afetada de forma aguda ou crônica, inserindo perdas significativas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas.

5. Conclusões:

- ❖ Por meio dos modelos matemáticos pode-se concluir que o ingrediente ativo abamectina pode ser encontrado em ambientes aquáticos em concentrações não seguras para grandes porcentagens da comunidade, sendo que as concentrações previstas em modelagem foram 9 vezes (Kraft®36EC) e 800 vezes (abamectina) maiores que as concentrações seguras para 95% do ecossistema.
- ❖ Associando-se os modelos aos bioensaios ecotoxicológicos pode-se concluir que, frente à contaminação por abamectina, a região de Bom Repouso oferece

um cenário de risco aos organismos *D. similis*, *C. dubia* e *C. sancticaroli*, podendo causar 50% de efeito em todas estas populações, enquanto o difenoconazol, apesar de não ter sido previsto concentrações efetivas aos organismos testados, é muito lixiviável, segundo o modelo matemático MacKay, e pode atingir altas concentrações no compartimento aquático.

- ❖ Apesar de não ter oferecido risco aos organismos testados, o difenoconazol é um fungicida que deve ser testado em espécies mais apropriadas antes de se concluir sobre a extensão de seus reais efeitos.

6. Referências Bibliográficas

- ARIAS-ESTEVEZ, M.; LOPEZ-PERIAGO, E.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; SIMAL-GANDARA, J.; MEJUTO, J.; GARCIA-RIO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Vol. 123, p. 247–260, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12648. Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica – método de ensaio com algas (Chlorophyceae). 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12713. Ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). 2009.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 13373. Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera) 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15088. Ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. 2011.
- BÄRLOCHER, F. & KENDRICK, B. Dynamics of the fungal population on leaves in a stream. **Journal of Ecology**, Vol. 62, p. 761–791, 1974.
- BÄRLOCHER, F. Research on aquatic hyphomycetes: historical background and overview. In: Bärlocher, F. (ed.) The ecology of aquatic Hyphomycetes. Berlin: **Springer-Verlag**, p. 1–15, 1992.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: Campanhola, C.; Bettiol, W. (Eds. Téc.). Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, p. 79-95, 2003.
- BRAUN, A. S., 2008. Efeitos dos resíduos do Vertimec utilizado na agricultura em organismos planctônicos. (**Monografia**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).
- BRAUN, A. S.; NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Ecotoxicological effects of Vertimec® 18EC on plankton. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**. Vol. 7, Nº 2, 2012.
- BRIGANTE, J. ESPÍNDOLA, E. L. G. (Eds.) Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: **RiMa** Editora, 2003. 255 p.
- BRIGANTE, J. ESPÍNDOLA, E. L. G. (Eds.) Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: **RiMa** Editora, 2003. 255 p.
- Brock, T.C.M., J. Lahr & P.J. Van den Brink. Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems. Part 1: **Herbicides. Alterra-Rapport**, Wageningen, The Netherlands, 2000.
- CHAIM, A.; BOTTON, M.; SCRAMIN, S.; PESSOA, M. C. P. Y. SANHUEZA, R. M. V.; KOVALESKI, A. Deposição de agrotóxicos pulverizados na cultura da maçã. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, vol. 38, Nº. 7, p. 889-892, 2003.

CUNHA, G. P. Q. 2009. Caracterização ambiental da região de montante do rio Mogi-Guaçu (Bom Repouso – MG): estratégias para replicabilidade e diretrizes para elaboração do plano de adequação ambiental. (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

CUNHA, G. P. Q. 2009. Caracterização ambiental da região de montante do rio Mogi-Guaçu (Bom Repouso – MG): estratégias para replicabilidade e diretrizes para elaboração do plano de adequação ambiental. (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

DAAM, M. A. & VAN DEN BRINK, P. J. Implications of differences between temperate and tropical freshwater ecosystems for the ecological risk assessment of pesticides. **Ecotoxicology**, 19:24–37, 2010.

DIX, N. J. & WEBSTER, J. Fungal Ecology. **Cambridge**: Chapman & Hall, 1995.

DORES, E. F. G. C. & DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do Ambiente Aquático por pesticidas: Vias de Contaminação e Dinâmica dos Pesticidas no Ambiente Aquático. Pesticidas: **Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 9:18, 1999.

ESPÍNDOLA, E. A. 2011. Análise da percepção de risco do uso de agrotóxicos em áreas rurais: um estudo junto aos agricultores no município de Bom Repouso (MG). (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

ESPÍNDOLA, E.L.G.; BRIGANTE, J. Projeto Mogi-Guaçu: desenvolvendo ações socioambientais. São Carlos: **RiMa**, 2009. 382 p.

FOCUS (2001) FOCUS surface water scenarios in the EU evaluation process under 91/414/EEC. Report of the FOCUS workgroup on surface water scenarios. **EC Document reference SANCO/4802/ 2001-rev.2**

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

GAVRILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Engineering in life sciences**, 5(6) p. 497-526. 2005.

GUPTA, M.; GARG, N. K.; JOSHI, H.; SHARMA, M. P. Assessing the impact of irrigation treatments on thiram residual trends: Correspondence with numerical modelling and field-scale experiments. **Environ Monit Assess**, Vol. 186, p.1639 – 1654, 2014.

INAO, K.; WATANABE, H.; KARPOUZAS, D. G. CAPRI, E. Simulation Models of Pesticide Fate and Transport in Paddy Environment for Ecological Risk Assessment and Management. **Japan Agricultural Research Quarterly**: JARQ, Vol. 42, Nº. 1 p. 13-21, 2008.

KAUSHIK, N. K.; HYNES, H. B. N. Experimental study on the role of autumnshed leaves in aquatic environments. **The Journal of Ecology**, Vol. 56, Nº. 1, p. 229-243,1968.

KONSTANTINOOU, I. K.; HELA, D. G.; ALBANIS, T. A. The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. **Environmental Pollution**, v. 141, n. 03, p. 555-570, 2006.

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y.; LUI, G. S. G.; CHU, V. K. H.; LAM, P. K. S.; MORRITT, D. MALTBY, L.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J.; WARNE, M. S. J. & CRANE, M. Comparison of Tropical and Temperate Freshwater Animal Species Acute Sensitivities to Chemicals: Implications for Deriving Safe Extrapolation Factors. **Integrated Environmental Assessment and Management**, 3: 49–67, 2007.

LA, N.; LAMERS, M.; BANNWARTH, M.; NGUWEN, V. V.; STRECK, T. Imidacloprid concentrations in paddy rice fields in northern Vietnam: measurement and probabilistic modeling. **Paddy Water Environ**, 13:191–203, 2015.

LIMA, N. C. 2010. Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos. (**Dissertação de Mestrado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

MACKAY, D. & PETERSON, S. Evaluating the Multimedia Fate of Organic Chemicals: A Level III Fugacity Model. **Environ. Sci. Technol.** Vol. 25, p. 427-436, 1991.

MACKAY, D., AND S. PATERSON. A Model of the Long-Term Fate of Chemical Spills, Report EE-64, **Environment Canada**, Ottawa, 1985.

MALTBY, L.; BLAKE, N.; BROCK, T. C. M. & VAN DEN BRINK, P. J. Insecticide species sensitivity distributions: importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. **Environmental toxicology and chemistry**, 24:379–388, 2005.

MARANO, A. V.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; BARRERA, M. D.; STECIOW, M. M.; GLEASON, F. H. Diversity, role in decomposition, and succession of zoosporic fungi and straminipiles on submerged decaying leaves in a woodland stream. **Hydrobiologia**, Vol. 659, p.93–109, 2011.

MENDES, L. B. 2009. Utilização de *Danio rerio* (Pisces) para avaliação da toxicidade do Vertimec. (**Dissertação de Mestrado**) Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

NOVELLI, A. VIEIRA, B. H.; VASCONCELOS, A. M. PERET, A. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Field and laboratory studies to assess the effects of Vertimec ® 18EC on *Daphnia similis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Vol. 75, p. 87 – 93, 2012b.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; CORDEIRO, D.; CAPPELINI, L. T. D.; VIEIRA, E. M.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal effects of abamectina on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. **Chemosphere**, Vol. 86, p. 36 – 40, 2012a.

NUNES, M. E. T. 2010. Avaliação dos efeitos de agrotóxicos sobre a fauna edáfica por meio de ensaios ecotoxicológicos em *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) e com comunidade natural do solo. (**Tese de doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**. Vol. 21, p. 1063 – 1071, 2012.

PARK, D., On the ecology of heterotrophic micro-organisms in fresh water. Transactions of the British **Mycological Society**, Vol. 58, p. 291–299, 1972.

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

- POSTHUMA, L., TRAAS, T. P., DE ZWART, D., SUTER, G. W. II. Conceptual and technical outlook on Species Sensitivity Distributions in Posthuma L., Suter, G. W. II Traas, T. P., eds, Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. Lewis, **Boca Raton**, FL, USA, p. 475-510, 2002.
- REICHENBERGER, S.; BACH, M.; SKITSCHAK, A; FREDE, H. G. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. **Science of the Total Environment**, Vol. 384 p. 1–35, 2007.
- REMPEL, J.G. Neue Chironomiden aus Nordostbrasilien. Zool. Anz., 127:209-216. Strixino, S.T. 1980. Estudos sobre a fecundidade de *Chironomus sancticaroli* sp. n. (Diptera: Chironomidae) . **Instituto de Biociências, USP**, 157p (Ph.D), 1939.
- RESENDE, J. C., 2009. Avaliação das águas de abastecimento da área rural do município de Bom Repouso, MG. (**Monografia**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).
- RODRIGUES, B. K. 2007. Avaliação dos Impactos de Agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). (**Dissertação de Mestrado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).
- SAKUMA, M., Probit analysis of preference data. Appl. **Entomol. Zool.**, 33: 339–347, 1998.
- SCHRIEVER, C. A., HANSLER-BALL M, HOLMES C, MAUND S, LIESS M. Agricultural intensity and landscape structure: influences on the macroinvertebrate assemblages of small streams in northern Germany. **Environ Toxicol Chem**, Vol. 26, p.346–57, 2007.
- SHRESTHA, S. & DATTA, A. Field measurements for evaluating the RZWQM and PESTFADE models for the tropical zone of Thailand. **Journal of Environmental Management** Vol. 147, 286 – 296, 2014.
- SPADOTTO, C. A.; SCORZA JR, R. P.; DORES, E. F. G. C. GEBLER, L.; MORAES, D. A. C. Fundamentos e aplicações da modelagem ambiental de agrotóxicos. **EMBRAPA Monitoramento por satélite**. Campinas, SP, 2010.
- SPIES, M. & REISS, F. 1996. Catalog and bibliography of Neotropical and Mexican Chironomidae (Insecta, Diptera). *Spixiana* 22:61-119. Suppl.
- STRIXINO, S. T. & STRIXINO, G. Nova espécie do gênero *Chironomus* Meigen do Sul do Brasil (Diptera: Chironomidae). **Rev.Bras. Entomol.** Vol. 25 (4): 333-340, 1981.
- TRIVINHO-STRIXINO, S. Chironomidae (Insecta, Diptera, Nematocera) from São Paulo State, Southeast of Brazil. **Biota Neotrop.** Campinas, Vol. 11, supl. 1. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032011000500032>. Acessado em: agosto de 2015.
- VAN VLAARDINGEN, P. TRAAS TP, ALDENBERG T. Normal distribution based hazardous concentration and potentially affected fraction. ETX-2000. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, **The Netherlands**, 2004.
- VASCONCELLOS, A. M. Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec 18CE sobre girinos de *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae). (**Tese de Doutorado**). Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

VILLA, S. FINIZIO, A; VIGHI, M. Pesticide Risk Assessment In a Lagoon Ecosystem.Part I: Exposure Assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Vol. 22, N°. 4, p. 928–935, 2003.

WITKAMP, M. & VAN DER DRIFT, J. Breakdown of forest litter in relation to environmental factors. **Plant and Soil**, Vol. 15, N° 4, p. 295-311, 1961.

Capítulo 3: Análise comparativa da sensibilidade de organismos-teste aos agrotóxicos abamectina e difenoconazol.

Resumo

Testes de toxicidade são importantes ferramentas na detecção e quantificação de contaminação ambiental, pois diferentemente das análises químicas permitem a identificação do efeito em sistemas biológicos, gerando valores limiares de poluentes ambientais permissíveis que devem ser seguidos pelos órgãos reguladores nas tomadas de decisão. Dessa forma, a escolha dos organismos-teste é de fundamental importância, uma vez que espécies mais sensíveis representam menores frações potencialmente afetadas do ecossistema, e estas devem ser preferíveis em relação às menos sensíveis. Associado à sensibilidade da espécie, o modo de ação do contaminante, como por exemplo, a ação inseticida da abamectina e a ação fungicida do difenoconazol, deve também ser considerada na definição do organismo-teste. Neste contexto, procurou-se nesta pesquisa avaliar e comparar a sensibilidade de diferentes organismos-teste em relação à abamectina e difenoconazol, indicando os mais sensíveis e apropriados para conservação ambiental. Para tanto, resultados de testes de toxicidade foram compilados de banco de dados e referencial bibliográfico, além das informações obtidas nos testes de toxicidade para cinco espécies, com os mesmos compostos. Pelos resultados obtidos verifica-se que as espécies mais sensíveis a ambos os contaminantes estão entre os cladóceros, principalmente *C. dubia* para a abamectina e a *A. bahia* para difenoconazol, sendo 295 vezes e 2,65 vezes, respectivamente, mais sensíveis do que *D. magna*, espécie amplamente recomendada pelas normas ABNT, ISO e OECD (o mesmo ocorreu para os peixes e as algas). Juntamente a estas espécies, os fungos também foram sensíveis ao contaminante difenoconazol, devido ao modo de ação deste composto, mostrando a relevância em se atentar a esta característica dos poluentes testados. Muitos trabalhos ainda apresentam resultados de testes de toxicidade com peixes, mesmo considerando sua menor sensibilidade para abamectina (PAF: 63%) e difenoconazol (PAF: 67,3%). Em geral as algas foram menos sensíveis que a maioria das demais espécies, representando uma fração potencialmente afetada de até 97,8% do ecossistema. Testes de toxicidade com insetos devem ser mais desenvolvidos, principalmente com abamectina (ação inseticida), bem como se faz necessária a padronização dos mesmos nas normas vigentes. *C. riparius*, apesar de recomendado pelas normas internacionais, não é o mais apropriado para se avaliar os efeitos tóxicos de difenoconazol, sendo que, neste caso específico, a melhor escolha seria a espécie de fungo *F. fulva*.

Palavras-chave: Sensibilidade, organismos-teste, fração potencialmente afetada (PAF), modo de ação (MoA).

1. Introdução

Na Ecotoxicologia aquática, a utilização de organismos em bioensaios ecotoxicológicos é de fundamental importância na avaliação da qualidade das águas, uma vez que permitem a identificação dos compostos que afetam, de fato, os sistemas biológicos, possibilitando a avaliação do potencial de risco ambiental de determinados contaminantes, como aqueles de origem agrícola. Assim, a ecotoxicologia aquática objetiva avaliar a toxicidade de compostos químicos potencialmente contaminadores sobre espécies representativas do ecossistema (COSTA *et al*, 2008; ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

A toxicologia aquática tem seu relato mais antigo entre 384 e 322 a. c., quando Aristóteles teria submetido peixes de água doce à água do mar para observar seus efeitos. Posteriormente, em 1816 há relatos da utilização de insetos aquáticos em testes ecotoxicológicos e somente na década de 30 alguns testes de toxicidade aguda foram realizados com o objetivo de estabelecer a relação causa/efeito na presença de contaminantes químicos e despejos líquidos (RAND, 1995). Com o decorrer das pesquisas, no século XX, as espécies mais sensíveis foram sendo escolhidas como melhores organismos para bioensaios ecotoxicológicos (POMPÊO *et al*, 2015). No Brasil, os bioensaios ecotoxicológicos iniciaram-se principalmente no final dos anos 70, quando foi montado o laboratório da CETESB (Laboratório de Ensaio Biológicos), cujos procedimentos foram inicialmente baseados em metodologias descritas por outros países, como as agências ambientais dos EUA (U.S.EPA - United States Environmental Protection Agency); Canadá (Environment Canada) e França (AFNOR - Association Française de Normalisation).

Alguns dos critérios estabelecidos para se eleger uma espécie como um bom organismo-teste são: que ela seja de fácil cultivo, com custos relativamente baixos de manutenção; maior representatividade ecológica e sensíveis a diferentes concentrações de poluentes, fornecendo ampla faixa de respostas frente a diferentes níveis de contaminação ambiental (WEBER, 1993). Devido às diferenças entre as sensibilidades das espécies, é recomendado que os efeitos tóxicos de uma amostra ambiental ou contaminante sejam avaliados para diferentes espécies da cadeia alimentar (Figura 1) e, quando possível, que testes de toxicidade com decompositores, como rotíferos e bactérias, sejam também incluídos nesta análise. Dessa forma, é possível extrapolar os resultados obtidos para os impactos nos corpos hídricos de maneira mais segura e confiável (COSTA *et al*, 2008).

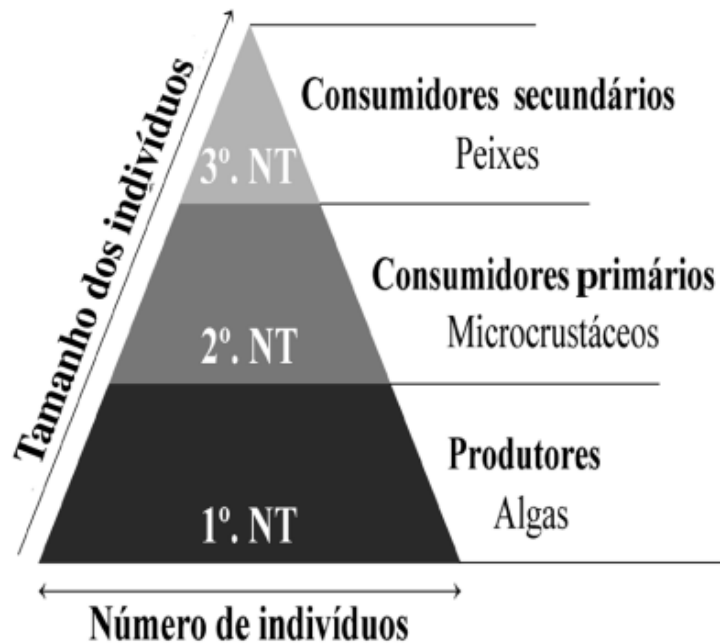


Figura 1: Exemplo de organismos-teste de diferentes faixas tróficas (NT: níveis tróficos), recomendados para serem utilizados em ensaios ecotoxicológicos aquáticos. (Fonte: Costa *et al.*, 2008).

A utilização de espécies que pertencem a cada um destes níveis tróficos nos testes de toxicidade aquática tem sua importância relacionada com o papel desempenhado pelos mesmos nos ecossistemas. As algas, por exemplo, são produtores primários situados na base da cadeia alimentar, e por servirem de alimento a diversas outras espécies (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004), qualquer alteração em sua estrutura (composição e densidade) pode acarretar em profundas modificações nos níveis tróficos superiores. As vantagens na utilização das algas são: rápido ciclo de vida, alta taxa de crescimento e facilidade nos cultivos laboratoriais. Muitas vezes as algas são mais sensíveis quando comparadas a outros organismos-teste, fornecendo melhores resultados (KALLQUIST *et al.*, 2008).

Os crustáceos, por outro lado, também são amplamente distribuídos nos ecossistemas aquáticos e representam papel importante como consumidores primários e como alimento para peixes. Os dafnídeos, principalmente, têm emergido como um grupo chave para testes de toxicidade padronizados (RAND & PETROCELLI, 1985). Segundo ELMOOR-LOUREIRO (1997), *Ceriodaphnia* é o gênero mais representativo dos ecossistemas de água doce no Brasil, porém o cladóceros mais utilizado em testes ecotoxicológicos ainda é *D. magna*, cuja padronização por normas internacionais é mais robusta.

No entanto, outras espécies vêm sendo utilizadas em testes de toxicidade, como a *Artemia salina* para ambientes salinos e a *Daphnia similis* em ambientes de água doce. Os peixes são representantes importantes dos consumidores secundários ou terciários e a espécie

Danio rerio é a mais utilizada no Brasil. A utilização de peixes, como o *Danio rerio*, é recomendada pelo fato destes serem predadores, ocupando posições mais altas na cadeia trófica (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). As vantagens de utilização dos peixes estão relacionadas ao tamanho corporal pequeno, obtenção e manutenção de baixo custo e capacidade de absorção rápida de compostos químicos (COSTA *et al*, 2008). Em relação às bactérias, os testes de toxicidade são mais rápidos e igualmente eficientes na detecção de possíveis efeitos tóxicos, sendo a bactéria marinha bioluminescente *Vibrio fischeri* a mais utilizada.

Outras espécies são importantes na ecotoxicologia aquática e, apesar de terem uso menos frequente, como os insetos aquáticos, plantas aquáticas, fungos e moluscos, também podem constituir bons organismos-teste, o que se relaciona ao fato de que a escolha do organismo-teste depende ainda de outros critérios, como o tipo de contaminante a ser avaliado. No caso dos agrotóxicos, por exemplo, o modo de ação é um fator fundamental na escolha do organismo-teste, uma vez que existem defensivos agrícolas com diferentes funções, como inseticidas, acaricidas, nematicidas, fungicidas, rodenticidas, algicidas, herbicidas, moluscicidas, desfolhantes, dentre outros (GAVRISLECU, 2005). Portanto, conforme o cenário de aplicação destes agrotóxicos estabelece-se o ambiente de risco ao organismo específico. Neste contexto, o organismo-teste recomendável deve ser o mais sensível ao modo de ação do agrotóxico avaliado, permitindo que se garanta uma maior possibilidade de conservação do ecossistema.

Atualmente, algumas normas e protocolos nacionais e internacionais indicam e padronizam a utilização de alguns organismos-teste em bioensaios ecotoxicológicos. No Brasil, o órgão responsável pelo desenvolvimento de protocolos de testes de toxicidade é a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Outras normas importantes, em nível internacional e que também servem de base aos testes desenvolvidos no Brasil, são: *International Organization for Standardization (ISO)* e *Organization for Economic Co-operation and Development (OECD)*. É fortemente recomendado que as metodologias padronizadas pelas normas sejam seguidas devido a uma série de vantagens (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Uma delas é que o grau de confiabilidade nos resultados é maior, permitindo melhor comparação entre os resultados publicados, além da reprodutibilidade dos mesmos (COSTA *et al*, 2008; POMPÊO *et al*, 2015). No entanto, ainda não existem normas para uma variedade de espécies, embora muitas destas possam ser mais recomendadas em função das especificidades do contaminante.

Considerando o exposto, verifica-se que nos estudos ecotoxicológicos diferentes espécies podem ser utilizadas para se avaliar o efeito tóxico de um contaminante, o que permite uma maior avaliação dos riscos ambientais inerentes à exposição das espécies a esse elemento estressor. Desta forma, procurou-se nesta pesquisa avaliar a relevância ecotoxicológica dos organismos-teste recomendados pelas normas vigentes atuais, por meio da comparação entre as diferentes sensibilidades dos organismos-teste, baseando-se em curvas preditivas (SSDs), as quais permitem discussões dos riscos ambientais dos pesticidas abamectina e difenoconazol, em nível ecossistêmico.

2. Material e Métodos

A execução desta etapa da pesquisa seguiu, primeiramente, a realização de testes de toxicidade, com cinco organismos-teste, os quais foram expostos a diferentes concentrações dos contaminantes abamectina e difenoconazol (ingredientes ativos das formulações comerciais Kraft®36EC e Score®250EC, respectivamente). Os procedimentos metodológicos adotados no cultivo e na realização dos testes de toxicidade foram descritos no Capítulo 2.

No sentido de se ampliar a análise dos efeitos tóxicos de ambos os contaminantes, realizou-se um amplo levantamento bibliográfico, sendo que as principais fontes utilizadas foram duas bases de dados quantitativos internacionais e uma base de artigos científicos, utilizada para verificação da veracidade dos dados obtidos e possíveis complementações. Os artigos foram consultados com o auxílio da base de dados Scopus (disponível em <http://www.scopus.br>), que é a maior base de dados de revistas científicas, livros e anais de congressos atualmente, abrigando mais de 57 milhões de revistas e 90 mil livros, reunindo materiais de temas como ciência, tecnologia, medicina, ciências sociais, artes e humanidades. Somente na área de Ecotoxicologia são aproximadamente 12 mil publicações, dentro das subáreas de meio ambiente, agricultura e ciências da terra.

Uma das bases de dados quantitativa utilizada foi a U.S.EPA (*United States Environmental Protection Agency*) ECOTOXicology database, v. 4 (disponível em <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>). Esta base de dados é uma abrangente base de conhecimento à disposição do público, que fornece dados químicos de toxicidade ambiental no meio aquático, para plantas terrestres e animais selvagens.

Outra base de dados utilizada foi a OPP (*Office of Pesticide Programs*) Pesticide Ecotoxicity Database (disponível em: <http://www.ipmcenters.org/ecotox/>), pertencente aos centros regionais Integrated Pest Management (IPM) dos Estados Unidos. Neles estão registrados mais de 800 compostos que inclui os ingredientes ativos, metabólitos e outras

formulações. Atualmente contém mais de 21 mil registros de toxicidades aguda e crônica para plantas aquáticas e terrestres, invertebrados aquáticos e terrestres, insetos, anfíbios, peixes, aves, répteis e mamíferos selvagens, amplamente utilizados em análises de risco.

A pesquisa realizada nas bases de dados foi feita utilizando-se o número de registro CAS (*Chemical Abstracts Service*) dos ingredientes ativos abamectina (71751-41-2) e difenoconazol (119446-68-3). Os dados obtidos foram reunidos, organizados e utilizados na montagem de tabelas e gráficos comparativos, que permitem melhor visualização para discussão. Como as unidades eram diferentes (ppb, ppm, μM , $\mu\text{g/L}$ e $\mu\text{g/ml}$), optou-se pela padronização das mesmas em $\mu\text{g/L}$. Somente os dados referentes aos organismos aquáticos foram utilizados, desconsiderando os resultados dos testes de toxicidade com aves, plantas terrestres ou insetos adultos.. Para a elaboração das figuras (gráficos) utilizou-se somente os valores de CE_{50} e LC_{50} , excluindo-se os valores repetidos bem como os *outliers*.

Nos testes de toxicidade as concentrações efetivas para 50% da população (CE_{50}) e o intervalo de 95% foram obtidos com o auxílio do software PriProbit versão 1.63 (SAKUMA, 1998). Os valores de CE_{50} correspondem a média dos testes de toxicidade com produtos formulados e ingredientes ativos, expressos em $\mu\text{g/L}$ de ingrediente ativo. Estes dados, juntamente com os obtidos da literatura, foram utilizados na elaboração de curvas SSD (*Specie Sensitivity Distribution*), no programa ETX 2.0 (VAN VLAARDINGEN *et al.*, 2004), possibilitando melhor visualização comparativa da sensibilidade de cada espécie e do ecossistema como um todo. Por este *software* também foram calculadas as HC_5 (*Harzadous Concentration* ou concentração perigosa para 5% das espécies) e seus limites inferior e superior. Após avaliar a qualidade da distribuição dos dados pelo teste Anderson-Darling ($p < 0.01$), o programa aceita ou rejeita os dados inseridos. Apenas os dados que foram aceitos no referido teste foram utilizados para a construção das curvas SSD. Todos os gráficos apresentados, incluindo os da PAF (em português, Fração Potencialmente Afetada), foram elaborados com o auxílio da planilha Excel - 2010.

3. Resultados

A base de dados U.S. EPA forneceu mais resultados que a da OPP, no entanto a da OPP mostrou-se mais confiável quanto às fontes e datas das pesquisas, proporcionando melhores informações para busca e conferência na literatura. Muitos dos resultados, principalmente os fornecidos pela U.S. EPA, não foram encontrados devido a falta de informação, uma vez que esta base de dados, muitas vezes, apenas menciona a si própria como fonte.

Foram analisados 235 dados entre EC₁₀; CE₅₀; LC50; NOEC; NOEL e LOEC de organismos expostos aos contaminantes abamectina e difenoconazol, cuja filtragem gerou um total de 142 resultados relacionados a 26 autores (Tabelas 1 e 2). Dentre os trabalhos com abamectina, aproximadamente 48% utilizaram os crustáceos como organismos-teste e 31% utilizaram os peixes, sendo estes os dois organismos mais utilizados em bioensaios com este ingrediente ativo. Rotíferos, plantas aquáticas e bactérias foram os menos utilizados. Em relação ao difenoconazol, a maioria das pesquisas envolveu teste de toxicidade com fungos (30%), além de peixes (27%) e crustáceos (19%), como apresentado na Figura 2.

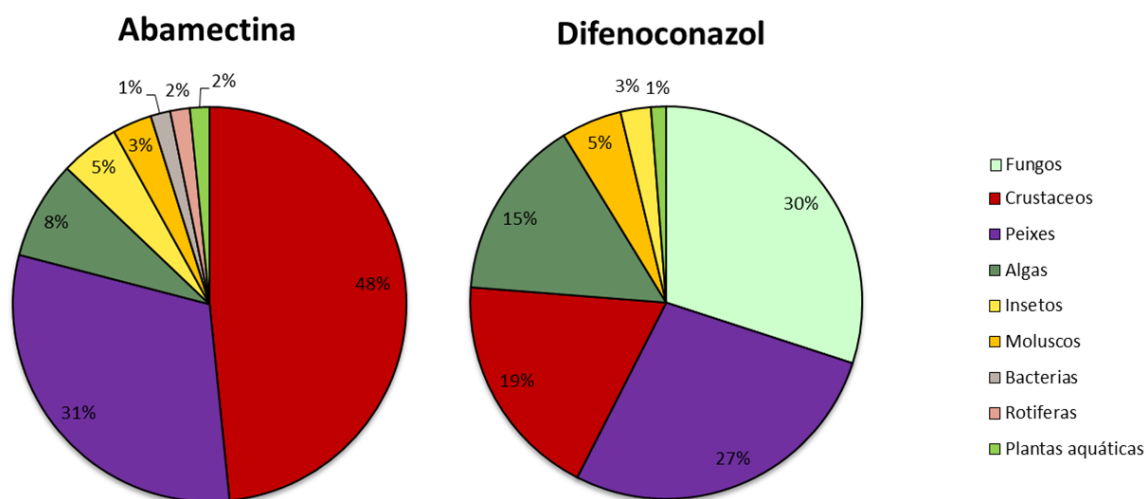


Figura 2: Representação gráfica dos dados obtidos por organismo-teste, considerando os ingredientes ativos abamectina e difenoconazol (base de dados da USEPA, OPP e Scopus), no período de 13 de julho a 10 de agosto de 2015.

Tabela 1: Valores de toxicidade da abamectina para algas, crustáceos, insetos, peixes, plantas aquáticas, moluscos, bactérias e rotíferos, encontrados em bases de dados *online* e em artigos científicos.

Abamectina/Avermectin							
Organismo-teste	endpoint	Toxicidade	Min.	Máx.	Autores	Ano	BD
Algas							
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EC50	7309,6	NR	NR	Ma,J., R. Zheng, L. Xu, and S. Wang	2002	U.S.EPA
<i>Scenedesmus acutus var. acutus</i>	EC50	9.888	NR	NR	Ma,J., R. Zheng, L. Xu, and S. Wang	2002	U.S.EPA
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	EC50	100000	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEL	48000	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Selenastrum capricornutum</i>	EC50	100000	NR	NR	S. Hopkins	1981	OPP
Crustáceos							
<i>Daphnia similis</i>	EC50	0,051	0,0198	0,1218	Novelli,A., B.H. Vieira, D. Cordeiro, L.T.D. Cappelini, E.M. Vieira, and E.L.G. Espindola	2012	U.S.EPA
<i>Daphnia magna</i>	NOEL	0,31	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Daphnia magna</i>	NOEL	0,035	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Daphnia magna</i>	NOEC	0,0047	NR	NR	Tišler & Eržen	2006	Scopus
<i>Daphnia magna</i>	NOEC	0,03	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Daphnia magna</i>	NOEC	0,0000003	NR	NR	C. Lopes, S. Charles, B. Vولات & J. Garric	2010	Scopus
<i>Daphnia magna</i>	LOEC	0,093	NR	NR	D. Rieder	1984 - 1986	OPP
<i>Daphnia magna</i>	LOEC	0,000001	NR	NR	C. Lopes, S. Charles, B. Vولات & J. Garric	2010	Scopus
<i>Daphnia magna</i>	EC50	0,34	0,28	0,41	M. Gessner	1981	OPP
<i>Daphnia magna</i>	EC50	0,25	0,21	0,3	Tišler & Eržen	2006	Scopus
<i>Daphnia magna</i>	EC50	25,5	18	32	D. Rieder	1985 - 1986	OPP
<i>Daphnia magna</i>	EC50	6,28	2,5	16	D. Rieder	1985	OPP
<i>Daphnia magna</i>	EC50	21	10,3	56	D. Rieder	1985	OPP
<i>Daphnia magna</i>	EC50	66,4	30,9	260	D. Rieder	1985	OPP
<i>Daphnia magna</i>	EC50	25,3	17,2	41,2	D. Rieder	1985	OPP
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	NOEC	0,000001	NR	NR	C. Lopes, S. Charles, B. Vولات & J. Garric	2010	Scopus
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	LOEC	0,00001	NR	NR	C. Lopes, S. Charles, B. Vولات & J. Garric	2010	Scopus
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	EC50	0,001	NR	NR	C. Lopes, S. Charles, B. Vولات & J. Garric	2010	Scopus
<i>Americamysis bahia</i>	NOEL	0,0077	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Americamysis bahia</i>	NOEL	0,1	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Americamysis bahia</i>	LOEC	0,0093	NR	NR	D. Rieder	1988 - 1989	OPP
<i>Americamysis bahia</i>	LC50	0,21	0,1	0,32	D. Rieder	1985 - 1986	OPP
<i>Americamysis bahia</i>	LC50	0,022	0,019	0,024	D. Rieder	1988 - 1989	OPP
<i>Americamysis bahia</i>	LC50	0,02	0,015	0,027	D. Rieder	1988 - 1989	OPP
<i>Mysidopsis bahia</i>	LOEC	0,0093	NR	NR	D. Rieder	1991 - 1989	OPP
<i>Mysidopsis bahia</i>	EC50	0,022	0,019	0,024	D. Rieder	1988 - 1989	OPP
<i>Mysidopsis bahia</i>	EC50	0,21	0,1	0,32	D. Rieder	1985 - 1986	OPP
<i>Mysidopsis bahia</i>	EC50	0,02	0,015	0,027	D. Rieder	1990 - 1989	OPP
<i>Callinectes sapidus</i>	LC50	153	119	251	J. Bascietto	1983 - 1984	OPP
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	EC50	760	NR	NR	G. Nałęcz-Jawecki; L. Szcześny; D. Solecka; J. Sawicki	2012	Scopus

Insetos							
<i>Chironomus tepperi</i>	LC50	10,4	8,91	12,1	M. M. Stevens, S. Helliwell, P. A. Hughes	2005	Scopus
<i>Chironomus tepperi</i>	LC50	5,66	5	6,4	M. M. Stevens, S. Helliwell, P. A. Hughes	2005	Scopus
<i>Chironomus xanthus</i>	LC50	2,67	0,5	4,84	Novelli,A., B.H. Vieira, D. Cordeiro, L.T.D. Cappelini, E.M. Vieira, and E.L.G. Espindola	2012	U.S.EPA
Peixes							
<i>Danio rerio</i>	EC10	2,36	NR	NR	Padilla,S., D. Corum, B. Padnos, D.L. Hunter, A. Beam, K.A. Houck, N. Sipes, N. Kleinstreuer, T. Knudsen, D.J. Dix, and	2012	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	EC50	15,1	NR	NR	Padilla,S., D. Corum, B. Padnos, D.L. Hunter, A. Beam, K.A. Houck, N. Sipes, N. Kleinstreuer, T. Knudsen, D.J. Dix, and	2012	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	LC50	33	29,17	36,77	Novelli,A., B.H. Vieira, D. Cordeiro, L.T.D. Cappelini, E.M. Vieira, and E.L.G. Espindola	2012	U.S.EPA
<i>D. rerio</i>	LC50	55,1	46,1	66,7	Tišler & Eržen	2006	Scopus
<i>Cyprinodon variegatus</i>	NOEL	7,8	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Cyprinodon variegatus</i>	LC50	15	11,2	20	D. Rieder	1985 - 1986	OPP
<i>Ictalurus punctatus</i>	NOEL	10	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Ictalurus punctatus</i>	LC50	24	18	32	D. Rieder	1985 - 1986	OPP
<i>Lepomis macrochirus</i>	NOEL	5,8	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC50	9,6	5,8	16	M. Gessner	1981	OPP
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEL	2,2	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LOEC	0,96	NR	NR	EEB Review	1993	OPP
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC50	3,6	2,2	6	M. Gessner	1981	OPP
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LD50	3,4	NR	NR	Vlasta Jenčič	2006	Scopus
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	LC50	540	NR	NR	Li,C.J., Y. Luo, J.W. Yang, L. Chen, and Q.F. Jiang	2011	U.S.EPA
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	LC50	490	NR	NR	Li,C.J., Y. Luo, J.W. Yang, L. Chen, and Q.F. Jiang	2011	U.S.EPA
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	LC50	170	NR	NR	Li,C.J., Y. Luo, J.W. Yang, L. Chen, and Q.F. Jiang	2011	U.S.EPA
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	LC50	100	NR	NR	Li,C.J., Y. Luo, J.W. Yang, L. Chen, and Q.F. Jiang	2011	U.S.EPA
<i>Cyprinus carpio</i>	LC50	42	32	56	D. Rieder	1985 - 1986	OPP
Plantas Aquáticas							
<i>Lemna gibba</i>	EC50	3900	2300	6500	S. Hopkins	1981	OPP
Moluscos							
<i>Crassostrea virginica</i>	NOEL	50	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Crassostrea virginica</i>	EC50	430	280	580	J. Bascietto	1983 - 1984	OPP
Bactéria							
<i>Vibrio fischeri</i>	EC50	690	610	770	Tišler & Eržen	2006	Scopus
Rotifera							
<i>Brachionus calyciflorus</i>	LC50	2380	NR	NR	G. Nałęcz-Jawecki; L. Szczesny; D. Solecka; J. Sawicki	2012	Scopus

Tabela 2: Valores de toxicidade do difenoconazol para algas, crustáceos, insetos, peixes, plantas aquáticas, moluscos e fungos encontrados em bases de dados online e em artigos científicos.

Difenoconazol								
Organismo-teste	endpoint	Toxicidade	Min.	Máx.	Autores	Ano	BD	
Algas								
<i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50	1196	1086	1306	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50	1338	1318	1358	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50	1323	1343	1303	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50	2476	2436	2516	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50	1587	1517	1657	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEC	100	NR	NR	M. K, Durjava, B.Kolar,L. Arnus,E.Papa,S.Kovarich,U.Sahlin &W.Peijnenburg	2013	Scopus	
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEL	150	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	EC50	1440	1190	1510	M. K, Durjava, B.Kolar,L. Arnus,E.Papa,S.Kovarich,U.Sahlin &W.Peijnenburg	2013	Scopus	
<i>Navicula pelliculosa</i>	NOEL	53	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Navicula pelliculosa</i>	EC50	98	68	140	H. Galavotti	2006 - 2007	OPP	
<i>Skeletonema costatum</i>	NOEL	6.3	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Skeletonema costatum</i>	EC50	430	300	630	H. Galavotti	2006 - 2007	OPP	
Crustáceos								
<i>Daphnia magna</i>	NOEC	5	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Daphnia magna</i>	NOEL	520	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Daphnia magna</i>	LOEC	13	NR	NR	N. Mastrota	1988 - 1993	OPP	
<i>Daphnia magna</i>	EC50	770	590	950	N. Mastrota	1986 - 1993	OPP	
<i>Daphnia magna</i>	LC50	298	178	418	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Daphnia magna</i>	LC50	253	223	283	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Daphnia magna</i>	LC50	106	86	126	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Daphnia magna</i>	LC50	719	679	759	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Daphnia magna</i>	LC50	243	223	266	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA	
<i>Americamysis bahia</i>	NOEL	48	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Americamysis bahia</i>	LOEC	310	NR	NR	A. Ullagaddi	2009 - 2010	OPP	
<i>Americamysis bahia</i>	LOEC	115	NR	NR	H. Galavotti	2006 - 2007	OPP	
<i>Americamysis bahia</i>	LOEC	10	NR	NR	M. Lowitt	2011 - 2014	OPP	
<i>Americamysis bahia</i>	LOEC	260	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA	
<i>Americamysis bahia</i>	LC50	150	110	220	N. Mastrota	1990 - 1993	OPP	

Insetos							
<i>Chironomus riparius</i>	NOEL	5000	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Chironomus riparius</i>	EC50	50.000	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
Peixes							
<i>Danio rerio (embrião)</i>	EC50	2340	2270	2400	Mu,X., S. Pang, X. Sun, J. Gao, J. Chen, X. Chen, X. Li, and C. Wang	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio (larva)</i>	EC50	1170	1050	1370	Mu,X., S. Pang, X. Sun, J. Gao, J. Chen, X. Chen, X. Li, and C. Wang	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio(adulto)</i>	EC50	1450	1380	1530	Mu,X., S. Pang, X. Sun, J. Gao, J. Chen, X. Chen, X. Li, and C. Wang	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	LC50	1406	1366	1446	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	LC50	1329	1309	1349	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	LC50	616	606	626	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	LC50	1120	1090	1150	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA
<i>Danio rerio</i>	LC50	1641	1611	1671	Dong,F., J. Li, B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	U.S.EPA
<i>Cyprinodon variegatus</i>	NOEL	325	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Cyprinodon variegatus</i>	NOEL	270	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Cyprinodon variegatus</i>	LC50	1100	900	1550	N. Mastrota	1993	OPP
<i>Cyprinodon variegatus</i>	LC50	890	698	NR	N. Mastrota	1988 - 1994	OPP
<i>Lepomis macrochirus</i>	NOEL	520	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEL	580	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEL	350	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC50	1060	980	1140	N. Mastrota	1990-1993	OPP
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC50	810	630	1200	N. Mastrota	1987 - 1993	OPP
<i>Pimephales promelas</i>	NOEC	8	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Pimephales promelas</i>	NOEL	660	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Pimephales promelas</i>	LOEC	19	NR	NR	N. Mastrota	1990-1993	OPP
<i>Pimephales promelas</i>	LOEC	3,7	NR	NR	H. Zhong	2009 - 2011	OPP
<i>Pimephales promelas</i>	LC50	1.800	1300	2600	H. Zhong	2011	OPP
Plantas Aquáticas							
<i>Lemna gibba</i>	EC50	1.900	1600	2400	H. Galavotti	2006 - 2007	OPP
Moluscos							
<i>Crassostrea virginica</i>	NOEL	210	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Crassostrea virginica</i>	NOEL	180	NR	NR	U.S. Environmental Protection Agency	1992	U.S.EPA
<i>Crassostrea virginica</i>	EC50	424	330	530	N. Mastrota	1993	OPP
<i>Crassostrea virginica</i>	EC50	300	NR	NR	N. Mastrota	1990 - 1993	OPP

Fungos									
<i>Microdochium nivale</i>	EC50	360	NR	NR	N.C.Glynn, M.C.Hare & S.G. Edwards	2008	Scopus		
<i>Microdochium nivale</i>	EC50	580	NR	NR	N.C.Glynn, M.C.Hare & S.G. Edwards	2008	Scopus		
<i>Microdochium majus</i>	EC50	290	NR	NR	N.C.Glynn, M.C.Hare & S.G. Edwards	2008	Scopus		
<i>Microdochium majus</i>	EC50	600	NR	NR	N.C.Glynn, M.C.Hare & S.G. Edwards	2008	Scopus		
<i>Aqtermaria sonali</i>	EC50	131	11	251	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Aqtermaria sonali</i>	EC50	112	22	202	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Aqtermaria sonali</i>	EC50	417	287	547	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Aqtermaria sonali</i>	EC50	208	98	318	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Aqtermaria sonali</i>	EC50	84	14	154	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Filvia Fulva</i>	EC50	69	NR	189	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Filvia Fulva</i>	EC50	68	8	128	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Filvia Fulva</i>	EC50	678	548	808	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Filvia Fulva</i>	EC50	88	NR	238	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Filvia Fulva</i>	EC50	39	NR	219	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Botrytis cinerea</i>	EC50	297	177	397	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Botrytis cinerea</i>	EC50	283	103	463	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Botrytis cinerea</i>	EC50	3286	3166	3406	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Botrytis cinerea</i>	EC50	668	528	808	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Botrytis cinerea</i>	EC50	135	85	185	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Rhizoctonia solani</i>	EC50	252	152	352	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Rhizoctonia solani</i>	EC50	176	106	246	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Rhizoctonia solani</i>	EC50	1978	1918	2038	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Rhizoctonia solani</i>	EC50	525	415	635	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		
<i>Rhizoctonia solani</i>	EC50	102	NR	262	Dong,F., J. Li B. Chankvetadze, Y. Cheng, J. Xu, X. Liu, Y. Li, X. Chen, C. Bertucci, D. Tedesco, R. Zanasi, and Y. Zhe	2013	Scopus		

Quanto à sensibilidade das espécies frente à exposição aos compostos, as curvas SSDs foram construídas utilizando-se os valores médios de cada uma (Figura 3), sendo representados em fotos apenas a espécie mais sensível de cada grupo (fungos, crustáceos, peixes, algas, insetos, moluscos, bactérias, rotíferos e plantas aquáticas). A lista com as médias das CEs para cada espécie, bem como as frações potencialmente afetadas (PAF) para cada uma das concentrações referentes aos organismos-teste, constam nas Tabelas 3 e 4.

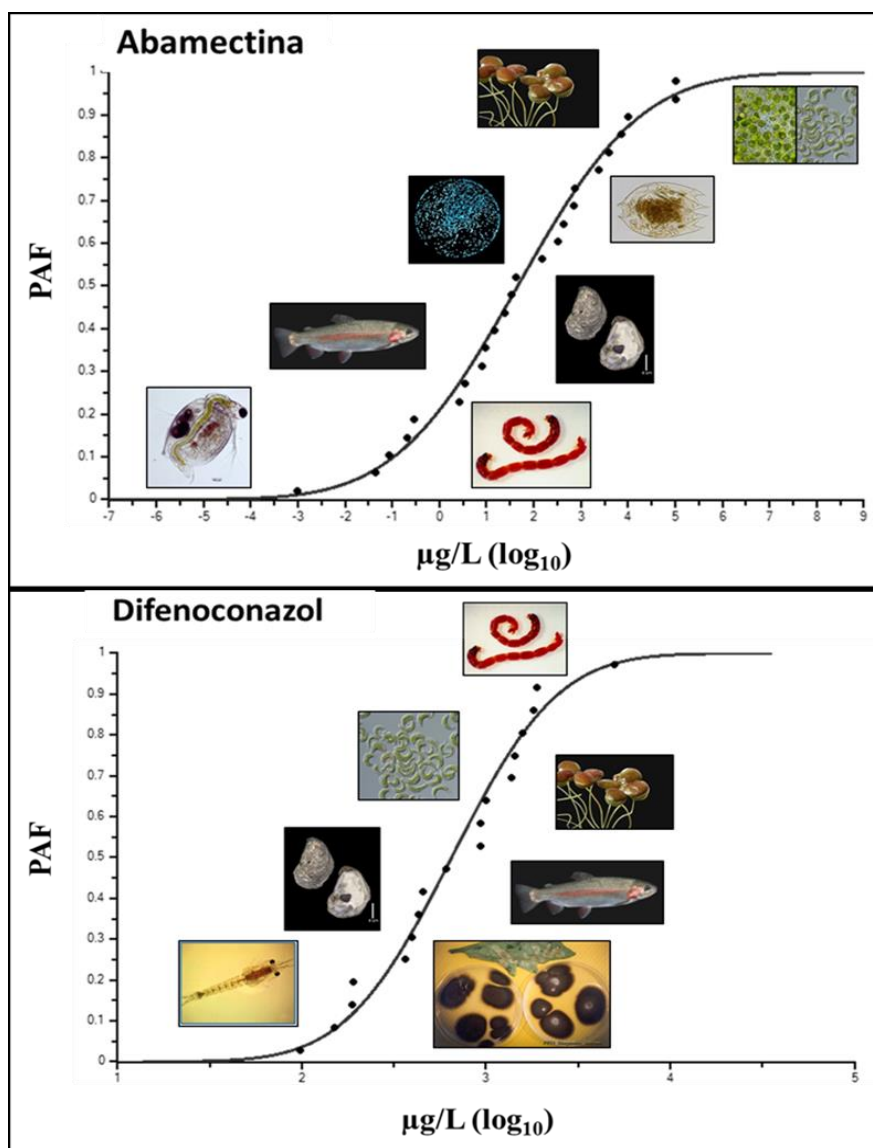


Figura 3: Curva de distribuição sensível das espécies (SSD) obtida pelos valores médios das CEs de cada espécie da base de dados (nas figuras representadas por pontos) de cada um dos contaminantes. As fotos representam as espécies mais sensíveis de cada grupo, a cada um dos contaminantes, sendo estes: abamectina – *C. dubia*; *C. sancticaroli/xanthus*; *O. mykiss*; *C. virginica*; *V. fischeri*; *B. calyciflorus*; *L. gibba* e *S. capricornutum* e *P. subcapitata*. E difenoconazol – *A. bahia*; *F. fulva*; *C. virginica*; *O. mykiss*; *P. subcapitata*; *L. gibba* e *C. sancticaroli/xanthus*.

Tabela 3: Valores médios da CEs (em µg/L) e PAF (em %), apresentados em ordem decrescente, relacionados a sensibilidade mediante exposição a abamectina .

Abamectina		
Espécies	Média CEs (µg/L)	PAF
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,001	2,2%
<i>Americamysis bahia</i>	0,084	6,5%
<i>Daphnia similis</i>	0,213667	10,9%
<i>Daphnia magna</i>	0,295	15,2%
<i>Chironomus xanthus</i>	2,67	19,6%
<i>Chironomus tepperi</i>	8,03	23,9%
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3,5	28,3%
<i>Lepomis macrochirus</i>	9,6	32,6%
<i>Cyprinodon variegatus</i>	15	37,0%
<i>Ictalurus punctatus</i>	24	41,3%
<i>Danio rerio</i>	34,4	45,7%
<i>Cyprinus carpio</i>	42	50,0%
<i>Callinectes sapidus</i>	153	54,3%
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	325	58,7%
<i>Crassostrea virginica</i>	430	63,0%
<i>Vibrio fischeri</i>	690	67,4%
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	760	71,7%
<i>Brachionus calyciflorus</i>	2380	76,1%
<i>Lemna gibba</i>	3900	80,4%
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	7309,6	84,8%
<i>Scenedesmus acutus var. acutus</i>	9888,2	89,1%
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	100000	93,5%
<i>Selenastrum capricornutum</i>	100000	97,8%

Tabela 4: Valores médios da CEs (em $\mu\text{g/L}$) e PAF (em %), apresentados em ordem decrescente, relacionados a sensibilidade mediante exposição ao difenoconazol.

Difenoconazol		
Espécies	Média CEs ($\mu\text{g/L}$)	PAF
<i>Americamysis bahia</i>	150	2,9%
<i>Filvia Fulva</i>	188,4	8,8%
<i>Aqlternaria sonali</i>	190,4	14,7%
<i>Crassostrea virginica</i>	362	20,6%
<i>Daphnia magna</i>	398,167	26,5%
<i>Skeletonema costatum</i>	430	32,4%
<i>Microdochium nivale</i>	457,5	38,2%
<i>Rhizoctonia solani</i>	606,6	44,1%
<i>Botrytis cinerea</i>	933,8	50,0%
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	935	55,9%
<i>Cyprinodon variegatus</i>	995	61,8%
<i>Danio rerio</i>	1384	67,6%
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	1440	73,5%
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1584	79,4%
<i>Pimephales promelas</i>	1800	85,3%
<i>Lemna gibba</i>	1900	91,2%
<i>Chironomus riparius</i>	5000	97,1%

Observa-se que para a abamectina, o organismo- teste mais sensível foi o cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, com média de $0,001\mu\text{g/L}$ entre as CEs, enquanto o menos sensível foi a alga *Selenastrum capricornutum*, com média entre as CEs de $100.000\mu\text{g/L}$ (ou 100mg/L). Em nível ecossistêmico, a preservação deste crustáceo, frente à contaminação por abamectina, representa uma fração de 2,2% do ecossistema que seria afetada, enquanto a conservação somente da microalga representaria danos a 97,8% do ecossistema. A concentração segura para 95% da população (HC_5) foi calculada em $0,017\mu\text{g/L}$ de abamectina, com limites inferior e superior iguais a $0,00084$ e $0,1507\mu\text{g/L}$, respectivamente. Referente aos grupos, a ordem decrescente de sensibilidade dos organismos-teste à abamectina foi: crustáceos > insetos > peixes > moluscos > bactérias > rotíferos > plantas aquáticas > algas.

Para o difenoconazol esta divisão por grupos não ficou tão evidente, visto que as algas ocuparam posições diferentes na análise de sensibilidade das espécies. Porém, nota-se que os organismos-teste mais sensíveis ao contaminante foram o cladóceros *Americamysis bahia* e o fungo *Filvia fulva*, com média das CEs igual a $150\mu\text{g/L}$ e $188,4\mu\text{g/L}$ respectivamente, enquanto o menos sensível foi o inseto aquático *Chironomus riparius*, com média das CEs igual a $5.000\mu\text{g/L}$ (ou 5mg/L). Em nível ecossistêmico, a preservação do

crustáceo e do fungo supracitados, frente à contaminação por difenoconazol, representa frações de 2,9% e 8,8% do ecossistema que seria afetada enquanto a conservação somente do inseto aquático representaria danos a 97,1% do ecossistema. A concentração segura para 95% da população (HC_5) foi calculada em 113,57 μ g/L de difenoconazol, com limites inferior e superior iguais a 50,47 e 145,96 μ g/L, respectivamente. Referente aos grupos, a ordem decrescente de sensibilidade dos organismos-teste ao difenoconazol foi: crustáceos \approx fungos > insetos > moluscos > peixes > algas > plantas aquáticas > insetos.

Quanto aos testes de toxicidade realizados nesta pesquisa, a média das CEs dos ingredientes ativos abamectina e difenoconazol, obtidas para os cinco organismos-teste utilizados, bem como as frações potencialmente afetadas (PAF) calculadas, estão descritas na Tabela 5, enquanto que as SSDs, construídas com estes valores, estão representadas na Figura 4.

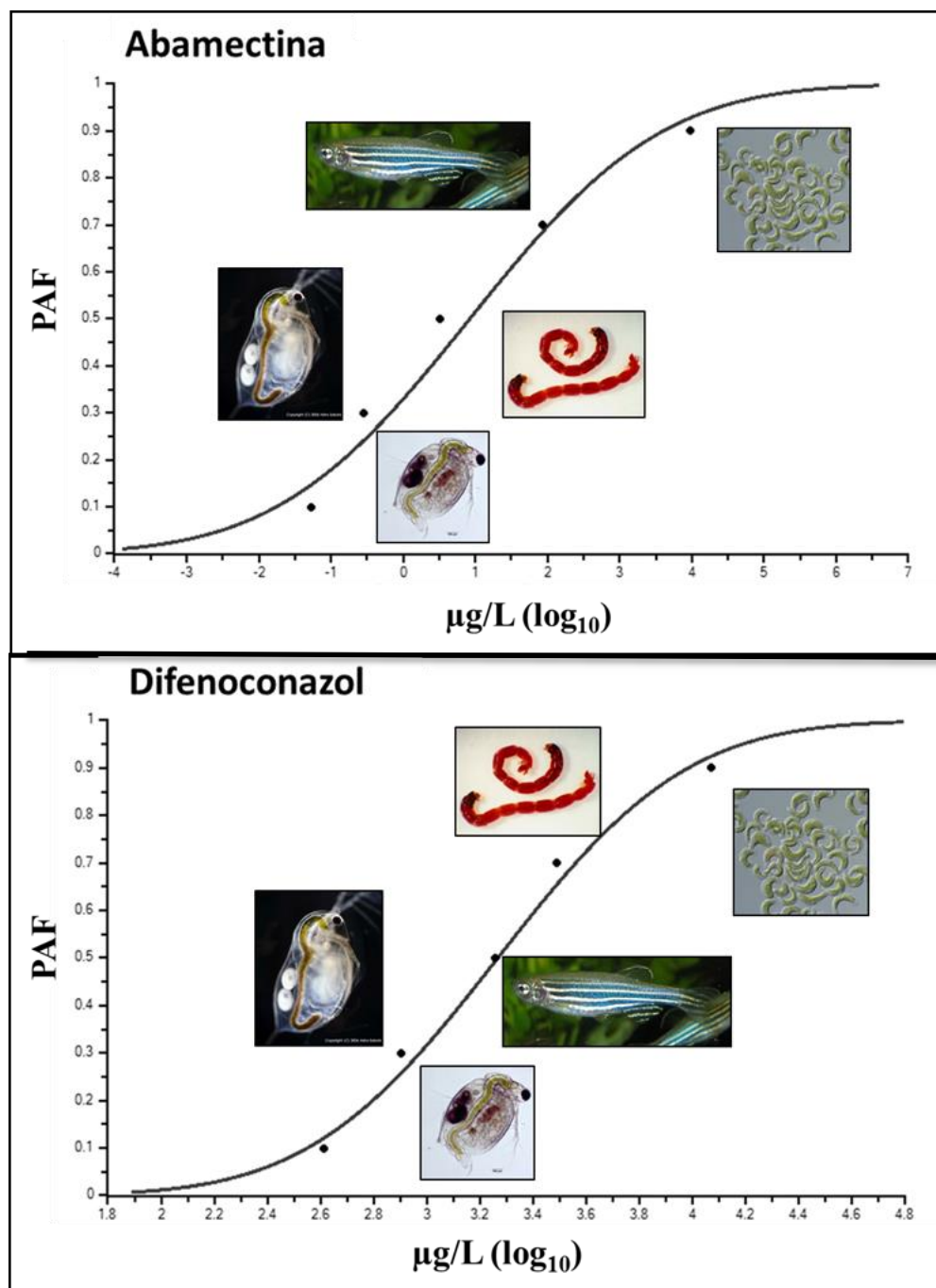


Figura 4: Curva de distribuição sensível das espécies (SSD), obtida com base nos valores médios das CEs de cada espécie, obtidas nos testes de toxicidade para abamectina e difenoconazol. As fotos representam a distribuição das espécies *C. dubia*; *D. similis*; *C. sancticaroli*; *D. rerio* e *P. subcapitata*) para abamectina e difenoconazol .

Tabela 5: Lista de espécies, em ordem decrescente de sensibilidade, com as respectivas CEs, obtidas em testes laboratoriais, médias das CEs e as frações potencialmente afetadas (PAFs) referente a cada organismo-teste.

Espécies	Abamectina			Espécies	Difenoconazol		
	CEs	Médias CEs	PAF		CEs	Médias CEs	PAF
<i>C. dubia</i>	0,0670	0,054	10%	<i>C. dubia</i>	486,296	411,5885	10%
<i>C. dubia</i>	0,0403			<i>C. dubia</i>	336,881		
<i>D. similis</i>	0,5619	0,282	30%	<i>D. similis</i>	689,031	800,002	30%
<i>D. similis</i>	0,0030			<i>D. similis</i>	910,973		
<i>C. sancticaroli</i>	3,905	3,287	50%	<i>D. rerio</i>	1527,38	1803,42	50%
<i>C. sancticaroli</i>	2,67			<i>D. rerio</i>	2079,46		
<i>D. rerio</i>	81,154	86,345	70%	<i>C. sancticaroli</i>	1523,3	3090,705	70%
<i>D. rerio</i>	91,536			<i>C. sancticaroli</i>	4658,11		
<i>P. subcapitata</i>	2147,008	9443,504	90%	<i>P. subcapitata</i>	20796,2	11698,35	90%
<i>P. subcapitata</i>	16740			<i>P. subcapitata</i>	2600,5		

Nota-se que para a abamectina a sequência decrescente de sensibilidade e as médias das CEs (em $\mu\text{g/L}$) obtidas foram: *C. dubia* (0,054) > *D. similis* (0,282) > *C. sancticaroli* (3,287) > *D. rerio* (86,345) > *P. subcapitata* (9443,5). A PAF revela que a conservação do ecossistema é maior (90%) quando a população do crustáceo *C. dubia* é preservada, enquanto uma degradação de 90% ocorre quando a espécie escolhida para preservação é somente a micro-alga *P. subcapitata*. Neste caso a escolha da população de *C. sancticaroli* para conservação acarretaria em danos em 50% do ecossistema enquanto a escolha da população de *D. rerio* traria danos a 70% do ecossistema aquático

Quanto ao difenoconazol, embora o cladocero *D. similis* tenha permanecido como organismos mais sensível e a micro-alga *P. subcapitata* como o menos sensível, há uma inversão na ordem de sensibilidade entre o peixe *D. rerio* e o inseto aquático *C. sancticaroli*. Dessa forma, a sequência decrescente de sensibilidade e as médias das CEs (em $\mu\text{g/L}$) obtidas foram: *C. dubia* (411,588) > *D. similis* (800,002) > *D. rerio* (1803,42) > *C. sancticaroli* (3090,705) > *P. subcapitata* (11698,35). Neste caso a escolha da população de *D. rerio* para conservação acarretaria em danos em 50% do ecossistema enquanto a escolha da população de *C. sancticaroli* traria danos a 70% do ecossistema aquático

A concentração segura para 95% da população (HC_5) foi de $0,001591\mu\text{g/L}$ de abamectina, com limites inferior e superior de $1,33 \cdot 10^{-8}\mu\text{g/L}$ e $1,62 \cdot 10^{-1}\mu\text{g/L}$, respectivamente. Para difenoconazol, a concentração segura para 95% da população (HC_5) foi de $186,96\mu\text{g/L}$, com limites inferior e superior iguais a $8,26\mu\text{g/L}$ e $644,5\mu\text{g/L}$, respectivamente.

4. Discussão

A utilização de agrotóxicos na agricultura atual tem sido cada vez mais intensificada, implicando em efeitos a curto, médio e longo prazo nos ecossistemas, o que faz com que as pesquisas relacionadas aos efeitos destes defensivos agrícolas a organismos não-alvo se tornem necessários, com vistas a manutenção das funções e serviços ecossistêmicos. Entre os diversos agrotóxicos utilizados, tem-se a abamectina, que é um inseticida/acaricida/nematicida que surgiu para controle parasitário na medicina veterinária e que hoje atrai produtores devido a sua amplitude de efeitos. Além deste, menciona-se o difenoconazol, que é um fungicida de amplo espectro utilizado no controle de doenças fungicas de plantações de frutas, cereais, vegetais, dentre outras. Devido à sua utilidade nas produções agrícolas, estes compostos podem, não raramente, ser encontrados dispersos pelo ambiente, exercendo papel de contaminante ambiental.

O ambiente aquático é um dos compartimentos destino destes agrotóxicos. Em estudo com sedimentos na região do Central Valley na Califórnia, Weston *et al* (2013) detectaram nove pesticidas hidrofóbicos no local, sendo que, dentre estes, três estavam em concentrações consideradas preocupantes, e um deles era a abamectina. Na China, este contaminante também foi detectado em 88% dos pontos de coleta amostrados, com concentração média de 9,1µg/kg, causando a morte de 100% do inseto aquático *C. dilutus* testados com a amostra ambiental. Este estudo identificou a abamectina como a maior causa de contaminação de sedimentos de rios urbanos chineses (LI *et al*, 2013).

Em relação às pesquisas com difenoconazol, os resultados obtidos revelam que este pode ser encontrado também em alimentos, como em feijões verdes do Marrocos (BAZZI *et al*, 2013) e na poupa e cascas do maracujá, como relatado por Juraske *et al* (2012). No primeiro estudo foram encontrados de 14 a 52µg/kg de difenoconazol em feijões verdes, excedendo-se a concentração máxima permitida na Europa de 20µg/kg deste composto na fruta, enquanto no segundo 10µg/kg foram detectados na casca e 3µg/kg de difenoconazol na poupa da fruta.

Seja no ambiente aquático ou nas plantações, a presença destes contaminantes é relevante do ponto de vista da preservação ambiental e deve ser avaliada quanto a seus efeitos a organismos não-alvo. Na ecotoxicologia a toxicidade de agentes químicos no ambiente pode ser medida por meio de bioensaios laboratoriais uni-específicos com organismos representativos dos compartimentos ambientais. Por exemplo, contaminantes do meio hídrico são avaliados com a utilização de organismos representativos da coluna d'água

ou do sedimento de ambientes de água doce, estuarina ou marinha (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Este tipo de teste ecotoxicológico é importante na análise dos efeitos ecológicos das contaminações, permitindo que as conclusões obtidas não sejam apenas baseadas nas análises físico-químicas e sim no real efeito aos organismos na presença do agente estressor.

Neste sentido, os autores Lasota & Dybas (1990), em artigo de revisão publicado sobre o uso de abamectina como pesticida na agricultura, podem ter sido precipitados quando, por meio de análises químicas, afirmaram que a abamectina é considerada segura ao meio ambiente e à saúde humana. Por ser pouco lixiviável, possuir baixa solubilidade em água e alta retenção no solo, os autores afirmaram que a abamectina não atingiria o ambiente aquático e que esta não apresenta toxicidade a organismos não-alvo por ser instável na luz e degradável por microorganismos. Assim, a abamectina, segundo os autores, deixa pouco resíduo na agricultura (cerca de 0,025PPM ou seja, 25µg/L) e, portanto, é considerada segura e não oferece risco a saúde humana nem ao meio ambiente.

Ainda que as análises químicas estejam corretas e a abamectina seja, realmente, pouco lixiviável e com alta degradabilidade, isso não exclui o fato do composto atingir os corpos d'água por meio de outras rotas, como o *spray drift* em áreas próximas a leitos de riachos, por exemplo. Ademais, tal concentração citada pelo autor como “baixo resíduo” já é considerada alta tendo em vista a sensibilidade de alguns organismos aquáticos como, por exemplo, é o caso de todos os crustáceos e insetos aquáticos citados na base de dados avaliada nesta pesquisa, e até mesmo em alguns peixes, como *O. mykiss*, *L. macrochirus*, *C. variegatus* e *I. punctatus*. Além disso, esta concentração é 1.470,5 vezes mais alta que a considerada segura a 95% da comunidade (HC₅), calculado pela SSD da base de dados, ou 15.713 vezes mais alta que a considerada segura a 95% da comunidade (HC₅), calculado pela SSD com os organismos-teste avaliados nesta pesquisa.

Desta forma, não só os bioensaios são relevantes como também a escolha de organismos que representam o compartimento estudado é de suma importância para melhor representatividade do impacto gerado pelos contaminantes. Afinal, segundo Rand & Petrocelli (1985), a escolha de organismos-teste, dentre outros critérios, deve considerar a sensibilidade aos contaminantes testados. Alguns organismos são mais sensíveis a determinados contaminantes que outros, principalmente quando pertencem a níveis tróficos diferentes (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006) e, portanto, certos cuidados devem ser tomados para que o composto testado não tenha sua toxicidade subestimada.

Neste contexto, é necessário uma melhor avaliação prévia quanto aos organismos-teste escolhidos. Muitas vezes esta decisão é tomada seguindo as recomendações das normas vigentes, como, por exemplo, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), *International Organization for Standardization* (ISO) e *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD). No entanto, nem sempre estas se encaixam para todos os tipos de compostos testados.

Em um artigo de Bertolotti (2009) sobre diferenças de sensibilidade entre peixes, o autor sugere, com base em outros artigos (CHAPMAN, 1983; BERTOLETTI *et al.*, 1989; ENVIRONMENT CANADÁ, 1990; KRAUS *et al.*, 1998 e ZAGATTO, 2006), que uma diferença significativa entre sensibilidades pode ser verificada caso a razão entre a maior e a menor CL_{50} seja maior que 2.

Dessa forma, dentro do grupo dos crustáceos, por exemplo, as três normas referidas recomendam a utilização da *D. magna* para testes ecotoxicológicos, no entanto, tendo em vista a SSD obtida pela base de dados de testes de toxicidade com a abamectina, observa-se que, dentro deste grupo, a espécie *D. magna* mostrou-se menos sensível, sendo que a mais sensível foi *C. dubia* (razão: 295), seguida do micro-crustáceo estuarino *A. bahia* (razão: 3,51) e *D. similis* (razão: 1,38). A espécie *C. dubia* é citada apenas para testes crônicos pelas normas ISO e ABNT. Para o composto difenoconazol a base de dados não apresentou resultados de testes de toxicidade com *C. dubia*, sendo que espécie *A. bahia* foi 2,6 vezes mais sensível ao difenoconazol do que *D. magna*.

Quanto a testes com o grupo dos insetos aquáticos, apenas umas das três normas cita a utilização deles em ensaios, sendo a espécie *C. riparius* recomendada pela EOCED. Testes de toxicidade com esta espécie não foram encontrados na base de dados, porém *C. xanthus* mostrou-se, pela base de dados, mais sensível que *C. tepperi* nos testes de toxicidade com abamectina. Na base de dados para difenoconazol verificou-se apenas o resultado de um teste de toxicidade com *C. riparius*, cuja CE foi extremamente alta, sendo a maior entre todos os organismos-teste e semelhante à encontrada nos testes de toxicidade laboratoriais deste trabalho.

No que se refere à utilização de peixes em bioensaios, estes, como visto nos resultados supracitados, representaram 31% dos dados obtidos para testes de toxicidade com abamectina e 27% com difenoconazol. Este organismo-teste é um dos mais escolhidos, dentre outras vantagens, por despertarem a sensibilidade de pessoas leigas pela proximidade com o ser humano por meio da possível visibilidade do organismo, além do valor comercial e recreacional de muitas espécies. Todas as três normas citam a espécie *D. rerio* como

recomendada para testes ecotoxicológicos, no entanto, esta mostrou-se aproximadamente 10 vezes e 1,5 vezes (razões) menos sensível que a espécie de peixe mais sensível, o *O. mykiss* nos testes de toxicidade com abamectina e difenoconazol, respectivamente. As CEs médias para as espécies *L. macrochirus* (razão: 3,58), *C. variegatus* (razão: 2,29) e *I. punctatus* (razão: 1,43) também foram mais baixas que as do *D. rerio* nos testes de toxicidade com abamectina e para *C. variegatus* (razão: 1,39) a CE média foi mais baixa que as de *D. rerio* nos testes de toxicidade com difenoconazol.

As algas foram as espécies menos sensíveis aos dois contaminantes avaliados, o que está relacionado ao modo de ação dos contaminantes. A abamectina é um inseticida/acaricida neurotóxico que age no sistema nervoso dos organismos enquanto o difenoconazol é um fungicida sistêmico que interfere na biossíntese da parede celular de fungos. Desta forma, por não possuir um sistema nervoso e fisiologia semelhante a dos fungos, a alga é pouco afetada pelos contaminantes. As normas citam que, dentre as algas, a mais indicada para testes ecotoxicológicos é *P. subcapitata*. Realmente, para o composto difenoconazol (com exceção da *Skeletonema costatum*, cuja sensibilidade foi mais baixa que o esperado dentre as algas), a espécie *P. subcapitata* mostrou-se mais sensível que *S. obliquus* (razão: 1,1). No entanto, para a abamectina, a espécie *S. capricornutum*, juntamente com *S. obliquus*, foram as menos sensíveis enquanto a alga mais sensível frente a exposição a abamectina foi *C. pyrenoidosa* (razão: 13,68).

Um fato extremamente importante de ser ressaltado é a escassez ou ausência de normas que padronizem testes de toxicidade com determinados organismos como bactérias e fungos, cuja importância na decomposição biológica é fundamental ao ecossistema. Apenas a bactéria *V. fischeri* é recomendada em uma das normas, a ISO, e nenhuma das três normas recomendam ou padronizam testes de toxicidade com fungos. Por outro lado, como citado anteriormente, os peixes são muito utilizados em testes ecotoxicológicos e, salvo casos específicos, nem sempre são os melhores representantes para se avaliar o efeito tóxico de uma amostra ambiental, efluente ou composto. No entanto, as normas para testes de toxicidade com peixes são as mais antigas e, talvez por isso, na avaliação dos efeitos do difenoconazol, tenha representado 27% em relação ao total das outras espécies que foram utilizadas. Apesar dos fungos ocuparem o primeiro lugar neste banco de dados, apenas dois artigos foram encontrados que testavam a sensibilidade de fungos ao contaminante. Esta falta de informação é relevante em estudos com contaminantes ambientais como o difenoconazol, um fungicida, pois a escolha do organismo-teste em uma análise de risco

ecológica deve ser feita com base nas espécies mais sensíveis, caso contrário, certas decisões podem implicar em sérios danos ambientais.

Neste contexto, considerando-se as SSDs e as comparações entre as sensibilidades das espécies indicadas pelas normas pode-se observar os possíveis impactos no ecossistema caso diferentes organismos-teste fossem escolhidos para bioensaios e posterior tomada de decisão. Por exemplo, as algas constituem escolhas menos satisfatórias tanto para testes de toxicidade com o contaminante abamectina quanto para o difenoconazol. Isso porque elas representam o grupo menos sensível, com uma fração potencialmente afetada (PAF) de 84,8 a 97,8% para abamectina, de 73,5% a 97,1% para difenoconazol, ou 90% no caso dos testes de toxicidade realizados nesta pesquisa de organismos que não seriam protegidos. Os peixes já representariam uma maior fração ecossistêmica protegida em relação às algas de 70% (abamectina) ou 50% (difenoconazol) do ecossistema afetado pela contaminação quando observados os testes de toxicidade realizados neste trabalho. Porém, ainda assim, com base da base de dados levantada, no caso da escolha do *D. rerio* como organismo-teste a PAF seria ainda de 45,7% (abamectina) enquanto caso o *O. mykiss* fosse escolhido essa PAF diminuiria para 28,3%. Para difenoconazol, a escolha do *D. rerio* representaria uma PAF de 67,6% e a escolha do *O. mykiss* uma PAF de 55,9%.

A escolha de insetos aquáticos como *Chironomus* sp para testes de toxicidade, além de ser pouco estabelecida pelas normas atuais, ainda correspondem a uma fração muito pequena dentro da base de dados e da literatura (5% para testes de toxicidade com abamectina e 3% para difenoconazol), o que não permitiu melhores conclusões acerca da sensibilidade deste gênero para os contaminantes em análise. No entanto, aparentemente, o gênero *Chironomus* ainda é mais sensível que os peixes (PAF de 19,6% a 23,9%) frente a exposição à abamectina enquanto estes são muito pouco sensíveis frente a exposição ao difenoconazol, representando uma PAF acima da encontrada para as algas (97,1%). Tal valor está de acordo com os testes de toxicidade realizados durante o desenvolvimento desta pesquisa com *C. sancticaroli*. Esta espécie também apresentou PAF elevada (70%) quando exposta ao fungicida difenoconazol, estando acima da encontrada para o peixe, porém abaixo para a alga.

Por fim, os crustáceos mostraram-se o grupo que mais contribuiu para a proteção ao ecossistema, sendo que a escolha de espécies deste grupo constitui uma PAF entre 10 e 30% para ambos os contaminantes testados, segundo os dados obtidos nesta pesquisa. No caso da espécie *C. dubia*, em relação à abamectina, a PAF foi de 2,2%, sendo uma melhor escolha do que *D. magna* (PAF de 15,2%), como recomendado pela maioria das normas. Da mesma

forma a escolha de *A. bahia* (PAF igual a 2,9%) garantiria maior proteção ecossistêmica em relação à *D. magna* (PAF igual a 26,5%). No caso do contaminante difenoconazol, juntamente aos crustáceos os fungos mostraram-se muito mais sensíveis a este composto, obviamente devido ao modo de ação do produto, representando os melhores organismos-teste a serem escolhidos (principalmente *F. fulva*), com valor de conservação ecossistêmica de aproximadamente 86% (PAF igual a 14%).

5. Conclusões:

- ❖ Existem diferenças de sensibilidade entre espécies de um mesmo nível trófico e entre os diferentes níveis tróficos, as quais muitas vezes ocorrem em ordem de grandeza significativa, o que faz com que, apesar de padronizadas pelas normas nacionais e internacionais, algumas espécies sejam as mais indicadas quando se busca a conservação dos ecossistemas.
- ❖ Na presente avaliação, a ordem de sensibilidade para os testes de toxicidade com abamectina foi: crustáceos > insetos > peixes > moluscos > bactérias > rotíferas > plantas aquáticas > algas, enquanto para difenoconazol foi: crustáceos ≈ fungos > insetos > moluscos > peixes > algas > plantas aquáticas > insetos, verificando-se que, em ambos os casos, os crustáceos foram os mais indicados, embora com diferença entre as espécies.
- ❖ Dentre os crustáceos *C. dubia* mostrou-se mais sensível que *D. magna* para abamectina e a *A. bahia* foi mais sensível para o difenoconazol, contudo, a espécie *D. magna* ainda é a mais recomendada pelas normas nacionais e internacionais.
- ❖ Quanto aos insetos aquáticos, conclui-se que são necessários mais testes de toxicidade, principalmente com o composto abamectina, tendo em vista sua ação inseticida, bem como é fundamental uma melhor padronização destes testes nas normas vigentes. Porém, aparentemente, *C. riparius* (recomendado) não é um bom organismo-teste para se avaliar os efeitos do difenoconazol.
- ❖ Referente aos peixes, a espécie *O. mykiss* é mais sensível e, portanto, melhor organismo-teste que *D. rerio*. Ambos são amplamente recomendados pelas normas vigentes, porém outros que não são indicados se mostraram mais sensíveis que *D. rerio*, como é o caso de *C. variagatus* para ambos os contaminantes.
- ❖ As algas representam o grupo menos sensível, não sendo indicadas para testes de toxicidade com estes contaminantes, porém a espécie *P. subcapitata*, recomendada pelas normas vigentes, foi a mais sensível mediante exposição ao

difenoconazol, embora para abamectina a maior sensibilidade tenha sido registrada para *C. pyrenoidosa*.

- ❖ Para o difenoconazol recomenda-se a realização de mais testes de toxicidade com fungos, devido a escassez destas informações e pela importância dos mesmos em função do modo de ação do composto (fungicida).
- ❖ Ressalvas devem ser feitas nos casos em que o objetivo do estudo é restrito a espécies nativas, de zonas (temperada/tropical, por exemplo) ou ambientes específicos (água doce ou salgada, por exemplo). No presente estudo, não efetuou-se esta distinção, pois o objetivo maior era eleger as espécies mais sensíveis com base nos dados disponíveis.
- ❖ É fundamental que a conservação ecossistêmica seja considerada na escolha dos organismos-teste, priorizando as espécies mais sensíveis e com as menores frações potencialmente afetadas (PAFs) do ecossistema. Neste caso, seria preferível a escolha de uma espécie cuja PAF fosse menor de 5%, garantido uma conservação de 95% das espécies do ecossistema.

6. Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15088: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12648: ecotoxicologia aquática – método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12713: água – ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 13373: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2006a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15308: ecotoxicologia aquática – método de ensaio com misídeos (Crustácea). Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15469: ecotoxicologia aquática – preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, 2007a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15470: ecotoxicologia aquática – toxicidade em sedimento - método de ensaio com *Hyalella* spp (Amphipoda). Rio de Janeiro, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15499: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2007.

BAZZI, L., ERRAMI, M., ZOUGAGH, M., SALGHI, R., ZARROUK, A., ZARROK, H., ASSOUAG, M., HAMMOUTI, B. Pesticide residue monitoring in green beans from Sous-massa valley in Morocco. **Oriental Journal of Chemistry**, Vol. 25(3), p. 461-470, 2009.

BERTOLETTI, E. Sensibilidade de Algumas Espécies de Peixes de Água Doce Utilizadas no Brasil. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 4, n. 1-3, 9-13, 2009.

BERTOLETTI, E., GHERARDI-GOLDSTEIN, E. & ZAGATTO, P.A. Variabilidade de testes de toxicidade com peixes. **Ambiente**, Vol. 3(1), p. 52-58, 1989.

CHAPMAN, G. A. Do organisms in laboratory tests respond like organisms in nature? In: Bishop, W.E.; Cardwell, R.D.; Heidolph, B.B. (Eds). *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Sixth Symposium*. STP 802. Philadelphia, ASTM., p. 315-327, 1983.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R. & ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em Ambientes Aquáticos: discussão e métodos de Avaliação. **Química Nova**, V. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

ELMOOR-LOUREIRO, L. M. A. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. **Editores Universal**. Brasília. 1997.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Engineering in life sciences**, 5(6) p. 497-526, 2005.

JURASKE, R.; FANTKE, P. RAMÍREZ, A. C. R.; GONZÁLEZ, A. Pesticide residue dynamics in passion fruits: Comparing field trial and modelling results. **Chemosphere**, Vol. 89, Nº 7, p. 850–855, 2012.

KALLQUIST, T.; MILACIC, R.; SMITAL, T.; THOMAS, K.V.; VRANES, S.; TOLLEFSEN, K.E. Chronic toxicity of the Sava River (SE Europe) sediments and river water to the algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Water Research**, 42:2146-2156, 2008.

KRAUS, L.A.S., BONECKER, A.C.T. & VITAL, N.A.A. Acute toxicity of potassium dichromate, sodium dodecyl sulfate, copper and zinc to *Poecilia vivípara* (Osteichthyes, Cyprinodontiformes). **Fresenius Envir. Bull.** 7: 654-658, 1998.

LASOTA, J. A. & DYBAS, R. A. Abamectin as a pesticide for agricultural use. (Review). **Acta Leidensia**, Vol. 59(1-2), p. 217-225, 1990.

LI, H.; SUM, B., LYDY, M. J.; YOU, J. Sediment-Associated Pesticides In an Urban Stream In Guangzhou, China: Implication Of a Shift In Pesticide Use Patterns. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Vol. 32, Nº 5, p. 1040–1047, 2013.

POMPÊO, M.; SILVA, D. C. V. R.; PAIVA, T. C. B. ecotoxicologia no contexto atual no Brasil (in) Ecologia de reservatórios e interfaces, São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP), 340P. 2015.

RAND, G. M. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment. 2. ed. Washington: **Taylor & Francis**, 1125 p., 1995.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications. **Hemisphere Publishing**, New York, NY, 1985.

RAND, P. S.; STEWART, D. J.; LANTRY, B. F.; RUDSTAM, L.G.; JOHANSSON, O. E.; GOYKE, A. P.; BRANDT, S. B.; O' GORMAN, R. & ECK, G. W. Effect of lake-wide planktivory by the pelagic communit in lakes Ontario and Michigan. **Canadian Jorsnal of Fisheries and Aquatic Sciences** 52:1546-1563, 1995.

SAKUMA, M., Probit analysis of preference data. **Appl. Entomol. Zool.**, 33: 339–347. 1998.

U.S. Environmental Protection Agency. 2015. ECOTOX User Guide: **ECOTOXicology Database System**. Version 4.0. Available: <http://www.epa.gov/ecotox/>

VAN VLAARDINGEN, P. TRAAS TP, ALDENBERG T. Normal distribution based hazardous concentration and potentially affected fraction. ETX-2000. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, **The Netherlands**, 2004.

VIDOTTI, E. C. ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, Vol. 27, No. 1, p. 139-145, 2004.

WEBER, C. I. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, 4th ed. Environmental Monitoring Systems Laboratory, **U.S. EPA**, Cincinnati, Ohio, 1993.

WESTON, D. P.; DING, Y.; ZHANG, M; LYDY, M. J. Identifying the cause of sediment toxicity in agricultural sediments: The role of pyrethroids and nine seldom-measured hydrophobic pesticides. **Chemosphere**, Vol. 90, N° 3, p. 958–964, 2013.

ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática, princípios e aplicações. São Carlos: **Rima** editora 478 pp, 2006.

ZAGATTO, P.A. O uso de substâncias de referência no controle de qualidade de ensaios ecotoxicológicos. In: Zagatto, P.A. & Bertoletti, E. (eds), Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações. São Carlos. **RIMA**. p.185-197, 2006.

Capítulo 4: Análise comparativa da toxicidade entre as formulações comerciais (Kraft®36EC e Score®250EC) e seus ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol).

Resumo

Agrotóxicos são constituídos por uma porcentagem de ingrediente ativo, cuja função é afetar o organismo-alvo, e ingredientes chamados de inertes, cujas funções são inúmeras como, por exemplo, a de estabilizar ou emulsificar o composto final. No entanto, estas substâncias podem exercer efeitos adversos ao meio ambiente e à saúde humana, por possuir toxicidade, facilitar a absorção do ingrediente ativo por organismos vivos, facilitar o transporte e a volatilização do composto, além de tornar o agrotóxico mais persistente no ambiente. Tendo em vista que os produtos utilizados na produção agrícola são os formulados (ingrediente ativo mais aditivos/adjuvantes “inertes”) e não somente os ingredientes ativos, tornam-se necessários os estudos sobre os efeitos toxicológicos provenientes da presença destas substâncias “inertes” nos produtos comerciais. Neste contexto, procurou-se avaliar e comparar os efeitos tóxicos do Kraft®36EC e do Score®250EC, em relação aos seus ingredientes ativos, abamectina e difenoconazol, considerando os níveis específicos (organismos-teste) e ecossistêmico. Para tanto, foram realizados testes de toxicidade com os produtos comerciais e seus ingredientes ativos, considerando as espécies *P. subcapitata*, *D. similis*, *C. dubia*, *C. sancticaroli* e *D. rerio*. Para a análise ecossistêmica foram elaboradas curvas de distribuição sensível das espécies (SSD). Pelos resultados obtidos nos testes de toxicidade verifica-se que em 60% dos casos os produtos comerciais foram mais tóxicos que os ingredientes ativos. O Kraft®36EC foi mais tóxico em relação à abamectina para *P. subcapitata* (7,8 vezes) e *D. rerio* (1,13 vezes) enquanto que o Score®250EC foi mais tóxico do que o difenoconazol para *C. dubia* (1,33 vezes), *D. similis* (1,32 vezes); *C. sancticaroli* (3,06 vezes) e *D. rerio* (1,36 vezes). Em nível ecossistêmico, a abamectina foi mais tóxica para 70% da comunidade e o Score®250EC para 85%. Conclui-se, portanto, que os produtos comerciais apresentam maior toxicidade do que os ingredientes ativos, o que insere fator de risco adicional uma vez que, via de regra, somente os ingredientes ativos são considerados no processo de registro do agrotóxico.

Palavras-chave: ingrediente-ativo, produto comercial, formulações, ingredientes inertes.

1. Introdução

De acordo com a legislação vigente, o termo agrotóxico e afins é definido como:

“produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso no setor de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas, como também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, assim como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (Brasil, 1989).

Estes “produtos” são formulados a partir de outros compostos, os quais correspondem a um ingrediente ativo e outros ingredientes adicionais chamados “inertes”. Os termos “ingrediente ativo” e “ingrediente inerte” são definidos por lei federal internacionalmente (*Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act* [FIFRA]) enquanto, no Brasil, o ingrediente inerte é definido pelo Decreto N° 4.074, de 4 de janeiro de 2002, como “aditivos” ou “adjuvantes”.

Ingredientes ativos são os que previnem, destroem, repelem ou mitigam a ação das chamadas “pragas”, e podem ser um regulador vegetal, desfolhante, disseccante ou estabilizante de nitrogênio (U.S.EPA, 2015), ou seja, é a porção do produto formulado cuja função é matar o organismo-alvo. Os demais ingredientes da composição de um agrotóxico são os “inertes”, ou seja, qualquer substância ou conjunto de substâncias, excluindo os ingredientes ativos, que são intencionalmente adicionados aos agroquímicos (U.S.EPA, 2015). No Brasil, adjuvantes “são produtos utilizados em mistura com produtos formulados para melhorar a sua aplicação” e aditivos são “substâncias ou produtos adicionados a agrotóxicos, componentes e afins, para melhorar sua ação, função, durabilidade, estabilidade e detecção ou para facilitar o processo de produção”.

Os ingredientes inertes constituem até 99% do volume total de produtos formulados (EPSTEIN, 2003), podendo apresentar diferentes funções, tais como: melhorar a atividade do ingrediente ativo, facilitar a aplicação do produto, possibilitar melhor diluição do produto quando adicionado à água para a produção da calda de aplicação, tornar o produto mais adesivo, facilitar a dispersão, ajudar no transporte do composto até o organismo alvo, papel de estabilizador do produto formulado (FISHEL, 2014), ajuste de pH, tamponação, impedir a formação de espuma, agentes facilitadores de suspensão, preservativos, emulsificantes, aumento de densidade e anticoagulantes (TOMINACK, 2000). Alguns exemplos de

compostos adicionados aos agrotóxicos como “inertes” são: ácido benzóico, óleo de castor, óxido nitroso, ácido sulfúrico, etanol, óleo de canola, combustível diesel, óleo combustível, hidrocarboneto de petróleo aromático e formaldeído (Tabela 1).

Tabela 1: Lista com alguns exemplos de ingredientes inertes classificados pelo seu grau de toxicidade. (Fonte: modificado de Fishel, 2014. Disponível em: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/PI/PI08100.pdf>)

Categoria de toxicidade	Ingrediente inerte
1	Diocetilfitalato
1	Formaldeido
1	Hidroquinona
1	Isoforona
1	Nonilfenol
1	Fenol
1	Rodamina B
2	o-cresol
2	Óleo combustível nº 2
2	Isopropilfenol
2	Metil isobutil cetona
2	Nitroetano
2	Parafinas
2	Eter propileno glicol monobutil
2	Tolueno
2	Xileno
3	Agar
3	Óleo de abacate
3	Óleo de bacalhau
3	Etoxilato lanolin
3	Mentol
3	Nitrito de sódio
3	Terebintina
4	Cera de carnaúba
4	Diatomáceas
4	Oxido ferrico
4	Limoneno
4	Sulfato de magnésio
4	Polipropileno glicol
4	Sais potássio de ácidos graxos (C12-C20)
4	Vermiculita

No entanto, apesar de serem chamados de “inertes”, estes compostos podem ser fisicamente, quimicamente e biologicamente ativos (COX & SURGAN, 2007), causando toxicidade para os mais diversos organismos vivos. Neste contexto, muitas vezes o produto formulado pode apresentar toxicidade ainda maior que a toxicidade do ingrediente ativo puro devido a adição dos compostos chamados “inertes” (BOLOGNESI, 2003).

Roon *et al* (2015), por exemplo, verificaram alterações endócrinas e fisiológicas em juvenis de peixes (*Lates calcarifer*) expostos a dois herbicidas formulados (ATRADEX®

WG e DIUREX® WG) e um surfactante (ACTIVATOR®90), utilizados comumente na cana-de-açúcar, em Queensland, na Austrália. Os autores relatam que houve aumento na transcrição de estrogênio pelo fígado dos peixes bem como aumento do hormônio 17 β -Estradiol, porém quando expostos aos ingredientes ativos puros (diuron e atrazina), os biomarcadores não apresentaram tais alterações.

Similarmente, em estudos com fases larvais de abelhas (*Apis mellífera*), Zhu *et al* (2014) verificaram toxicidade do N-metil-2-pyrrolidone (NMP), um co-solvente usado extensivamente em formulações com aplicação agrícola. Os resultados indicaram mortalidade de 100% nas maiores concentrações testadas (1% do ingrediente inerte) em apenas 24h, enquanto na menor concentração (0,01%) verificou-se mortalidade de 50% em 4 dias. Outros estudos realizados com este mesmo composto, demonstraram toxicidade do co-solvente para ratos e alto potencial de toxicidade para invertebrados aquáticos, como para o cladóceros *D. magna* (LAN *et al*, 2004; SAILLENFAIT *et al*, 2007).

Outras pesquisas também demonstram o potencial tóxico dos ingredientes inertes aos seres humanos, trazendo grande preocupação à saúde pública. Mesnage *et al* (2014), por exemplo, testaram nove agrotóxicos e seus ingredientes ativos (glifosato, isoproturon, fluroxypyr, pirimicarb, imidacloprid, acetamiprid, tebuconazole, epoxiconazole, prochloraz) e concluíram que, com exceção de um deles (isoproturon e seu produto formulado Matin®), as demais formulações foram de uma a mil vezes mais tóxicas que seus respectivos ingredientes ativos para três linhagens de células humanas (embrionária, placentária e hepática). Em outro estudo, os mesmos autores comprovaram que diferentes formulações comerciais contendo glifosato como ingrediente ativo, bem como seu ingrediente inerte, toluamina polietoxilada (POE-15), foram todas mais tóxicas às linhagens celulares supracitadas que o próprio glifosato puro. Segundo o autor, o ingrediente inerte foi o mais tóxico dentre eles, inclusive induzindo necrose celular (MESNAGE *et al*, 2014).

Além da potencial de toxicidade destes compostos, outras relações podem ocorrer nos produtos formulados, uma vez que os ingredientes ativos e inertes podem interagir alterando a capacidade de exposição do composto ou aumentando a absorção do produto. Baynes & Rivieri (1998), por exemplo, observaram maior absorção dérmica em porcos do ingrediente ativo carbaril quando associado ao surfactante sódio laurel sulfato (SLS). Outros autores concluíram que a proteção garantida pelo uso do EPI (Equipamentos de Proteção Individual) e por luvas de diferentes materiais podem ser afetadas pela presença de solventes nos produtos aplicados (HARVILLE & QUE HEE, 1989), pela possibilidade de exposição ao ingrediente ativo, provocada pela ação do solvente.

Por outro lado, alterações físico-químicas decorrentes da mistura entre os ingredientes ativos e inertes podem, além de aumentar a toxicidade ou a exposição do produto formulado, serem também responsáveis por tornar estes compostos “maiores” contaminantes ambientais, pois fatores como a degradação, transporte, volatilização e persistência podem ser alterados por estes ingredientes. Huston & Pignatello (1999), relataram um forte efeito na taxa de degradação do produto formulado Lasso Microtech® em relação ao seu ingrediente ativo, alachlor, sendo que este, em testes laboratoriais, foi totalmente degradado em menos de 30 minutos e seu produto formulado necessitou de um aumento da temperatura para ser degradado.

Grande parte dos ingredientes inertes é um composto orgânico, cuja volatilidade é alta, ou seja, muitas vezes estes são os chamados VOCs (Compostos Orgânicos Voláteis) que, em sua grande maioria, volatiliza 100% em poucas horas, contribuindo para a dispersão deste contaminante no ambiente aéreo (ZEINALI *et al*, 2011). Em um estudo desenvolvido na Califórnia, os autores Lyons *et al* (2014) detectaram resíduos do surfactante nonilfenol poletoxilado na água, neve e atmosfera de uma região preservada de montanhas, a Sierra Nevada, situada nas adjacências de uma área agrícola, San Joaquin Valley. Este surfactante é pouco solúvel em água, porém ele é transportado pelo material particulado atingindo grandes distâncias por meio de ações do vento, erosão e distúrbios do solo, carregando consigo o princípio ativo da formulação.

Stefanello Jr *et al* (2012), em estudo sobre persistência de agrotóxicos utilizados em plantações de milho, afirmam que o ingrediente ativo clorpirifós (0,24%), quando formulado por duas marcas comerciais diferentes (Dursban Spritzp e Lorsban 480 BR), são classificados diferentemente em relação à sua persistência, sendo o primeiro considerado persistente e o segundo como moderadamente persistente. Ou seja, além dos ingredientes inertes influenciarem na dispersão, transporte, volatilização e persistência dos compostos eles também variam conforme os produtos formulados.

O maior problema que envolve os ingredientes inertes é o fato destes não serem identificados nas bulas dos produtos formulados (SURGAN & GERSHON, 2000). Inclusive, a identidade dos inertes é protegida por lei por serem considerados “sigilo empresarial”, para evitar competição entre as empresas formuladoras (U. S. EPA, 1997; COX & SURGAN, 2007; NPIC, 2014). No entanto, a falta desta informação dificulta a análise dos efeitos reais da presença dos ingredientes inertes nas formulações para organismos não-alvo, além de dificultar o tratamento por intoxicação acidental em humanos (COX & SURGAN, 2007). Acrescido do fato de que os testes necessários para o registro

dos produtos são realizados, na maioria das vezes, somente com os ingredientes ativos, torna-se pouco possível a previsão do real efeito da contaminação por agrotóxicos, tendo em vista que estes são aplicados como produtos formulados na agricultura. Porém, a periculosidade dos ingredientes inertes vem sendo comprovada por toxicologistas, gerando preocupações quanto aos efeitos ambientais e de saúde pública.

Em 1990, nos EUA, a EPA (*Environmental Protection Agency*) foi intimada a identificar as substâncias que compõem os ingredientes inertes de pesticidas, que agora estão listadas em seu site. Porém, ainda assim, as informações não abrangem os produtos formulados ou dados como produtos mais utilizados ou a toxicologia dos compostos. Até 2007 a EPA já havia identificado aproximadamente 3 mil substâncias como inertes nas formulações existentes, dentre as quais 50% foram classificadas como sendo de risco moderado. Segundo a EPA, mais de 500 dos ingredientes inertes identificados já foram ou têm sido usados em outras formulações como ingredientes ativos, ou seja, essa informação corrobora a ação tóxica que estes ingredientes podem exercer (COX & SURGAN, 2007).

Apesar das preocupações levantadas por vários estudos e dos primeiros passos nas identificações dos ingredientes inertes presentes nas formulações comerciais, ainda existem lacunas relacionadas aos efeitos tóxicos reais destes compostos. Desta forma, procurou-se nesta etapa da pesquisa avaliar se existem ou não diferenças significativas em relação à toxicidade dos produtos formulados Kraft®36EC e Score®250EC e de seus princípios ativos abamectina e difenoconazol, respectivamente, utilizando organismos-testes de diferentes níveis tróficos e análise dos efeitos ecossistêmicos.

2. Material e Métodos

As metodologias para realização dos experimentos laboratoriais e análises dos resultados dos testes de toxicidade, bem como a obtenção das curvas SSD e da PAF já foram apresentadas nos capítulos 2 (página 47) e 3 (página 95).

3. Resultados

Os valores das CEs obtidos nos testes de toxicidade para cada uma das espécies estão representados na Figura 1 e na Tabela 2, na qual foram inseridos os valores médios obtidos entre os testes e o fator de toxicidade, que representa a razão entre a CE média do ingrediente ativo e a CE média do produto formulado ou vice-versa (dependendo de qual dos contaminantes obteve maior CE média).

Tabela 2: Valores médios de CEs obtidos para os contaminantes e seus respectivos fatores de toxicidades. Em vermelho: abamectina >Kraft; em laranja: Kraft >abamectina, em verde: difenoconazol>Score e em azul: Score>difenoconazol.

	Abamectina	Kraft®36EC	Fator de Toxicidade	Difenoconazol	Score®250EC	Fator de Toxicidade
<i>P. subcapitata</i>	16,74mg/L	2,15mg/L	7,8	2,6mg/L	20,8mg/L	8
<i>C. dubia</i>	40,28ng/L	66,99ng/L	1,66	0,65mg/L	0,49mg/L	1,33
<i>D. similis</i>	2,95ng/L	561,88ng/L	190,24	0,91mg/L	0,69mg/L	1,32
<i>C. sancticaroli</i>	2,31µg/L	3,90µg/L	1,69	4,66mg/L	1,52mg/L	3,06
<i>D. rerio</i>	91,54µg/L	81,15 µg/L	1,13	2,08mg/L	1,53mg/L	1,36

Pelos resultados obtidos, verifica-se que para a micro-alga *P. subcapitata*, o produto formulado Kraft®36EC foi 7,8 vezes mais tóxico que o ingrediente ativo abamectina, assim como o ingrediente ativo difenoconazol foi 8 vezes mais tóxico para a mesma espécie em comparação ao produto formulado Score®250EC. O ingrediente ativo abamectina foi 1,66 e 190,24 vezes mais tóxico do que o produto comercial Kraft®36EC para as espécies *C. dubia* e *D. similis*, respectivamente, enquanto que para o Score®250EC, considerando as mesmas espécies de cladóceros, a sua toxicidade foi de 1,33 e 1,32 vezes mais elevada em comparação ao difenoconazol. O mesmo ocorreu para o inseto aquático *C. sancticaroli*, no qual se verificou que ingrediente ativo abamectina foi 1,69 vezes mais tóxico que o produto formulado, Kraft®36EC, enquanto que Score®250EC foi 3,06 vezes mais tóxico que seu ingrediente ativo, o difenoconazol. Para o peixe *D. rerio*, o produto formulado Kraft®36EC foi 1,13 vezes mais tóxico que o ingrediente ativo (abamectina), bem como o produto formulado, Score®250EC, foi 1,36 vezes mais tóxico ao organismo que seu ingrediente ativo (difenoconazol).

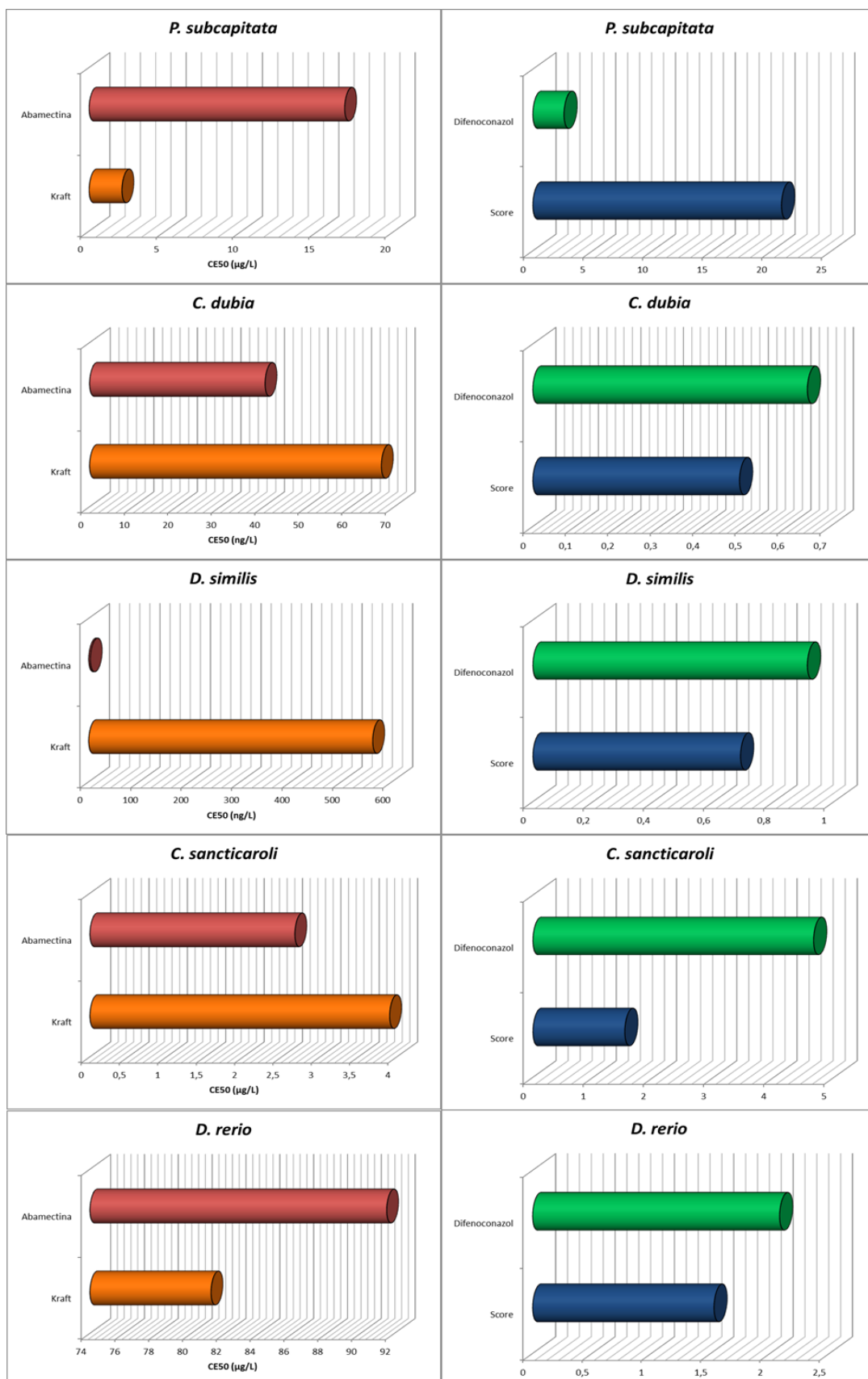


Figura 1: Representação gráfica da diferença de toxicidade entre os produtos formulados Kraft e Score e seus ingredientes ativos abamectina e difenconazol.

Os valores obtidos para as SSD e HC₅ estão apresentados na Tabela 3 e Figura 3, permitindo uma melhor visualização das diferenças entre a toxicidade dos produtos formulados e os ingredientes ativos em nível ecossistêmico. Pelas curvas obtidas verifica-se que aproximadamente 70% do ecossistema (ponto onde as curvas se cruzam) é mais sensível ao ingrediente ativo abamectina e menos sensível ao produto formulado Kraft®36EC. Tal afirmação é corroborada pelos valores de HC₅ obtidos (Tabela 3). O HC₅ da abamectina (concentração perigosa para 5% do ecossistema, ou seja, segura para 95% deste) é cerca de 100 vezes menor que o HC₅ do produto formulado, Kraft®36EC. Ou seja, concentrações 100 vezes menores de abamectina afetam a mesma fração (5%) do ecossistema que o Kraft®36EC em concentração 100 vezes maior (Figura 4).

Observando-se as curvas comparativas entre difenoconazol e Score®250EC (Figura 3), nota-se que aproximadamente 15% do ecossistema (ponto onde as curvas se cruzam) é mais sensível ao difenoconazol em relação ao produto formulado, Score®250EC. Ou seja, para aproximadamente 85% do ecossistema, o produto formulado Score®250EC é mais tóxico que o ingrediente ativo difenoconazol. Esta informação é também corroborada pelos valores de HC₅ obtidos (Tabela 3), tendo em vista que a concentração de difenoconazol perigosa para 5% (HC₅) do ecossistema é 1,9 vezes menor que a HC₅ calculada a partir dos testes com produto formulado (Figura 4).

Tabela 3: Concentrações perigosas à 5% da do ecossistema e limites inferiores e superiores para produtos formulados (Kraft®36EC e Score®250EC) e ingredientes ativos (abamectina e difenoconazol).

	Abamectina	Kraft®36EC	Difenoconazol	Score®250EC
HC₅ (µg/L)	5,8 * 10 ⁻⁵	5,2 * 10 ⁻³	244,57	127,1
Lim. Inferior	1,8 * 10 ⁻¹¹	2,6 * 10 ⁻⁷	20,58	3,6
Lim. Superior	2,2 * 10 ⁻²	2,6 * 10 ⁻¹	652,98	523,6

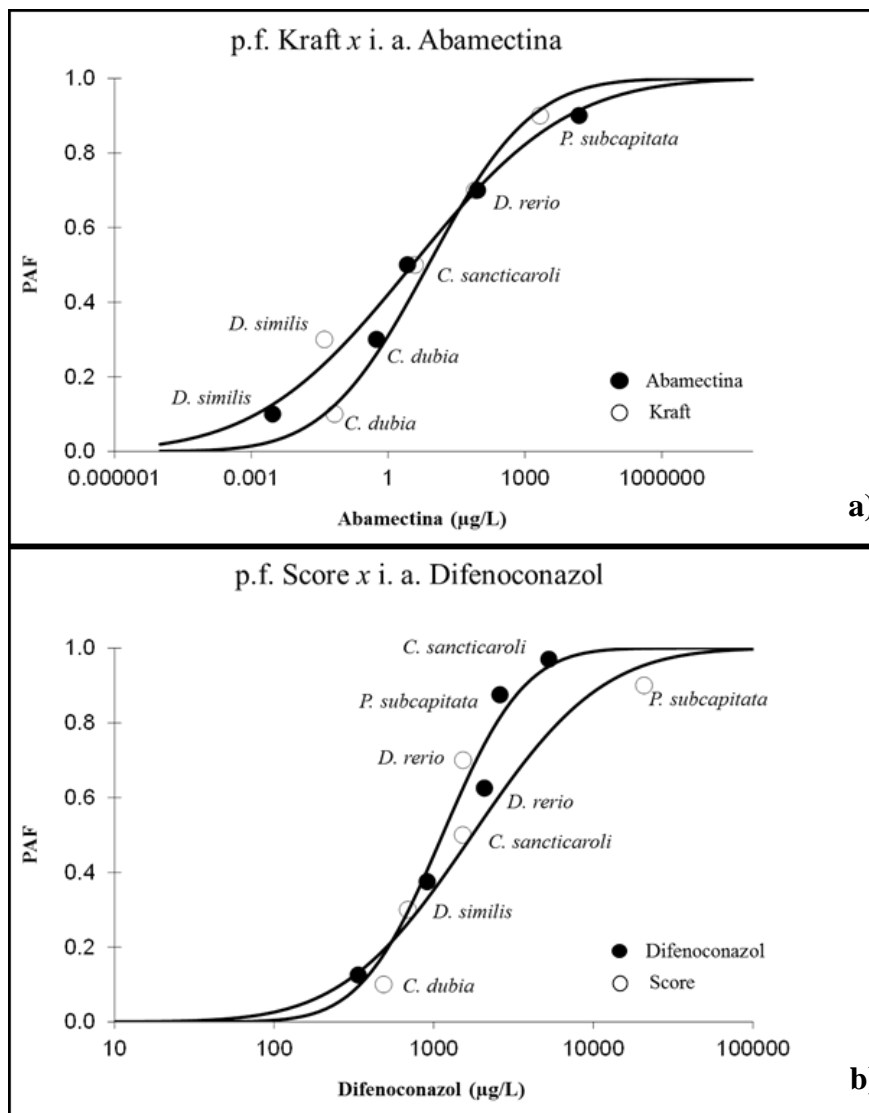


Figura 2: SSDs cumulativas dos compostos a) Kraft®36EC e abamectina e dos compostos b) Score®250EC e difenoconazol.

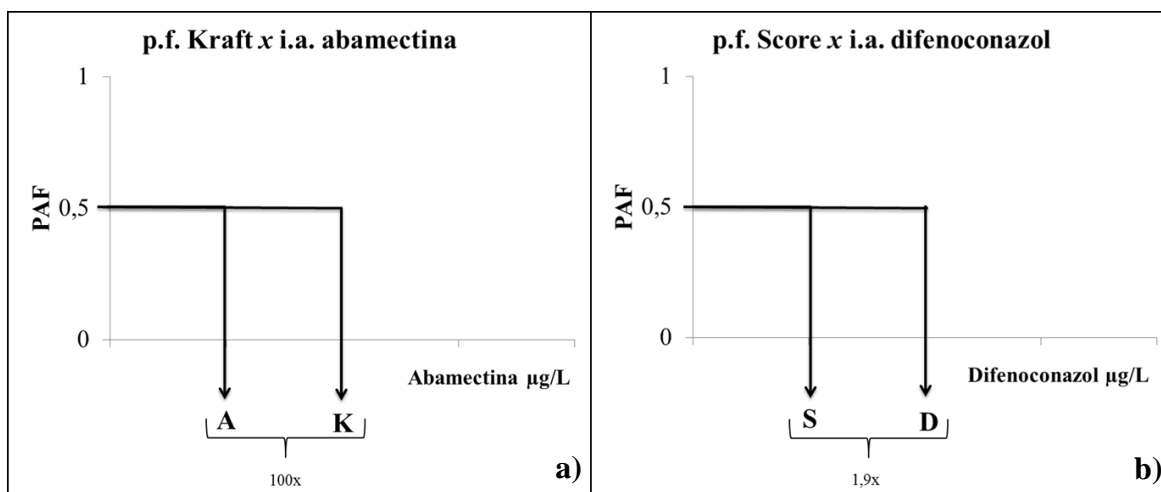


Figura 3: Representação gráfica da diferença de concentração entre produto formulado e ingrediente ativo em relação às frações potencialmente afetadas (PAFs) para os compostos Kraft®36EC e abamectina (a) e para os compostos Score®250EC e difenoconazol (b).

Dessa forma, contabilizando todos os resultados apresentados (valores de CE_{50} obtidos individualmente para cada espécie e para cada contaminante, as SSDs e os valores de PAF e HC_5), pode-se concluir que o produto formulado Score®250EC é mais tóxico que seu ingrediente ativo difenoconazol enquanto que o produto formulado Kraft®36EC é menos tóxico que seu ingrediente ativo, a abamectina. Para ambos os casos observou-se exceções relacionadas às espécies que foram consideradas nos testes de toxicidade, como a micro-alga *P. subcapitata* e o peixe *D. rerio*, para os quais as maiores toxicidades ocorreram mediante exposição ao produto formulado Kraft®36EC em comparação ao seu ingrediente ativo ou o inverso para esta mesma espécie de alga na presença do difenoconazol, ingrediente ativo do produto formulado Score®250EC (difenoconazol > Score®250EC). Neste contexto, frações ecossistêmicas mais altas são afetadas por contaminações da abamectina (i.a.) e por Score®250EC (p.f.).

4. Discussão

Apesar de serem denominados como ingredientes inertes, os aditivos e adjuvantes de agrotóxicos podem apresentar atividade química, biológica e toxicológica que podem atingir organismos não-alvo e seres humanos (BOLOGNESI, 2003; COX & SURGAN, 2007). Estes solventes, surfactantes, emulsificantes, estabilizadores, dentre outros (TOMINACK, 2000; FISHEL, 2014), em conjunto com os ingredientes ativos formam as formulações conhecidas e amplamente difundidas nas produções agrícolas. Existem muitos estudos sobre os efeitos tóxicos de ingredientes ativos a organismos vivos (SHORT & CALBOM, 1999; AMARANTE Jr & SANTOS 2002; EPSTEIN, 2003; LAN *et al*, 2004; DOMINGUES *et al*, 2004; TAO *et al*, 2007; SAILLENFAIT *et al*, 2007; NOBELS *et al*, 2011; CIARLO *et al*, 2012; GUILHERME *et al*, 2012; SILVA *et al*, 2013; RAMOS, 2013; MESNAGE *et al*, 2014; DEL SARTO *et al* 2014; ROON *et al*, 2015; MULLIN, 2015), sendo inclusive recomendado que uma série de testes toxicológicos sejam realizados para registros anteriores à comercialização dos produtos formulados. No entanto, não há legislações que determinem que sejam realizados testes com os ingredientes inertes e nem recomendações que priorizem, ao menos, os testes de toxicidade com produtos formulados (U.S.EPA, 2015). Adicionalmente não são exatamente reconhecidos quais produtos fazem parte das formulações comerciais além dos ingredientes ativos, mesmo os “inertes” fazendo parte de até 99% da composição dos produtos finais (FISHEL, 2014).

Os produtos formulados utilizados nesta pesquisa foram o inseticida/acaricida/nematicida Kraft®36EC e o fungicida Score®250EC, cujo os princípios

ativos são a abamectina e difenoconazol, respectivamente. O agrotóxico Kraft®36EC apresenta formulação de 3,6% do ingrediente ativo (uma concentração de 36g/L) e 93,02% de ingredientes inertes (uma concentração de 930,20g/L), enquanto o agrotóxico Score®250EC apresenta 25% do ingrediente ativo (uma concentração de 250g/L) e 75% de ingredientes inertes (em uma concentração de 750g/L). Quanto a toxicidade, ambos são classificados pela ANVISA como extremamente tóxicos a saúde humana (classe 1) e como muito tóxicos ao meio ambiente pelo IBAMA (classe 2), além do Score®250EC ser considerado altamente persistente no meio ambiente.

Como mencionado, ambos os produtos formulados não descrevem em suas bulas quais ingredientes inertes compõem estes 93,02% e 75% dos compostos comerciais, porém, pelos testes de toxicidade realizados, verifica-se que o efeito tóxico de ambos os produtos formulados apresentaram diferenças em relação ao efeito tóxico dos ingredientes ativos separadamente. Nos testes de toxicidade com o Kraft®36EC e a abamectina, os resultados obtidos para a micro-alga *P. subcapitata* e o peixe *D. rerio* demonstram maior toxicidade do produto formulado quando comparado ao ingrediente ativo. No entanto, para *C. dubia*, *D. similis* e *C. sancticaroli* os resultados foram contrários, registrando-se que a maior toxicidade foi atribuída ao ingrediente ativo.

Porém, em estudo com o agrotóxico Vertimec®18EC, um produto formulado cujo principio ativo é também a abamectina, Del Sarto *et al* (2014) chegaram a um resultado distinto. Para abelhas da espécie *Melipona quadrifasciata*, o Vertimec®18EC foi 8.970 vezes mais tóxico que a abamectina enquanto para abelhas da espécie *Apis mellifera* este produto foi 709 vezes mais tóxico que o ingrediente ativo. Da mesma forma, em bioensaios com *C. sancticaroli* e o Vertimec®18EC como formulação, Ramos (2013) obteve uma CE₅₀ de 97ng/L de abamectina contida no produto formulado. O autor não realizou experimentos com a abamectina separadamente, mas comparou seus resultados com o de Novelli *et al* (2012), correspondente a uma toxicidade aproximadamente três vezes maior do produto formulado em relação ao ingrediente ativo.

Nos testes de toxicidade com Score®250EC e difenoconazol os resultados obtidos para *C. dubia*, *D. similis*, *C. sancticaroli* e *D. rerio* demonstram maior toxicidade do produto formulado em relação ao ingrediente ativo enquanto somente os resultados com a micro-alga *P. subcapitata* revelam efeito contrário. Com base em publicações na literatura, Mullin (2015) concluiu que formulações são, geralmente, mais tóxicas que seus ingredientes ativos, particularmente para os fungicidas, como é o caso do Score®250EC. Neste mesmo trabalho o autor cita um artigo publicado na China, com um dos mais utilizados fungicidas, o

tebuconazol (também da família dos triazóis, assim como o difenoconazol), cujo efeito tóxico para abelhas (*Apis mellifera*) foi de até 26 mil vezes maiores para os fungicidas formulados do que para este ingrediente ativo, resultado associado ao efeito de co-formulantes nos produtos testados (ZHAO *et al*, 2011; MULLIN, 2015).

Apesar de que em algumas situações os ingredientes ativos apresentaram maior toxicidade que os produtos formulados, a maioria dos resultados apresentados correspondeu ao esperado, ou seja, as formulações comerciais são mais tóxicas que os ingredientes ativos. Do total das médias entre as CEs, seis testes apresentaram resultados com maior toxicidade dos produtos formulados, enquanto quatro testes apresentaram resultados com maior toxicidade aos ingredientes ativos. Nestes casos, é provável que a presença dos ingredientes inertes presentes nas formulações tenha contribuído para um efeito antagônico (GUILHERME *et al*, 2012).

Em contraste, outros estudos, como o de Tao *et al* (2007), relatam casos de sinergismos na presença de ingredientes inertes, pois muitas vezes, em situações reais, ocorre a mistura dos agrotóxicos para se buscar uma maior eficácia no tratamento de plantações, principalmente no caso dos herbicidas. Os autores, em um estudo com os herbicidas glifosato e bentazon utilizados em mistura, concluíram que a presença do ingrediente inerte surfactante do glifosato contribuiu para o sinergismo que ocorreu entre os dois compostos herbicidas.

Outras pesquisas relatam a maior toxicidade de produtos formulados em relação aos seus ingredientes ativos. O glifosato, por exemplo, apresenta toxicidade aguda considerada relativamente baixa para ratos (DL₅₀ de 4.230 a 5.600 mg/kg), porém alguns dos componentes de seus produtos formulados, como surfactantes etilaminas, os mais utilizados para este ingrediente ativo, são significativamente mais tóxicos, sendo considerados muito tóxicos para peixes e irritantes para olhos, sistema respiratório e pele em humanos (AMARANTE Jr & SANTOS, 2002). Em concordância, em estudos com o produto formulado Roundup® e seu ingrediente ativo, o glifosato, e um surfactante deste composto, a amina polietoxilada – POEA, verificou-se a genotoxicidade de todos os compostos para o peixe *Anguilla anguilla*, além de anormalidades no desenvolvimento e mortalidade em juvenis da espécie.

De acordo com estudos publicados pelo Texas Tech University (2000), quando ratos foram expostos ao glifosato puro, não foi observado qualquer efeito, porém expostos ao produto formulado, Roundup®, houve redução de 90% da produção de hormônios reprodutivos do animal (EPSTEIN, 2003). Pelo menos 17 tipos de ingredientes inertes foram

identificados nos herbicidas dos EUA como potenciais disruptores endócrinos (SHORT & CALBOM, 1999).

Girinos também apresentaram maior sensibilidade aos produtos formulados do que aos ingredientes ativos. Em bioensaios com a formulação Folisuper 600BR do ingrediente ativo inseticida paration metílico, Silva *et al* (2013) obtiveram uma $CL_{50;96h}$ de 0,36mg/L enquanto a $CL_{50;96h}$ obtidas por outro estudo citado pelo autor foi de 3,1mg/L para o ingrediente ativo, ou seja, o produto formulado foi aproximadamente 10 vezes mais tóxico que o ingrediente ativo. Além disso, em análises de genotoxicidade, os autores concluíram que em concentrações de 0,1 a 1000 μ g/L a formulação induz danos ao DNA do girino da espécie *Physalaemus cuvieri*.

Apesar de raros, existem alguns estudos que analisam a toxicidade dos ingredientes inertes separadamente, permitindo conclusões mais precisas do efeito destes produtos. Nobels *et al* (2011) e Ciarlo *et al* (2012), por exemplo, testaram o efeito de solventes e surfactantes na expressão gênica de bactérias e na aprendizagem de abelhas, respectivamente. Os primeiro autores afirmam que, em geral, os solventes foram menos tóxicos que os surfactantes, sendo estes preferíveis para a utilização em formulações, uma vez que os surfactantes são considerados mais genotóxicos. Os outros autores concluíram que o aprendizado das abelhas foi comprometido após ingestão de 20 μ L de organosilicone, o surfactante mais ativo testado.

No entanto, não foram encontrados na literatura trabalhos que abordassem comparações entre formulações e seus ingredientes ativos ou efeitos dos ingredientes inertes do ponto de vista ecossistêmico, ou seja, algumas espécies foram testadas isoladamente, porém não há, ou são muito raras, pesquisas que extrapolem os resultados para mais de uma espécie. No caso deste trabalho, as distribuições sensíveis foram analisadas de forma cumulativa permitindo essa visualização dos dados. Sendo assim, pode-se observar que para o ecossistema como um todo, o ingrediente ativo abamectina foi mais tóxico que o produto formulado Kraft®36EC, sendo que o ingrediente ativo seria mais tóxico para aproximadamente 70% do ecossistema. Por outro lado, o produto formulado Score®250EC foi mais tóxico que seu ingrediente ativo difenoconazol, sendo o produto formulado mais tóxico para aproximadamente 85% do ecossistema.

É importante ressaltar que para ambos os casos existe uma porcentagem, mesmo que seja menor, de organismos cuja maior sensibilidade ocorreu para o produto formulado no caso do Kraft®36EC/abamectina (30%) e outros para o ingrediente ativo, no caso do Score®250EC/difenoconazol (15%), demonstrando que os mecanismos de ação destes

compostos em diferentes organismos e diferentes parâmetros, assim como o mecanismo de ação dos ingredientes ativos, podem ser completamente diferentes (GUILHERME *et al*, 2012) conferindo, portanto, difíceis previsões sobre a ação tóxica dos ingredientes inertes.

Dessa forma, verifica-se que os produtos formulados podem apresentar maior toxicidade em relação ao seu ingrediente ativo devido a presença dos ingredientes inertes, podem compor misturas sinérgicas ou antagônicas dentre seus componentes (TAO *et al*, 2007; FRONTERA *et al*, 2011), conter inertes que potencializem o efeito dos ingredientes ativos mediando maior absorção (HARVILLE & QUE HEE, 1989; BAYNES & RIVIERI, 1998), ser mais amplamente distribuídos no ambiente (ZEINALI *et al*, 2011; LYONS *et al*, 2014) e de mais difícil degradação ou volatilização (HUSTON & PIGNATELLO, 19990; STEFANELLO JR *et al*, 2012), dentre outras transformações imprevisíveis e que, portanto, devem ser estudadas mais profundamente.

Frente as diferentes formas de interação existentes e os riscos associados, torna-se fundamental e necessária a ampla descrição dos produtos considerados como inertes nas formulações comerciais, o que permitiria uma melhor avaliação dos efeitos tóxicos dos mesmos, bem como ações mais efetivas de controle no uso dos agrotóxicos, incluindo, entre outras medidas, a substituição dos aditivos e adjuvantes por compostos menos tóxicos e de menor efeito em nível ecossistêmico.

5. Conclusões

- ❖ Produtos formulados, com base nos referenciais bibliográficos e nos testes de toxicidade realizados nesta pesquisa, são comprovadamente mais tóxicos que seus ingredientes ativos separadamente, quer seja em nível de espécies ou ecossistêmico
- ❖ O efeito diferenciado entre o produto formulado e o ingrediente ativo tem relação direta com a sensibilidade e com o modo de ação de cada contaminante. Para as espécies *P. subcapitata* (alga) e *D. rerio* (peixe), por exemplo, a toxicidade do produto formulado Kraft®36EC foi maior do que o ingrediente ativo (abamectina), enquanto para o Score®250EC e seu ingrediente ativo difenoconazol, a toxicidade do produto formulado foi maior para os cladóceros *C. dubia* e *D. similis*; o inseto *C. sancticaroli* e o peixe *D. rerio*.

- ❖ Em alguns casos a toxicidade dos ingredientes ativos foi maior que a toxicidade dos produtos formulados, como para *C. dubia*; *D. similis* e *C. sancticaroli* em relação à abamectina e para a *P. subcapitata* em relação ao difenoconazol. Tal fato pode representar uma ação antagônica que ocorre devido a presença de ingredientes inertes nas formulações.
- ❖ Em nível ecossistêmico, a abamectina foi mais tóxica para aproximadamente 70% da comunidade enquanto o Score®250EC foi mais tóxico para aproximadamente 85% da comunidade, demonstrando a necessidade de que ambos (ingrediente ativo e formulação comercial) sejam contemplados nos estudos de análise de risco ecológico.

6. Referências Bibliográficas

AMARANTE JUNIOR, O. P.; & SANTOS, T. C. R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação (Revisão). **Quím. Nova**, vol.25 N°4, 2002.

BAYNES, R. E.; RIVIERE, J. E. Influence of inert ingredients in pesticide formulations on dermal absorption of carbaryl . **American Journal of Veterinary Research**, Vol. 59, N° 2, P. 168-175, 1998.

BOLOGNESI, C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. **Mutation Research**, Amsterdam, vol.543, p.251–272, 2003.

BRASIL, Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, e seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acessado em: 15/06/2014.

CIARLO, T. J.; MULLIN, C. A.; FRAZIER, J. L.; SCHMEHL, D. R. Learning Impairment in Honey Bees Caused by Agricultural Spray Adjuvants. **Plos One**, Vol. 7 | N° 7, 2012. Disponível em: www.plosone.org. Acessado em: agosto de 2015.

COX, C. & SURGAN, M. Unidentified Inert Ingredients in Pesticides: Implications for Human and Environmental Health. **Environmental Health Perspectives**, Vol. 114, No. 12; pp. 1803-1806, 2007. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/4119588>. Acessado em: 13-08-2015.

DEL SARTO, M. C. L.; OLIVEIRA, E. E., GUEDES, R. N. C., CAMPOS, L. A. O.: Differential insecticide susceptibility of the neotropical stingless bee *Melipona Quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, Vol. 45, p. 626-636, 2014.

DOMINGUES, M. R.; BERNARDI, M. R.; ONO, E. Y. S.; ONO, M. A. Agrotóxicos: Risco à Saúde do Trabalhador Rural Pesticidas. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 25, p. 45-54, 2004.

EPSTEIN, D. J. Secret Ingredients: “Inert” compounds may be chemically active and toxic. **Scientific American**, Inc. 2003.

FISHEL, F. M. What are Inert Ingredients? (online) University of Florida IFAS extension, **General Pesticide Information**, 2014. Disponível em: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/PI/PI08100.pdf>. Acessado em: agosto de 2015.

FRONTERA, J., VATNICK, I., CHAULET, A., RODRÍGUEZ, E. Effects of glyphosate and polyoxyethylenamine on growth and energetic reserves in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae). **Arch Environ Contam Toxicol**, Vol. 61(4), p. 590–598, 2011.

GUILHERME, S.; SANTOS, M. A. BARROSO, C. GAIVA, O. PACHECO, M. Differential genotoxicity of Roundup formulation and its constituents in blood cells of fish (*Anguilla anguilla*): considerations on chemical interactions and DNA damaging mechanisms. **Ecotoxicology**, 2, p. 1381–1390, 2012.

HARVILLE J, QUE HEE SS. 1989. Permeation of a 2,4-D isooctyl ester formulation through neoprene, nitrile, and tyvek protection materials. **Am Ind Assoc Hyg J**, 50:438-446.

HUSTON, P. L. & PIGNATELLO, J. J. Degradation of selected pesticide active ingredients and commercial formulations in water by the photo-assisted fenton reaction. **Wat. Res**, Vol. 33, Nº. 5, p. 1238–1246, 1999.

LAN, C. H., PENG, C. Y.; LIN, T. S. Acute aquatic toxicity of N-methyl-2-pyrrolidinone to *Daphnia magna*. **Bull Environ Contam Toxicol**, Vol. 73(2), p. 392–397, 2004.

LYONS, R. BITTNER, K. V.; MORGAN-JONES, S. Deposition patterns and transport mechanisms for the endocrine disruptor 4-nonylphenol across the Sierra Nevada Mountains, California. **Environmental Pollution**, Vol. 195, p. 123 -132, 2014.

MESNAGE, R.; DEFARGE, N.; VENDÔMOIS, J. S.; SÉRALINI; G.E. Major Pesticides Are More Toxic to Human Cells Than Their Declared Active Principles. **BioMed Research International**, Vol. 2014, 8p, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/179691>. Acessado em: agosto de 2015.

MULLIN, C. A. Effects of ‘inactive’ Ingredients on bees. **Current Opinion in Insect Science**, Vol. 10 p. 194–200, 2015.

NOBELS, I.; SPANOGHE, P.; HAESAERT, G.; ROBBENS, J.; BLUST, R. Toxicity Ranking and Toxic Mode of Action Evaluation of Commonly Used Agricultural Adjuvants on the Basis of Bacterial Gene Expression Profiles. **Plos One**, Vol. 6, Nº 11, 2011. Disponível em: www.plosone.org. Acessado em: agosto de 2015.

NOVELLI, A. VIEIRA, B. H.; VASCONCELOS, A. M. PERET, A. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Field and laboratory studies to assess the effects of Vertimec® 18EC on *Daphnia similis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Vol. 75, p. 87 – 93, 2012b.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; CORDEIRO, D.; CAPPELINI, L. T. D.; VIEIRA, E. M.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal effects of abamectina on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. **Chemosphere**, Vol. 86, p. 36 – 40, 2012a.

NPIC, 2014. **National Pesticide Information center**. Other/Inert ingredients in pesticide. Disponível em: <http://npic.orst.edu/ingred/inert.html>. Acessado em: agosto de 2015.

RAMOS, R. C. Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18CE em ecossistemas de água doce por meio de estudos experimentais em laboratório e in situ. **(Tese de Doutorado)**. Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

ROON , F. J. K. HOOK , S. E. M ETCALFE, S, JONES, D. Altered levels of endocrine biomarkers in juvenile barramundi (lates calcarifer; bloch) following exposure to commercial herbicide and surfactant formulations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Vol. 34, No. 8, p. 1881–1890, 2015.

SAILLENFAIT, A. M., GALLISSOT, F., SABATE, J. P. Developmental toxic effects of N-ethyl-2-pyrrolidone administered orally to rats. **J Appl Toxicol**, Vol. 27(5), p.491–497, 2007.

SHORT, P. & CALBOM, T. Pesticide use in the U.S. and policy implications: A focus on herbicides . **Toxicology and Industrial Health**, Vol. 15, p. 240-2751-2, 1999.

SILVA, H. S. V. P.; LOIOLA, C; PEREIRA, S. R. F.; SANTOS, R. L.; ANDRADE, G. V.; NUNES, G. S. Toxicidade aguda e genotoxicidade do agrotóxico comercial folisuper 600br a girinos de *Physalaemus cuvieri* (ANURA: LEIUPERIDAE). **Rev. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 23, p. 1-10, 2013.

STEFANELLO JR., G. J.; GRUTZMACHER, A. D.; SPAGNOL, D.; PASINI, R. A.; BONEZ, C.; MOREIRA, D. C. Persistence of pesticides used in corn field to the parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, Vol. 42, Nº 1, p. 17-23, 2012.

SURGAN, M. H., GERSHON, A. G. The Secret Ingredients in Pesticides: Reducing the Risk. New York:Office of the Attorney General, **Environmental Protection Bureau**, 2000. Disponível em: <http://www.oag.state.ny.us/press/reports/inerts/>. Acessado em: agosto de 2015.

TAO, B. ZHOU, J. MESSERSMITH, C. G.; NALEWAJA, J. D. Efficacy of Glyphosate Plus Bentazon or Quizalofop on Glyphosate-Resistant Canola or Corn. **Weed Technology**, 21(1):97-101. 2007

TOMINACK, R. L. Herbicide formulations. **Journal of Toxicology - Clinical Toxicology**, Vol. 38: 2, p. 129-135, 2000.

U.S. Environmental Protection Agency (U.S.EPA). 2015. ECOTOX User Guide: **ECOTOXicology Database System**. Version 4.0. Disponível em: <http://www.epa.gov/ecotox/>

U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). Pesticide Regulation Notice 97-6. Use of Term "Inert" in the Label Ingredients Statement, 1997. Disponível em: http://www.epa.gov/opppmsdl/PR_Notices/pr97-6.html. Acessado em: agosto de 2015.

ZEINALI, M.; MCCONNELL, L. L.; HAPEMAN, C. J.; NGUYEN, A.; SCHMIDT, W. F.; HOWARD, C. J. Volatile organic compounds in pesticide formulations: Methods to estimate ozone formation potential. **Atmospheric Environment**, Vol. 45, p. 2404-2412, 2011.

Zhao S, Yuan S-K, Cai B, Jiang H, Wang X-J, Lin R-H, Qu W-G, Zhang Z-R: The acute oral toxicity of 300 formulated pesticides o *Apis mellifera*. **Agrochemicals**, Vol. 50, p. 278-280, 2011.

ZHU, W. SCHMEHL, D. R.; MULLIN, C. A.; FRAZIER, J. L. Four Common Pesticides, Their Mixtures and a Formulation Solvent in the Hive Environment Have High Oral Toxicity to Honey Bee Larvae. **Plos One**, Vol. 9, N° 1, 2014. Disponível em: www.plosone.org. Acessado em: agosto de 2015.

**APÊNDICE 1: Resultados dos testes de
sensibilidade e toxicidade**

Testes de Sensibilidade

Tabela 1: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referência NaCl (g/L)

Solução teste (g/l)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	617	503	570	1690	563,333	57,291652	90,133333	100	10,46	10,24	10,4
0,5	534	574	514	1622	540,667	30,550505	86,506667	95,976	10,34	8,88	10,14
2	461	504	551	1516	505,333	45,014812	80,853333	89,704	10,18	9,65	10,15
3,5	347	411	354	1112	370,667	35,104606	59,306667	65,799	8,16	8,37	8,15
5	206	165	257	628	209,333	46,090491	33,493333	37,16	7,9	7,75	7,94
6,5	37	37	43	117	39	3,4641016	6,24	6,9231	7,41	7,46	7,42

Tabela 2: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referência NaCl (g/L).

Solução teste (g/l)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	900	835	674	2409	803	116,34861	128,48	100	9,89	9,87	10,08
0,5	587	662	545	1794	598	59,270566	95,68	74,471	9,98	10,04	9,92
2	458	422	520	1400	466,667	49,571497	74,666667	58,115	9,7	9,69	9,85
3,5	335	324	288	947	315,667	24,583192	50,506667	39,311	9,03	9,35	9,42
5	298	339	300	937	312,333	23,115651	49,973333	38,896	9,12	9,08	8,09
6,5	52	74	60	186	62	11,135529	9,92	7,721	7,32	7,25	7,32

Tabela 3: Resultado do teste de sensibilidade para o organismo-teste *C. dubia* exposto a solução referência NaCl (g/L).

Solução teste (g/l)	Variáveis amostra			Organismos imóveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,52	6,88	152,4	0	0	0	0	0	0	7,62	7,05
1	7,44	6,9	2020	0	2	1	1	4	20	7,45	7,05
1,3	7,44	6,89	2320	0	2	4	1	7	35	7,49	7,05
1,6	7,37	6,89	3040	5	5	5	5	20	100	7,49	7,06
2,2	7,3	6,91	3970	5	5	5	5	20	100	7,38	7,03
2,5	7,28	6,96	4570	5	5	5	5	20	100	7,4	7,02

Tabela 4: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. similis* exposto a solução referência KCl (g/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis amostra			Organismos imóveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,28	2,91	148,1	0	0	0	0	0	0	7,48	7,3
150	7,38	7,03	418	1	0	0	0	1	5,26	7,42	7,29
300	7,4	7,04	659	0	0	0	0	0	0	7,45	7,3
450	7,36	7,04	951	0	1	0	0	1	5	7,38	7,31
600	7,38	7,04	1207	3	3	3	2	11	55	7,38	7,29
900	7,36	7,06	1706	5	5	5	5	20	100	7,38	7,32

Tabela 5: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *D. similis* exposto a solução referência KCl (g/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis amostra			Organismos imóveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,42	7,21	159,5	0	0	0	0	0	0	7,62	7,56
150	7,42	7,16	420	0	0	0	0	0	0	7,55	7,54
300	7,45	7,04	683	0	0	0	0	0	0	7,48	7,44
450	7,38	7,07	935	0	0	1	0	1	5	7,52	7,48
600	7,35	7,08	1182	0	2	4	5	11	57,89	7,47	7,4
900	7,35	7,07	1684	5	5	5	5	20	100	7,42	7,38

Tabela 6: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *C. sancticaroli* exposto a solução referência KCl (g/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis amostra			Organismos imóveis/mortos			Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3			pH	OD
Controle	6,95	7,46	184,3	0	0	1	1	6,25	6,59	6,22
1,5	6,79	7,58	251	0	0	0	0	0	6,5	6,43
2,25	6,78	7,64	387	0	0	0	0	0	6,49	6,37
3,5	6,7	7,63	571	0	0	0	0	0	6,48	6,34
5	6,6	7,64	798	0	1	1	2	12,50	6,34	6,24
7,5	6,53	7,64	116,4	6	6	6	18	100	6,24	6,38

Tabela 7: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *C. sancticaroli* exposto a solução referência KCl (g/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis amostra			Organismos imóveis/mortos			Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3			pH	OD
Controle	7,03	6,9	184,3	1	0	0	1	6,25	6,45	6,94
1,5	6,98	7,04	251	0	0	0	0	0	6,22	6,96
2,25	7,08	7,04	387	0	0	0	0	0	6,12	6,93
3,5	7,03	7,05	571	1	1	1	3	18,75	6,24	6,97
5	7,02	7,14	798	3	3	3	9	56,25	6,28	6,88
7,5	6,99	7,05	116,4	6	6	6	18	100	6,29	6,8

Tabela 8: Resultado do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referência KCl (mg/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis Iniciais			Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais		
	pH	OD	Cond.	24h	48h			pH	OD	Cond.
Controle	7,4	7,37	152,6	0	0	10	0	7,13	5,18	161,4
300	7,33	7,34	699	0	0	10	0	7,02	4,43	743
600	7,038	7,36	1155	0	0	10	0	-	-	-
900	7,42	7,35	1733	3	5	10	50	-	-	-
1200	7,38	7,4	2260	9	10	10	100	7,06	5,7	2350
1500	7,38	7,36	2700	10	10	10	100	7,13	5,87	2780

Tabela 9: Resultado do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referência KCl (mg/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis Iniciais			Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais		
	pH	OD	Cond.	24h	48h			pH	OD	Cond.
Controle	7,76	7,21	152,6	0	0	10	0	7,22	5,49	161,4
300	7,78	7,17	699	0	0	10	0	7,23	5,4	743
600	7,79	7,15	1155	0	0	10	0	7,28	5,4	1155
900	7,78	7,12	1733	0	1	10	10	7,24	5,39	1733
1200	7,78	7,11	2260	0	2	10	20	7,28	5,55	2350
1500	7,76	7,11	2700	0	5	10	50	7,19	4,27	2780

Tabela 10: Resultado do teste de sensibilidade nº 3 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referência KCl (mg/L).

Solução teste (mg/l)	Variáveis Iniciais			Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais		
	pH	OD	Cond.	24h	48h			pH	OD	Cond.
Controle	7,74	7,13	152,6	0	0	10	0	7,18	5,62	161,4
300	7,73	7,01	752	1	1	10	10	7,32	6,04	743
600	-	-	-	1	1	10	10	-	-	-
900	7,62	6,84	1675	0	1	10	10	7,2	5,35	1733
1200	-	-	-	3	9	10	90	-	-	-
1500	7,74	6,9	2590	4	10	10	100	7,46	6,59	2780

Gráficos dos testes de sensibilidade

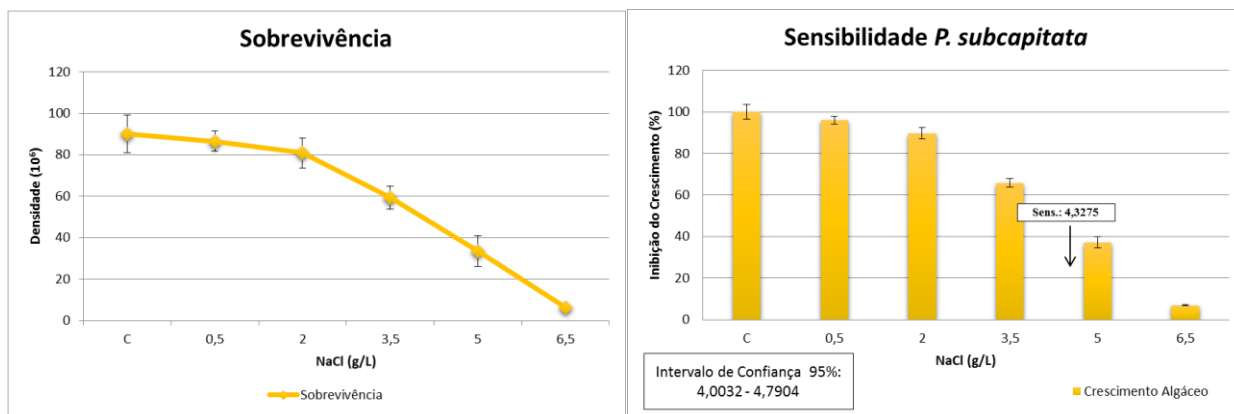


Figura 1: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referência NaCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 96h e intervalos de confiança (95%).

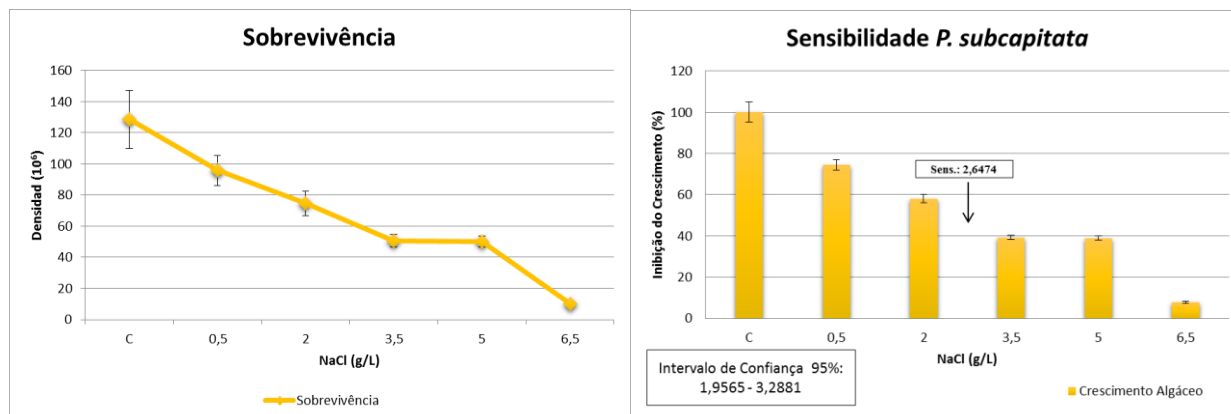


Figura 2: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *P. subcapitata* exposto a solução referência NaCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 96h e intervalos de confiança (95%).

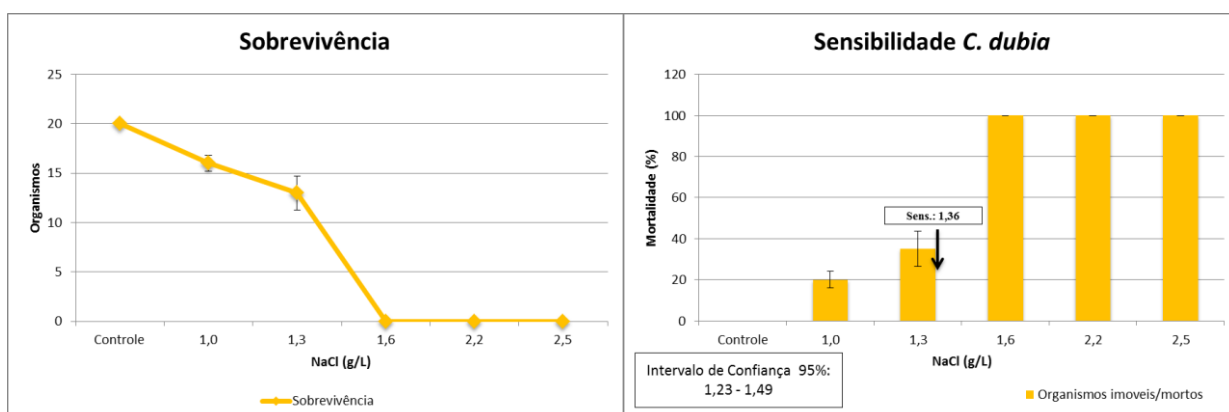


Figura 3: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade para o organismo-teste *C. dubia* exposto a solução referência NaCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 48h e intervalos de confiança (95%).

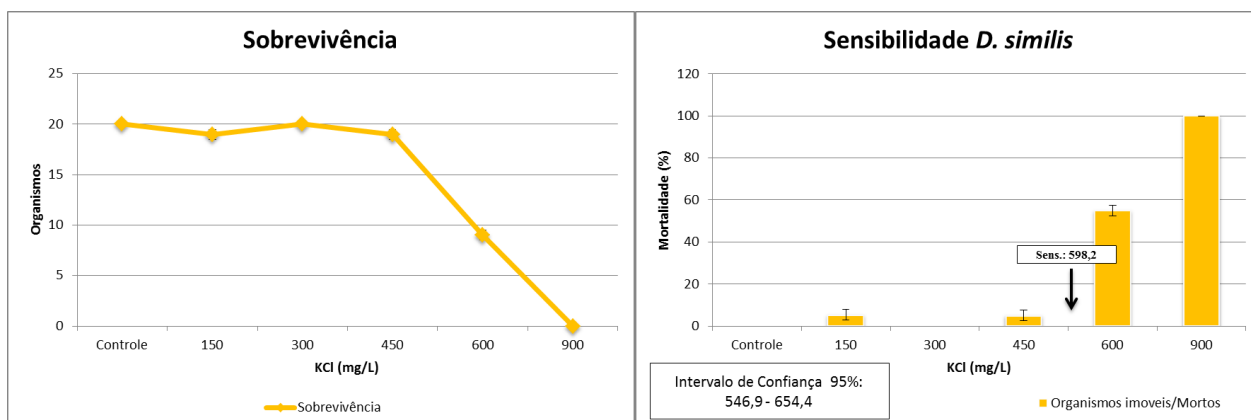


Figura 4: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. similis* exposto a solução referência KCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 48h e intervalos de confiança (95%).

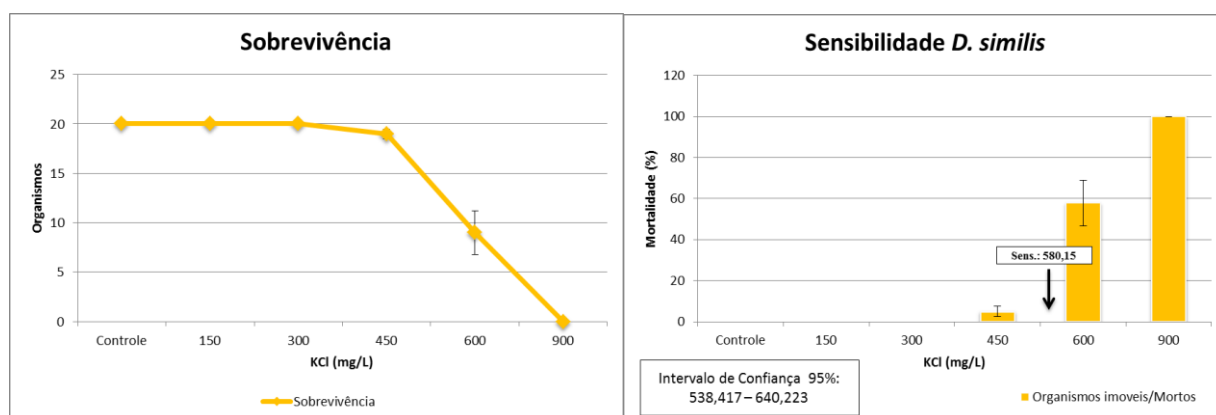


Figura 5: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *D. similis* exposto a solução referência KCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 48h e intervalos de confiança (95%).

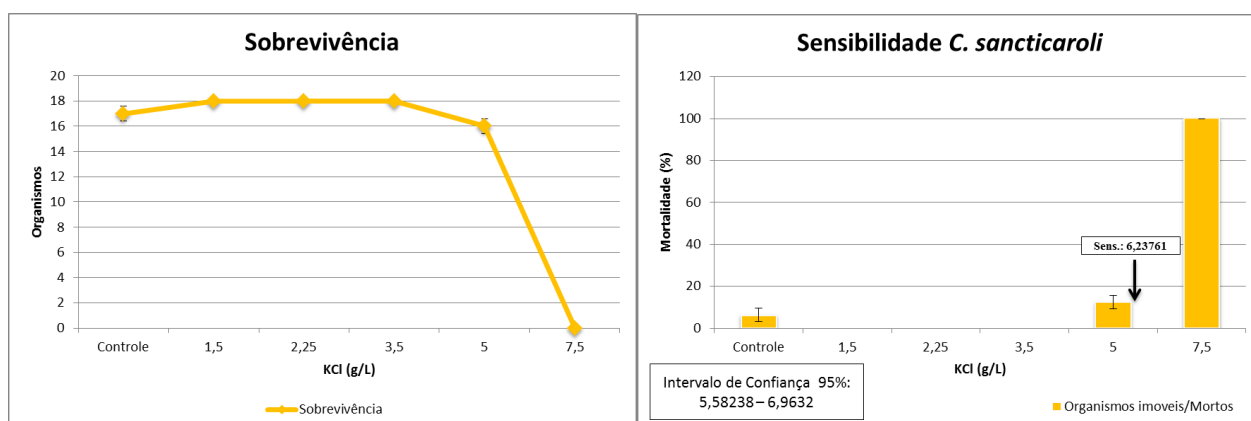


Figura 6: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *C. sancticaroli* exposto a solução referência KCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 96h e intervalos de confiança (95%).

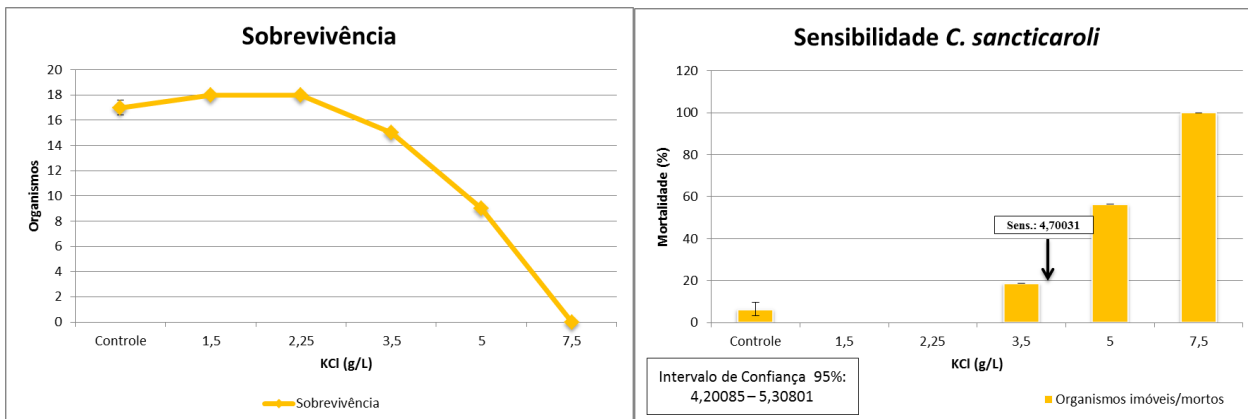


Figura 7: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 2 para o organismo-teste *C. sancticarioli* exposto a solução referência KCl (g/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

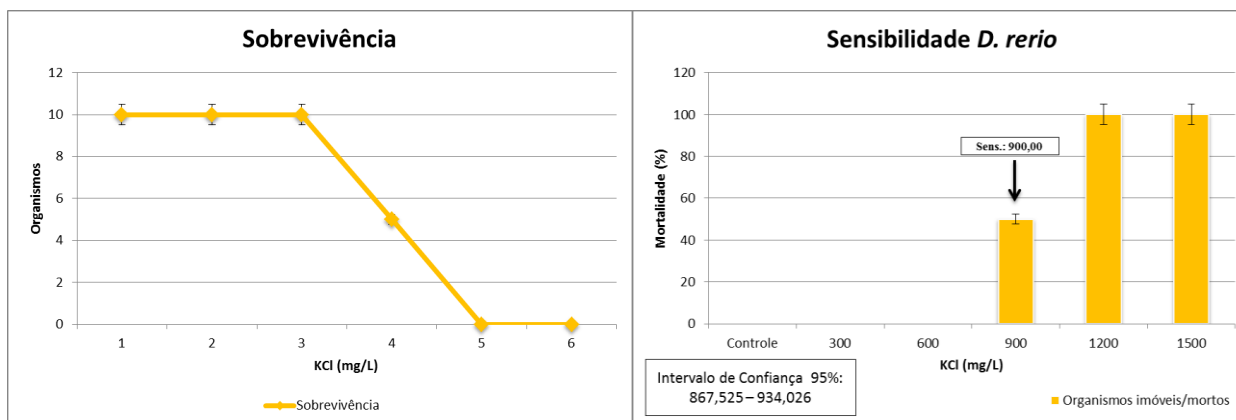


Figura 8: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referência KCl (mg/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

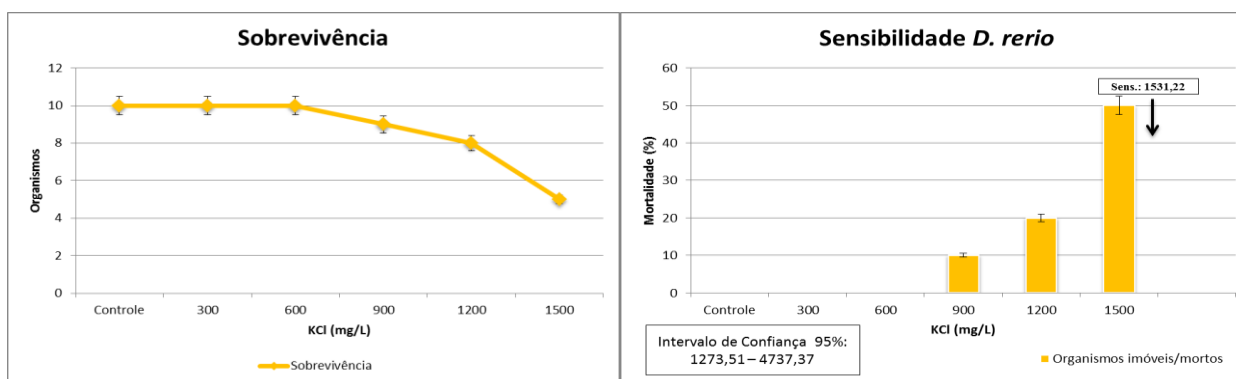


Figura 9: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 1 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referência KCl (mg/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

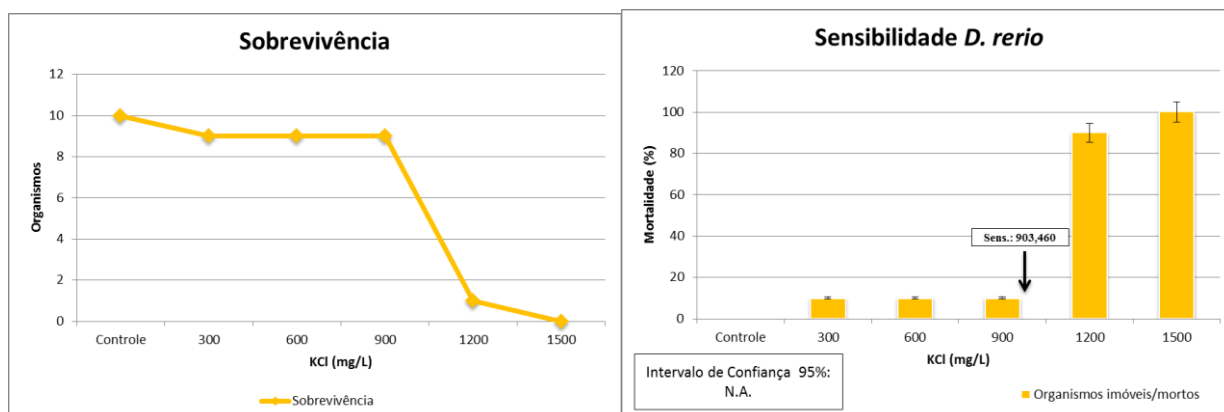


Figura 10: Gráficos com resultados do teste de sensibilidade nº 3 para o organismo-teste *D. rerio* exposto a solução referência KCl (mg/L), onde a) curva de sobrevivência com barras de desvio padrão e b) mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

Testes de Toxicidade

Tabela 11: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Kraft (%)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	512	897	950	2359	786,33	239,05299	377,44	100	9,79	10,4	10,41
1,56	824	974	714	2512	837,33	130,51181	401,92	106,5	10,32	10,5	10,03
3,12	955	798	556	2309	769,67	201,00332	369,44	97,88	10,54	6,25	10,47
6,25	502	815	853	2170	723,33	192,61966	347,2	91,99	10,47	10,48	10,5
12,5	894	618	1010	2522	840,67	201,36865	403,52	106,9	10,53	9,03	9,54
25	359	170	298	827	96,459	275,66667	132,32	35,06	9,78	9,44	9,92
50	13	37	9	59	19,667	15,143756	9,44	2,349	8,06	8,02	8,08
100	12	3	0	15	5	6,244998	0,649632	2,4	8,2	8,07	8,12

Tabela 12: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Abamectina (mg/L)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	499	616	591	1706	568,67	61,61	100	100	10,5	10,4	10,1
CS	437	656	724	1817	605,67	149,97	106,51	106,51	10,13	10,38	8,94
1	544	380	473	1397	465,67	82,25	81,89	81,89	10,3	10,29	10,38
5	534	422	587	1543	514,33	84,24	90,45	90,45	9,9	10,2	9,26
10	698	477	607	1782	594,00	111,07	104,45	104,45	10,07	10,15	8,6
15	677	682	586	1945	648,33	54,04	114,01	114,01	10,2	10,21	9,48
20	446	314	403	1163	387,67	67,32	64,01	64,01	9,98	8,53	9,35

Tabela 13: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Abamectina (mg/L)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	704	623	638	1965	655	43,092923	100	100	-	-	-
CS	598	655	630	1883	627,667	28,571548	95,82697	95,83	-	-	-
1	649	605	566	1820	606,667	41,525093	92,62087	92,62	-	-	-
5	378	359	397	1134	378	19	57,70992	57,71	-	-	-
10	300	325	262	887	295,667	31,722757	45,13995	45,14	-	-	-
15	346	336	327	1009	336,333	9,504385	51,3486	51,35	-	-	-
20	282	216	281	779	259,667	37,819748	41,37015	41,37	-	-	-

*Resultado de Vieira, 2010

Tabela 14: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 3 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Abamectina (mg/L)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	258	298	355	911	303,667	48,74765	100	100	-	-	-
CS	373	356	336	1065	355	18,520259	116,9045	116,9	-	-	-
1	331	329	370	1030	343,333	23,115651	113,0626	113,1	-	-	-
5	290	279	304	873	291	12,529964	95,82876	95,83	-	-	-
10	239	255	222	716	238,667	16,502525	78,59495	78,59	-	-	-
15	158	233	196	587	195,667	37,501111	64,43469	64,43	-	-	-
20	98	77	54	229	76,3333	22,007574	21,50235	21,5	-	-	-

*Resultado de Vieira, 2010

Tabela 15: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score@250EC para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Score (%)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	486	745	926	2157	719	221,15	100	100	9,19	10,19	10,45
1,56	460	483	388	1331	443,67	49,56	61,71	61,71	10,18	10,2	10,15
3,12	41	28	30	99	33	7	4,59	4,59	7,78	7,68	7,69
6,25	13	6	11	30	10	3,61	1,39	1,39	7,46	7,38	7,45
12,5	7	6	5	18	6	1	0,83	0,83	7,32	7,42	7,42
25	4	10	12	26	8,67	4,16	1,21	1,21	7,37	7,43	7,42
50	11	12	9	32	10,67	1,53	1,48	2,40	7,45	7,44	7,45
100	10	10	6	26	8,67	2,31	1,21	26,26	7,38	7,48	7,48

Tabela 16: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Difenoconazol (mg/L)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	480	705	689	1874	624,67	125,54	100	100	10,41	10,52	10,27
CS	615	573	362	1550	516,67	135,58	82,71	82,71	10,36	10,46	10,16
1	505	451	586	1542	514,00	67,95	82,28	82,28	10,26	10,39	10,31
2	322	590	362	1274	424,67	144,57	67,98	67,98	9,18	10,21	9,38
4	205	302	147	654	218	78,31	34,90	34,90	9,17	9,24	10,15
8	4	14	2	20	6,67	6,43	1,07	1,07	7,63	7,76	7,81
16	20	2	6	28	9,33	9,45	1,81	1,81	7,2	7,31	7,22

Tabela 17: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata*.

Difenoconazol (mg/L)	Contagem de células			Soma	Média	Desv. Pad.	Densidade	%	Variáveis finais		
	1	2	3						pH		
C	529	529	509	1567	522,33	11,55	100	100	9,82	9,96	9,89
CS	675	692	592	1959	653	53,51	125,02	125	9,88	9,94	10,05
1	605	611	589	1805	601,67	11,37	115,19	115	10,04	9,88	9,53
2	179	223	190	592	197,33	22,90	37,78	37,8	9,32	8,3	8,65
4	16	14	19	49	16,33	2,52	3,13	3,13	7,32	7,36	7,19
8	8	14	9	31	10,33	3,21	1,98	1,98	7,24	7,15	7,22
16	16	8	8	32	10,67	4,62	1,63	1,63	7,13	7,12	7,15

Tabela 18: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste *C. dubia*.

Kraft (%)	Variáveis amostra		Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,52	7,1	0	0	0	0	0	0	7,6	7,27
0,000195	7,63	6,83	0	0	0	1	1	5	7,65	7,14
0,000391	-	-	5	4	1	1	0	0	-	-
0,000781	-	-	5	4	0	2	11	55	-	-
0,001563	7,62	6,82	4	3	3	5	15	75	7,64	7,18
0,003125	-	-	5	5	5	3	18	90	-	-
0,00625	7,63	6,87	5	4	2	1	12	60	7,68	7,12

Tabela 19: Resultado do teste de toxicidade aguda com abamectina para o organismo-teste *C. dubia*.

Abamectina (ng/L)	Variáveis amostra		Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	1	2	3	4			pH	OD
CS	7,59	7,13	0	0	0	0	0	0	7,67	7,49
2,5	7,59	7,15	0	1	0	0	1	5	7,68	7,57
5	-	-	2	1	1	1	5	25	-	-
10	-	-	1	0	2	2	5	25	-	-
15	7,6	7,11	0	2	1	1	4	20	7,66	7,25
20	-	-	2	0	1	1	4	20	-	-
40	-	-	5	5	1	3	14	70	-	-
80	7,58	7,05	4	3	3	2	12	60	7,66	7,21

Tabela 20: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste *C. dubia*.

Score (%)	Variáveis amostra		Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,52	7,1	1	0	0	0	1	5	7,68	7,6
0,0003125	7,52	6,84	0	0	1	0	1	5	7,67	7,53
0,00625	-	-	1	0	2	0	3	15	-	-
0,0125	-	-	1	0	1	2	0	0	-	-
0,025	7,6	6,77	0	1	0	0	1	5	7,68	7,39
0,05	-	-	1	3	1	0	5	25	-	-
0,1	-	-	0	0	2	1	3	15	-	-
0,2	7,64	6,68	0	2	5	1	8	40	7,62	7,59
0,39	-	-	4	1	4	2	11	55	-	-
0,78	1,62	6,76	4	2	2	4	12	60	7,64	7,55

Tabela 21: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*.

Difenoconazol (mg/L)	Variáveis amostra		Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	1	2	3	4			pH	OD
CS	7,48	7,2	0	0	0	0	0	0	7,69	7,2
0,0625	7,56	7,26	1	1	1	2	5	25	7,65	7,17
0,125	-	-	1	1	1	0	3	15	-	-
0,25	7,58	7,26	0	3	2	2	7	35	7,68	7,25
0,5	-	-	0	1	0	2	3	15	-	-
1	7,58	7,29	2	4	4	4	14	70	7,68	7,31

Tabela 22: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*

Difenoconazol (mg/L)	Variáveis amostra		Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	1	2	3	4			pH	OD
CS	7,51	7,1	0	0	0	0	0	0	7,69	7,18
0,03125	7,52	7,15	0	1	0	1	2	10	7,64	7,01
0,5	-	-	2	2	3	2	9	45	-	-
1	7,48	7,07	2	3	5	4	14	70	7,65	6,91
2	-	-	5	5	5	5	20	100	-	-
4	7,48	7,03	5	5	5	5	20	100	7,66	7

Tabela 23: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. similis*.

Kraft (%)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,28	2,91	148,1	2	0	0	0	2	10	7,82	7,8
0,00325	7,63	7,08	152,2	1	2	3	1	7,00	35	7,7	7,72
0,00625	7,61	7,05	152,3	1	5	3	4	13	65	7,76	7,73
0,0125	7,59	7	151,6	5	5	5	5	20	100	7,75	7,71
0,025	7,59	6,93	152,1	5	5	5	5	20	100	7,78	7,73
0,05	7,57	6,92	151,6	5	5	5	5	20	100	7,79	7,69
0,1	7,58	6,9	151,2	5	5	5	5	20	100	7,78	7,68
0,2	7,57	6,93	150,8	5	5	5	5	20	100	7,79	7,7
0,39	7,58	6,91	151,2	5	5	5	5	20	100	7,8	7,67
0,78	7,55	6,88	151,7	5	5	5	5	20	100	7,78	7,68

Tabela 24: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. similis*.

Kraft (%)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,38	7,01	148,1	0	0	0	0	0	0	7,42	7,3
0,00625	7,62	7,08	152,2	0	4	4	2,00	10	50	7,43	7,24
0,0125			152,3	5	5	5	5	20	100		
0,025			151,6	5	5	5	5	20	100		
0,05	7,47	7,02	152,1	5	5	5	5	20	100	7,4	7,21
0,1			151,6	5	5	5	5	20	100		
0,2			151,2	5	5	5	5	20	100		
0,39			150,8	5	5	5	5	20	100		
0,78	7,49	7,04	151,2	5	5	5	5	20	100	7,45	7,2

Tabela 25: Resultado do teste de toxicidade aguda com abamectina para o organismo-teste *D. similis*.

Abamectina (ng/L)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,52	7,41	148,9	0	0	0	1	1	5	7,7	8,15
CS	7,54	7,38	147,6	0	0	0,00	0	0	0	7,73	8,08
0,5	7,58	7,28	146,8	1	0	0	0	1	5	7,74	8,1
2,5	-	-	-	3	0	1	0	4	20	-	-
5	7,59	7,28	153,1	5	4	3	4	16	80	7,73	8,13
7,5	-	-	-	5	5	4	5	19	95	-	-
10	7,61	7,3	153,8	5	5	5	5	20	100	7,72	8,12
12,5	-	-	-	5	5	5	5	20	100	-	-
15	7,62	7,24	153,5	5	5	5	5	20	100	7,73	8,15
17,5	-	-	-	5	5	5	5	20	100	-	-
20	7,64	7,28	153,7	5	5	5	5	20	100	7,72	8,12
40	7,6	7,3	154,8	5	5	5	5	20	100	7,74	8,13

Tabela 26: Resultado do teste de toxicidade aguda nº1 com Score®250EC para o organismo-teste *D. similis*.

Score (%)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,58	6,94	150,2	0	0	0	0	0	0	7,68	8,2
0,1	7,68	7,49	152,6	0	0	0	0	0	0	7,72	8,19
0,2	7,58	7,48	150,5	1	0	0	0	1	5	7,72	8,17
0,39	7,66	7,45	121,2	1	0	1	0	2	10	7,69	8,15
0,78	7,58	7,46	151,2	2	4	4	4	14	70	7,72	8,17
1,56	7,66	7,45	150,7	5	4	4	4	17	85	7,72	8,18
3,12	7,62	7,46	150,8	5	5	5	5	20	100	7,76	8,25
6,25	7,58	7,47	151,4	5	5	5	5	20	100	7,68	8,2
12,5	7,62	7,44	150,3	5	5	5	5	20	100	7,72	8,19
25	7,58	7,39	150,2	5	5	5	5	20	100	7,72	8,17
50	7,68	7,38	152,6	5	5	5	5	20	100	7,69	8,15
75	7,68	7,35	150,5	5	5	5	5	20	100	7,72	8,17
100	7,74	7,38	152,7	5	5	5	5	20	100	7,76	8,16

Tabela 27: Resultado do teste de toxicidade aguda nº2 com Score®250EC para o organismo-teste *D. similis*.

Score (%)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,52	7,1	-	0	0	0	0	0	0	7,74	8,18
0,1	-	-	-	0	1	0	0	1	5	-	-
0,2	7,64	6,68	-	2	0	0	0	2	10	7,78	8,3
0,39	-	-	-	2	0	1	0	3	15	-	-
0,78	7,62	6,76	-	3	1	0	3	7	35	7,72	8,09
1,56	-	-	-	5	5	5	4	19	95	-	-
3,12	-	-	-	5	5	5	5	20	100	-	-
6,25	7,65	6,78	-	5	5	5	5	20	100	7,69	8,1

Tabela 28: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*.

Difenoconazol (mg/L)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,38	7,02	150,9	0	0	0	0	0	0	7,71	7,84
CS	7,47	6,81	151,2	0	0	0	0	0	0	7,68	7,8
0,2	7,48	6,83	149	1	0	0	0	1	5	7,68	7,78
0,4	7,42	6,8	150,9	2	2	1	0	5	25	7,69	7,8
0,8	7,42	6,78	149,8	5	5	1	2	13	65	7,65	7,74
1,6	7,48	6,82	152,9	5	4	5	5	19	95	7,62	7,74
3,2	7,48	6,79	149,4	5	5	5	5	20	100	7,6	7,72

Tabela 29: Resultado do teste de toxicidade aguda nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*.

Difenoconazol (mg/L)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos				Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3	4			pH	OD
Controle	7,52	7,41	148,9	0	1	0	0	1	5	7,72	8,02
CS	7,54	7,38	147,6	0	1	0	0	1	5	7,71	7,97
0,2	7,55	7,29	149,9	0	0	0	0	0	0	7,73	7,98
0,4	-	-	-	0	1	0	0	1	5	-	-
0,6	7,58	7,34	152,4	1	0	0	0	1	5	7,73	7,98
0,8	-	-	-	0	1	0	1	2	10	-	-
1,2	7,62	7,33	152,8	2	0	2	2	6	30	7,73	7,98
1,6	-	-	-	5	5	4	2	16	80	-	-
2,4	7,62	7,33	152,5	5	5	5	5	20	100	7,74	7,94
3,2	-	-	-	5	5	5	5	20	100	-	-
4,8	7,63	7,31	152,1	5	5	5	5	20	100	-	-
6,4	7,63	7,32	152,5	5	5	5	5	20	100	7,72	7,92

Tabela 30: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*.

Kraft (%)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos			Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3			pH	OD
Controle	7,22	7,38	-	0	0	0	0	0	6,66	5,53
0,025	7,2	7,38	-	1	1	4	6	30	6,08	6,8
0,1	-	-	-	5	5	6	16	80	-	-
0,39	7,22	7,34	-	6	5	6	17	85	6,4	6,71
1,56	-	-	-	6	6	6	18,00	90	-	-
6,25	7,19	7,38	-	6	6	6	18	90	6,38	6,6

Tabela 31: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*.

Score (%)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos			Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3			pH	OD
Controle	7,36	7,1	-	0	0	0	0	0	6,39	7,02
CS	-	-	-	0	0	0	0	0	6,67	5,49
0,025	7,38	7,12	-	0	0	0	0	0	6,32	6,48
0,1	-	-	-	0	0	0	0	0	-	-
0,39	7,32	7,09	-	0	0	0,00	0	0	6,3	6,72
1,56	7,35	7,1	-	1	4	5	10	50	6,14	6,61
6,25	-	-	-	6	6	6	18	90	-	-
25	7,38	7,17	-	6	6	6	18	90	6,49	6,53

Tabela 32: Resultado do teste de toxicidade aguda com difenoconazol para o organismo-teste *C. sancticaroli*.

Difenoconazol (mg/L)	Variáveis amostra			Organismos imoveis/mortos			Efeito	%	Variáveis finais	
	pH	OD	Cond.	1	2	3			pH	OD
Controle	7,3	7,11	49,8	3	1	1	5	25	7,02	7,11
CS	7,25	7,06	48,5	1	1	1	3	15	5,49	7,06
0,375	7,24	7,02	48,5	0	0	0	0	0	6,48	7,02
0,75	-	-	-	1	1	1	3	15	-	-
1,5	7,22	7,02	50,1	0	1,00	0	1	5	6,72	7,02
3	-	-	-	1	1	0	2	10	-	-
6	7,22	7	48,3	5	4	5	14	70	6,61	7

Tabela 33: Resultado do teste de toxicidade aguda com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. rerio*.

Kraft (%)	Variáveis Iniciais		Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais	
	pH	OD	24h	48h			pH	OD
Controle	7,76	7,21	0	0	0	0	7,18	4,67
0,05	-	-	0	0	0	0	-	-
0,19	7,76	7,01	0	0	0	0	7,06	4,67
0,78	-	-	0	4	4	40	-	-
3,12	7,71	6,89	0	10	10	100	7,18	4,55
12,5	-	-	7	10	17	100	-	-

Tabela 34: Resultado do teste de toxicidade aguda com abamectina para o organismo-teste *D. rerio*.

Abamectina (µg/L)	Variáveis Iniciais			Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais		
	pH	OD	Cond.	24h	48h			pH	OD	Cond.
Controle	7,62	7,31	153,9	-	0	10	0	6,88	5,41	151,7
CS	7,63	7,31	148	-	0	10	0	6,78	5,58	153,7
20	7,68	7,29	149,1	-	0	10	0	6,82	5,25	152,2
40	7,7	7,31	147,1	-	0	10	0	6,92	5,41	152,1
60	7,72	7,26	147,7	-	0	10	0	7,08	5,97	161,8
80	7,72	7,29	147,5	-	1	10	10	7,12	6,06	153,6
100	7,71	7,3	145,4	-	8	10	80	6,82	5,16	153,7

Tabela 35: Resultado do teste de toxicidade aguda com Score®250EC para o organismo-teste *D. rerio*.

Score (%)	Variáveis Iniciais		Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais	
	pH	OD	24h	48h			pH	OD
Controle	7,73	7,1	0	0	10	0	7,76	4,21
0,18	6,61	6,82	0	0	10	0	7,62	4,98
0,37			1	1	10	10	-	-
0,75	7,62	6,86	0	0	10	0	7,62	4,74
1,5			3	3	10	30	-	-
3			10	10	10	100	-	-
6	7,59	6,86	10	10	10	100	7,79	5,07

Tabela 36: Resultado do teste de toxicidade aguda com difenoconazol para o organismo-teste *D. rerio*.

Difenoconazol (mg/L)	Variáveis Iniciais			Organismos imóveis/mortos		Total	%	Variáveis Finais		
	pH	OD	Cond.	24h	48h			pH	OD	Cond.
Controle	7,68	7,27	146,1	0	0	10	0	6,92	5,31	150,5
CS	7,73	7,27	146,8	0	0	10	0	6,8	4,89	149,4
0,5	7,72	7,28	147,7	0	0	10	0	6,88	5,15	149,9
1	7,71	7,26	146,8	0	0	10	0	6,82	5,08	150,3
1,5	7,73	7,25	147,8	0	0	10	0	6,84	5,05	149,4
2	7,8	7,24	150,7	1	1	10	10	6,84	5,07	150,7
2,5	7,75	7,26	146,9	2	10	10	100	6,91	5,07	151,5

Gráficos dos testes de Toxicidade

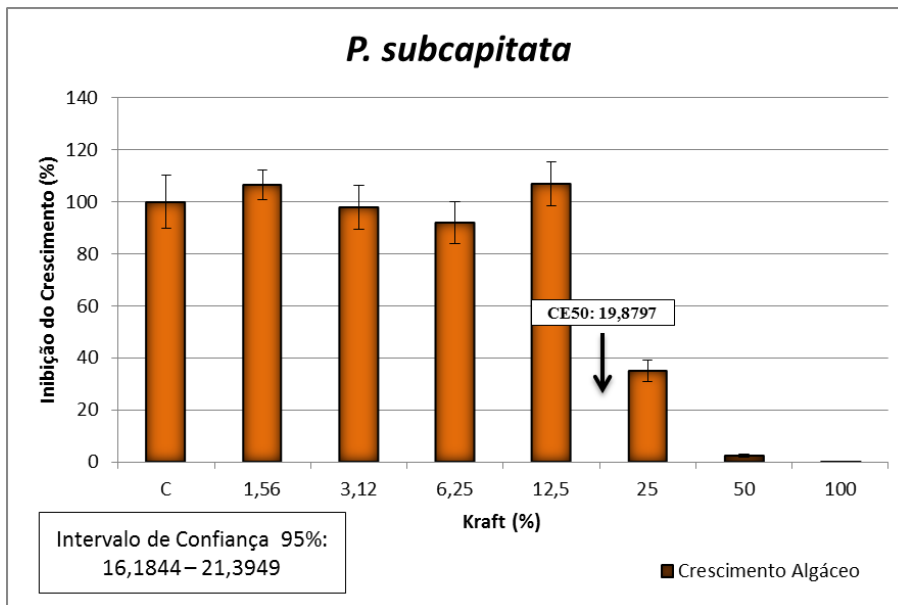


Figura 11: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

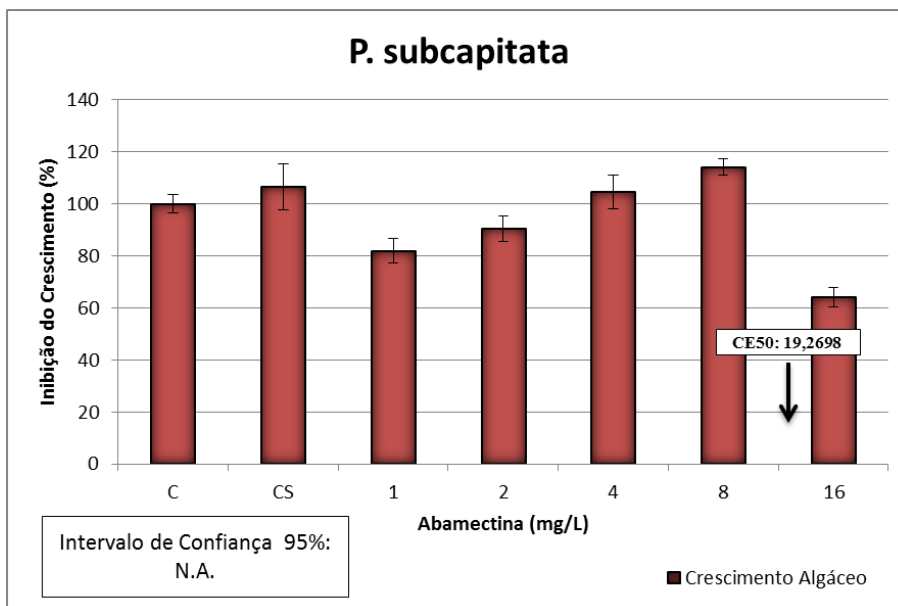


Figura 12: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº1 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

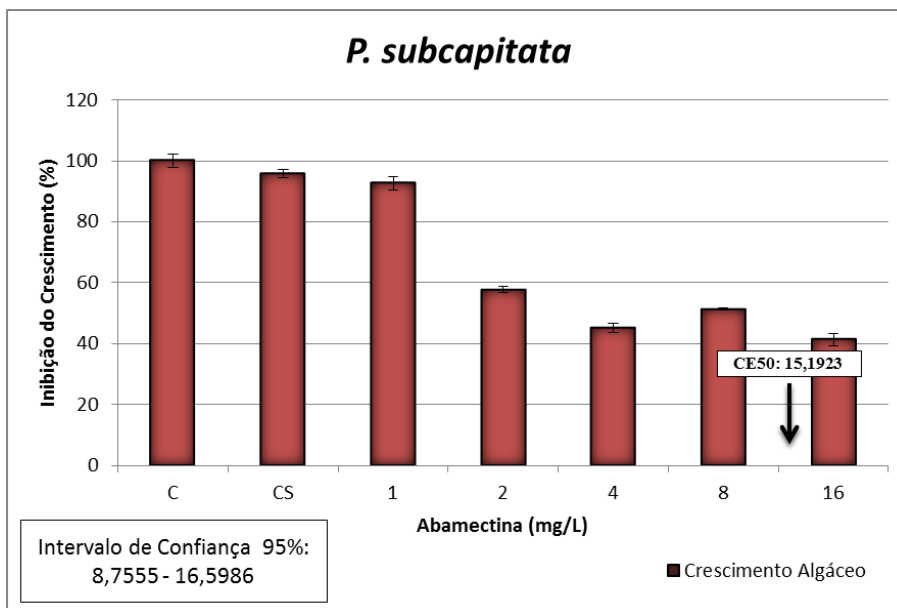


Figura 13: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº2 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%). *Resultados de Vieira, 2010.

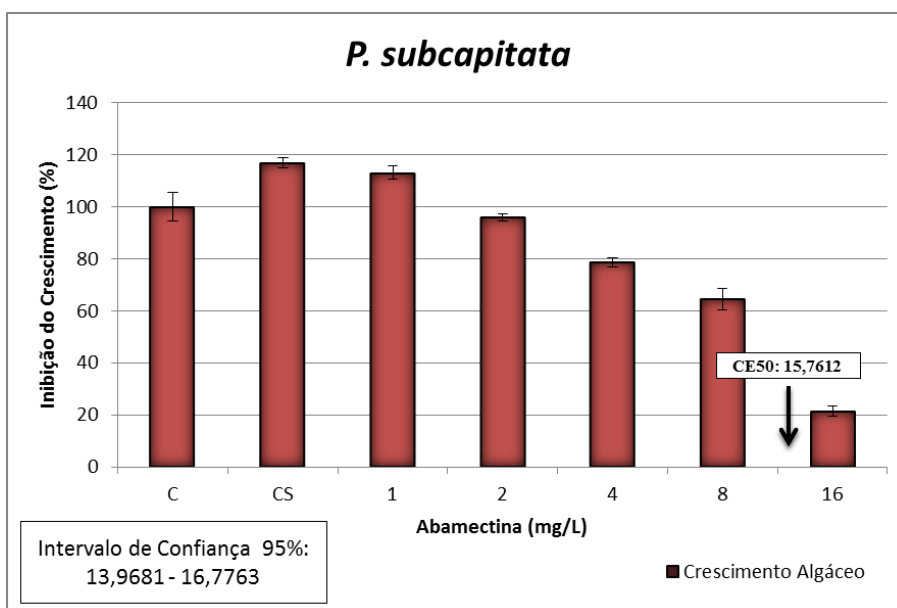


Figura 14: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº3 com abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%). *Resultados de Vieira, 2010.

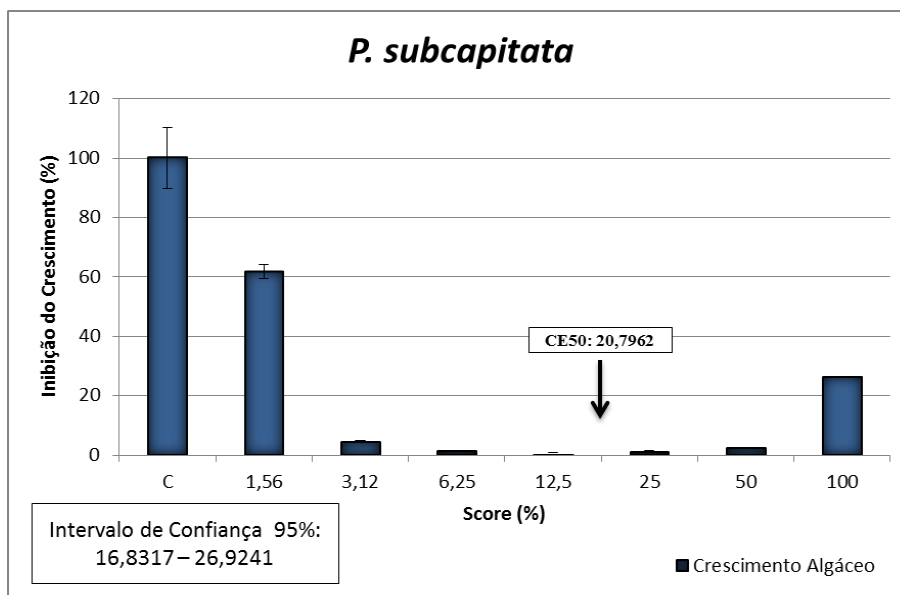


Figura 15: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score@250EC para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

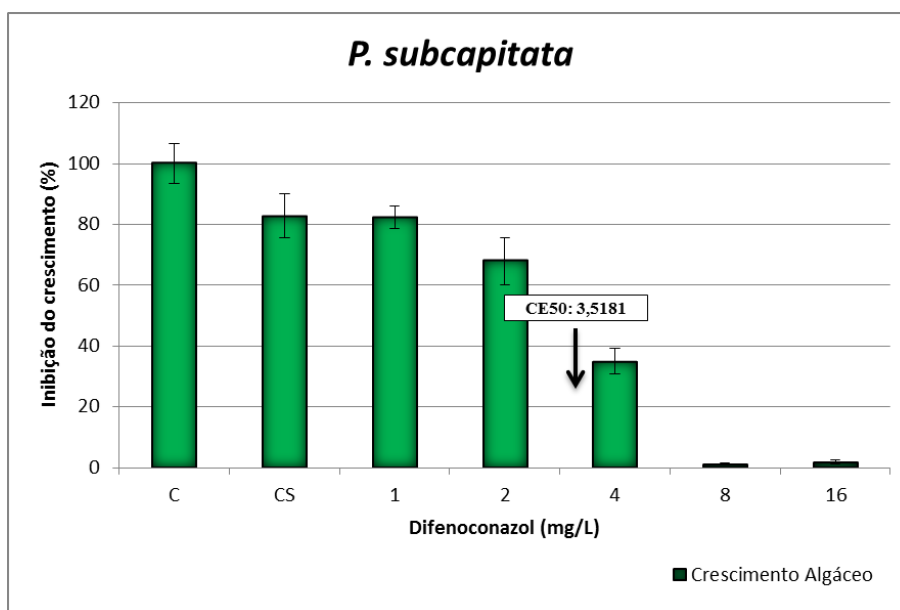


Figura 16: Gráfico com resultados do teste de toxicidade n° 1 com difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

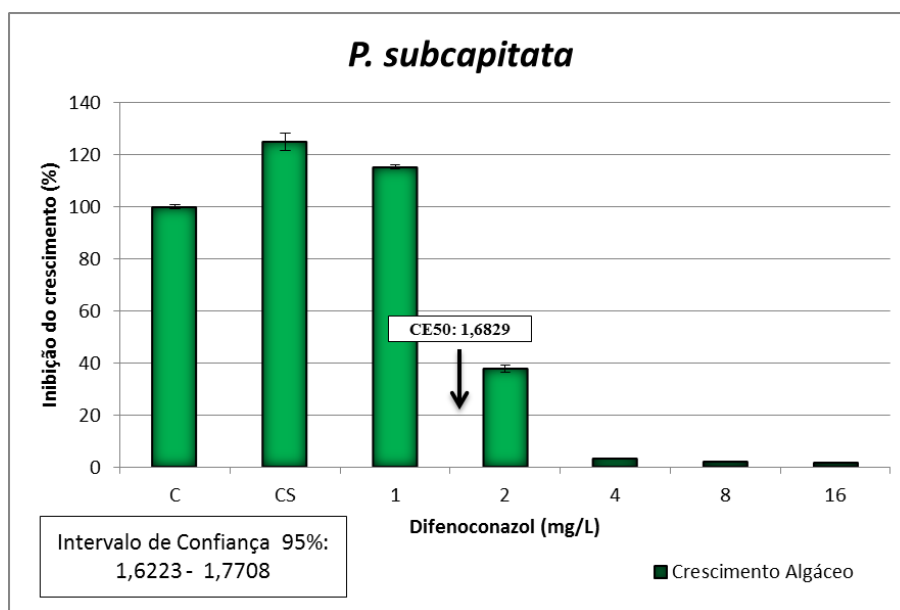


Figura 17: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata*. Observa-se: inibição do crescimento algáceo, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

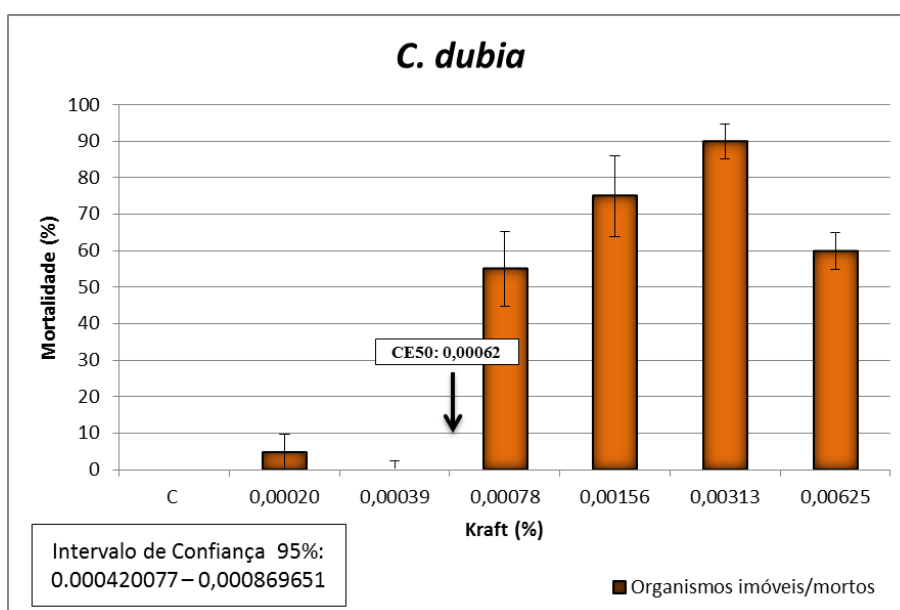


Figura 18: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *C. dubia*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

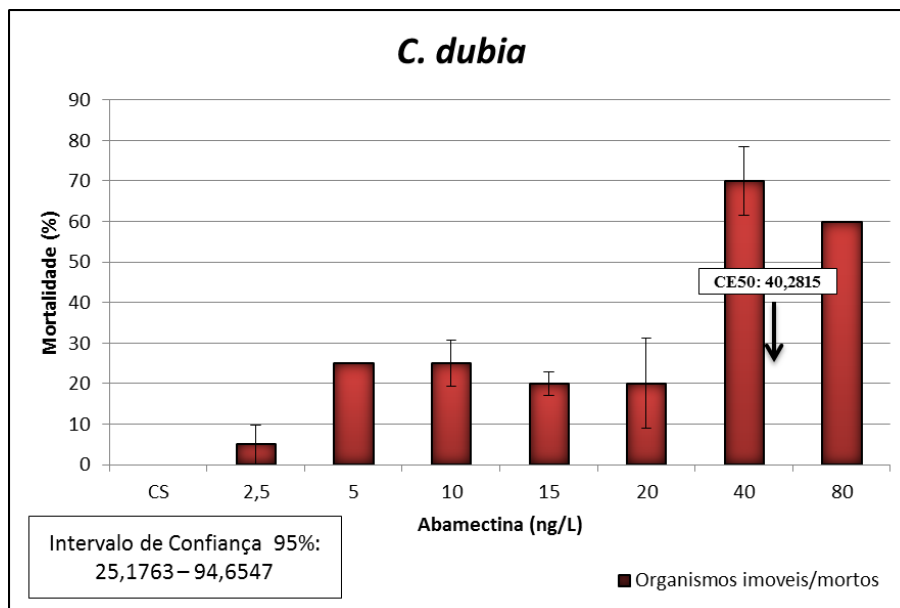


Figura 19: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com abamectina para o organismo-teste *C. dubia*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

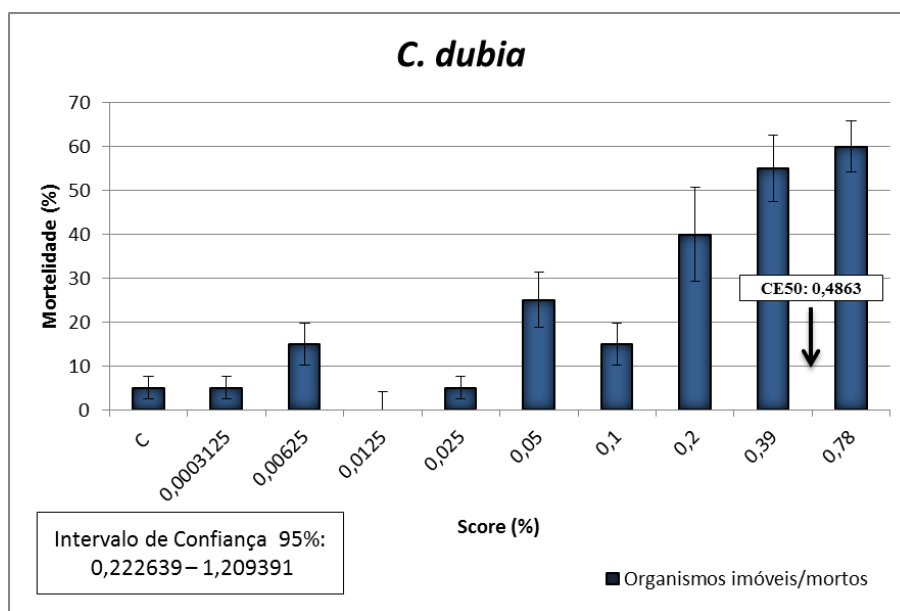


Figura 20: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score@250EC para o organismo-teste *C. dubia*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

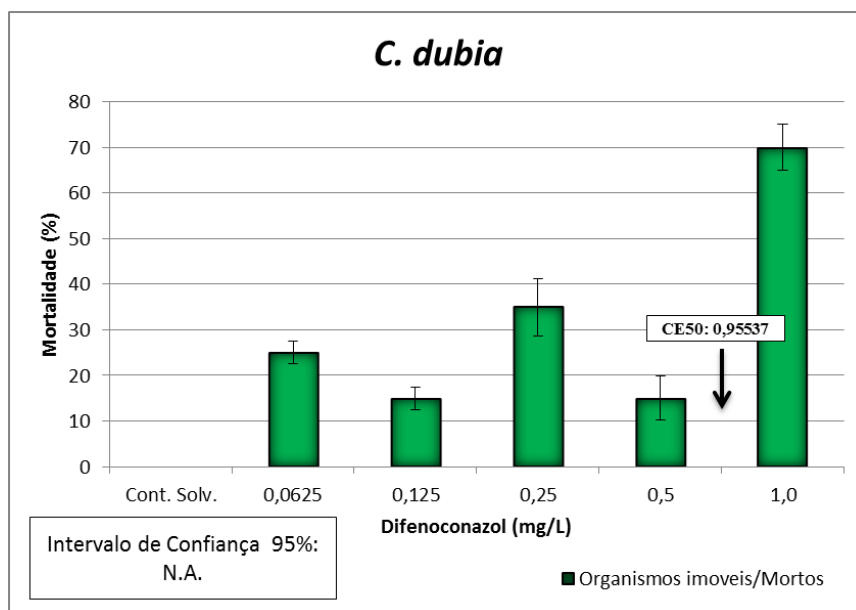


Figura 21: Gráfico com resultados do teste de toxicidade n° 1 com difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

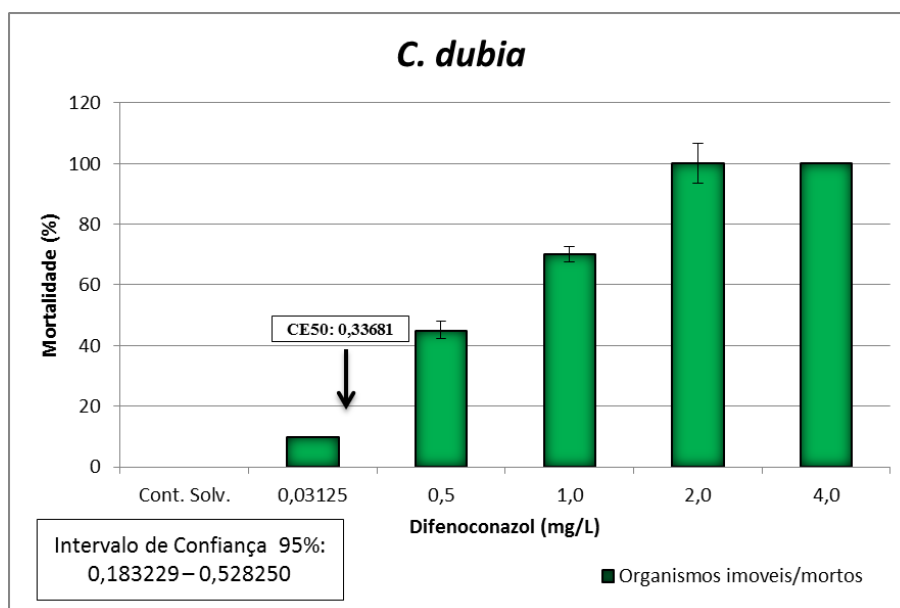


Figura 22: Gráfico com resultados do teste de toxicidade n° 2 com difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

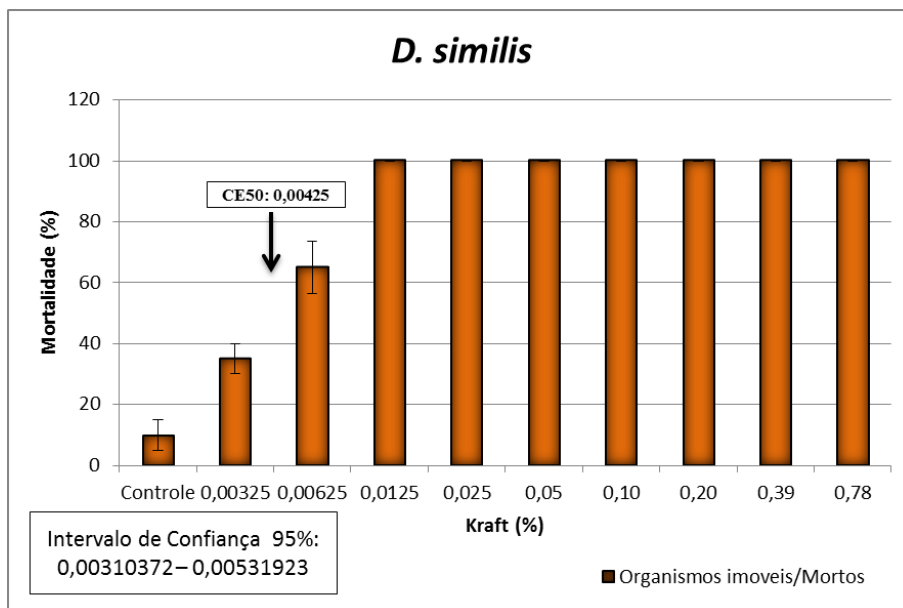


Figura 23: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 1 com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

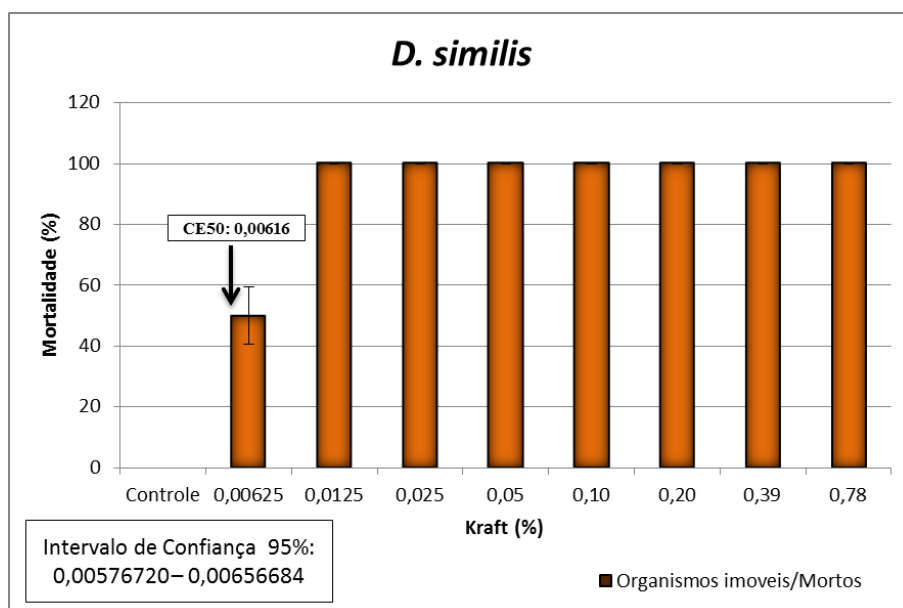


Figura 24: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

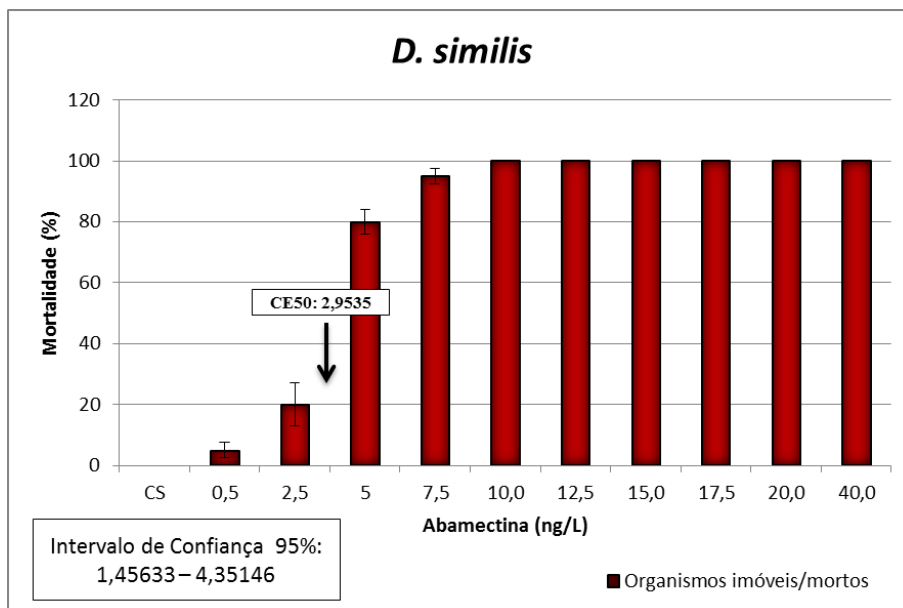


Figura 25: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com abamectina para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 48h e intervalos de confiança (95%).

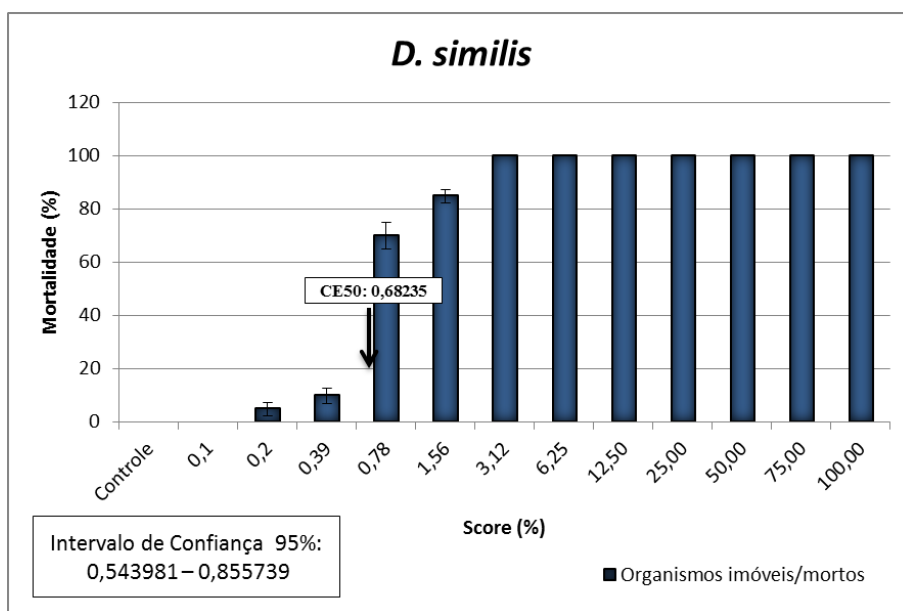


Figura 26: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº1 com Score®250EC para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE_{50} ; 48h e intervalos de confiança (95%).

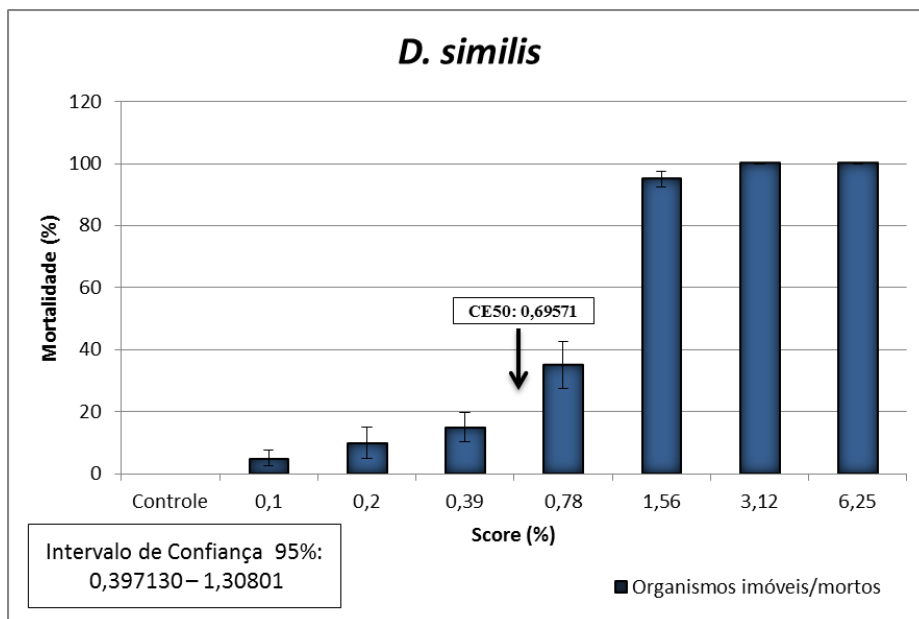


Figura 27: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº2 com Score@250EC para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

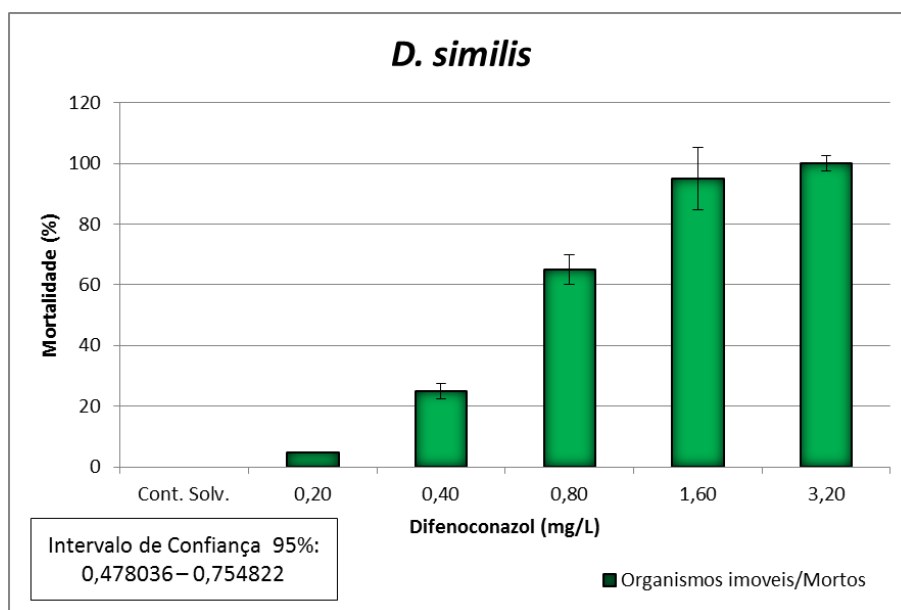


Figura 28: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 1 com difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

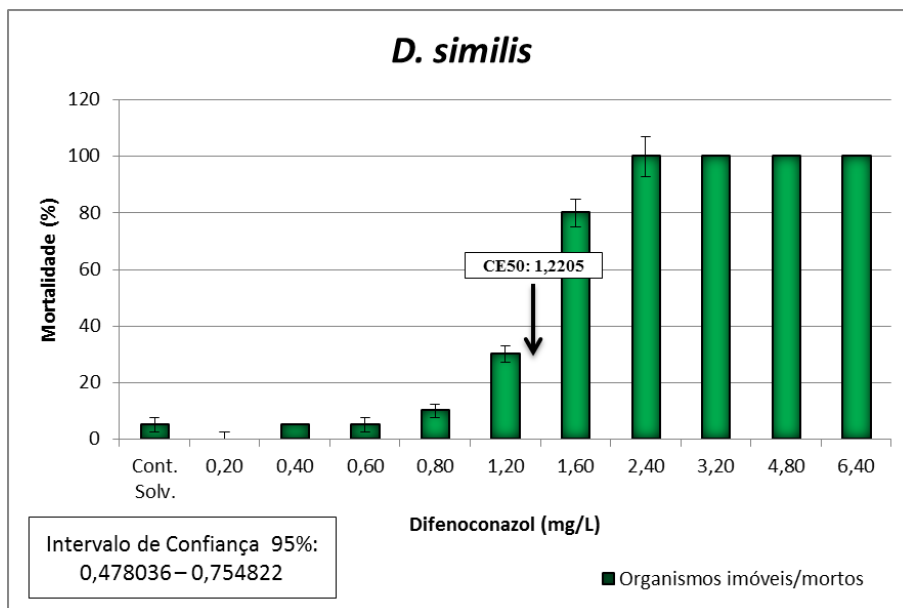


Figura 29: Gráfico com resultados do teste de toxicidade nº 2 com difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

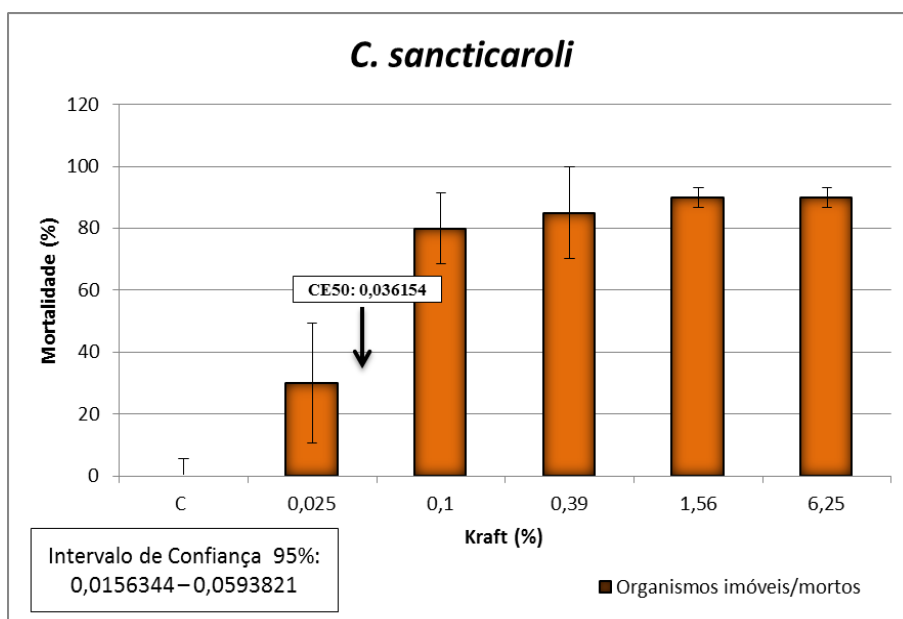


Figura 30: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

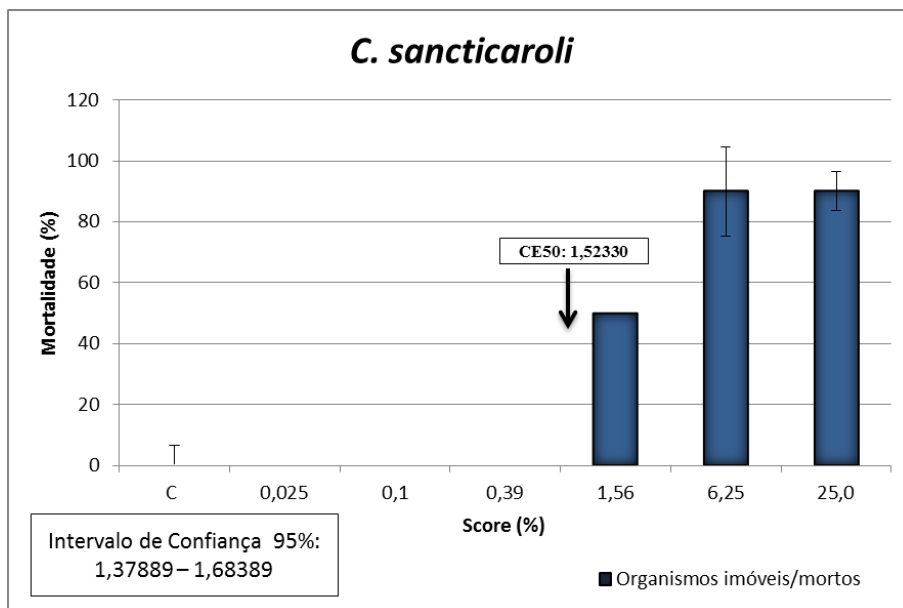


Figura 31: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score@250EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

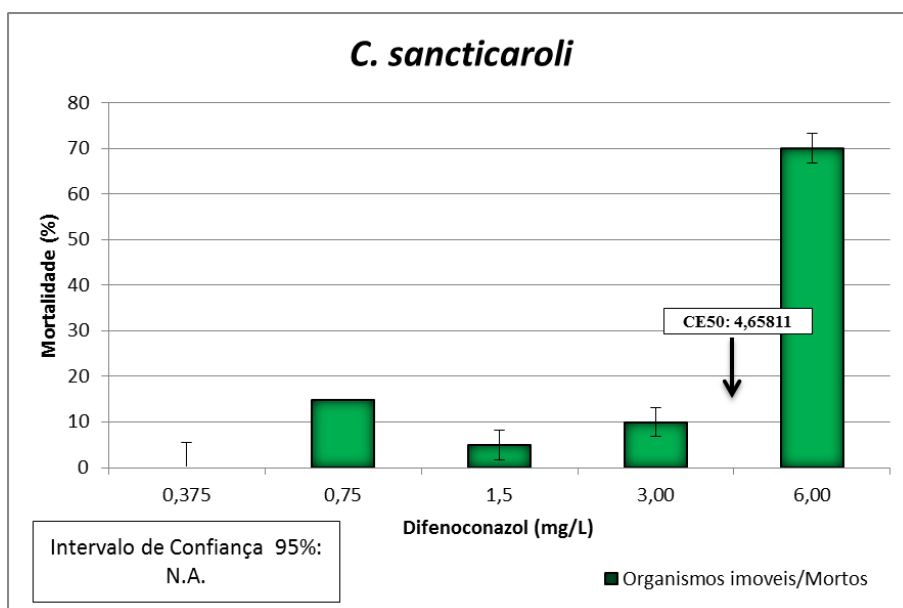


Figura 32: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com difenoconazol para o organismo-teste *C. sancticaroli*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 96h e intervalos de confiança (95%).

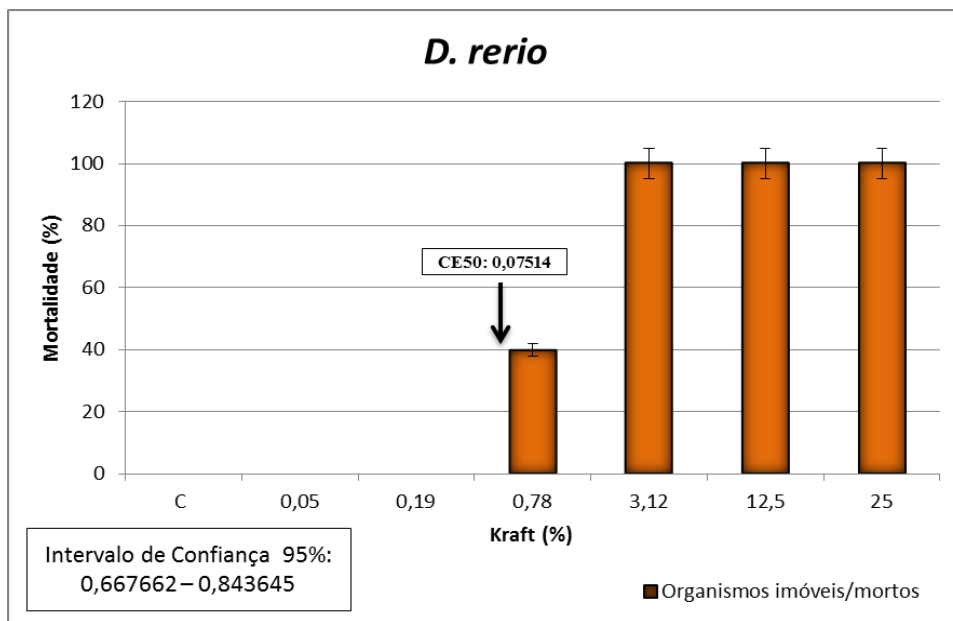


Figura 33: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Kraft®36EC para o organismo-teste *D. rerio*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

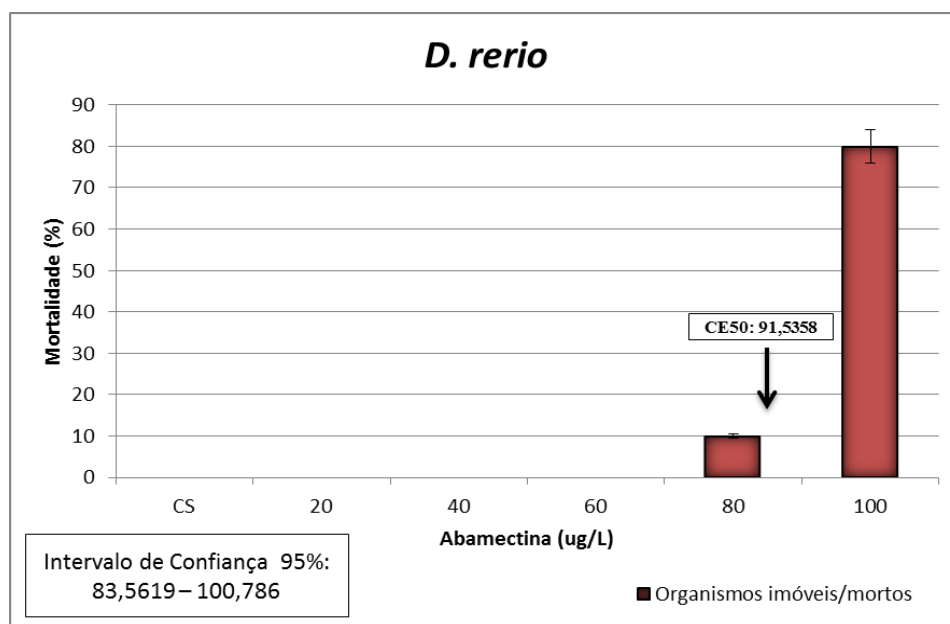


Figura 34: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com abamectina para o organismo-teste *D. rerio*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

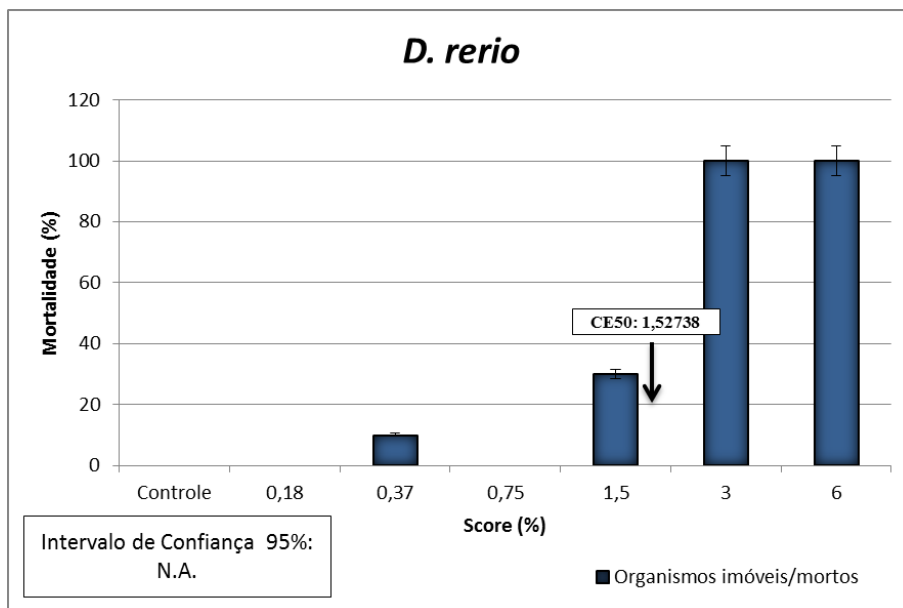


Figura 35: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com Score®250EC para o organismo-teste *D. rerio*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

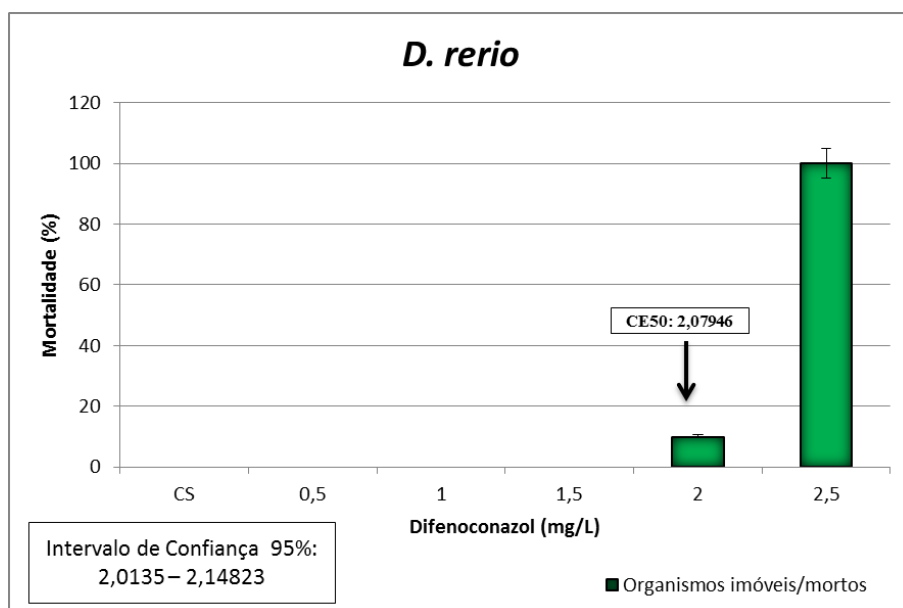
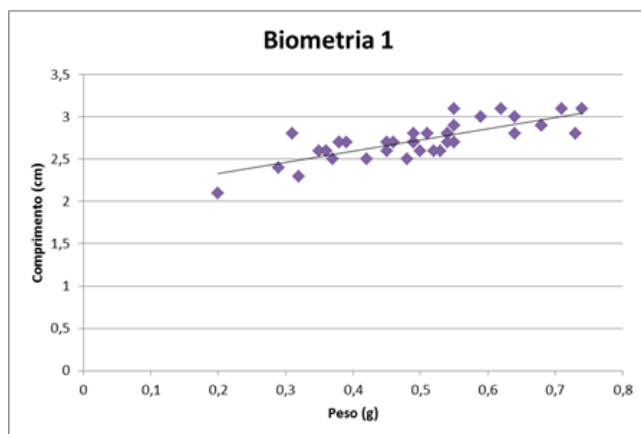
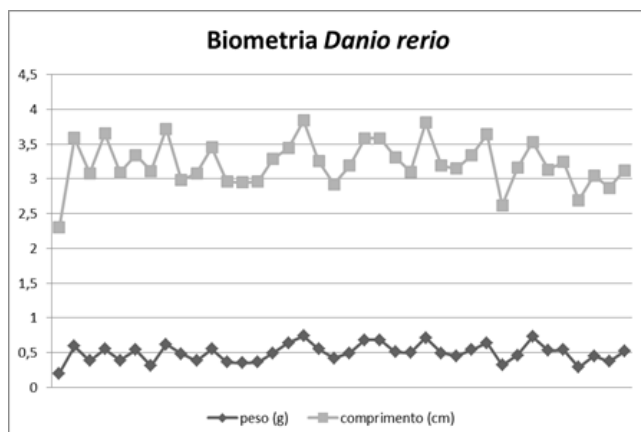


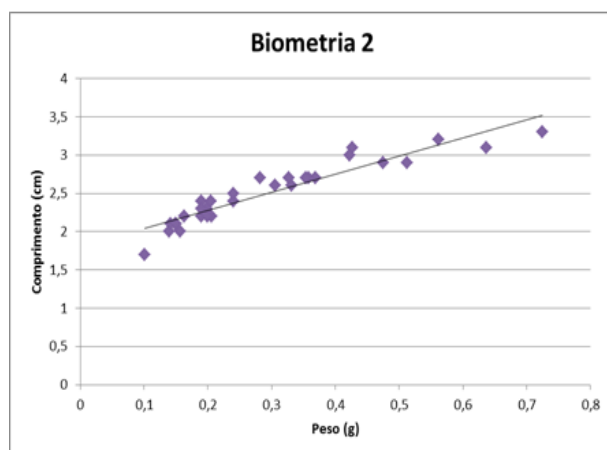
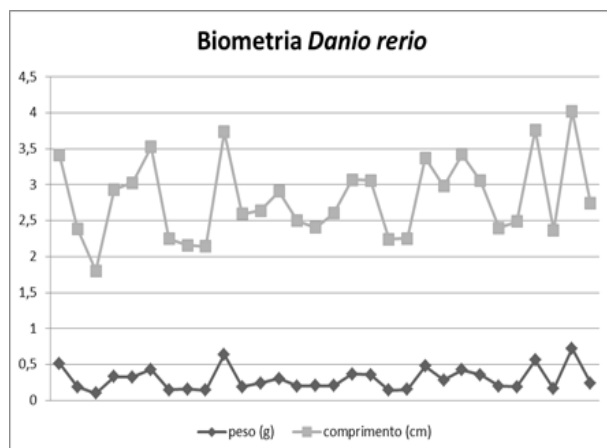
Figura 36: Gráfico com resultados do teste de toxicidade com difenoconazol para o organismo-teste *D. rerio*. Observa-se: mortalidade, barras de desvio padrão, CE₅₀; 48h e intervalos de confiança (95%).

Biometria *Danio rerio*



Biometria <i>Danio rerio</i>		
Lote	Data biometria	
10.11.14	15.11.14	
	peso (g)	comprimento (cm)
1	0,2	2,1
2	0,59	3
3	0,38	2,7
4	0,55	3,1
5	0,39	2,7
6	0,54	2,8
7	0,31	2,8
8	0,62	3,1
9	0,48	2,5
10	0,38	2,7
11	0,55	2,9
12	0,36	2,6
13	0,35	2,6
14	0,36	2,6
15	0,49	2,8
16	0,64	2,8
17	0,74	3,1
18	0,55	2,7
19	0,42	2,5
20	0,49	2,7
21	0,68	2,9
22	0,68	2,9
23	0,51	2,8
24	0,5	2,6
25	0,71	3,1
26	0,49	2,7
27	0,45	2,7
28	0,54	2,8
29	0,64	3
30	0,32	2,3
31	0,46	2,7
32	0,73	2,8
33	0,53	2,6
34	0,54	2,7
35	0,29	2,4
36	0,45	2,6
37	0,37	2,5
38	0,52	2,6
médias	0,495	2,7
desvios	0,129	0,217

Figura 37: À direita medições de peso e comprimento do primeiro lote de organismos *D. rerio*. À esquerda gráficos da biometria com reta que descreve o coeficiente de correlação (R2).



Biometria <i>Danio rerio</i>		
Lote	Data biometria	
10.11.14	15.11.14	
	peso (g)	comprimento (cm)
1	0,512	2,9
2	0,19	2,2
3	0,101	1,7
4	0,331	2,6
5	0,327	2,7
6	0,427	3,1
7	0,149	2,1
8	0,157	2
9	0,14	2
10	0,637	3,1
11	0,19	2,4
12	0,24	2,4
13	0,306	2,6
14	0,198	2,3
15	0,206	2,2
16	0,205	2,4
17	0,369	2,7
18	0,358	2,7
19	0,142	2,1
20	0,15	2,1
21	0,475	2,9
22	0,282	2,7
23	0,422	3
24	0,354	2,7
25	0,199	2,2
26	0,19	2,3
27	0,562	3,2
28	0,163	2,2
29	0,725	3,3
30	0,24	2,5
médias	0,24	2,45
desvios	0,160	0,404

Figura 38: À direita medições de peso e comprimento do segundo lote de organismos *D. rerio*. À esquerda gráficos da biometria com reta que descreve o coeficiente de correlação (R2).

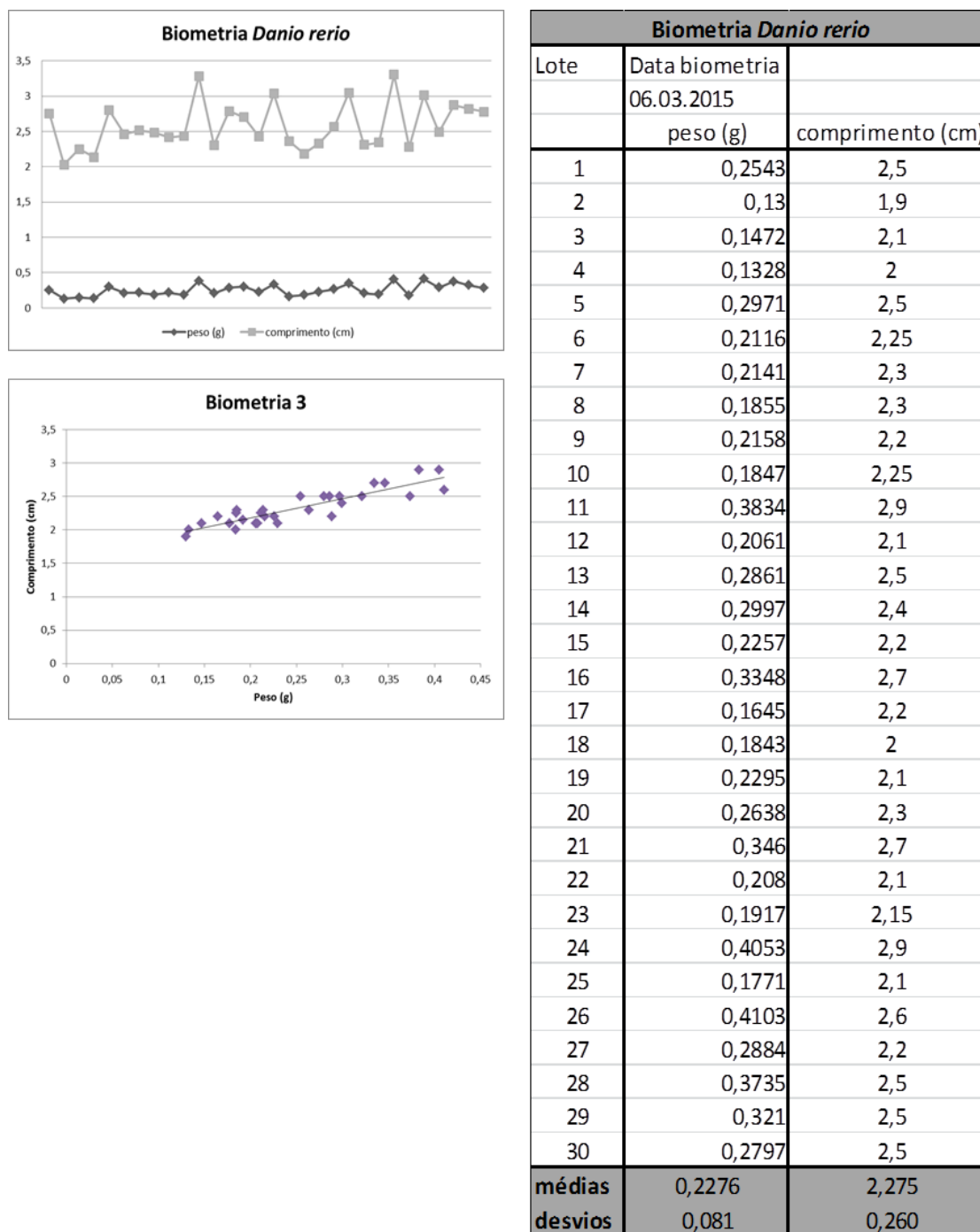


Figura 39: À direita medições de peso e comprimento do terceiro lote de organismos *D. rerio*. À esquerda gráficos da biometria com reta que descreve o coeficiente de correlação (R^2).

Tabela 37: Médias e desvios padrão dos três lotes de *D. rerio* utilizados nos bioensaios.

Médias/SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	TOTAL
Média Peso	0,495	0,24	0,2276	0,32086667
SD Peso	0,129	0,16	0,081	0,15093129
Média Comprimento	2,7	2,45	2,275	2,475
SD Comprimento	0,217	0,404	0,26	0,21360009

APÊNDICE 2: Análises estatísticas

Sensibilidades

Tabela 1: Análise estatística da sensibilidade do organismo-teste *P. subcapitata* (IC50;96h) exposto a substancia de referência NaCl (g/L). Tabela criada pelo software ICp 2.0.

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***					
Toxicant/Effluent: NaCl (g/L)					
Test Start Date: ago/2014 Test Ending Date: ago/2014					
Test Species: <i>P. subcapitata</i>					
Test Duration: 96h					
DATA FILE: Sensibilidade 1					

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.l	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means

1	3	0.000	563.333	57.292	563.333
2	3	0.500	540.667	30.551	540.667
3	3	2.000	505.333	45.015	505.333
4	3	3.500	370.667	35.105	370.667
5	3	5.000	209.333	46.090	209.333
6	3	6.500	39.000	3.464	39.000

The Linear Interpolation Estimate: 4.3275 Entered P Value: 50					

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated					
The Bootstrap Estimates Mean: 4.3434 Standard Deviation: 0.1958					
Original Confidence Limits: Lower: 4.0032 Upper: 4.7904					
Expanded Confidence Limits: Lower: 3.6466 Upper: 5.2995					
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -458513454					

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***					
Toxicant/Effluent: NaCl (g/L)					
Test Start Date: dez/2014 Test Ending Date: dez/2014					
Test Species: <i>P. subcapitata</i>					
Test Duration: 96h					
DATA FILE: Sensibilidade 2					

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means

1	3	0.000	803.000	116.349	803.000
2	3	0.500	598.000	59.271	598.000
3	3	2.000	466.667	49.571	466.667
4	3	3.500	315.667	24.583	315.667
5	3	5.000	312.333	23.116	312.333
6	3	6.500	62.000	11.136	62.000

The Linear Interpolation Estimate: 2.6474 Entered P Value: 50					

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated					
The Bootstrap Estimates Mean: 2.6215 Standard Deviation: 0.3601					
Original Confidence Limits: Lower: 1.9565 Upper: 3.2881					
Expanded Confidence Limits: Lower: 1.1965 Upper: 3.9929					
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -507290832					

Tabela 2: Análise estatística da sensibilidade do organismo-teste *C. dubia* exposto a substancia de referência NaCl (g/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀; 48h.

Sensibilidade			
Substancia Referência: NaCl (g/L)			
Espécie: <i>C. dubia</i>			
Duração: 48h			
PriProbit			
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.			
Ver.1.63			
Effective Dose Estimates			
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	3.64372e-001(2.86614e-001,4.08405e-001)	-0.43845(-0.54270,-0.38891)	Sens.CerioDu
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	3.97380e-001(3.29901e-001,4.37881e-001)	-0.40079(-0.48162,-0.35864)	Sens.CerioDu
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	4.16182e-001(3.54789e-001,4.55478e-001)	-0.38072(-0.45003,-0.34153)	Sens.CerioDu
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	4.89898e-001(4.46168e-001,5.37928e-001)	-0.30989(-0.35050,-0.26928)	Sens.CerioDu
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	5.76670e-001(5.26912e-001,6.76501e-001)	-0.23907(-0.27826,-0.16973)	Sens.CerioDu
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	6.03955e-001(5.48084e-001,7.27542e-001)	-0.21900(-0.26115,-0.13814)	Sens.CerioDu
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	6.58667e-001(5.87638e-001,8.37424e-001)	-0.18133(-0.23089,-0.07705)	Sens.CerioDu

Tabela 3: Análise estatística da sensibilidade do organismo-teste *D. similis* exposto a substancia de referência KCl (g/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀; 48h.

Sensibilidade 1		
Substancia Referência: KCl (g/L)		
Espécie: <i>D. similis</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	2.37652e+002(- , +)	2.37594(- , +) Sens.Daph1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	3.08453e+002(- , +)	2.48919(- , +) Sens.Daph1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	3.54455e+002(- , +)	2.54956(- , +) Sens.Daph1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	5.78793e+002(- , +)	2.76252(- , +) Sens.Daph1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	9.45117e+002(- , +)	2.97549(- , +) Sens.Daph1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.08607e+003(- , +)	3.03586(- , +) Sens.Daph1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.40963e+003(- , +)	3.14910(- , +) Sens.Daph1
Sensibilidade 2		
Substancia Referência: KCl (g/L)		
Espécie: <i>D. similis</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	4.08315e+002(2.90551e+002,4.61280e+002)	2.61100(2.46322, 2.66396) Sens.Daph2
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	4.52567e+002(3.55520e+002,4.97173e+002)	2.65568(2.55086, 2.69651) Sens.Daph2
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	4.78085e+002(3.94843e+002,5.18821e+002)	2.67951(2.59642, 2.71502) Sens.Daph2
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	5.80150e+002(5.38417e+002,6.40223e+002)	2.76354(2.73112, 2.80633) Sens.Daph2
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	7.04003e+002(6.38528e+002,9.08402e+002)	2.84757(2.80518, 2.95828) Sens.Daph2
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	7.43699e+002(6.64659e+002,1.01141e+003)	2.87140(2.82260, 3.00493) Sens.Daph2
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	8.24298e+002(7.14749e+002,1.24039e+003)	2.91608(2.85415, 3.09356) Sens.Daph2

Tabela 4: Análise estatística da sensibilidade do organismo-teste *C. sancticaroli* exposto a substancia de referência KCl (g/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀; 96h.

Sensibilidade 1		
Substancia Referência: KCl (g/L)		
Espécie: <i>C. sancticaroli</i>		
Duração: 96h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	4.01642e+000(2.67369e+000,4.72582e+000)	0.60384(0.42711, 0.67448) Sens.Chiro
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	4.56924e+000(3.37569e+000,5.20229e+000)	0.65984(0.52836, 0.71619) Sens.Chiro
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	4.89441e+000(3.81236e+000,5.49009e+000)	0.68970(0.58119, 0.73958) Sens.Chiro
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	6.23761e+000(5.58238e+000,6.96320e+000)	0.79502(0.74682, 0.84281) Sens.Chiro
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	7.94944e+000(7.09161e+000,1.01798e+001)	0.90034(0.85075, 1.00774) Sens.Chiro
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	8.51515e+000(7.48493e+000,1.14951e+001)	0.93019(0.87419, 1.06051) Sens.Chiro
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	9.68719e+000(8.24062e+000,1.45114e+001)	0.98620(0.91596, 1.16171) Sens.Chiro

Sensibilidade 2		
Substancia Referência: KCl (g/L)		
Espécie: <i>C. sancticaroli</i>		
Duração: 96h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	2.63289e+000(1.71703e+000,3.17751e+000)	0.42043(0.23478, 0.50209) Sens.Chi2
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	3.12008e+000(2.28115e+000,3.61259e+000)	0.49417(0.35815, 0.55782) Sens.Chi2
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	3.41564e+000(2.64589e+000,3.88045e+000)	0.53347(0.42257, 0.58888) Sens.Chi2
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	4.70031e+000(4.20085e+000,5.30801e+000)	0.67213(0.62334, 0.72493) Sens.Chi2
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	6.46816e+000(5.64439e+000,8.57956e+000)	0.81078(0.75162, 0.93347) Sens.Chi2
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	7.08088e+000(6.05487e+000,9.96460e+000)	0.85009(0.78210, 0.99846) Sens.Chi2
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	8.39111e+000(6.87533e+000,1.32550e+001)	0.92382(0.83729, 1.12238) Sens.Chi2

Tabela 5: Análise estatística da sensibilidade do organismo-teste *D. rerio* exposto a substancia de referência KCl (mg/L). Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀; 48h.

Sensibilidade 1		
Substancia Referência: KCl (mg/L)		
Espécie: <i>D. rerio</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	8.05779e+002(7.77084e+002,8.35798e+002)	2.90622(2.89047, 2.92210) Sens.Px1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	8.32310e+002(8.02560e+002,8.63447e+002)	2.92028(2.90448, 2.93624) Sens.Px1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	8.46809e+002(8.16479e+002,8.78560e+002)	2.92779(2.91194, 2.94377) Sens.Px1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	9.00000e+002(8.67525e+002,9.34026e+002)	2.95424(2.93828, 2.97036) Sens.Px1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	9.56533e+002(9.21748e+002,9.93011e+002)	2.98070(2.96461, 2.99695) Sens.Px1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	9.73195e+002(9.37724e+002,1.01040e+003)	2.98820(2.97207, 3.00449) Sens.Px1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.00524e+003(9.68439e+002,1.04386e+003)	3.00227(2.98607, 3.01864) Sens.Px1

Sensibilidade 2		
Substancia Referência: KCl (mg/L)		
Espécie: <i>D. rerio</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	6.61831e+002(3.41793e+001,9.03942e+002)	2.82075(1.53376, 2.95614) Sens.Px2
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	8.46184e+002(1.37262e+002,1.05533e+003)	2.92746(2.13755, 3.02339) Sens.Px2
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	9.64618e+002(2.83764e+002,1.16333e+003)	2.98436(2.45296, 3.06570) Sens.Px2
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	1.53122e+003(1.27351e+003,4.73737e+003)	3.18504(3.10500, 3.67554) Sens.Px2
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	2.43064e+003(1.73388e+003,6.35916e+004)	3.38572(3.23902, 4.80340) Sens.Px2
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	2.77084e+003(1.87150e+003,1.34263e+005)	3.44261(3.27219, 5.12796) Sens.Px2
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	3.54266e+003(2.15320e+003,5.47132e+005)	3.54933(3.33309, 5.73809) Sens.Px2

Sensibilidade 3

Substancia Referência: KCl (mg/L)

Espécie: *D. rerio*

Duração: 48h

PriProbit

Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.

Ver.1.63

Effective Dose Estimates

#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	3.07701e+002(- , +)	2.48813(- , +) Sens.Px3
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	4.21854e+002(- , +)	2.62516(- , +) Sens.Px3
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	4.99132e+002(- , +)	2.69822(- , +) Sens.Px3
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	9.03460e+002(- , +)	2.95591(- , +) Sens.Px3
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	1.63532e+003(- , +)	3.21360(- , +) Sens.Px3
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.93488e+003(- , +)	3.28666(- , +) Sens.Px3
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	2.65271e+003(- , +)	3.42369(- , +) Sens.Px3

Toxicidades

Tabela 6: Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismo-teste *P. subcapitata* (IC₅₀;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0.

```

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: Kraft®36EC
Test Start Date: Test Ending Date:
Test Species: P. subcapitata
Test Duration:
DATA FILE: Kraft®36EC
-----
Conc.  Number  Concentration  Response  Std.  Pooled
ID  Replicates           Means    Dev.  Response Means
-----
1    3      0.000    993.000  123.260  993.000
2    3      1.560    837.333  130.512  837.333
3    3      3.120    769.667  201.003  814.778
4    3      6.250    834.000   19.000  814.778
5    3     12.500    840.667  201.369  814.778
6    3     25.000    275.667   96.459  275.667
7    3     50.000    19.667   15.144   19.667
8    3    100.000     5.000    6.245    5.000
-----
The Linear Interpolation Estimate: 19.8797 Entered P Value: 50
-----
Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 19.5048 Standard Deviation: 1.2548
Original Confidence Limits: Lower: 16.1844 Upper: 21.3949
Expanded Confidence Limits: Lower: 12.1195 Upper: 23.0617
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -66915549

```

Tabela 7: Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismo-teste *P. subcapitata* (IC₅₀;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0.

```

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: Abamectina
Test Start Date: nov/2014 Test Ending Date: nov/2014
Test Species: P. subcapitata
Test Duration: 96H
DATA FILE: abamectina
-----
Conc.  Number  Concentration  Response  Std.  Pooled
ID  Replicates           mg.l  Means    Dev.  Response Means
-----
1    3      0.000    537.333   68.135  548.133
2    3      1.000    465.667   82.246  548.133
3    3      5.000    514.333   84.240  548.133
4    3     10.000    594.000  111.072  548.133
5    3     15.000    629.333   48.676  548.133
6    3     20.000    387.667   67.323  387.667
-----
The Linear Interpolation Estimate: 19.2698 Entered P Value: 25
-----
Number of Resamplings: 80 65 Resamples Generated
Those resamples not used had estimates
above the highest concentration/ %Effluent.
The Bootstrap Estimates Mean: 18.8729 Standard Deviation: 0.6765
No Confidence Limits can be produced since the number of resamples
generated is not a multiple of 40.
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -351542662

```

Tabela 8: Análise estatística da toxicidade do Score®250EC para o organismo-teste *P. subcapitata* (IC₅₀;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0.

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
 Toxicant/Effluent: Abamectina
 Test Start Date: nov/2014 Test Ending Date: nov/2014
 Test Species: *P. subcapitata*
 Test Duration: 96H
 DATA FILE: **Score®250EC**

Conc. ID	Number Replicates	Concentration Means	Response Dev.	Std. Response	Pooled Means
1	3	0.000	727.667	207.544	727.667
2	3	1.560	443.667	49.561	537.833
3	3	3.120	33.000	7.000	537.833
4	3	6.250	834.000	19.000	537.833
5	3	12.500	840.667	201.369	537.833
6	3	25.000	275.667	96.459	275.667
7	3	50.000	19.667	15.144	19.667
8	3	100.000	5.000	6.245	5.000

The Linear Interpolation Estimate: 20.7962 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
 The Bootstrap Estimates Mean: 21.0494 Standard Deviation: 2.8535
 Original Confidence Limits: Lower: 16.8317 Upper: 26.9241
 Expanded Confidence Limits: Lower: 12.4707 Upper: 33.6648
 Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -123158109

Tabela 9: Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismo-teste *P. subcapitata* (IC₅₀;96h). Tabela criada pelo software ICp 2.0.

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
 Toxicant/Effluent: Difenoconazol
 Test Start Date: nov/2014 Test Ending Date: nov/2014
 Test Species: *P. subcapitata*
 Test Duration: 96H
 DATA FILE: **difenoconazol teste 1**

Conc. ID	Number Replicates	Concentration MG.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	516.667	135.581	516.667
2	3	1.000	514.000	67.949	514.000
3	3	2.000	398.333	99.601	398.333
4	3	4.000	218.000	78.313	218.000
5	3	8.000	12.667	8.083	12.667
6	3	16.000	3.333	2.309	3.333

The Linear Interpolation Estimate: 3.5527 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
 The Bootstrap Estimates Mean: 3.5181 Standard Deviation: 0.4976
 Original Confidence Limits: Lower: 2.7356 Upper: 4.4604
 Expanded Confidence Limits: Lower: 1.8367 Upper: 5.4590
 Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -141570995

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
 Toxicant/Effluent: difenoconazol
 Test Start Date: Test Ending Date:
 Test Species: *P. subcapitata*
 Test Duration:
 DATA FILE: **difenoconazol teste 2**

Conc. ID	Number Replicates	Concentration MG.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	653.000	53.507	653.000
2	3	1.000	604.667	6.506	604.667
3	3	2.000	197.333	22.898	197.333
4	3	4.000	16.333	2.517	16.333
5	3	8.000	10.333	3.215	10.500
6	3	16.000	10.667	4.619	10.500

The Linear Interpolation Estimate: 1.6829 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
 The Bootstrap Estimates Mean: 1.6789 Standard Deviation: 0.0307
 Original Confidence Limits: Lower: 1.6233 Upper: 1.7290
 Expanded Confidence Limits: Lower: 1.5577 Upper: 1.7798
 Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 149867100

Tabela 10: Análise estatística da toxicidade do Kraft@36EC para o organismo-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Kraft@36EC		
Espécie: <i>C. dubia</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	3.82769e-005(6.14782e-006,8.99068e-005)	-4.41706(-5.21128,-4.04621) CerioDu.Kr
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	8.65577e-005(2.23829e-005,1.65482e-004)	-4.06269(-4.65008,-3.78125) CerioDu.Kr
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	1.33727e-004(4.43037e-005,2.30488e-004)	-3.87378(-4.35356,-3.63735) CerioDu.Kr
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	6.20311e-004(4.20077e-004,8.69651e-004)	-3.20739(-3.37667,-3.06065) CerioDu.Kr
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	2.87740e-003(1.78987e-003,7.30195e-003)	-2.54100(-2.74718,-2.13656) CerioDu.Kr
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	4.44542e-003(2.50713e-003,1.43715e-002)	-2.35209(-2.60082,-1.84250) CerioDu.Kr
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.00527e-002(4.63746e-003,5.20660e-002)	-1.99772(-2.33372,-1.28345) CerioDu.Kr

Tabela 11: Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismo-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

abamectina		
Espécie: <i>C. dubia</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	4.43342e-001(2.43975e-002,1.44023e+000)	-0.35326(-1.61265, 0.15843) CerioDu.Ab
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	1.66125e+000(2.44937e-001,3.73292e+000)	0.22043(-0.61095, 0.57205) CerioDu.Ab
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	3.35946e+000(8.22793e-001,6.31419e+000)	0.52627(-0.08471, 0.80032) CerioDu.Ab
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	4.02815e+001(2.51763e+001,9.46547e+001)	1.60511(1.40099, 1.97614) CerioDu.Ab
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	4.82993e+002(1.65681e+002,6.59762e+003)	2.68394(2.21927, 3.81939) CerioDu.Ab
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	9.76734e+002(2.73761e+002,2.26879e+004)	2.98978(2.43737, 4.35579) CerioDu.Ab
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	3.65992e+003(6.96682e+002,2.31985e+005)	3.56347(2.84303, 5.36546) CerioDu.Ab

Tabela 12: Análise estatística da toxicidade do Score@250EC para o organismo-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Score@250EC		
Espécie: <i>C. dubia</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	2.99482e-004(6.89966e-006,1.61221e-003)	-3.52363(-5.16117,-2.79258) CerioDu.Sc
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	2.61146e-003(2.36303e-004,8.04834e-003)	-2.58312(-3.62653,-2.09429) CerioDu.Sc
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	8.28450e-003(1.49827e-003,1.96766e-002)	-2.08173(-2.82441,-1.70605) CerioDu.Sc
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	4.86296e-001(2.22639e-001,2.09391e+000)	-0.31310(-0.65240, 0.32096) CerioDu.Sc
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	2.85454e+001(4.88255e+000,1.50986e+003)	1.45554(0.68865, 3.17894) CerioDu.Sc
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	9.05563e+001(1.13243e+001,1.00910e+004)	1.95692(1.05401, 4.00393) CerioDu.Sc
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	7.89642e+002(5.43400e+001,3.59544e+005)	2.89743(1.73512, 5.55575) CerioDu.Sc

Tabela 13: Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismo-teste *C. dubia*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Difenoconazol teste 1	
Espécie: <i>C. dubia</i>	
Duração: 48h	
PriProbit	
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.	
Ver.1.63	
Effective Dose Estimates	
# ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1 1.74796e-003(- , +)	-2.75747(- , +) CerioDu.Dif
# ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1 1.10793e-002(- , +)	-1.95549(- , +) CerioDu.Dif
# ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1 2.96514e-002(- , +)	-1.52795(- , +) CerioDu.Dif
# ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1 9.55370e-001(- , +)	-0.01983(- , +) CerioDu.Dif
# ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1 3.07821e+001(- , +)	1.48830(- , +) CerioDu.Dif
# ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1 8.23818e+001(- , +)	1.91583(- , +) CerioDu.Dif
# ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1 5.22170e+002(- , +)	2.71781(- , +) CerioDu.Dif
Difenoconazol teste 2	
Espécie: <i>C. dubia</i>	
Duração: 48h	
PriProbit	
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.	
Ver.1.63	
Effective Dose Estimates	
# ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1 1.32925e-002(1.74354e-003,3.78228e-002)	-1.87639(-2.75857,-1.42225) CerioDu.Di
# ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1 3.42661e-002(7.10568e-003,7.85662e-002)	-1.46514(-2.14839,-1.10476) CerioDu.Di
# ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1 5.67682e-002(1.49336e-002,1.16737e-001)	-1.24589(-1.82584,-0.93279) CerioDu.Di
# ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1 3.36881e-001(1.83229e-001,5.28250e-001)	-0.47252(-0.73701,-0.27716) CerioDu.Di
# ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1 1.99916e+000(1.21458e+000,4.42453e+000)	0.30085(0.08443, 0.64587) CerioDu.Di
# ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1 3.31198e+000(1.86030e+000,9.02071e+000)	0.52009(0.26958, 0.95524) CerioDu.Di
# ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1 8.53780e+000(3.97382e+000,3.57498e+001)	0.93135(0.59921, 1.55327) CerioDu.Di

Tabela 14: Análise estatística da toxicidade do Kraft@36EC para o organismo-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Kraft@36EC teste 1		
Espécie: <i>D. similis</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	7.52729e-002(5.20204e-002,1.03525e-001)	-1.12336(-1.28383,-0.98496) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	8.14563e-002(5.66675e-002,1.11462e-001)	-1.08908(-1.24667,-0.95287) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	8.49577e-002(5.93103e-002,1.15944e-001)	-1.07080(-1.22687,-0.93575) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	9.85548e-002(6.96424e-002,1.33266e-001)	-1.00632(-1.15713,-0.87528) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	1.14328e-001(8.17471e-002,1.53228e-001)	-0.94185(-1.08753,-0.81466) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.19242e-001(8.55410e-002,1.59423e-001)	-0.92357(-1.06783,-0.79745) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.29038e-001(9.31313e-002,1.71742e-001)	-0.88928(-1.03090,-0.76512) Daph.Kraft(R)36EC

Kraft@36EC teste 2		
Espécie: <i>D. similis</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	1.09047e-003(2.88984e-004,1.82451e-003)	-2.96239(-3.53913,-2.73885) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	1.62398e-003(5.96226e-004,2.42534e-003)	-2.78942(-3.22459,-2.61523) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	2.00812e-003(8.73973e-004,2.83314e-003)	-2.69721(-3.05850,-2.54773) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	4.24672e-003(3.10372e-003,5.31923e-003)	-2.37195(-2.50812,-2.27415) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	8.98086e-003(6.87926e-003,1.60013e-002)	-2.04668(-2.16246,-1.79585) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.11052e-002(8.11082e-003,2.32388e-002)	-1.95447(-2.09094,-1.63379) Daph.Kraft(R)36EC
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.65384e-002(1.08702e-002,4.75559e-002)	-1.78151(-1.96376,-1.32280) Daph.Kraft(R)36EC

Tabela 15: Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismo-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

abamectina

Espécie: *D. similis*

Duração: 48h

PriProbit

Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.

Ver.1.63

Effective Dose Estimates

#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	6.77149e-001(7.24588e-002,1.39858e+000)	-0.16932(-1.13991, 0.14569)	Daph.Aba3
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	1.04248e+000(1.80074e-001,1.89013e+000)	0.01807(-0.74455, 0.27649)	Daph.Aba3
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	1.31208e+000(2.91056e-001,2.23081e+000)	0.11796(-0.53602, 0.34846)	Daph.Aba3
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.95350e+000(1.45633e+000,4.35146e+000)	0.47034(0.16326, 0.63863)	Daph.Aba3
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	6.64833e+000(4.51126e+000,1.37103e+001)	0.82271(0.65430, 1.13705)	Daph.Aba3
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	8.36770e+000(5.56452e+000,2.12039e+001)	0.92261(0.74543, 1.32642)	Daph.Aba3
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	1.28822e+001(7.83661e+000,5.05683e+001)	1.10999(0.89413, 1.70388)	Daph.Aba3

Tabela 16: Análise estatística da toxicidade do Score@250EC para o organismo-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Score@250EC teste 1		
Espécie: <i>D. similis</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	1.56256e-001(7.79697e-002,2.31638e-001)	-0.80616(-1.10807,-0.63519) Daph.Score(R)250EC
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	2.40642e-001(1.42547e-001,3.28232e-001)	-0.61863(-0.84604,-0.48382) Daph.Score(R)250EC
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	3.02933e-001(1.95541e-001,3.97451e-001)	-0.51865(-0.70876,-0.40072) Daph.Score(R)250EC
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	6.82352e-001(5.43981e-001,8.55739e-001)	-0.16599(-0.26442,-0.06766) Daph.Score(R)250EC
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	1.53699e+000(1.17186e+000,2.37933e+000)	0.18667(0.06887, 0.37645) Daph.Score(R)250EC
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.93484e+000(1.41905e+000,3.26373e+000)	0.28664(0.15200, 0.51371) Daph.Score(R)250EC
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	2.97975e+000(2.01090e+000,5.96655e+000)	0.47418(0.30339, 0.77572) Daph.Score(R)250EC

Score@250EC teste 2		
Espécie: <i>D. similis</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	1.07621e-001(1.04263e-002,2.28932e-001)	-0.96810(-1.98187,-0.64029) Daph.Score(R)250EC
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	1.85926e-001(3.39087e-002,3.40681e-001)	-0.73066(-1.46969,-0.46765) Daph.Score(R)250EC
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	2.48839e-001(6.25641e-002,4.27967e-001)	-0.60408(-1.20368,-0.36859) Daph.Score(R)250EC
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	6.95710e-001(3.97130e-001,1.30801e+000)	-0.15757(-0.40107, 0.11661) Daph.Score(R)250EC
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	1.94508e+000(1.09452e+000,9.20724e+000)	0.28894(0.03922, 0.96413) Daph.Score(R)250EC
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	2.60325e+000(1.36428e+000,1.71209e+001)	0.41552(0.13490, 1.23353) Daph.Score(R)250EC
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	4.49736e+000(2.01530e+000,5.60934e+001)	0.65296(0.30434, 1.74891) Daph.Score(R)250EC

Tabela 17: Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismo-teste *D. similis*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Difenoconazol teste 1

Espécie: *D. similis*

Duração: 48h

PriProbit

Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.

Ver.1.63

Effective Dose Estimates

#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	1.40974e-001	(6.58142e-002,2.11982e-001)	-0.85086(-1.18168,-0.67370) Daph.Dif1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	2.15635e-001	(1.21898e-001,2.96798e-001)	-0.66628(-0.91400,-0.52754) Daph.Dif1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	2.70470e-001	(1.68403e-001,3.57049e-001)	-0.56788(-0.77365,-0.44727) Daph.Dif1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	6.01486e-001	(4.78036e-001,7.54822e-001)	-0.22077(-0.32054,-0.12216) Daph.Dif1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	1.33762e+000	(1.01703e+000,2.12913e+000)	0.12633(0.00733, 0.32820) Daph.Dif1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	1.67777e+000	(1.22413e+000,2.93984e+000)	0.22473(0.08783, 0.46832) Daph.Dif1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	2.56633e+000	(1.71479e+000,5.44227e+000)	0.40931(0.23421, 0.73578) Daph.Dif1

Difenoconazol teste 2

Espécie: *D. similis*

Duração: 48h

PriProbit

Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.

Ver.1.63

Effective Dose Estimates

#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	4.69299e-001	(1.97003e-001,6.64182e-001)	-0.32855(-0.70553,-0.17771) Daph.Dif2
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	6.20931e-001	(3.27310e-001,8.19698e-001)	-0.20696(-0.48504,-0.08635) Daph.Dif2
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	7.20883e-001	(4.26176e-001,9.23151e-001)	-0.14214(-0.37041,-0.03473) Daph.Dif2
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	1.22046e+000	(9.60872e-001,1.57993e+000)	0.08652(-0.01733, 0.19864) Daph.Dif2
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	2.06624e+000	(1.59286e+000,3.67762e+000)	0.31518(0.20218, 0.56557) Daph.Dif2
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	2.39884e+000	(1.78906e+000,4.80137e+000)	0.38000(0.25263, 0.68137) Daph.Dif2
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	3.17392e+000	(2.20220e+000,7.99813e+000)	0.50160(0.34286, 0.90299) Daph.Dif2

Tabela 18: Análise estatística da toxicidade do Kraft®36EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;96h.

Kraft®36EC			
Espécie: <i>C. sancticaroli</i>			
Duração: 96h			
PriProbit			
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.			
Ver.1.63			
Effective Dose Estimates			
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	2.27002e-003(8.22920e-005,7.28307e-003)	-2.64397(-4.08464,-2.13769)	Chi.Kraft(R)36EC1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	5.10726e-003(4.02286e-004,1.28131e-002)	-2.29181(-3.39547,-1.89235)	Chi.Kraft(R)36EC1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	7.86906e-003(9.31139e-004,1.74326e-002)	-2.10408(-3.03099,-1.75864)	Chi.Kraft(R)36EC1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	3.61542e-002(1.56344e-002,5.93821e-002)	-1.44184(-1.80592,-1.22634)	Chi.Kraft(R)36EC1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	1.66109e-001(9.62926e-002,5.51448e-001)	-0.77961(-1.01641,-0.25850)	Chi.Kraft(R)36EC1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	2.55935e-001(1.35631e-001, 1.23289e+000)	-0.59187(-0.86764, 0.09092)	Chi.Kraft(R)36EC1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	5.75821e-001(2.45843e-001,5.84985e+000)	-0.23971(-0.60934, 0.76714)	Chi.Kraft(R)36EC1

Tabela 19: Análise estatística da toxicidade do Score(R)250EC@250EC para o organismo-teste *C. sancticaroli*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;96h.

Score®250EC			
Espécie: <i>C. sancticaroli</i>			
Duração: 96h			
PriProbit			
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.			
Ver.1.63			
Effective Dose Estimates			
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	1.02472e+000(9.06852e-001,1.13972e+000)	0.01061(-0.04246, 0.05680)	Chi.Score(R)250EC1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	1.15092e+000(1.02836e+000,1.27397e+000)	0.06104(0.01215, 0.10516)	Chi.Score(R)250EC1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	1.22443e+000(1.09864e+000,1.35314e+000)	0.08793(0.04086, 0.13134)	Chi.Score(R)250EC1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	1.52330e+000(1.37889e+000,1.68389e+000)	0.18278(0.13953, 0.22631)	Chi.Score(R)250EC1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	1.89511e+000(1.71362e+000,2.11626e+000)	0.27763(0.23392, 0.32557)	Chi.Score(R)250EC1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	2.01615e+000(1.81951e+000,2.26165e+000)	0.30452(0.25995, 0.35443)	Chi.Score(R)250EC1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	2.26445e+000(2.03275e+000,2.56608e+000)	0.35496(0.30808, 0.40927)	Chi.Score(R)250EC1

Tabela 20: Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismo-teste *C. sancticaroli*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;96h.

difenoconazol		
Espécie: <i>C. sancticaroli</i>		
Duração: 96h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	3.82883e-001(- , +)	-0.41693(- , +) Chi.Dif1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	7.96076e-001(- , +)	-0.09905(- , +) Chi.Dif1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	1.17603e+000(- , +)	0.07042(- , +) Chi.Dif1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	4.65811e+000(- , +)	0.66821(- , +) Chi.Dif1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	1.84502e+001(- , +)	1.26600(- , +) Chi.Dif1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	2.72562e+001(- , +)	1.43547(- , +) Chi.Dif1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	5.66702e+001(- , +)	1.75335(- , +) Chi.Dif1

Tabela 21: Análise estatística da toxicidade do Kraft@36EC para o organismo-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Kraft@36EC		
Espécie: <i>D. rerio</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	5.33426e-001(4.66167e-001,6.02338e-001)	-0.27293(-0.33146,-0.22016) Px.Kraft(R)36EC1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	5.89751e-001(5.18661e-001,6.63843e-001)	-0.22933(-0.28512,-0.17793) Px.Kraft(R)36EC1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	6.22170e-001(5.48762e-001,6.99488e-001)	-0.20609(-0.26062,-0.15522) Px.Kraft(R)36EC1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	7.51430e-001(6.67662e-001,8.43645e-001)	-0.12411(-0.17544,-0.07384) Px.Kraft(R)36EC1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	9.07544e-001(8.08424e-001,1.02242e+000)	-0.04213(-0.09236, 0.00963) Px.Kraft(R)36EC1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	9.57432e-001(8.52724e-001,1.08062e+000)	-0.01889(-0.06919, 0.03367) Px.Kraft(R)36EC1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.05853e+000(9.41532e-001,1.20010e+000)	0.02470(-0.02617, 0.07922) Px.Kraft(R)36EC1

Tabela 22: Análise estatística da toxicidade da abamectina para o organismo-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

abamectina		
Espécie: <i>D. rerio</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	7.16910e+001(4.53578e+001,8.00664e+001)	1.85546(1.65665, 1.90345) Px.Aba1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	7.70112e+001(5.52262e+001,8.41342e+001)	1.88655(1.74215, 1.92497) Px.Aba1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	8.00069e+001(6.12008e+001,8.65784e+001)	1.90313(1.78676, 1.93741) Px.Aba1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	9.15358e+001(8.35619e+001,1.00786e+002)	1.96159(1.92201, 2.00340) Px.Aba1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	1.04726e+002(9.66232e+001,1.38538e+002)	2.02005(1.98508, 2.14157) Px.Aba1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.08800e+002(9.93900e+001,1.53588e+002)	2.03663(1.99734, 2.18636) Px.Aba1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.16874e+002(1.04401e+002,1.87072e+002)	2.06772(2.01871, 2.27201) Px.Aba1

Tabela 23: Análise estatística da toxicidade do Score®250EC para o organismo-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

Score®250EC		
Espécie: <i>D. rerio</i>		
Duração: 48h		
PriProbit		
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.		
Ver.1.63		
Effective Dose Estimates		
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits) Preparation
1	4.07323e-002(5.57083e-003,8.35489e-002)	-1.39006(-2.25408,-1.07806) Px.Score(R)250EC1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits) Preparation
1	7.06533e-002(1.66442e-002,1.26439e-001)	-1.15087(-1.77874,-0.89812) Px.Score(R)250EC1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits) Preparation
1	9.47645e-002(2.92860e-002,1.60625e-001)	-1.02335(-1.53334,-0.79419) Px.Score(R)250EC1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits) Preparation
1	2.66962e-001(1.56810e-001,5.12107e-001)	-0.57355(-0.80463,-0.29064) Px.Score(R)250EC1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits) Preparation
1	7.52062e-001(4.17607e-001,3.28268e+000)	-0.12375(-0.37923, 0.51623) Px.Score(R)250EC1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits) Preparation
1	1.00871e+000(5.22329e-001,5.86652e+000)	0.00377(-0.28206, 0.76838) Px.Score(R)250EC1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits) Preparation
1	1.74969e+000(7.78601e-001,1.77948e+001)	0.24296(-0.10868, 1.25029) Px.Score(R)250EC1

Tabela 24: Análise estatística da toxicidade do difenoconazol para o organismo-teste *D. rerio*. Tabela criada pelo software PriProbit V.1.63, com destaque para CE₅₀;48h.

difenoconazol			
Espécie: <i>D. rerio</i>			
Duração: 48h			
PriProbit			
Copyright(C) 1996-2000 Masayuki SAKUMA. All Rights Reserved.			
Ver.1.63			
Effective Dose Estimates			
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	1.93747e+000(1.87644e+000,2.00090e+000)	0.28723(0.27334, 0.30122)	Px.Dif1
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	1.97803e+000(1.91562e+000,2.04296e+000)	0.29623(0.28231, 0.31026)	Px.Dif1
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	2.00000e+000(1.93682e+000,2.06575e+000)	0.30103(0.28709, 0.31508)	Px.Dif1
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.07946e+000(2.01350e+000,2.14823e+000)	0.31795(0.30395, 0.33208)	Px.Dif1
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	2.16208e+000(2.09314e+000,2.23407e+000)	0.33487(0.32080, 0.34910)	Px.Dif1
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	2.18610e+000(2.11628e+000,2.25904e+000)	0.33967(0.32557, 0.35392)	Px.Dif1
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	2.23187e+000(2.16035e+000,2.30664e+000)	0.34867(0.33453, 0.36298)	Px.Dif1

Specie Sensitivity Distribution (SSD)

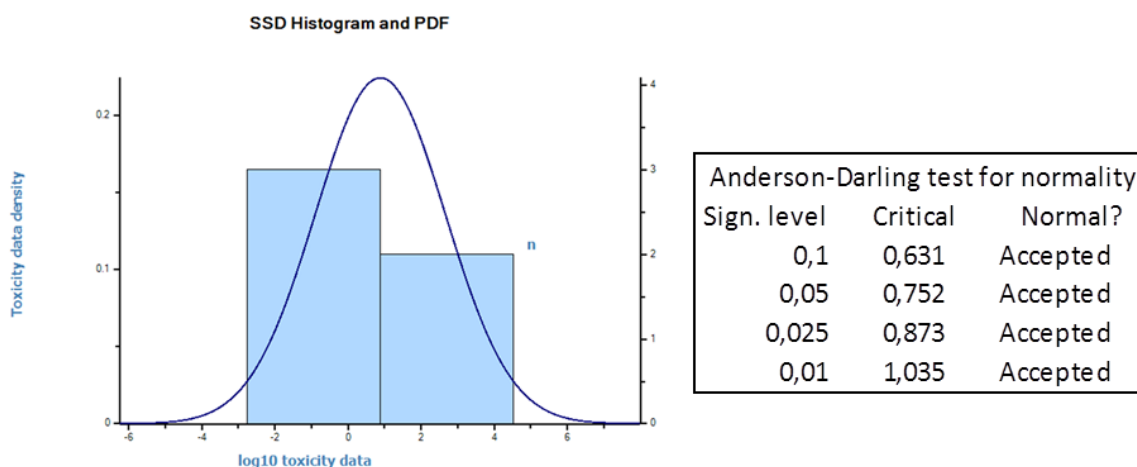


Figura 1: Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite dos testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com Kraft@36EC.

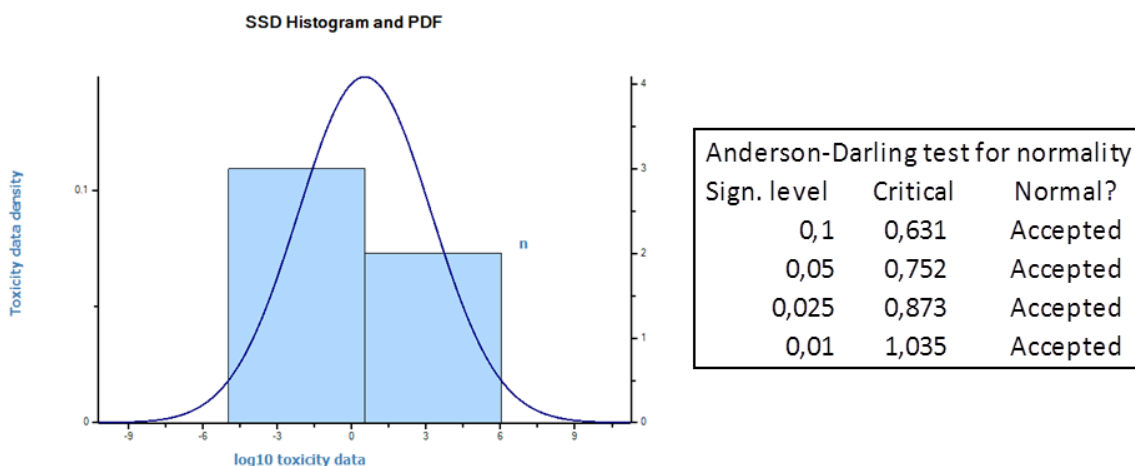


Figura 2: Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite dos testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com abamectina.

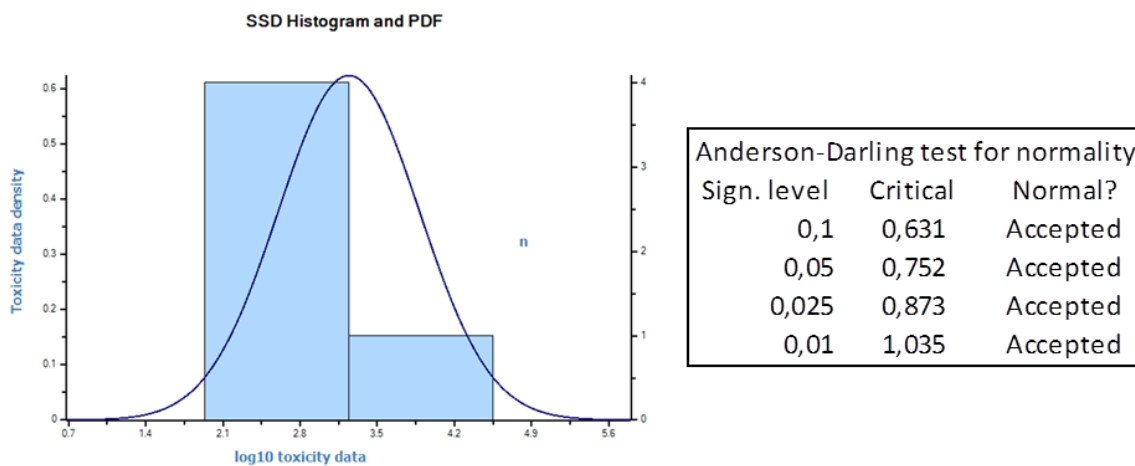


Figura 3: Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite dos testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com Score®250EC.

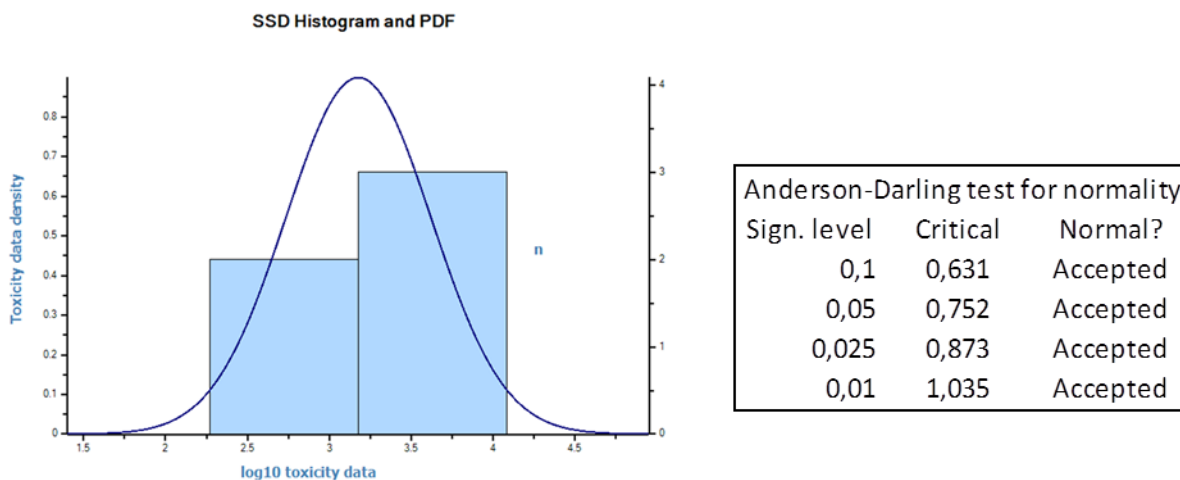


Figura 4: Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite dos testes de normalidade de Anderson-Darling para bioensaios com difenoconazol.

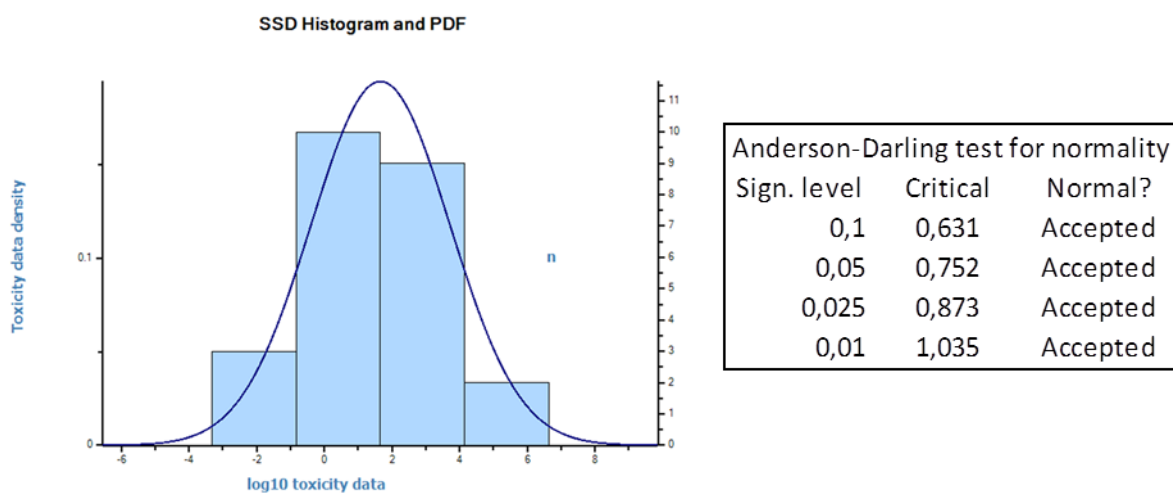


Figura 5: Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite dos testes de normalidade de Anderson-Darling para a análise SSD feita a partir da base se dados de resultados de bioensaios com abamectina.

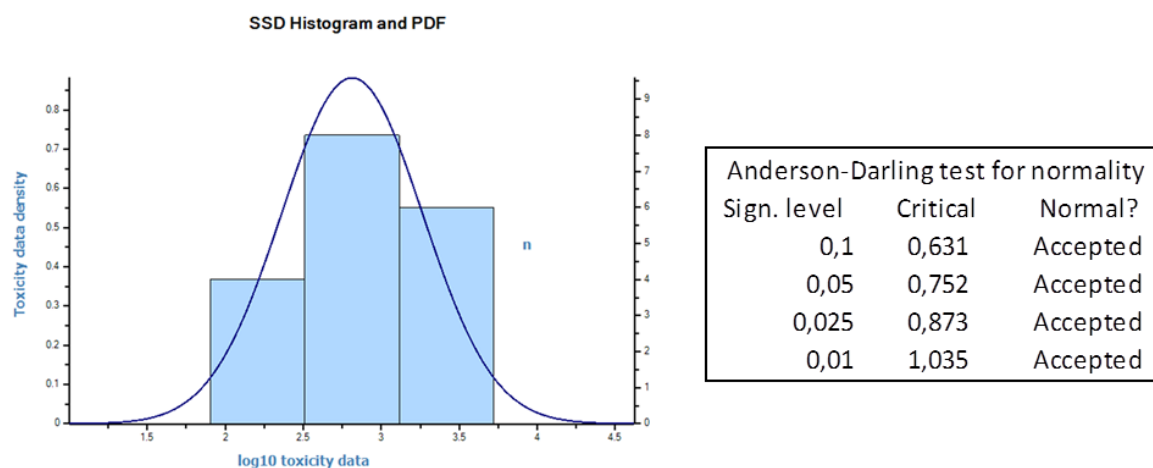


Figura 6: Histograma representando a distribuição normal dos dados e aceite dos testes de normalidade de Anderson-Darling para a análise SSD feita a partir da base se dados de resultados de bioensaios com difenoconazol.