



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE E  
SUSTENTABILIDADE NA AMAZÔNIA – PPG/CASA

Toxicidade aguda de agrotóxicos e Curva de Sensibilidade de Espécies  
para peixes amazônicos

Thayana Cruz de Souza

**Manaus/AM**  
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE E  
SUSTENTABILIDADE NA AMAZÔNIA – PPG/CASA

Toxicidade aguda de agrotóxicos e Curva de Sensibilidade de Espécies  
para peixes amazônicos

Aluna: Thayana Cruz de Souza  
Orientadora: Professora Dra. Andrea Viviana Waichman  
Coorientador: Professor Dr. Jaydione Luiz Marcon

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade da Amazônia – PPG/CASA, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade da Amazônia; Área de concentração em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade da Amazônia.

**Manaus/AM**  
2014

Ficha Catalográfica  
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Souza, Thayana Cruz de.

Toxicidade aguda de agrotóxicos e curva de sensibilidade de espécies para peixes amazônicos / Thayana Cruz de Souza. - 2014.

63 f. : il. color..

Dissertação (mestrado em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia) — Universidade Federal do Amazonas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Andrea Viviana Waichman.

Coorientador: Prof. Dr Jaydione Luiz Marcon

1. Toxicologia aquática 2. Peixes – Amazônia 3. Agrotóxico  
4. Biodiversidade I. Waichman, Andre Viviana, orientador II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

CDU (1997): 574.64 (811.3) (043.3)

*Aos meus amores eternos  
Regina, Heber e Eduardo*

*Com amor,  
Dedico*

**Agradecimentos**

Agradeço a Deus, por guiar meus passos e ter me abençoado até o fim deste trabalho, pois sem sua bênção nada é possível.

A minha Mãe, Regina, meu maior exemplo de vida e que sempre investiu em minha educação, incentivando-me a lutar pelos meus ideais; e ao Pai por sempre me dizer que eu seria capaz.

Ao meu companheiro de todas as horas, Eduardo, pelo apoio ao meu crescimento profissional, carinho, paciência, dedicação e pelas palavras de consolo, tornando tudo mais fácil de ser resolvido.

A minha orientadora, Dra. Andrea Viviana Waichman, por ter me transmitido seus conhecimentos e me aceitado como aluna mesmo tendo uma nova rotina a cumprir.

Ao meu coorientador, Dr. Jaydione Marcon, pelo espaço cedido em seu laboratório, por ter acompanhado meu trabalho sempre me instruindo sobre a melhor forma de conduzir os experimentos e pelas sugestões na forma de organizar o trabalho.

Ao Dr. Sergio Luiz da Silva, quem me ajudou a dar início a parte prática do trabalho e me acompanhou em todos os momentos de dificuldade. Obrigada pela dedicação, esforço, paciência e pelos ensinamentos repassados.

À Dra. Fabiola Xochilt Valdez do INPA, pelo apoio durante a realização dos experimentos e por compartilhar seus conhecimentos a respeito da Ecotoxicologia.

Ao Dr. Thierry Gasnier, por se dispor a ajudar nas Análises Estatísticas e pelas orientações gerais.

Aos colegas de pesquisa, Rodolfo, Paola, Adriana, Erika, Ana Julia e Lívia, pelos momentos compartilhados e pelo apoio dado ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

À Msc. Gisele Vilarinho por dividir comigo seus conhecimentos.

À equipe do Laboratório de Química Ambiental do INPA, em especial a Antônia e o Walter, que me auxiliaram com muita paciência e boa vontade.

Ao Dr. Henrique Pereira, coordenador do curso de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia, pois sempre esteve disposto a ajudar os alunos do programa de forma a facilitar o desenvolvimento dos trabalhos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

E por fim, à Universidade Federal do Amazonas, em particular ao Centro de Ciências do Ambiente, que contribuiu para realização deste trabalho.

“A Terra provê o suficiente para as necessidades de todos os homens, mas não para a voracidade de todos.”

*Mahatma Gandhi*

## RESUMO

A Amazônia vem sendo alvo de contaminação ambiental pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, colocando não só em risco a biodiversidade e abundância de organismos aquáticos, mas também o funcionamento e sustentabilidade desse ecossistema. Pouco se sabe a respeito dos efeitos dessas substâncias em espécies amazônicas, a maioria dos estudos ecotoxicológicos são desenvolvidos com espécies de ambiente temperado que, por sua vez, são extrapolados para as regiões tropicais. Além disso, os valores máximos permitidos para diversas substâncias em uso no Brasil não estão estabelecidos em lei. O presente trabalho teve como proposta determinar a toxicidade aguda de quatro agrotóxicos em cinco espécies de peixes amazônicos (*Carnegiella strigata*, *Colossoma macropomum*, *Corydoras schwartzi*, *Hemigrammus rhodostomus* e *Paracheirodon axelrodi*), permitindo delinear corretamente estratégias para sua proteção com base na utilização do método de distribuição de sensibilidade de espécies e sugerir valores máximos permitidos para cada agrotóxico. Primeiramente, foi determinada a Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) dos agrotóxicos, testados individualmente para as cinco espécies. Em seguida, foram determinadas as concentrações de risco que afetam 5% das espécies (HC<sub>5</sub>) utilizando o conceito de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (DSE) comparando os dados obtidos neste estudo com dados de espécies de peixes de ambiente temperado obtidos da literatura. Os valores máximos permitidos para cada agrotóxico em ambientes aquáticos na Amazônia foram propostos. Com base nos resultados da CL<sub>50</sub>, a deltametrina apresentou maior toxicidade aos peixes, seguido pelo glifosato, diuron e imidacloprido. *C. strigata* foi uma das espécies mais sensíveis à exposição dos agrotóxicos, enquanto que *C. schwartzi* apresentou mais resistência, com valores de CL<sub>50</sub> mais elevados. Não houve diferença significativa na distribuição de sensibilidade entre as espécies amazônicas e temperadas. Os valores de HC<sub>5</sub> gerados com a construção das DSEs foram propostos como ponto partida para a formulação dos padrões de qualidade de água na região amazônica, no que diz respeito ao grupo dos peixes, sendo os valores máximos sugeridos para deltametrina, imidacloprido, glifosato e diuron: 0,242 µg/L, 14,56 µg/L, 177,00 µg/L, 1,27 µg/L, respectivamente. Portanto, esse trabalho é um dos pioneiros na realização de testes de toxicidade com agrotóxicos em peixes amazônicos, dessa forma, contribui para ampliar o conjunto de dados ecotoxicológicos e pode ser utilizado como ponto de partida para as discussões envolvendo a determinação de valores máximos permitidos de substâncias tóxicas para os ambientes aquáticos da Amazônia.

**Palavras-chave:** inseticida, herbicida, ecotoxicologia aquática, padrão de qualidade ambiental; Amazônia

## ABSTRACT

The Amazon has been the target of environmental contamination by the indiscriminate use of pesticides, putting at risk not only the biodiversity and abundance of aquatic organisms, but also the functioning and sustainability of the ecosystem. Little is known about the effects of these substances on Amazonian species, most ecotoxicological studies are developed with species of temperate environment which, in turn, are extrapolated to tropical regions. Furthermore, the maximum permissible values for various substances in use in Brazil are not established by law. The present study was proposed to determine the acute toxicity of four pesticides in five species of Amazonian fish (*Carnegiella strigata*, *Colossoma macropomum*, *Corydoras schwartzi*, *Hemigrammus rhodostomus* e *Paracheirodon axelrodi*), allowing properly devise strategies for their protection based on the use of the method of distribution of sensitivity of species and suggest maximum values allowed for each pesticide. First, the Lethal Concentration (LC<sub>50</sub>) of pesticides was determined, tested individually for the five species. Then, it was determined the concentrations of risk affecting 5% of species (HC5) using the concept of species sensitivity distribution (SED) comparing the data obtained in this study with data from both species of temperate environment obtained from the literature. The maximum allowable values for each pesticide in aquatic environments in the Amazon have been proposed. Based on the results of LC<sub>50</sub>, deltamethrin showed greater toxicity to fish, followed by glyphosate, imidacloprid and diuron. *C. strigata* was one of the most sensitive species to exposure to pesticides, whereas *C. schwartzi* was more resistant, with higher value of LC<sub>50</sub>. There was no significant difference in the distribution of sensitivity between the Amazonian and temperate species. HC5 values generated with the construction of SDRs have been proposed as starting point for the formulation of standards of water quality in the Amazon region, with regard to the fish group, with the maximum suggested values for deltamethrin, imidacloprid, glyphosate and diuron: 0,242 µg/L, 14.56 µg/L, 177,00 µg/L, 1.27 µg/L, respectively. Therefore, this work is one of the pioneers in conducting toxicity testing in Amazonian fish with pesticides, thus testing contributes to increase the number of ecotoxicological data and can be used as a starting point for discussions involving the determination of maximum allowable values for toxic substances to the aquatic environments of the Amazon.

**Keywords:** herbicide, insecticide, aquatic ecotoxicology, environmental quality standard, Amazon basin

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CE<sub>50</sub>: Concentração de um composto efetiva que causa imobilidade em 50% dos organismos expostos

CENO: Concentração de efeito não observado

CL<sub>50</sub>: Concentração Letal Mediana de um composto que causa a mortalidade de 50% dos organismos expostos

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

DSE: Distribuição da sensibilidade de espécies

EPA: Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América

FAO: A Food and Agriculture Organization

GABA: Ácido gama-aminobutírico

HC<sub>5</sub>: Concentração que afeta apenas 5% dos organismos expostos.

HC: Concentração de risco

HC<sub>p</sub>: Concentração de um componente químico na água que é capaz de afetar uma proporção (p) de um grupo de espécies

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OECD: Organização pela Cooperação Econômica e Desenvolvimento das Nações Unidas

SEPA/SEPROR: Secretaria Executiva de Pesca e Aquicultura

SINDAG: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola

UFAM: Universidade Federal do Amazonas

WHO: World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
3.1. ESPÉCIES UTILIZADAS.....	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>
3.2. AGROTÓXICOS UTILIZADOS NOS TESTES AGUDOS.....	21
3.2.1. <i>Deltametrina</i> .....	21
3.2.2. <i>Imidacloprido</i> .....	12
3.2.3. <i>Glifosato</i> .....	12
3.2.4. <i>Diuron</i> .....	12
3.3. PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	13
3.4. MÉTODOS ANALÍTICOS .....	16
3.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	16
3.5.1. <i>Cálculo da CL50</i> .....	16
3.5.2. <i>Cálculo da Concentração de Efeito Não Observado (CENO)</i> .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.5.3. <i>Construção das Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies: comparando ambientes temperados e amazônicos.</i> .....	16
3.5.4. <i>Cálculo do valor máximo de agrotóxico permitido (padrão de qualidade da água)</i> .....	17
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>19</b>
4.1. TOXICIDADE AGUDA – 96H .....	19
4.2. CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DE SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES .....	23
4.3. CÁLCULO DO VALOR MÁXIMO PERMITIDO DE AGROTÓXICO (PADRÃO DE QUALIDADE DA ÁGUA).....	26
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
5.1. TOXICIDADE AGUDA-96H.....	28
5.2. DISTRIBUIÇÃO DE SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE AMBIENTE AMAZÔNICO E DE CLIMA TEMPERADO .....	30
5.3. PADRÃO DE QUALIDADE DA ÁGUA PARA PEIXES AMAZÔNICOS.....	33
<b>6. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>37</b>
ANEXO I .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
ANEXO II .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
ANEXO III .....	49
ANEXO IV .....	47

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Espécies amazônicas submetidas aos testes de toxicidade aguda com agrotóxicos. A) *Colossoma macropomum* B) *Carnegiella strigata* C) *Hemigrammus rhodostomus* D) *Paracheirodon axelrodi* e E) *Corydoras schwartzi*..... 20
- Figura 2.** Distribuição de sensibilidade de espécies de peixes de ambientes temperado (vermelho) e ambiente amazônico (preto) para os agrotóxicos: A) Deltametrina; B) Imidacloprido; C) Glifosato; E) Diuron. A mediana da concentração perigosa para 5% das espécies (HC<sub>5</sub>) é apresentada juntamente com o intervalo superior (5%) e inferior (95%) de confiança entre parênteses..... 24
- Figura 3.** Distribuição da sensibilidade de espécies dos peixes amazônicos construída com a CL<sub>50</sub> (µg/L) para Deltametrina (vermelho), Imidacloprido (preto), Glifosato (azul) e Diuron (verde)..... 26

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Biometria e classificação das espécies de peixes (média ± DP; n=10) .....	<b>19</b>
<b>Tabela 2.</b> Propriedades físico-químicas e meia vida dos agrotóxicos em estudo.....	<b>22</b>
<b>Tabela 3.</b> Concentrações nominais dos agrotóxicos (mg/L) utilizadas nos testes de toxicidade aguda (96 horas) com peixes amazônicos.....	<b>31</b>
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros físico-químicos da água dos experimentos agudos (96h) realizados com inseticidas (média ± desvio padrão).....	<b>31</b>
<b>Tabela 5.</b> Parâmetros físico-químicos da água dos experimentos agudos (96h) realizados com herbicidas (média ± desvio padrão).....	<b>32</b>
<b>Tabela 6.</b> Concentração Letal Mediana (CL <sub>50</sub> ) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao inseticida Deltametrina. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL <sub>50</sub> .....	<b>32</b>
<b>Tabela 7.</b> Concentração Letal Mediana (CL <sub>50</sub> ) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao inseticida Imidacloprido. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL <sub>50</sub> .....	<b>33</b>
<b>Tabela 8.</b> Concentração Letal Mediana (CL <sub>50</sub> ) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao herbicida Glifosato. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL <sub>50</sub> .....	<b>33</b>
<b>Tabela 9.</b> Concentração Letal Mediana (CL <sub>50</sub> ) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao herbicida Diuron. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL <sub>50</sub> .....	<b>38</b>
<b>Tabela 10.</b> Concentrações de risco para 5% e 50% das espécies (HC <sub>5</sub> e HC <sub>50</sub> , respectivamente; µg/L) e seus limites dos intervalos de confiança (95% e 5%) para cada distribuição de sensibilidade de espécies. E os resultados de sobreposição dos intervalos de confiança entre as espécies de peixes de ambiente temperado e amazônico para cada agrotóxico.....	<b>39</b>
<b>Tabela 11.</b> Valores máximos permitidos de agrotóxicos no ambiente aquático amazônico calculados para peixes utilizando a abordagem de distribuição de sensibilidade de espécies. HC <sub>5</sub> é a concentração de risco para 5% das espécies e que protege 95% das espécies; o percentil de 5% corresponde ao limite inferior de confiança (5%) do HC <sub>5</sub> . O valor máximo foi calculado dividindo o percentil de 5% por um fator de segurança de 5.....	<b>40</b>

## 1. Introdução

A cada ano são produzidos mundialmente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos e, deste total, 85% são utilizados na agricultura (JOBIM et al., 2010). O mercado brasileiro de agrotóxicos teve um aumento de 190% nos últimos dez anos, passando de 599,5 em 2002 para 852,8 milhões de litros pulverizados nas lavouras brasileiras em 2011 (CARNEIRO et al., 2012). Devido a esse desempenho econômico excepcional do setor agrícola, a Organização Mundial para a Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização para a Cooperação Econômica e o Desenvolvimento (OECD) estimam que o Brasil será, até o final dessa década, o maior produtor agrícola e o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (OECD; FAO, 2010).

Esse crescimento foi influenciado pela política de modernização da agricultura, na qual o governo ofereceu incentivos para a instalação da indústria de agrotóxicos no país e seu amplo uso nas lavouras foi promovido ao condicionar a obtenção do crédito rural à aquisição de agrotóxicos (SOARES; PORTO, 2009; PORTO; SOARES, 2012). Essas mudanças trouxeram ganhos para a agricultura e economia, mas também perdas incalculáveis na diversidade dos ecossistemas, tornando necessárias medidas urgentes que protejam o ambiente natural, a fim de minimizar os danos causados por essas atividades.

Apesar da expansão agrícola ter se concentrado nas regiões sul e sudeste do Brasil, a Amazônia representa atualmente a principal fronteira agrícola do país (PERES; SCHNIDER, 2012). E por sua vez, a Amazônia é considerada a mais importante área tropical do planeta, contendo aproximadamente 40% da floresta tropical remanescente, e concentrando uma enorme diversidade de espécies da flora e da fauna (LAURANCE et al., 2001 e 2009). Esse bioma além de possuir uma enorme diversidade de espécies, também fornece importantes serviços ecossistêmicos que resultam da complexa interação entre os elementos abióticos e as espécies que compõem o ecossistema (SOARES-FILHO et al., 2005).

Entretanto, esse enorme capital natural vem sendo ameaçado pelo desmatamento para a criação de gado, expansão das culturas de soja, aumento dos plantios de cana de açúcar e outras culturas para a produção de biocombustíveis, aliado ao aumento populacional e mudanças no uso da terra. Essas práticas resultam não só em perda de habitats e biodiversidade, mas também em contaminação ambiental pelo uso de agrotóxicos (DASGUPTA et al., 2001; WAICHMAN et al., 2002).

Sabe-se que o uso de agrotóxicos na região da Amazônia brasileira tem aumentado exponencialmente nas últimas décadas. Entre os anos de 1997 e 2012 a utilização dessas

substâncias no Estado do Amazonas passou de três para 1592 toneladas por ano, segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG).

Isso foi ocasionado por dois motivos: o rápido crescimento populacional nas áreas urbanas, que resultou no aumento da demanda por frutas e hortaliças; e a introdução de cultivos não adaptados às condições da região, sendo mais suscetíveis às pragas e à competição com a vegetação nativa, levando os agricultores a um uso intenso de agrotóxicos em diversos municípios do Estado do Amazonas (WAICHMAN et al., 2002 e 2007; VASCONCELOS; SILVA, 2011).

Embora o governo brasileiro tenha promulgado a Lei dos Agrotóxicos 7.802/1989, que impõe duras penas para o uso incorreto de agrotóxicos, essa lei tem sido mal aplicada por ineficiência durante etapas de execução e fiscalização, especialmente nas áreas mais remotas da floresta tropical (WAICHMAN et al., 2007). Estudos realizados por Amaral, (2001), Waichman et al. (2002 e 2007) e Röembke et al. (2008) indicaram que os agrotóxicos são livremente comercializados e utilizados nas principais áreas agrícolas do Estado do Amazonas. Os agricultores utilizam altas concentrações de agrotóxicos e fazem aplicações destes produtos com frequências maiores e em menor intervalo de tempo que o recomendado. Além disso, a aplicação dessas substâncias é frequentemente acompanhada por práticas incorretas, como a lavagem de equipamentos de aplicação em rios e córregos, sem o uso de roupas de proteção durante a aplicação do produto e eliminação das embalagens e sobras de produtos perto de suas casas ou junto aos rios (WAICHMAN et al., 2007).

A liberação intensa de agrotóxicos nas áreas agrícolas da Amazônia pode levar a uma contaminação dos ecossistemas aquáticos (CAPRI et al., 1998; WAICHMAN et al., 2007; MONTANHA; PIMPÃO, 2012). Nestas zonas, a dispersão dos agrotóxicos pode ser incrementada por inundações sazonais, o que pode contribuir para a dessorção do agrotóxico acumulado na superfície do solo, aumentando a quantidade que atinge o meio aquático. Tanto nas áreas de várzea, quanto nas zonas agrícolas de terra firme, as condições de chuva do clima tropical favorecem a dispersão dos agrotóxicos pelo escoamento da água e lixiviação da água do solo, que representa um perigo potencial para os organismos que habitam os ecossistemas aquáticos ao redor dos campos agrícolas (CASTILLO et al., 1997, FRACASIO, et al., 2008). Além disso, por esse mesmo mecanismo de dispersão, os agrotóxicos podem ir além dos pontos de lançamento, chegando a atingir inclusive áreas protegidas (HENRIQUES et al., 1997). Estudos realizados em uma área de Mata Atlântica protegida, cercada por agricultura extensiva, evidenciou a contaminação de córregos, sedimentos e peixes por 27 agrotóxicos, mesmo dentro do núcleo da reserva (MORAES et al., 2003). Isso demonstra como a biodiversidade pode ser

influenciada pelo uso de terras vizinhas e torna-se vulnerável com a dispersão dos contaminantes.

Dessa forma, o uso indiscriminado de agrotóxicos em áreas agrícolas da Amazônia constitui uma ameaça potencial não só para a biodiversidade e a função ecológica dos ecossistemas aquáticos, mas também para a integridade de outras atividades correlatas. A exemplo da pesca, uma das principais atividades econômicas para as populações locais, uma vez que os peixes são alimentos ricos em fonte de proteínas e são fundamentais para manter a sustentabilidade das comunidades ribeirinhas ao longo da Amazônia (CHAO et al., 2001; DE ALBUQUERQUE et al., 2003; PINTO et al., 2007).

Assim, para garantir a proteção da ictiofauna e dos serviços ecossistêmicos que ela fornece, é necessário desenvolver ferramentas para avaliação de risco dos sistemas aquáticos tropicais, em especial o amazônico, estabelecendo critérios de qualidade da água que permitam o monitoramento e controle dos impactos das atividades humanas. Isso requer a compreensão de como esse grupo torna-se vulnerável com a presença dos contaminantes.

Uma das formas de se avaliar os efeitos deletérios de poluentes nos organismos aquáticos é por meio da realização de testes de toxicidade aguda que são utilizados para determinar a concentração de uma substância-teste que produz efeitos deletérios em um grupo de organismos-teste sob condições controladas em um curto período de exposição em relação ao período de vida do organismo-teste. Com isso, um dos objetivos da ecotoxicologia é definir limites de substâncias tóxicas permissíveis com níveis de incerteza aceitáveis e que sirvam de guia para as entidades reguladoras para a tomada de decisões (WALKER et al., 2006).

Portanto, é de suma importância o conhecimento dos efeitos dos agrotóxicos sobre a biodiversidade Amazônica para a definição de padrões de qualidade ambiental. Entretanto, a realização desta tarefa implica em primeira instância na construção de uma base de conhecimentos em ecotoxicologia para a região. Apesar da existência da Resolução CONAMA Nº 357/2005, que determina os valores máximos de diversas substâncias nas águas do Brasil, a maior parte dos agrotóxicos ainda não tiveram seus valores máximos permitidos estabelecidos na legislação. Nesse contexto, a ausência desses valores cria um cenário onde se torna quase impossível implementar ações para a proteção da biodiversidade aquática e para o uso correto de agrotóxicos.

No Brasil, embora a pesquisa ecotoxicológica tenha crescido substancialmente nos últimos anos, um dos grandes problemas enfrentados é a escassa realização de testes com espécies locais ou endêmicas e em situações que reflitam as condições locais de exposição da biodiversidade aos poluentes (KRULL et al., 2011). Dessa forma, há necessidade de

implementação de uma abordagem mais abrangente, pois os padrões de qualidade de água e, portanto, os valores máximos permitidos de substâncias tóxicas no meio aquático são calculados apenas com base em testes realizados com duas espécies padrão, *Daphnia similis*, espécie de zona temperada, e *Ceriodaphnia silvestri*, espécie nativa (ABNT, 2003; ABNT, 2010), sendo utilizadas como equivalentes para representar o efeito em diversas espécies de um mesmo ecossistema ou nível trófico (LACHER; GOLDSTEIN, 1997). Essa abordagem na definição das concentrações máximas de substâncias permitidas é falha, uma vez que o que se pretende proteger não é uma determinada espécie, mas as populações, as comunidades e os ecossistemas aquáticos de forma geral.

Sendo assim, o desafio atual é estabelecer concentrações máximas ou limite de contaminantes ambientais que protejam a diversidade de espécies e os atributos funcionais dos ecossistemas naturais. Para resolver o impasse da extrapolação realizada a partir de uma ou duas espécies para inferir efeitos no conjunto das espécies do ecossistema foi proposto o método de avaliação da Distribuição de Sensibilidade de Espécies (DSE). Este método considera que há uma variação na sensibilidade aos contaminantes ambientais, que pode ser descrita através da construção de uma curva de distribuição da sensibilidade de espécies (NEWMAN, 2000). De modo que, é calculada uma concentração conhecida como o HC<sub>5</sub> (concentração perigosa para 5% das espécies, ou que proporciona um nível de proteção para 95% das espécies), uma vez que é assumido que o ecossistema aquático pode tolerar certo grau de estresse químico (WHEELER et al., 2002). Este método leva em consideração a diversidade de espécies representando de forma mais abrangente o comportamento de determinada substância no ambiente, pois se utiliza de dados de sensibilidade de diferentes organismos e assim se determina qual a fração afetada de espécies para cada composto estudado. Com base nessas informações pode ser proposto um valor máximo da substância no ambiente de acordo com a proporção de espécies que se quer proteger (MALTBY et al., 2005; DAAM; VAN DEN BRINK, 2010).

O uso da DSE para determinação de concentrações máximas de contaminantes no ambiente foi proposto na década de 70 nos Estados Unidos (SUTER, 2002) e posteriormente, na Europa (VAN STRAALLEN; VAN LEWEEN, 2002). Atualmente, diversos órgãos de proteção na Europa e América do Norte vêm utilizando o método DSE para determinar as concentrações máximas de componentes tóxicos no ambiente. Esse método poderia ser implementado no Brasil para avaliar os efeitos de contaminantes em ecossistemas aquáticos tropicais levando em consideração uma abordagem ecologicamente relevante, a partir do uso de espécies autóctones adequadas e de cenários de exposição condizentes com a realidade local.

Com base no exposto, a pesquisa visa determinar a toxicidade aguda de quatro agrotóxicos utilizados na região amazônica em cinco espécies de peixes amazônicos, permitindo delinear estratégias para sua proteção com base na utilização do método de distribuição de sensibilidade de espécies, ao tempo que permitam o desenvolvimento da agricultura, a qual é uma importante atividade socioeconômica na região.

## **2. Objetivos**

### **2.2. Objetivo geral**

Determinar a toxicidade aguda de quatro agrotóxicos em cinco espécies de peixes da região amazônica, visando o estabelecimento de valores máximos permitidos no ambiente aquático e assim fornecer subsídios para a proteção da biodiversidade aquática da região amazônica.

### **2.3. Objetivos específicos**

- Determinar a Concentração Letal Mediana ( $CL_{50}$ ) dos agrotóxicos: Deltametrina, Imidacloprido, Glifosato e Diuron, em cinco espécies de peixes amazônicos (*Carnegiella strigata*, *Colossoma macropomum*, *Corydoras schwartzi*, *Hemigrammus rhodostomus* e *Paracheirodon axelrodi*) testadas individualmente.
- Determinar a concentração de risco que afeta 5% das espécies e protege 95% (HC 5%), por meio da construção de curva de sensibilidade das espécies para cada agrotóxico.
- Propor, preliminarmente, um padrão de qualidade ambiental que possa ser futuramente utilizado para proteger a ictiofauna amazônica.

### 3. Material e métodos

#### 3.1. Modelos biológicos

As espécies selecionadas para estudo podem ser comumente encontradas nos ecossistemas amazônicos e as características dos indivíduos utilizados estão apresentadas na Tabela 1. A seleção foi feita com base em critérios que consideram as informações disponíveis sobre a taxonomia, biologia das espécies, abundância, acessibilidade e a facilidade de captura.

As espécies de peixes ornamentais foram obtidas de estabelecimento comercial em Manaus, mas foram previamente capturadas do ambiente natural no município de Barcelos (Amazonas), com exceção do *Colossoma macropomum*, o qual foi obtido por meio de doação da Secretaria Executiva de Pesca e Aquicultura do Amazonas – SEPA/SEPROR.

As espécies foram obtidas na fase de sub-adulto, estágio de vida adequado para os experimentos, chegando a atingir um comprimento máximo de 4-7 cm na fase adulta, com a exceção de *Colossoma macropomum* (popularmente conhecido por tambaqui) (Figura 1A) que, por sua vez, foi usado no estágio de alevino, pois pode chegar até 100 cm na fase adulta, sendo uma espécie nativa das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (GOULDING; CARVALHO, 1982; MENDONÇA, et al., 2009).

Além do tambaqui, foram selecionadas quatro espécies de peixes ornamentais, dentre elas: *Carnegiella strigata* (Figura 1B), o peixe-borboleta, que ocorre nas bacias do baixo, médio e alto rio Amazonas (WEITZMAN; PALMER, 2003). As espécies do gênero *Carnegiella* são abundantes nas áreas alagadas em rios de águas pretas e claras da Amazônia, incluindo os igarapés de terra firme da Amazônia Central (MENDONÇA, 2002). São espécies de pequeno porte e que têm como característica morfológica principal a região ventral estreita e cintura peitoral expandida em forma de leque (WEITZMAN, 1954).

*Hemigrammus rhodostomus* (Figura 1C), comumente conhecido por rodostomus, são peixes de hábitos onívoros originários da bacia Rio Orinoco e de grande importância comercial, caracterizada pela alta demanda nacional e internacional (MANCERA; ALVAREZ, 2008).

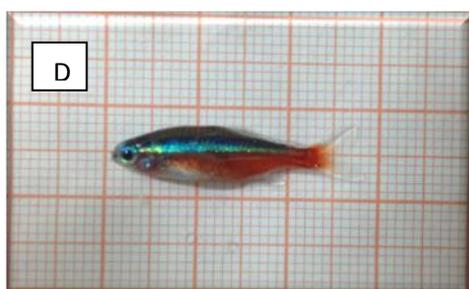
Cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*) (Figura 1D), é endêmico das Bacias dos Rios Negro e Orinoco, onde é encontrado em igarapés de florestas inundáveis, em áreas rasas, sombreadas e com pouca correnteza (GEISLER; ANNIBAL, 1986). Essa espécie tem grande importância econômica para o Estado do Amazonas, pois representa 80% dos 30-40 milhões de peixes ornamentais vivos exportados anualmente da região do Rio Negro (CHAO et al., 2001).

Representando os Siluriformes, foi selecionado *Corydoras schwartzi* (Figura 1E), uma espécie endêmica de águas claras do rio Purus. Como característica desse grupo, essa espécie

apresenta respiração acessória, tendo a capacidade de respirar ar atmosférico em situações extremas. O ar é assimilado e absorvido pela corrente sanguínea ao passar pelo intestino altamente vascularizado. Por isso ele consegue sobreviver por determinado período em águas muito pobres em oxigênio (MATSUO; VAL, 2002).

**Tabela 1.** Biometria e classificação das espécies de peixes (média  $\pm$  DP; n=10).

Ordem, família, espécies	Estágio	Comprimento (cm)	Peso (g)
Characiformes			
Characidae			
<i>Carnegiella strigata</i>	Sub-adulto	3.3 $\pm$ 0.3	0.372 $\pm$ 0.29
<i>Colossoma macropomum</i>	Alevino	3.6 $\pm$ 0.3	0.415 $\pm$ 0.19
<i>Paracheirodon axelrodi</i>	Sub-adulto	2.4 $\pm$ 0.2	0.122 $\pm$ 0.03
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	Sub-adulto	3.7 $\pm$ 0.3	0.418 $\pm$ 0.16
Siluriformes			
Callichthyidae			
<i>Corydoras schwartzi</i>	Sub-adulto	3.1 $\pm$ 0.2	0.408 $\pm$ 0.04



**Figura 1.** Espécies amazônicas submetidas aos testes de toxicidade aguda com agrotóxicos. A) *Colossoma macropomum* B) *Carnegiella strigata*; C) *Hemigrammus rhodostomus* D) *Paracheirodon axelrodi* e E) *Corydoras schwartzi*.

### **3.2. Agrotóxicos utilizados nos testes agudos**

Para a realização dos testes agudos foram selecionados quatro agrotóxicos de maior utilização nas áreas agrícolas do Amazonas, com base em informações obtidas a partir de estabelecimentos fornecedores de agrotóxicos localizados em Manaus/AM. Com base nesse levantamento, foram escolhidos dois inseticidas: Deltametrina, (Poison 10g/L) e Imidacloprido (Provado 200g/L); e dois herbicidas: Glifosato (Gliz 480g/L) e Diuron (Diuron Nortox 500g/L), cuja caracterização é apresentada na Tabela 2.

Optou-se por não utilizar os ingredientes ativos dos produtos, já que na agricultura do Amazonas são utilizadas as formulações comerciais, que realmente atingem as comunidades aquáticas.

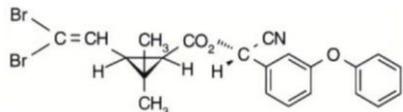
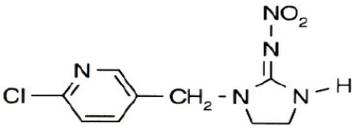
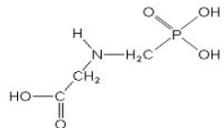
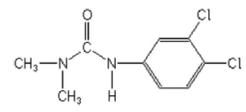
#### **3.2.1. Deltametrina**

A deltametrina é classificada toxicologicamente como uma substância Medianamente Tóxica (Classe III). Esse inseticida é utilizado em culturas vegetais como: arroz, batata, banana, cebola, arbustos ornamentais e flores em diferentes estágios do desenvolvimento; e domissanitário (ANVISA, 2003).

Esse inseticida é do grupo químico dos piretróides do tipo II, sendo estável no ar com presença de luz e umidade e, instável em meio alcalino. Possui baixa solubilidade em água e baixo potencial de lixiviação (WHO, 1990). A meia vida calculada para a deltametrina é de aproximadamente 33 dias em condições aeróbicas (pH 7; 25 °C) (FRANK; KELLNER, 2000).

O mecanismo de ação dos piretróides tipo II é sobre o complexo receptor do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), ligando-se a estes receptores e bloqueando os canais de sódio e sua ativação. O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC) de vertebrados e, a ausência de inibição sináptica leva a uma hiperexcitabilidade do sistema nervoso central (SANTOS, et al., 2007).

**Tabela 2.** Propriedades físico-químicas e meia vida dos agrotóxicos em estudo.

	<b>Deltametrina</b>	<b>Imidacloprido</b>	<b>Glifosato</b>	<b>Diuron</b>
Nome comercial	Poison	Provado 200 SC	Gliz 480 SL	Diuron Nortox 500 SC
Nome Químico	(S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzil-(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato	1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine	N-(phosphonomethyl)glycine	3-(3,4 Diclorifenil) – 1,1 dimetiluréia
Fórmula Bruta	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Br <sub>2</sub> NO	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O.
Fórmula Estrutural				
Número CAS	2918-63-5	138261-41-3	1071-83-6	330-54-1
Peso Molecular (g)	505.2 (Lambert, 1991)	255.7 (Sanchez-Bayo; Goka, 2005)	169.08 (Schuette, 1998)	233.10 (Tan <i>et al.</i> , 2012)
Solubilidade em água (mg/L)	< 0.002 (20 °C) (WHO, 1990)	610 (20° C) (Sanchez-Bayo; Goka, 2005)	11.600 (25° C) (WHO, 1994) 2.59 x 10 <sup>-5</sup> Pa (25 °C) (Geisy et al, 2000)	36.4 (25° C) (DRP, 2003)
Pressão de vapor	2.0 x 10 <sup>-6</sup> Pa (25 °C) (WHO, 1990)	1 x 10 <sup>-7</sup> Pa (20 °C) (Fossen, 2006)		6.90 x10 <sup>-8</sup> Pa (25 °C)
Coefficiente de partição (log Kow)	5.43 (WHO, 1990)	0.57 (Bayo; Goka, 2005)	~2.8 (WHO, 1994)	648-747 (DRP, 2003)
<i>Meia Vida</i>	33 dias (pH 7; 25 °C)	33–44 dias (pH 7; 25 °C) (Sarkar et al., 1990)	>35 dias (Schuette, 1998)	>173 dias (pH 7) (Moncada, 2012)

### **3.2.2. Imidacloprido**

O Imidacloprido se enquadra na classe toxicológica III (Medianamente Tóxico). É utilizado nas culturas de abacaxi, abóbora, alface, algodão, alho, batata, berinjela, brócolis, cana-de-açúcar, cebola, chicória, citros, couve, couve-flor, eucalipto, feijão, fumo, jiló, melancia, melão, pepino, pimentão, repolho e tomate (ANVISA, 2007).

A baixa pressão de vapor de  $1,0 \times 10^{-7}$  mmHg indica que esse inseticida não é volátil. A alta solubilidade em água (610 mg/L) sugere um potencial de lixiviação para águas subterrâneas. A meia-vida do imidacloprido pode variar de 33 a 44 dias (pH 7, 25 °C) (SARKAR et al., 1999).

Este agrotóxico age como um antagonista nos receptores de acetilcolina nicotínicos pós-sinápticos dos neurônios motores dos insetos. Após a ligação ao receptor nicotínico, impulsos nervosos são descarregados de forma espontânea, seguido de falha do neurônio em propagar qualquer sinal, levando a morte daquele animal (KRAMER, et al., 2001).

### **3.2.3. Glifosato**

O glifosato é utilizado em um grande número de culturas, tais como arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, maçã, milho, pastagens, soja, fumo, uva, banana, cacau, pera, pêssigo, seringueira e plantio direto do algodão. Essa substância é classificada como um produto Extremamente Tóxico (Classe I) (ANVISA, 2007)

Em condições ambientais, o glifosato apresenta estabilidade na presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a 60 °C (AMARANTE et al., 2002). É altamente solúvel em água e sua meia-vida pode variar de 7 a 70 dias dependendo das condições ambientais (GIESY et al., 2000).

Esse produto inibe a atividade da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), interrompendo a biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais: fenilalanina, tirosina e triptofano. Esta enzima não existe nos animais superiores, tais como peixe, portanto é considerado como sendo de baixo risco de toxicidade para animais em sistemas aquáticos (FAO/WHO, 1986). Além disso, compromete a produção de clorofila e carotenoides, reduz a síntese de proteínas, causando danos celulares irreversíveis nas plantas (GIESY et al., 2000; KOLPIN et al., 2006), sendo absorvido basicamente pela região clorofilada das plantas (folhas e tecidos verdes) e translocado, preferencialmente pelo floema para os tecidos meristemáticos.

### **3.2.4. Diuron**

O diuron é aplicado nas plantações de frutas cítricas, soja, algodão, cana de açúcar, café e trigo e também em áreas não cultiváveis como ao longo de rodovias e ferrovias (WONG et al., 2013). Quanto à classificação toxicológica, é um produto de Classe III (Medianamente Tóxico).

O diuron apresenta solubilidade moderada em água de 36,4 mg/L a 25 °C (INOUE, et al., 2008), é extremamente persistente e tende a se acumular no solo. Além disso, é quimicamente estável (meia-vida: fotólise no solo de 173 dias e hidrólise superior a 1000 dias) (WONG, et al., 2013; MONCADA, 2012). Devido à sua baixa taxa de remoção ele pode ser encontrado em muitos ambientes, incluindo solos, sedimentos e água (GIACOMAZZI; COCHET, 2004). Por outro lado, o diuron não é volátil, tal como indicado por sua baixa pressão de vapor de  $6,90 \times 10^{-8}$  mmHg a 25 °C (MONCADA, 2012).

Esse herbicida possui ação sistêmica pré e pós emergente, é usado no controle de ervas daninhas, agindo na planta por absorção, principalmente pelas raízes, de onde é deslocado através do xilema inibindo a fotossíntese (MONCADA, 2012).

### **3.3. Protocolo experimental**

#### **3.3.1. Aclimação das espécies**

Esse estudo foi realizado no Laboratório de Fisiologia Animal da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Os peixes foram aclimatados em condições laboratoriais em aquários de 100 L e tanques de 500 L contendo água de poço da UFAM (temperatura 26 °C; pH = 6,8; oxigênio dissolvido > 4mg/L; condutividade 14,52  $\mu$ S/cm; dureza 0,89 mg CaCO<sub>3</sub>/L; Na<sup>+</sup> = 1,90 mg/L; NH<sub>4</sub> = 0,084 mg/L; K<sup>+</sup> = 3,28 mg/L) durante, no mínimo, sete dias antes do início dos testes agudos. Ao longo desse período, os peixes foram alimentados com ração comercial (Sera Discus Color Red – Proteína Bruta: 53%) de duas a quatro vezes por dia. Durante a aclimação houve renovação de água a cada 24h.

#### **3.3.2. Teste de toxicidade aguda – CL<sub>50</sub>**

Para determinar a toxicidade dos agrotóxicos nas espécies selecionadas, foram realizados experimentos agudos para o cálculo da CL<sub>50</sub> (Concentração Letal Mediana), que representa a concentração de uma substância tóxica que promove a parada total da locomoção e ausência de respostas a estímulos em 50% dos animais expostos durante os ensaios (SPRAGUE, 1990).

Os testes foram realizados seguindo as orientações da OECD para ensaios de produtos químicos (OECD, 1992b) e as orientações da ABNT (ABNT, 2003), com algumas adaptações às condições naturais dos ambientes habitados pelas espécies estudadas.

Pré-testes (48 horas) foram realizados para cada agrotóxico a fim de determinar o intervalo de concentrações que se aproxima da CL<sub>50</sub>. Após análise dos pré-testes, as concentrações para os testes agudos (96 horas) foram definidas.

Para determinar a CL<sub>50-96h</sub>, os testes agudos foram realizados em um sistema estático (uma única aplicação do agrotóxico) com cinco concentrações crescentes (C1, C2, C3, C4, C5) e um controle (C0), com 3 repetições por nível de tratamento (n = 3). As concentrações teste foram calculadas utilizando um fator de incremento entre as concentrações  $\leq 2,2$  (OECD, 1992b).

As soluções estoque utilizadas nos testes de toxicidade aguda foram preparadas por diluição dos agrotóxicos em água destilada. Os meios de ensaio foram preparados por diluição da solução estoque em água de poço coletada na UFAM, contendo as seguintes características físico-químicas: temperatura  $26 \pm 1$  °C; pH 6,8; oxigênio dissolvido  $> 4$  mg/L; condutividade  $14,52 \mu\text{S}/\text{cm}$ ; dureza  $0,89 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$ ;  $\text{Na}^+ = 1,90 \text{ mg/L}$ ;  $\text{NH}_4 = 0,084 \text{ mg/L}$ ;  $\text{K}^+ = 3,28 \text{ mg/L}$ .

Após a etapa de aclimatação citada no item 3.3.1., os indivíduos foram transferidos para recipientes de vidro (3L) contendo água de poço (2L) previamente saturada com oxigênio, sendo privados da alimentação por 24 horas antes do início do protocolo experimental e durante toda a exposição aos agrotóxicos. O experimento teve início no momento da diluição de 0,5 litro do meio de ensaio nos frascos de vidro, a fim de alcançar a concentração de exposição selecionada para um volume total de 2,5 L (Tabela 3).

Durante os experimentos, todos os recipientes foram cobertos com uma tampa de plástico e receberam aeração (bolhas de ar bombeadas para a solução de ensaio através de uma pipeta de vidro), a fim de assegurar uma concentração de oxigênio adequada no meio de ensaio. Os testes foram realizados em sala com temperatura ambiente, com fotoperíodo de 12 horas de luz natural e de 12 horas de escuridão.

Após 2 horas do início do teste e a cada 24 horas de exposição, a temperatura, a concentração de oxigênio dissolvido e o pH foram medidos nas unidades teste para cada nível de tratamento, incluindo os controles. A concentração de amônia total foi avaliada apenas no início e no final dos testes.

A mortalidade foi escolhida como parâmetro para avaliar a toxicidade dos agrotóxicos. Os efeitos letais foram monitorados 24h, 48h, 72h e 96h após a exposição aos agrotóxicos e os

organismos mortos foram removidos. Além disso, alterações comportamentais também foram registradas ao longo do experimento.

Os testes foram aceitos quando os três requisitos seguintes foram cumpridos: 1) mortalidade no controle não excedeu 10%; 2) os parâmetros ambientais (oxigênio dissolvido, pH e temperatura) não apresentaram grandes diferenças entre as unidades de teste; 3) a concentração de oxigênio dissolvido no meio de ensaio não foi inferior a 60% do valor de saturação de ar.

Ao final dos testes, tanto os animais sobreviventes quanto os que não foram utilizados nos testes foram eutanasiados de acordo com o preconizado na Resolução Nº 1000/2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária. Com esta finalidade, os indivíduos foram expostos a uma dose letal da solução de hidrocloreto de benzocaína (250mg/L) até a constatação da ausência de sinais vitais. A realização dos testes de toxicidade aguda com os peixes foi autorizada pelo Comitê de Ética Animal conforme o protocolo 016/2013 em 08/08/2013.

**Tabela 3.** Concentrações nominais dos agrotóxicos (mg/L) utilizadas nos testes de toxicidade aguda (96 horas) com peixes amazônicos.

<b>Espécies</b>		<b>Deltametrina</b>	<b>Imidacloprido</b>	<b>Glifosato</b>	<b>Diuron</b>
<i>Carnegiella strigata</i>	C1	0.0035	134.00	3.50	12.50
	C2	0.0060	168.00	4.20	16.25
	C3	0.0104	212.74	5.04	21.13
	C4	0.0178	268.05	6.05	27.46
	C5	0.0306	337.74	7.26	35.70
<i>Corydoras schwartzi</i>	C1	0.0815	180.00	9.00	16.00
	C2	0.1142	210.60	11.00	28.20
	C3	0.1598	250.00	12.00	35.25
	C4	0.1900	288.29	16.11	44.06
	C5	0.2237	337.30	19.49	55.08
<i>Colossoma macropomum</i>	C1	0.0020	116.00	0.45	16.50
	C2	0.0040	230.00	2.00	19.80
	C3	0.0052	265.00	4.00	23.76
	C4	0.0068	283.55	5.50	28.51
	C5	0.0088	303.40	7.43	34.21
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	C1	0.0040	149.64	5.00	13.50
	C2	0.0068	192.00	6.00	17.55
	C3	0.1160	252.72	7.20	22.85
	C4	0.0197	288.10	8.64	29.60
	C5	0.0334	331.78	10.37	38.56
<i>Paracheirodon axelrodi</i>	C1	0.0013	177.00	4.00	13.50
	C2	0.0026	208.86	5.70	16.00
	C3	0.0056	246.45	6.50	19.84
	C4	0.0100	290.82	7.70	24.60
	C5	0.0484	343.16	8.35	30.51

### 3.4. Métodos analíticos

O oxigênio dissolvido, pH e temperatura foram determinados pelo uso de um aparelho multiparamétrico (Thermo Orion Five Star, Thermo Scientific, USA).

A quantidade de amônia total foi determinada com base no método de Nessler (GOLTERMAN et al., 1971; APHA, 1985). Em seguida, utilizou-se o cálculo de Emerson et al. (1975) para detectar níveis de amônia não ionizada (NH<sub>3</sub>) na água após a aplicação dos agrotóxicos e ao final do experimento.

### 3.5. Análises estatísticas

#### 3.5.1. Cálculo da CL<sub>50</sub>

Os valores de CL<sub>50</sub> para cada tempo de exposição foram calculados com o programa TOXRAT 2.07 (ToxRat GmbH, 2003). Os limites do intervalo de confiança (95%) foram calculados por meio de uma regressão linear logarítmica do efeito calculado pelo método dos próbitos, utilizando as concentrações nominais para os cálculos. Quando houve mortalidade no controle, a compensação foi realizada utilizando a fórmula Abbot.

#### 3.5.2. Construção das Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies: comparando ambientes temperados e amazônicos.

A quantidade máxima dos agrotóxicos estudados que pode ser permitida na água sem que afete a vida dos organismos aquáticos foi determinada a partir da construção das Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (DSE). Estas curvas são utilizadas para calcular a concentração de risco (HC<sub>p</sub>), ou seja, a concentração de agrotóxico que afeta uma determinada proporção (%) de espécies que têm características em comum, como grupo taxonômico, hábitos ou regiões geográficas expostas a um mesmo poluente.

As curvas foram construídas utilizando os dados de CL<sub>50</sub> de cada espécie para cada agrotóxico estudados, assumindo que os valores das diferentes CL<sub>50</sub> assumem uma distribuição log-normal de acordo com a seguinte fórmula:

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \times \exp\left(\frac{-0.5 \times (x - \mu)^2}{\sigma^2}\right)$$

onde  $x = \log(\text{EC}_{50} \text{ ou } \text{CL}_{50})$ ,

$\mu$  é a média do log (EC<sub>50</sub> ou CL<sub>50</sub>) e

$\sigma$  é o desvio padrão do log (EC<sub>50</sub> ou CL<sub>50</sub>).

Além dos dados obtidos nesse trabalho com espécies amazônicas, foram selecionados dados de toxicidade de agrotóxicos para peixes de ambiente temperado, a fim de comparar a sensibilidade das espécies dos dois ambientes em questão aos agrotóxicos selecionados neste estudo. As informações de espécies temperadas foram coletadas da base de dados da US-EPA ECOTOX ([http://cfpub.epa.gov/ecotox/quick\\_query.html](http://cfpub.epa.gov/ecotox/quick_query.html)) (Anexo II). Para essa comparação, foram utilizados somente os parâmetros de toxicidade referentes à mortalidade (CL<sub>50</sub>) das espécies selecionadas. Para fins de padronização, foram utilizados dados de CL<sub>50</sub> obtidos de experimentos com duração de dois a quatro dias. Quando dados de diferentes experimentos para a mesma espécie e mesmo critério de avaliação toxicológica estiveram disponíveis, foi calculado a média geométrica dos valores de CL<sub>50</sub> existentes.

A construção das curvas foi realizada de acordo com Aldenberg & Jaworska (2000) utilizando o software ETX 2.0 (VAN VLAARDINGEN et al., 2004). Esse software, além de construir a curva, permite o cálculo do valor da concentração de risco para 5% (HC<sub>5</sub>) e 50% (HC<sub>50</sub>) das espécies, com limite de confiança de 95%. Uma vez que o modelo assume uma distribuição log-normal dos dados, a log-normalidade foi testada com o teste de Anderson-Darling incluído no pacote do software ETX. A normalidade dos dados de toxicidade foi estabelecida em  $p \geq 0,05$ .

As curvas foram construídas separadamente para cada ambiente (amazônico e temperado) para cada agrotóxico. Dessa forma, para cada composto a sensibilidade das espécies foi comparada em termos da distribuição dos HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub>. Considerou-se que houve diferenças significativas na sensibilidade das espécies entre os valores médios de HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub> de ambientes temperados e amazônicos, quando não teve sobreposição nos intervalos de confiança. A distribuição da sensibilidade entre as espécies dos dois ambientes foi comparada com o teste não paramétrico de Kolmogorov-Smirnov, utilizando o software SYSTAT 12.0.

### **3.5.3. Cálculo do valor máximo de agrotóxico permitido (padrão de qualidade da água)**

A Curva de Distribuição de Sensibilidade de Espécies tem sido usada durante as últimas décadas nos Estados Unidos e na Europa para determinar os padrões de qualidade da água para o uso seguro de agrotóxicos (SUTER II, 2002; VAN STRAALLEN; VAN LEEUWEN, 2002; BROCK et al., 2006). Assim, para o cálculo do valor máximo permitido de cada agrotóxico

avaliado (padrão de qualidade da água), foi calculada a concentração de risco ( $HC_5$  - concentração dos agrotóxicos que afeta 5% das espécies e protege 95%). O limite inferior do intervalo de confiança proporcionou a concentração que poderá ser recomendada para a definição de critério de qualidade da água que sejam protetores da ictiofauna amazônica (ALDENBERG; SLOB 1993; MALTBY et al., 2005).

Como foi utilizado dados de  $CL_{50}$  em vez dos valores da concentração de efeito não observado (CENO) para as espécies avaliadas, o valor do limite inferior do intervalo de confiança do valor de  $HC_5$  foi corrigido por um fator de segurança de 5, conforme indicado em Lepper (2002) e Brock et al. (2006).

## 4. Resultados

### 4.1. Toxicidade aguda – 96h

As variáveis físico-químicas monitoradas no teste de toxicidade aguda para os peixes em estudo, não apresentaram alterações que pudessem comprometer os resultados obtidos durante o tempo de exposição (96 horas) (Tabelas 4 e 5).

Nos ensaios, os valores médios de pH ficaram em torno de 6,6 a 7,2. Os valores mais elevados de pH podem ter sido induzidos pela liberação de amônia devido a rápida decomposição dos organismos mortos nas unidades de teste. Foram observadas variações na concentração de amônia total, sendo que os menores níveis de amônia corresponderam as medições feitas logo após a aplicação dos agrotóxicos no meio, e os maiores ao final do experimento. Com base nos dados encontrados na literatura, a quantidade de amônia tóxica (não ionizada,  $\text{NH}_3$ ) (Tabela 4 e 5) ficaram abaixo da  $\text{CL}_{50}$  determinada para *C. macropomum* (0,69 mg/L) (MARCON et al., 2004) e *P. axelrodi* (0,36 mg/L) (OLIVEIRA et al., 2008). Por outro lado, não há trabalhos que estabeleçam o nível aceitável de toxicidade para as outras espécies, mas, espera-se o mesmo comportamento, pois a taxa de mortalidade no controle ficou dentro do limite determinado pela OECD (<10%) até o final do experimento.

A concentração de oxigênio no meio de teste pareceu estar relacionada com a eficácia do sistema de aeração, o qual foi revisto todos os dias, dessa forma a concentração de oxigênio dissolvido no meio de ensaio foi superior a 60% do valor de saturação de ar em todas as concentrações testadas, inclusive nos tratamentos controle. A possível relação entre as concentrações dos agrotóxicos com os parâmetros ambientais avaliados não foi observada, uma vez que os valores de oxigênio dissolvido, pH, temperatura e amônia foram semelhantes no controle e nos tratamentos.

**Tabela 4.** Parâmetros físico-químicos da água dos experimentos agudos (96h) realizados com inseticidas (média ± desvio padrão).

Espécies	Deltametrina					Imidacloprido				
	Temperatura (°C)	pH	O <sub>2</sub> (mg/L)	AT (mg/L)	NH <sub>3</sub> (mg/L)	Temperatura (°C)	pH	O <sub>2</sub> (mg/L)	AT (mg/L)	NH <sub>3</sub> (mg/L)
<i>Carnegiella strigata</i>	29,4±0,6	7,06±0,26	5,97±0,31	0,89±0,56	0,07±0,04	29,4±0,5	6,96±0,42	6,09±0,46	1,11±0,36	0,09±0,03
<i>Corydoras schwartzi</i>	27,3±0,7	6,70±0,26	5,48±0,75	1,13±0,85	0,08±0,05	27,1±0,8	6,98±0,58	5,40±0,58	1,02±0,46	0,07±0,03
<i>Colossoma macropomum</i>	29,4±0,7	6,82±0,29	6,57±0,40	6,72±7,46	0,53±0,59	29,0±0,5	6,77±0,28	6,74±0,46	6,64±4,91	0,45±0,33
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	27,1±0,4	6,64±0,19	7,19±0,45	0,97±0,54	0,07±0,04	27,1±0,8	6,59±0,28	6,76±0,72	1,35±0,81	0,09±0,05
<i>Paraicheirodon axelrodi</i>	29,4±1,2	7,23±0,39	6,12±0,25	0,90±1,02	0,07±0,08	26,9±0,9	6,71±0,31	6,74±0,46	0,83±0,20	0,04±0,01

\*AT = amônia total

**Tabela 5.** Parâmetros físico-químicos da água dos experimentos agudos (96h) realizados com herbicidas (média ± desvio padrão; AT = amônia total).

Espécies	Glifosato					Diuron				
	Temperatura (°C)	pH	O <sub>2</sub> (mg/L)	AT (mg/L)	NH <sub>3</sub> (mg/L)	Temperatura (°C)	pH	O <sub>2</sub> (mg/L)	AT (mg/L)	NH <sub>3</sub> (mg/L)
<i>Carnegiella strigata</i>	28,0±0,8	6,90±0,36	6,31±0,34	1,85±1,76	0,12±0,12	28,8±1,4	7,20±0,28	5,97±0,15	1,05±0,80	0,01±0,007
<i>Corydoras schwartzi</i>	27,4±0,5	6,87±0,49	6,46±0,28	2,30±2,35	0,15±0,16	27,8±0,7	6,73±0,50	6,02±0,67	1,88±1,98	0,02±0,02
<i>Colossoma macropomum</i>	27,7±0,6	6,80±0,40	6,77±0,37	6,20±5,71	0,42±0,39	29,1±0,4	6,94±0,40	6,65±0,39	6,34±5,70	0,44±0,39
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	26,8±0,8	6,65±0,22	6,69±0,86	2,14±1,78	0,13±0,11	27,1±0,3	6,65±0,14	6,69±0,53	2,38±2,08	0,16±0,14
<i>Paraicheirodon axelrodi</i>	27,8±0,3	7,27±0,27	5,96±0,36	1,23±1,11	0,01±0,01	27,4±0,7	7,04±0,51	5,92±0,23	0,69±0,64	0,05±0,04

\* AT = amônia total

Os resultados dos testes de toxicidade aguda das cinco espécies de peixes da região amazônica com os valores da CL<sub>50</sub>-96h e os respectivos intervalos de confiança estimados, estão apresentados na Tabela 5 (Deltametrina), Tabela 6 (Imidacloprido), Tabela 7 (Glifosato) e Tabela 8 (Diuron). As curvas de concentração-resposta foram construídas e estão apresentadas no Anexo I.

Os valores da CL<sub>50</sub>-96h da deltametrina variaram de 4 a 215 µg/L para as espécies de peixes testadas. Dentre elas, *C. strigata* foi a mais sensível a essa substância, enquanto que *C. schwartzi* apresentou o maior valor de CL<sub>50</sub>. Com base nesses dados e em comparação aos outros agrotóxicos testados, a deltametrina apresentou os menores valores de CL<sub>50</sub>, demonstrando ser altamente tóxica para os peixes.

**Tabela 6.** Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao inseticida Deltametrina. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL<sub>50</sub>.

Espécies	CL <sub>50</sub> -96h (µg/L) (95% intervalo de confiança)
<i>Carnegiella strigata</i>	4 (1-13)
<i>Colossoma macropomum</i>	6 (4-8)
<i>Paraicheirodon axelrodi</i>	22 (15-32)
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	24 (19-29)
<i>Corydoras schwartzi</i>	215 (172-270)

O imidacloprido apresentou os maiores valores de CL<sub>50</sub>, ou seja, dentre os agrotóxicos testados foi a substância menos tóxica para os peixes estudados neste trabalho. *C. strigata* também apresentou maior sensibilidade ao Imidacloprido (CL<sub>50</sub> 145.63 µg/L). Diferentemente dos demais agrotóxicos, *H. rhodostomus* foi a espécie mais resistente a este inseticida (CL<sub>50</sub> 302.13 µg/L).

**Tabela 7.** Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao inseticida Imidacloprido. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL<sub>50</sub>.

Espécies	CL <sub>50</sub> -96h (µg/L) (95% intervalo de confiança)
<i>Carnegiella strigata</i>	145633 (121490-174574)
<i>Colossoma macropomum</i>	245383 (212153-283818)
<i>Corydoras schwartzi</i>	250707 (242186-259527)
<i>Paraicheirodon axelrodi</i>	261028 (246791-276086)
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	302127 (285236-320018)

Em se tratando dos herbicidas, o glifosato foi mais tóxico para *C. macropomum*, seguido por *C. strigata*. Enquanto que *C. schwartzi* foi a espécie mais resistente a essa substância. A variação da CL<sub>50</sub> do glifosato foi de 3.607 a 13.835 µg/L (Tabela 8).

**Tabela 8.** Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao herbicida Glifosato. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL<sub>50</sub>.

Espécies	CL <sub>50</sub> -96h (µg/L) (95% intervalo de confiança)
<i>Colossoma macropomum</i>	3607 (2263-5747)
<i>Carnegiella strigata</i>	5753 (5038-6569)
<i>Paraicheirodon axelrodi</i>	6991 (6393-7645)
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	7533 (6962-8152)
<i>Corydoras schwartzi</i>	13835 (12830-14920)

Nos testes realizados com diuron, *C. schwartzi* continuou sendo a espécie mais resistente (CL<sub>50</sub> 42.652 µg/L). No entanto, diferente do que ocorreu com os outros agrotóxicos, *P. axelrodi* demonstrou ser o mais sensível quando exposto ao diuron (CL<sub>50</sub> 17.607 µg/L).

Vale ressaltar que *C. macropomum* esteve entre as espécies mais sensíveis a todos agrotóxicos testados. Foi a espécie mais sensível ao glifosato e a segunda espécie mais sensível a deltametrina, imidacloprido e diuron.

**Tabela 9.** Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) de cinco espécies de peixes amazônicos expostos ao herbicida Diuron. Os dados foram apresentados em ordem crescente de acordo com a CL<sub>50</sub>.

Espécies	CL <sub>50</sub> -96h (µg/L) (95% intervalo de confiança)
<i>Paraicheirodon axelrodi</i>	17607 (15743-19692)
<i>Colossoma macropomum</i>	21442 (19920-23080)
<i>Carnegiella strigata</i>	28807 (23869-34767)
<i>Hemigrammus rhodostomus</i>	32407 (30788-34111)
<i>Corydoras schwartzi</i>	42652 (39638-45895)

Algumas alterações comportamentais foram observadas após a exposição aos agrotóxicos e foram mais evidentes nas concentrações mais elevadas.

Nos testes realizados com deltametrina, apenas *C. schwartzi* demonstrou mudanças quando as demais concentrações testadas foram comparadas com o controle, tais como coloração mais escura ao longo do corpo e ao redor dos olhos. Nas três

concentrações mais elevadas, os peixes estavam aglomerados no fundo do recipiente e menos ativos, após 72h de experimento.

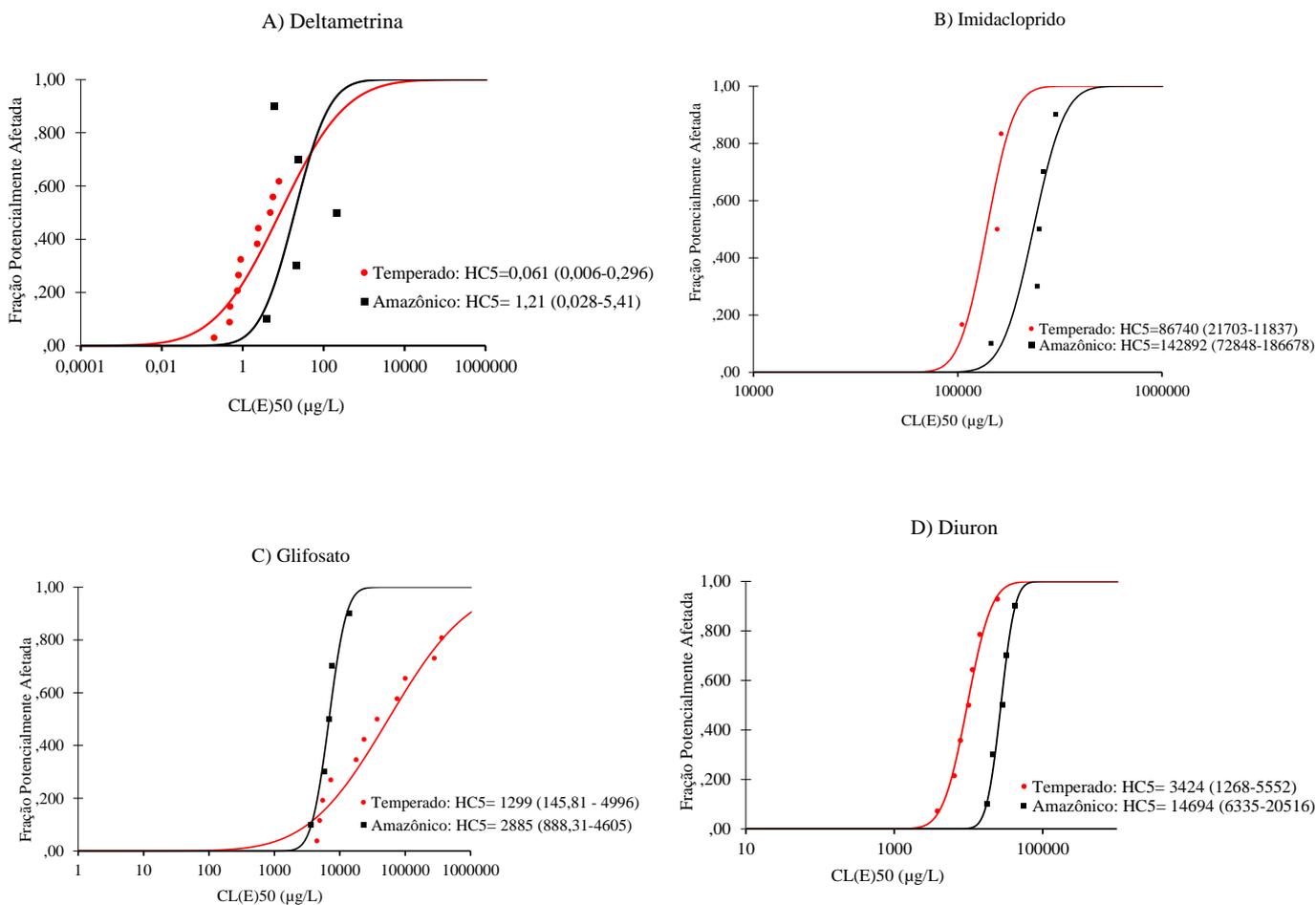
Todas as espécies de peixes apresentaram mudança na coloração, ficando mais escuras que os indivíduos do tratamento controle durante a exposição ao Imidacloprido. Além disso, *P. axelrodi* e *C. schwartzi* tiveram a natação comprometida. Os peixes flutuavam sem direção, perdiam o equilíbrio e/ou ficavam no fundo em posição vertical movimentando apenas opérculo rapidamente até o final do experimento. *C. macropomum* recorreu à superfície a partir da primeira concentração como se estivesse em busca de oxigênio, após 24 horas.

Para glifosato, alterações visíveis, como a coloração escura em todas as espécies nos meios contendo agrotóxicos foram observadas. Além disto, *C. schwartzi* após 24h na C2 apresentou manchas vermelhas ao longo do corpo e na C3 dificuldade para nadar e perda do equilíbrio, tornando-se menos ativo.

Por fim, o diuron demonstrou também ser bastante tóxico aos peixes, considerando que os sinais de estresse foram mais visíveis em todas as espécies, inclusive nas menores concentrações, indo além das diferenças de coloração. Todas as espécies apresentaram natação errática, perda de equilíbrio e natação circular (exceto *C. schwartzi*) ao longo do tempo e conforme a concentração aumentava. *C. strigata* e *H. rhodostomus* ficaram flutuando na superfície, enquanto que *P. axelrodi* permaneceu em posição vertical, e *C. schwartzi*, com a região ventral voltada para cima no fundo da solução movimentando apenas o opérculo.

#### **4.2. Curva de Distribuição de Sensibilidade de Espécies**

A comparação entre os valores de toxicidade dos agrotóxicos em peixes de ambientes amazônico e temperado, demonstrou que embora as espécies amazônicas tenham apresentado valores maiores para HC<sub>5</sub>, demonstrando serem possivelmente mais resistentes, não houve diferença significativa para deltametrina (teste Kolmogorov-Smirnov:  $d=0,47$ ,  $n_1 = 5$ ,  $n_2 = 17$ ,  $p = 0,4$ ), imidacloprido ( $d = 0,8$ ,  $n_1 = 5$ ,  $n_2 = 3$ ,  $p = 0,4$ ), glifosato ( $d = 0,69$ ,  $n_1 = 5$ ,  $n_2 = 13$ ,  $p = 0,05$ ), nem diuron ( $d = 0,8$ ,  $n_1 = 5$ ,  $n_2 = 7$ ,  $p = 0,04$ ) na distribuição de sensibilidade de espécies entre os dois ambientes (Figura 2).



**Figura 2.** Distribuição de sensibilidade de espécies de peixes de ambientes temperado (vermelho) e ambiente amazônico (preto) para os agrotóxicos: A) Deltametrina; B) Imidacloprido; C) Glifosato; E) Diuron. A mediana da concentração perigosa para 5% das espécies ( $HC_5$ ) é apresentada juntamente com o limite superior e inferior do intervalo de confiança (95%) entre parênteses.

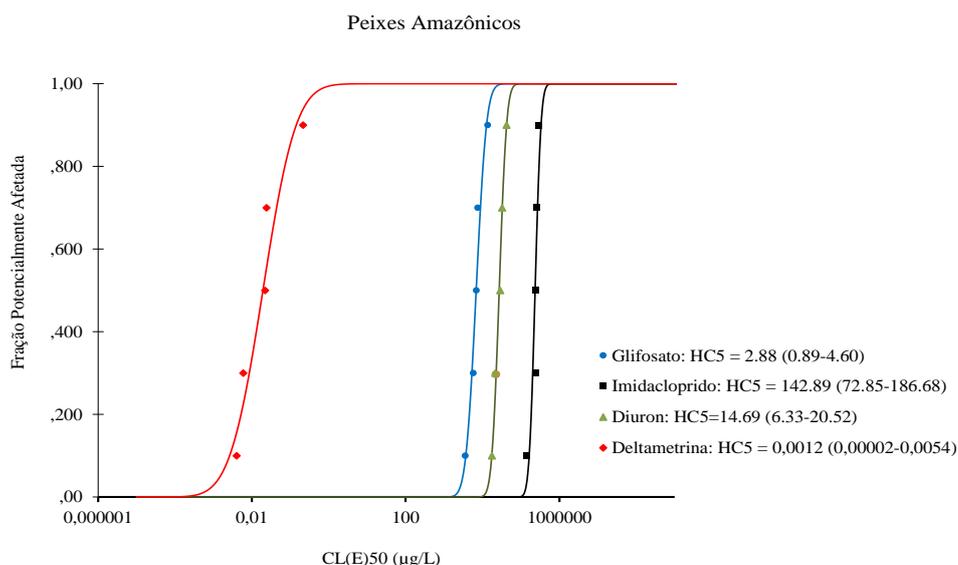
Ao comparar os valores médios de  $HC_{50}$ , não foram encontradas diferenças significativas entre os dois ambientes para deltametrina, imidacloprido e diuron, de forma que os valores de  $HC_{50}$  para estes agrotóxicos foram 2,3, 1,7 e 2,8 vezes maiores para ambiente amazônico, respectivamente. Apenas o glifosato apresentou diferenças significativas, pois não houve sobreposição dos intervalos de confiança (superior e inferior), sendo o valor mediano de  $HC_{50}$  do glifosato para ambiente temperado foi de aproximadamente oito vezes maior que no ambiente amazônico (Tabela 10).

**Tabela 10.** Concentrações de risco para 5% e 50% das espécies (HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub>, respectivamente; µg/L) e seus limites dos intervalos de confiança (95% e 5%) para cada distribuição de sensibilidade de espécies. E os resultados de sobreposição dos intervalos de confiança entre as espécies de peixes de ambiente temperado e amazônico para cada agrotóxico.

		Temperado	Amazônico	Sobreposição
Deltametrina	HC <sub>5</sub>	0,061 (0,006-0,296)	1,21 (0,028-5,41)	Sim
	HC <sub>50</sub>	8,46 (2,44-29,39)	19,37 (4,38-85,59)	Sim
Imidacloprido	HC <sub>5</sub>	86.74 (21.70-118.84)	142.89 (72.85-186.68)	Sim
	HC <sub>50</sub>	138.74 (92.21-208.75)	234.33 (179.77-305.45)	Sim
Glifosato	HC <sub>5</sub>	1299 (145,81-4996)	2885 (888,31-4605)	Sim
	HC <sub>50</sub>	55356 (18438-166195)	6853 (4311-10894)	Não
Diuron	HC <sub>5</sub>	3424 (1268-5552)	14694 (6335-20516)	Sim
	HC <sub>50</sub>	9606 (6202-14878)	27252 (19573-37944)	Sim

Ao se comparar a toxicidade dos agrotóxicos testados nas espécies amazônicas, deltametrina demonstrou ser a substancia mais tóxica aos peixes, seguida pelo glifosato, diuron e imidacloprido (Figura 3). Essa mesma sequência foi observada para o ambiente temperado. Para as distribuições de sensibilidade das espécies amazônicas, foram encontradas diferenças significativas entre todos os quatro agrotóxicos (teste Kolmogorov- Smirnov:  $d = 1,00$ ,  $n_1 = 5$ ,  $n_2 = 5$ ,  $n_3 = 5$ ,  $n_4 = 5$   $p < 0,001$ ).

Os resultados do teste de Anderson-Darling ( $\alpha = 0,05$ ) indicaram que todas as amostras de dados de toxicidade de peixe podem ser derivadas a partir de uma distribuição normal.



**Figura 3.** Distribuição da sensibilidade de espécies dos peixes amazônicos construída com a CL50 ( $\mu\text{g/L}$ ) para Deltametrina (vermelho), Imidacloprido (preto), Glifosato (azul) e Diuron (verde).

### 4.3. Cálculo do valor máximo permitido de agrotóxico (padrão de qualidade da água)

Para o cálculo do padrão de qualidade da água foi utilizado o valor do limite inferior do intervalo de confiança (percentil de 5%) da HC<sub>5</sub> das espécies amazônicas, uma vez que não houve diferenças significativas entre as curvas de sensibilidade de espécies para estas espécies e as da região temperada. Geralmente, este valor é considerado por ser menor que valor da concentração de efeito não observado (CENO).

Com base nos critérios supracitados, os valores encontrados para servir de subsídio para definição dos padrões de qualidade da água do ecossistema amazônico mediante os agrotóxicos avaliados neste trabalho e levando em consideração o grupo de peixes amazônicos, estão apresentados na

Pode-se observar que os valores máximos permitidos propostos neste estudo, em ordem crescente, foram 0,242  $\mu\text{g/L}$ , 177,00  $\mu\text{g/L}$ , 1.27  $\mu\text{g/L}$  e 14.57  $\mu\text{g/L}$  para deltametrina, glifosato, diuron e imidacloprido, respectivamente (Tabela 11). Deve-se ressaltar que o valor obtido para deltametrina foi calculado a partir do HC<sub>5</sub> e não do percentil de 5%, pois por ser um valor extremamente baixo, criaria um padrão irreal e impossível de se obter.

**Tabela 11.** Valores máximos permitidos de agrotóxicos no ambiente aquático amazônico calculados para peixes utilizando a abordagem de distribuição de sensibilidade de espécies. HC<sub>5</sub> é a concentração de risco para 5% das espécies e que protege 95% das espécies; o percentil de 5% corresponde ao limite inferior de confiança (5%) do HC<sub>5</sub>. O valor máximo foi calculado dividindo o percentil de 5% por um fator de segurança de 5.

<b>Agrotóxico</b>	<b>HC<sub>5</sub> (µg/L)</b>	<b>Percentil de 5% (µg/L)</b>	<b>Valor máximo permitido (µg/L)</b>
<i>Inseticidas</i>			
Deltametrina	1,21	0,028	0,24*
Imidacloprido	142.892	72.848	14.570
<i>Herbicidas</i>			
Glifosato	2.885	888,31	177,66
Diuron	14.690	6.330	1.270

\* O valor máximo permitido foi calculado a partir do HC<sub>5</sub> e não do percentil de 5%

## 5. Discussão

### 5.1. Toxicidade aguda-96h

Os resultados dos testes de toxicidade aguda mostram que a toxicidade dos quatro agrotóxicos difere para as espécies de peixes testadas. A deltametrina apresentou maior toxicidade aos peixes, demonstrando ser altamente tóxica a esse grupo. Resultado similar foi encontrado por De Moraes et al. (2013) que determinaram a  $CL_{50-96h}$  de três inseticidas: Deltametrina, Cipermetrina e Lambda-cialotrina, em uma espécie amazônica, *Brycon amazonicus*, e verificaram que a deltametrina também foi a substância mais tóxica ( $CL_{50-96h} = 2,6 \mu\text{g/L}$ ). Isso pode ser explicado pelo fato de que embora a deltametrina tenha uma vida curta e seja facilmente metabolizada na maioria dos animais, há relatos de que os peixes são deficientes em enzimas que hidrolisam piretróides (HAYA, 1989). Devido a isso, a deltametrina não é completamente metabolizada em peixes e, portanto, cria sérios problemas de acumulação de resíduos, especialmente nos tecidos adiposos de peixes (SAYEED et al., 2003). A alta taxa de absorção da deltametrina através das brânquias, devido sua lipofilicidade, também faz com que peixes sejam um alvo vulnerável de sua toxicidade (SRIVASTAV et al., 1997; POLAT et al., 2002; CENGIZ, 2006).

Por outro lado, o Imidacloprido foi a substância menos tóxica para os peixes, apresentando altos valores de  $CL_{50-96h}$  que variaram de 145-300 mg/L. Os resultados aqui apresentados, estão de acordo com Tomizawa e Casida 2005, pois afirmam que o imidacloprido apresenta baixa toxicidade para os peixes devido à especificidade da ligação da droga nicotínica, presente na formulação desse inseticida, uma vez que os neonicotinóides possuem baixa afinidade pelos receptores nicotínicos de vertebrados em relação aos de insetos. Poucos trabalhos foram realizados com esse agrotóxico no que diz respeito a toxicidade aguda em peixes, sendo que nenhum deles avaliou peixes da Amazônia, portanto esse estudo contribuiu para ampliar os dados ecotoxicológicos do imidacloprido em peixes da região amazônica.

No que diz respeito ao glifosato, a  $CL_{50-96h}$  nos peixes estudados variou de 3,6 a 13,8 mg/L. Esses valores estão em concordância com concentrações letais estimadas para tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* ( $CL_{50-96h} = 16,8\text{mg/L}$ ) (JIRAUNGKOORSKUI et al, 2002), peixe mosquito, *Gambusia yucatana* ( $CL_{50-96h} = 17,8 \text{ mg/L}$ ) (OSTEN et al., 2005), piaçu, *Leporinus macrocephalus* ( $CL_{50-96h} = 15,2 \text{ mg/L}$ ) (ALBINATI et al, 2007) e curimatã, *Prochilodus lineatus* ( $CL_{50-96h} = 13,7$

mg/L) (LANGIANO; MARTINEZ, 2008), quando expostos a formulação Roundup ®. Por outro lado, Neskovic et al. (1996), avaliaram a toxicidade aguda do ingrediente ativo glifosato em carpa (*Cyprinus carpio*) e verificaram que o valor CL<sub>50</sub>-96h é bastante alto: 620 mg/L. O glifosato é considerado de baixo risco de toxicidade para animais em sistemas aquáticos (FAO/WHO, 1986), ele é capaz de inibir a enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) (KOLPIN et al., 2006) que, por sua vez, não existe nos vertebrados, tais como peixes. No entanto, as formulações comerciais chegam a apresentar maior toxicidade que o produto propriamente dito (AMARANTE et al., 2002; PEIXOTO, 2005), uma vez que a toxicidade das formulações comerciais de glifosato depende em parte da associação aos compostos surfactantes, que são mais tóxicos para os organismos aquáticos (NWANI et al., 2010; SHIOGIRI et al., 2012). Isso evidencia que interações sinérgicas entre o ingrediente ativo e outros componentes da formulação dos agrotóxicos devem ser levadas em consideração quando se avalia toxicidade.

Os valores de CL<sub>50</sub>-96h para Diuron variaram de 17 a 42 mg/L para as espécies amazônicas avaliadas, enquanto que em peixes de áreas temperadas a variação foi de 3 a 24 mg/L (Anexo II). O diuron é considerado moderadamente tóxico aos peixes (GIACOMAZZI; COCHET, 2004) e, por sua vez, um dos herbicidas mais perigosos para o ambiente, uma vez que é muito persistente, não biodegradável e tem alto potencial de bioacumulação (KUMAR et al., 2011; BARBIERI, 2009; MHADHBI; BEIRAS, 2012). A sua persistência é atribuída principalmente à combinação de três fatores: estabilidade química, baixa solubilidade em água e forte sorção do solo (GOODDY et al., 2002).

Como mencionado anteriormente, os resultados desse trabalho mostram que houve diferenças na sensibilidade entre as espécies estudadas. Baird et al. (2007) demonstraram que as mesmas espécies podem reagir de forma diferente para substâncias diferentes. A sensibilidade às substâncias tóxicas pode ser explicada por diversas características da espécie em estudo, tais como: tamanho, relação superfície/volume, estágio de vida, modo de respiração, comportamento alimentar, etc. *C. strigata* foi uma das espécies mais sensíveis aos inseticidas testados, enquanto que *C. schwartzi* apresentou menor sensibilidade para todos os agrotóxicos, exceto imidacloprido, o que pode ser explicado pela capacidade desta espécie de viver em condições extremas (MATSUO; VAL, 2002).

Além dos efeitos agudos representados pela mortalidade nesse trabalho, vale ressaltar que todas as espécies apresentaram alterações comportamentais, como resultado de estresse aos efeitos tóxicos dos agrotóxicos, tais como: coloração escura, agitação, natação circular e em alguns casos errônea, empurrões vigorosos do corpo e perda de equilíbrio. Esses resultados estão de acordo com Nwani et al. (2010) e De Moraes et al. (2013) que observaram comportamentos semelhantes ao expor *C. punctatus* ao glifosato e *Brycon amazonicus* à deltametrina, respectivamente.

Apesar da toxicidade aguda de alguns agrotóxicos resultar na mortalidade dos organismos, os peixes são muito sensíveis aos efeitos subletais das concentrações que não resultam em mortalidade e que, por sua vez, são capazes de trazer consequências em longo prazo, sendo mais perniciosas que as concentrações letais, uma vez que podem alterar os hábitos alimentares, aspectos comportamentais como a relação predador-presa, além do sucesso reprodutivo das espécies (NWANI et al., 2010). Portanto, sugere-se a realização de pesquisas que visem avaliar o impacto ecológico em longo prazo, por meio de testes crônicos voltados à determinação dos efeitos subletais das substâncias que representam perigo a saúde do ambiente.

## **5.2. Distribuição de Sensibilidade de Espécies de ambiente amazônico e de clima temperado**

Um dos objetivos desse trabalho foi determinar a concentração de risco que afeta 5% das espécies e protege 95% (HC<sub>5</sub>), por meio da construção de curva de sensibilidade das espécies para cada agrotóxico avaliado. Nessa parte do trabalho, utilizaram-se dados de espécies de ambiente temperado para efeito de comparação de sensibilidade entre os dois ambientes. A abordagem DSE é representada por intervalos de confiança para o cálculo das concentrações de risco, especialmente para estimativas de HC<sub>5</sub>. Portanto, a discussão referente às diferenças observadas na sensibilidade aos agrotóxicos entre peixes da Amazônia e espécies das regiões temperadas está baseada na comparação das distribuições de sensibilidade e intervalos de confiança de HC<sub>50</sub>, que são mais robustos, uma vez que estão no meio da distribuição dos dados, enquanto que os resultados de HC<sub>5</sub> serão discutidos para estabelecer parâmetros de qualidade da água.

A incerteza dos resultados fornecidos pela abordagem DSE é altamente dependente do número de espécies testadas (tamanho da amostra) para gerar as curvas (NEWMAN et al., 2000; WHEELER et al., 2002; PENNINGTON, 2003). Neste

sentido, vários estudos foram realizados de forma a tentar determinar qual seria o número mínimo de espécies que deveriam ser consideradas para a construção das curvas de sensibilidade de espécies (NEWMAN et al., 2000). Além disso, a grande diversidade de peixes e outras espécies presentes nas águas amazônicas com diferentes características e adaptadas às condições ambientais específicas, pode influenciar nas diferentes respostas à exposição a diferentes agrotóxicos (RICO et al., 2009). No entanto, segundo estabelecido por Campbell et al. (1999) no que se refere aos peixes, cinco é o número mínimo de espécies requerido para a construção da curva DSE, e portanto está de acordo com a quantidade de espécies amazônicas que foram utilizadas nesse trabalho. Por outro lado, outros estudos recomendam um mínimo de 10 pontos de dados para reduzir a incerteza na abordagem DSE (WHEELER et al., 2002).

Quando se comparou os valores médios de  $HC_{50}$  dos agrotóxicos em estudo, não foi encontrada diferença significativa na sensibilidade entre peixes amazônicos e das áreas temperadas, exceto para os valores médios de  $HC_{50}$  do glifosato que foram oito vezes maiores em ambiente temperado, quando a sobreposição dos valores foi feita. No entanto, a confiabilidade destes resultados pode estar comprometida pelo número limitado de dados da Amazônia e, portanto, mais experimentos devem ser realizados a fim de validar esta conclusão. Vale ressaltar, que os dados para imidacloprido ainda são muito escassos, não só para a Amazônia, mas também para ambientes temperados, pois foram encontradas apenas três espécies de peixes submetidas a esse composto. Dessa forma, é necessário a realização de novos trabalhos para poder se fazer uma comparação mais consistente. No entanto, resultados semelhantes foram observados no estudo feito por Dyer et al. (1997), que também não encontraram diferenças de sensibilidade aparentes entre peixes tropicais e de ambiente temperado para quatro agrotóxicos (carbaril, DDT, lindano e malation) e 2 narcóticos (fenol e pentaclorofenol). Rico et al. (2009) também chegaram a mesma conclusão comparando a toxicidade do inseticida paration-metílico em peixes amazônicos e peixes de região temperada. Enquanto que Maltby et al. (2005), construíram curvas de DSE para 16 inseticidas com diferentes modos de ação, e mostraram que também não houve diferenças significativas na distribuição de sensibilidade das espécies tropicais e temperadas, nem nas estimativas  $HC_5$  em todos os compostos, derrubando a hipótese de que as espécies tropicais são mais sensíveis quando expostas a substâncias químicas.

Em contrapartida, esses resultados diferem dos obtidos por Kwok et al. (2007), que realizaram a abordagem de DSE avaliando 18 compostos e verificaram que as

espécies tropicais tendem a ser mais sensíveis do que as espécies de água doce temperada quando submetidas ao clorpirifós em termos de HC<sub>10</sub>. Enquanto que para carbaril, DDT e malation as espécies das áreas temperadas foram mais sensíveis.

Sabe-se que os fatores ambientais tropicais podem contribuir para uma rápida propagação dos agrotóxicos no meio aquático. Alguns estudos mostraram que altas temperaturas, radiação solar e umidade das áreas tropicais favorecem a degradação e volatilização de alguns agrotóxicos (VISWANATHAN et al., 1989; DAAM, 2007), assim como a desintoxicação bioquímica e eliminação de produtos químicos, o que pode provocar uma diminuição da toxicidade, dependendo da fisiologia de cada espécie em questão (ZAGATTO et al., 2006).

Por outro lado, alguns estudos têm mostrado que a toxicidade em organismos aquáticos aumenta conforme o aumento da temperatura, uma vez que estes têm taxas respiratórias e metabólicas elevadas e, conseqüentemente, a absorção de substâncias tóxicas se torna mais fácil (SPRAGUE, 1985; HOWE et al., 1994; KWOK et al., 2007). No entanto, independentemente da temperatura, é importante considerar que outros parâmetros abióticos, tais como pH, dureza, concentração de oxigênio, concentração de carbono orgânico dissolvido e até mesmo o tipo de água, em se tratando de Amazônia, podem também influenciar na solubilidade dos agrotóxicos e, conseqüentemente, a biodisponibilidade e absorção, modificando a toxicidade do produto (SPRAGUE, 1985; CHIOU et al., 1986).

Portanto, os dados disponíveis até o momento são insuficientes para afirmar que os organismos tropicais são mais sensíveis ou mais tolerantes aos agrotóxicos do que os organismos de clima temperado, devido às diferenças nas condições ambientais e/ou nas características intrínsecas de cada espécie, uma vez que estes fatores não podem ser analisados isoladamente.

Com relação a esses resultados, pode-se inferir que talvez espécies amazônicas possuam mecanismos metabólicos de desintoxicação de agrotóxicos mais eficientes em comparação com espécies de áreas temperadas. O trabalho de Fraga (2010) corrobora com essa hipótese, pois constatou a presença de esterases serino-dependentes em curimbatá, pacu e piavuçu, que são capazes de hidrolisar e captar xenobióticos organofosforados, sendo importantes na desintoxicação e, provavelmente, na resistência diferenciada destas espécies a alguns organofosforados. Além disso, os fatores abióticos característicos das águas da região amazônica também podem influenciar na toxicidade dos agrotóxicos. No entanto, outras pesquisas devem ser desenvolvidas com mais

produtos químicos a nível morfológico e fisiológico, incluindo outros grupos de organismos que podem vir a apresentar maior sensibilidade a determinados agrotóxicos, incluindo invertebrados, algas e macrófitas. Da mesma forma que deltametrina, imidacloprido, glifosato e diuron não devem ser considerados representativos do amplo espectro de substâncias que estão atualmente em uso na Amazônia, e este pressuposto deve ser apoiado com mais estudos avaliando outros inseticidas, herbicidas, assim como os fungicidas.

### **5.3. Padrão de qualidade da água para peixes amazônicos**

O modelo de DSE tem sido usado durante as últimas décadas nos Estados Unidos e na Europa para determinar Critérios de Qualidade da Água para o uso seguro de agrotóxicos (SUTER II, 2002; VAN STRAALLEN et al., 2002). Esse método faz uma extrapolação a partir de um conjunto de dados disponíveis, assumindo que esses dados são uma amostra aleatória das espécies do ecossistema aquático, para derivar critérios de qualidade da água destinados a proteger a maior parte das espécies em um ecossistema (POSTHUMA et al., 2002). Neste trabalho, a definição de padrão de qualidade da água para região amazônica baseou-se nesse método para sugerir valores máximos agrotóxicos testados em cinco espécies de peixes amazônicas.

O terceiro objetivo proposto nesse trabalho de estabelecer parâmetros de qualidade ambiental que possam ser futuramente utilizados para proteger a ictiofauna amazônica foi motivado pela existência de uma lacuna na legislação brasileira que, por sua vez, não estabelece valores máximos para a maioria dos agrotóxicos atualmente em uso no país. Analisando a Resolução CONAMA nº 357/2005, que estabelece limites individuais para diversas substâncias em diferentes classes de água, pode-se observar que foram definidos padrões máximos apenas para agrotóxicos organoclorados, que na sua maioria tem atualmente seu uso proibido no Brasil.

A Resolução CONAMA nº 357/2005 contempla apenas o herbicida glifosato, dentre os que foram analisados nesse estudo. O valor máximo permitido para o glifosato segundo a legislação é 65 µg/L para as classes 1 e 2 de águas doces, destinadas à proteção das comunidades aquáticas. Nesse caso, pode-se considerar que esse valor seria protetivo quando se leva em consideração o grupo de peixes, uma vez que o valor calculado nesse trabalho foi 2,7 vezes maior que o estabelecido na resolução.

Vale ressaltar, que os valores definidos nesse estudo para todos os quatro agrotóxicos são, em princípio, protetivos para os peixes, embora outros grupos devam ser incluídos por apresentarem possivelmente maior sensibilidade a determinados produtos, conforme o modo de ação de cada substância (CAMPBELL et al., 1999). Sendo assim, por exemplo, zooplâncton e microcrustáceos seriam testados com os inseticidas; e as algas e macrófitas frente aos herbicidas. Os valores calculados podem ser considerados um ponto de partida para determinação do valor máximo permitido para o ambiente amazônico, levando em consideração que poucos são os trabalhos realizados com espécies locais frente a esses mesmos agrotóxicos.

Embora não esteja explicitado como são determinados os valores propostos na Resolução CONAMA nº 357/2005, sabe-se que os bioensaios de concentração limite geralmente são realizados com espécies padrão, tais como o microcrustáceo *Daphnia*, os peixes *Oncorhynchus mykiss* e/ou *Danio rerio* e macrófitas (*Lemna* sp.) para representar o ecossistema (EU, 1997; ZAGATTO et al., 2006), e então provavelmente sejam estabelecidos por meio de testes toxicológicos agudos e crônicos e um fator de segurança que pode variar dependendo do tipo de teste realizado. Porém, acredita-se que o uso de espécies padrão originadas de ambientes temperados compromete a definição de padrões ambientais que sejam condizentes com a realidade local da Amazônia. Por outro lado, Daam et al. (2008, 2009), comparando as concentrações de risco obtidas em (semi-) experimentos de campo na região temperada e na região tropical da Tailândia para o inseticida clorpirifós e o fungicida carbendazim, concluíram que as concentrações de risco de ambiente temperado mostram um nível de proteção suficiente para os ecossistemas de água doce tropicais. Mas, o conhecimento sobre ecotoxicologia na Amazônia ainda é muito limitado e portanto recomenda-se a realização de mais modelos de estudos de ecossistemas com mais agrotóxicos em uma escala geográfica maior dentro da zona tropical.

Sabendo que existem poucos dados referentes à toxicidade dos agrotóxicos para espécies aquáticas da Amazônia, é imprescindível que haja cautela ao tentar definir até que ponto os dados ecotoxicológicos podem ser extrapolados de uma região geográfica para outra. Além disso, é importante ter em mente que a biodiversidade em regiões tropicais é maior do que nas regiões temperadas e, portanto, o número de espécies potencialmente afetadas pela exposição a um determinado agrotóxico pode ser maior.

O estudo dessas questões é essencial para extrapolar princípios ecotoxicológicos e padrões de qualidade estabelecidos na região de clima temperado para regiões

tropicais. A aplicação desses princípios e normas pode levar a sérios riscos para os ecossistemas de água doce se a extrapolação não for suportada por uma base científica adequada. Porém, nesse estudo, embora as espécies tropicais tenham demonstrado ser um pouco menos sensíveis do que as espécies de clima temperado, não foram encontradas diferenças significativas de sensibilidade. Assim sendo, pode-se inferir que o uso de informações de espécies de clima temperado para avaliar o efeito de produtos químicos sobre peixes tropicais pode ter uma ação protetora. Isso sugere que os dados de clima temperado podem ser utilizados para obter concentrações ambientais seguras na Amazônia, no entanto o seu uso poderá resultar em concentrações superprotetoras, podendo interferir nas concentrações utilizadas na agricultura para eliminar os organismos hospedeiros, uma vez que estes podem não ser atingidos com concentrações muito baixas.

Van Leeuwen e Vermeire (2007) afirmam que para tentar sanar as dúvidas sobre os poucos dados ecotoxicológicos em ambientes tropicais, fatores de segurança são utilizados a fim de se obter concentrações confiáveis que protejam o maior número de espécies possível. No entanto, o número de dados de toxicidade utilizados para apoiar esta conclusão é escasso em comparação com a enorme diversidade de espécies que habitam os ecossistemas de água doce. Dessa forma, é essencial o uso de um fator de segurança de pelo menos 5, já que os valores de HC<sub>5</sub> encontrados neste estudo estão sendo considerados como ponto de partida para obtenção das concentrações ambientais seguras nos ecossistemas de água doce da Amazônia.

Vale ressaltar que os padrões de qualidade da água são desenvolvidos para contaminantes individuais, enquanto na natureza os organismos podem estar expostos a múltiplas substâncias tóxicas, simultaneamente. Portanto, segundo RUBACH et al. (2010) testes com apenas um composto tóxico apresentam grandes diferenças na sensibilidade das espécies testadas e essas diferenças fazem parte da incerteza na avaliação de risco ambiental.

Portanto, pode-se afirmar que é de suma importância o conhecimento dos efeitos dos agrotóxicos sobre a biodiversidade Amazônica para a definição de padrões de qualidade ambiental no Brasil. Entretanto, a realização desta tarefa implica em primeira instância na construção de uma base de conhecimentos em ecotoxicologia para a região com espécies locais ou endêmicas e em situações que reflitam as condições locais de exposição da biodiversidade aos agrotóxicos.

## 6. Considerações finais

Esse trabalho contribuiu para ampliar os dados ecotoxicológicos da região amazônica, no qual foi determinado a CL<sub>50</sub> de quatro agrotóxicos (deltametrina, imidacloprido, glifosato e diuron) para quatro espécies amazônicas de grande importância no setor da pesca ornamental (*Carnegiella strigata*, *Paracheirodon axelrodi*, *Hemigrammus rhodostomus* e *Corydora schwartzi*) e uma espécie de importância para a alimentação da população local (*Colossoma macropomum*).

As curvas de distribuição de sensibilidade de peixes de ambiente temperado e amazônico não apresentaram diferenças significativas, mas deve-se considerar que os dados de toxicidade para o ambiente amazônico ainda são muito limitados, de forma que mais experimentos devem ser realizados para validar esta conclusão.

Os valores máximos permitidos calculados para espécies de peixes da Amazônia servem como ponto de partida para formulação de padrões de qualidade da água, uma vez que na Resolução CONAMA nº 357/2005 só está estabelecido valores para um dos quatro agrotóxicos avaliados nesse estudo. Além disso, outros estudos devem ser realizados com organismos potencialmente mais sensíveis a essas substâncias.

Portanto, embora a investigação da CL<sub>50</sub> seja de suma importância para subsidiar a elaboração de políticas públicas de padrões de qualidade ambiental, faz-se necessário a realização de pesquisas que visem avaliar o impacto ecológico em longo prazo por meio de testes laboratoriais e de campo para determinar os efeitos subletais das substâncias que possuem seu uso autorizado no Brasil atualmente.

Recomenda-se a expansão dos testes de toxicidade utilizando diferentes produtos químicos e organismos para documentar os valores de CL<sub>50</sub> e outros dados relevantes para ajudar a delinear corretamente estratégias para a proteção da biodiversidade ao mesmo tempo que permitam o desenvolvimento da agricultura, a qual é uma importante atividade socioeconômica na região.

## 7. Referências Bibliográficas

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas. Acute toxicity – Test with fish. Rio de Janeiro (BR): ABNT. Comissão de Estudo Temporária de Análises Ecotoxicológicas. 2003.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13373: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica- Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Cladocera, Crustácea). 18 p., 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Índice monográfico - Deltamerina. 2003. Disponível em: <[www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[4690-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[4690-1-0].PDF)> Acesso em 11 de Fevereiro de 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Índice monográfico – Glifosato. 2007 Disponível em: <[www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[19554-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[19554-1-0].PDF)> Acesso em 11 de Fevereiro de 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). 2007. Índice monográfico – Imidacloprido. Disponível em: <[www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[17410-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[17410-1-0].PDF)> Acesso em 11 de Fevereiro de 2013.

ALBINATI, A.C.L.; MOREIRA, E.L.T.; ALBINATI, R.C.B.; CARVALHO, J.V.; SANTOS, G. B.; LIRA, A.D. Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piaucu (*Leporinus macrocephalus*). Rev. Bras. Saúde Prod. An. Salvador 8, 184–192. 2007.

ALDENBERG, T.; SLOB, W. Confidence limits for hazardous concentrations based on logistically distributed NOEC toxicity data. Ecotox. Environ. Saf. 25, 48-63. 1993.

ALDENBERG, T., JAWORSKA, J. S. Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. Ecotoxicol. Environ. Saf. 46:1–18. 2000.

AMARAL C.M.L. Agricultural and Environmental Risk in the Micro-Watersheds in the Cumarú and Caripi Rivers in the Brazilian Amazon: Effect of the use of agrochemicals products. . Dissertação (Mestrado) 92 f. Turrialba, Costa Rica. 2001.

AMARANTE Jr, O. P.; SANTOS, T.C.R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, toxicidade, uso e legislação. Quím. Nova 25, 589–593. 2002.

APHA - American Public Health Association-; American Water Works Association-WWA; Water Pollution Control Federation-WOCF. (eds). “Standard methods for the examination of water and wastewater”. 16ª ed, New York, 1268p. 1985.

BAIRD D. J.; VAN DEN BRINK, P.J. Using biological traits to predict species sensitivity to toxic substances. Ecotoxicology and Environmental Safety 67: 296-301. 2007.

BARBIERI, E. Effect of 2,4-D herbicide (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) on oxygen consumption and ammonium excretion of juveniles of *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes, Cichlidae). *Ecotoxicology*, 18(1), 55–60. 2009.

BROCK, T. C. M.; ARTS, G. H. P.; MALTBY, L.; VAN DEN BRINK, P. J. Aquatic risks of pesticides, ecological protection goals, and common aims in European Union legislation. *Integrated Environmental Assessment and Management*, v. 2, p. 20-46. 2006.

CAMPBELL, P. J.; ARNOLD, D. J. S.; BROCK, T. C. M.; GRANDY, N. J.; HEGER, W.; HEIMBACH, F.; MAUND, S. J.; STRELOKE, M. Guidance document on higher-tier aquatic risk assessment for pesticides (HARAP). Brussels (BE): SETAC-Europe. 179 f. 1999.

CAPRI, E.; M. TREVISAN. Prediction of environmental concentrations (PECs) by mathematical model application in Europe. *Pesticide Outlook* 9: 26-30. 1998.

CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C. Dossiê ABRASCO – Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. ABRASCO, Rio de Janeiro. 1ª Parte. 98p. 2012.

CASTILLO, L. E.; DE LA CRUZ, E.; RUEPERT, C. Ecotoxicology and pesticides in tropical aquatic ecosystems of Central America. *Environ Toxicol Chem*, 16: p.41–51. 1997.

CENGIZ, E. I. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22 200–204. 2006.

CHAO, N. L.; G. PRANG; P. PETRY. The fishery diversity and conservation of ornamental fishes in the Rio Negro Basin, Brasil: A review of Project Piaba (1989–1999). In: Chao N. L., P. Prang, L. Sonnenschein & M. T. Tlusty (eds), *Conservation and Management of Ornamental Fish Resources of the Rio Negro Basin, Amazônia, Brazil– Project Piaba*. EDUA, Manaus, 161–204. 2001.

CHIOU, C.T.; MALCOLM, R. L.; BRINTON, T. I.; KILE, D. E. Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environmental Sciences and Technology* 20: 502-508. 1986.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2005.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução Nº 1000/2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Disponível em: <[http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao\\_1000.pdf](http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_1000.pdf)> Acesso: 10 de Março de 2013.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 7, 1820-1830. 2008.

DAAM M. A. Influence of climatic factors and microcosm complexity on the fate and effects of pesticides. Tese (Doutorado). Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal. 191 f. 2007.

DAAM, M. A.; CRUM, S. J. H.; VAN DEN BRINK, P. J.; NOGUEIRA, A. J. A. Fate and effects of the insecticide chlorpyrifos in outdoor plankton dominated microcosms in Thailand. *Environ Toxicol Chem*, v. 27, p. 2530–2538, 2008.

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* v. 19, p. 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. *Ecotoxicol Environ Saf*, v. 72, n. 2, p.424–433, 2009.

GOODDY, D. C.; CHILTON, P. J.; HARRISON, I. A field study to assess the degradation and transport of diuron and its metabolites in a calcareous soil. *Science of the Total Environment*, v. 297, p. 67-83. 2002.

DASGUPTA, S.; MAMINGI, N.; MEISNER, C. Pesticide use in Brazil in the era of agroindustrialization and globalization. *Environ. Develop. Econ.* 459-482. 2001.

DE ALBUQUERQUE M. O.; FABRÉ N. N. Sistemas Abertos Sustentáveis – SAS: uma alternativa de gestão ambiental na Amazônia. Universidade Federal do Amazonas. Manaus: EDUA. 243. 2003.

DE MORAES, F. D.; VENTURINI, F. P.; CORTELLA, L. R. X.; ROSSI, P. A.; MORAES, G. Acute toxicity of pyrethroid-based insecticides in the Neotropical freshwater fish *Brycon amazonicus*. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* v. 8, n. 2, 2013.

DPR Pesticide Chemistry Database. Environmental Monitoring Branch, Department of Pesticide Regulation. 2003.

DYER, S. D.; BELANGER, S. E.; CARR, G. J. An initial evaluation of the use of Euro/North American fish species for tropical effects assessments. *Chemosphere*, v. 35p. 2767–2781, 1997.

EMERSON, K., RUSSO, R.C. LUND, R.E.; THURSTON, R.V. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 32:2379-2383. 1975.

EU. Council Directive 97/57/EC of September 21, 1997. Establishing annex VI to Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. *Official Journal of the European Communities L265*: 87-109. 1997.

FAO/WHO. Pesticide residues in food – 1986. Evaluations. Part I – residues. In: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide. 1986.

FRACÁSIO, R.; CAMPAGNA, A. F.; RODRIGUES, B. K. VERANI, N. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Avaliação da Toxicidade do Endosulfan Sulfato sobre Juvenis de *Danio Rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 3, n. 1, 2008, 15-21. 2008.

FRAGA, A. S. Acetilcolinesterase, Butirilcolinesterase, Carboxilesterase e a Resistência de Peixes Neotropicais aos Pesticidas Organofosforados. Tese (Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Biologia) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2010

FRANK, J. P, D.; KELLNER, T. P. Deltamethrin risk characterization. Health assessment section, Medical toxicology branch, department pesticide regulation, California environmental protection agency. 93f. 2000.

FOSSSEN, M. Environmental Fate of Imidacloprid, California Department of Pesticide Regulation. 2006. Disponível em: <<http://www.cdpr.ca.gov/docs/empm/pubs/fatememo/Imidclprdfate2.pdf>> Acesso: 9 de Set de 2013.

GEISLER, R.; S. R. ANNIBAL. Ecology of the cardinal-tetra *Paracheirodon axelrodi* (Pisces, Characoidea) in the river basin of the Rio Negro/Brazil as well as breeding-related factors. Animal Research and Development 23: 7–39. 1986.

GIACOMAZZI, S.; COCHET N. Environmental impact of diuron transformation: a review. Chemosphere 56, 1021–1032. 2004.

GIESY, J. P., DOBSON, S., SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 167, 35–120. 2000.

GOULDING, M.; CARVALHO M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae) an important Amazonian food fish. Revista Brasileira de Zoologia 107-133. 1982.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMON, R.S. “Methods for chemical analysis of fresh water”. Backwell Scientific Publications, Oxford, 213 f. 1971.

GONÇALVES, M. J. C. Aspects of the relation between species sensitivity to chlorpyrifos (cpf) and species traits in freshwater arthropods. Dissertação (Mestrado). Wageningen University. 32 f. 2007.

HAYA, K. Toxicity of pyrethroid insecticide to fish. Environ. Toxicol. Chem. 8, 381–391. 1989.

HENRIQUES, W.; RUSSEL, D. J.; LACHER, T. E. JR.; KENDALL, R. J. Agrochemical use on banana plantations in Latin America: perspectives on ecological risk. Environ. Toxicol. Chem. 16, 91–99. 1997.

HOWE, G. E.; MAKING, L. L.; BILLS, T. D.; RACH, J.J.; MAYER, JR, F. L. Effects of water temperature and pH on toxicity of terbufos, trichlorfon, 4-nitrophenol and 2,4-

dinitrophenol to the amphipod *Gammarus pseudolimnaeus* and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 13: 51-66. 1994.

INOUE, M. H.; JUNIOR, R. S. O.; CONSTANTIN, J.; ALONSO, D. G.; SANTANA, D. C. Lixiviação e degradação de diuron em dois solos de textura Contrastante. *Acta Sci. Agron. Maringá*, v. 30, supl. p. 631-638, 2008.

JIRAUNGKOORSKUL, W.; UPATHAM, E.S.; KRUATRACHUE, M.; SAHAPHONG, S.; VICHASRI-GRAMS, S.; POKETHITIYOOK, P. Histopathological effects of Roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Science Asia* 28, 121–127. 2002.

JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, 2010.

KOLPIN, D.W.; THURMAN, E.M.; LEE, E.A.; MEYER, M.T.; FRLONG, E.T.; GLASSMEYER, S.T. Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Sci. Total Environ.* 354, 191–197. 2006.

KRAMER, F.; MENCKE, N.; *Flea Biology and Control: The Biology of the Cat Flea, Control and Prevention with Imidacloprid in Small Animals*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2001.

KRULL, M.; ALVES DE LIMA, C. C.; DE OLIVEIRA, M. L. T.; CARNEIRO, A. C.; DA SILVA, E. M.; BARROS, F. State of the art of Brazilian ecotoxicology. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 690-691. 2011.

KUMAR, A.; PRASAD, M.; MISHRA, D.; SRIVASTAV, S. K.; SRIVASTAV, A. K. Botanical pesticide, azadirachtin attenuates blood electrolytes of a freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99,170–173. 2011.

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y.; CHU, V.K.H.; LAM, P.K.S.; MORRITT, D. MALTBY, L.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J.; WARNE M.ST.J.; CRANE, M. Comparison of tropical and temperate freshwater species sensitivities to chemicals: implications for deriving safe extrapolation factors. *Integrated Environmental Assessment and Management* 3: 49-67. 2007.

LACHER, T. E. Jr; GOLDSTEIN M. I. Tropical ecotoxicology: status and needs. *Environ Toxicol Chem* 16: p. 100–111. 1997.

LAMBERT, B. Physical chemical properties of deltamethrin. Hoechst-Roussel study (STE-009-A-06-1/63). DPR Document 51846-015-129689. 1991.

LANGIANO, V. C.; MARTINEZ, C. B. R. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 147, 222–231. 2008.

LAURANCE, W. F.; COCHRANE, M. A.; BERGEN, S.; FEARNESIDE, P.M.; DELAMONICA, P.; BARBER, C.; D'ANGELO, S.; FERNANDES, T. The Future of the Brazilian Amazon. *Science* 291, 438 – 439. 2001.

LAURANCE, W. F.; VASCONCELOS, H. L. Consequências ecológicas da fragmentação florestal na Amazônia. *Oecol. Bras*, 13(3). 434-451. 2009.

LEPPER, P. Toward the derivation of quality standards for priority substances in the context of the Water Framework Directive. Identification of quality standards for priority substances in the field of water policy. Final Report. Report no. B4-3040/2000/30637/MAR/E1. Schmitt (DE): Fraunhofer Institute. Molecular Biology and Applied Ecology Department. 149 p. 2002.

MALTBY, L.; BLAKE, N. N.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J. Insecticide species sensitivity distributions: The importance of test species selections and relevance to aquatic ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 24:379-388. 2005.

MANCERA, N.; ALVAREZ, R. Comercio de peces ornamentales en Colombia. *Acta biol. Colomb.* vol.13, no.1: 23-52. 2008.

MARCON, J.L.; MOREIRA, S.S.; FIM, J.D.I. Median lethal concentration (LC50) for un-ionized ammonia in two Amazonian fish species, *Colossoma macropomum* and *Astronotus ocellatus*. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON THE BIOLOGY OF FISH. Manaus. Anais. Manaus, 2004. p. 105-116. 2004.

MHADHBI, L.; BEIRAS, R. Acute Toxicity of Seven Selected Pesticides (Alachlor, Atrazine, Dieldrin, Diuron, Pirimiphos-Methyl, Chlorpyrifos, Diazinon) to the Marine Fish (Turbot, *Psetta maxima*). *Water Air Soil Pollut* 223:5917-5930. 2012.

MATSUO, A. Y.; VAL, A. L. Low pH and calcium effects on net Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> fluxes in two catfish species from amazon river (Corydoras: Callichthyidae). *Brazilian journal of medical and biological research*, 35: 361-367 ISSN 0100-879X. 2002.

MENDONÇA, F. P. Ictiofauna de igarapés de terá firma: estrutura das comunidades de duas bacias hidrográficas, Reserva Florestal Adolfo Ducke, Amazônia Central. Dissertação (Mestrado). Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas. Manaus – AM. 43 f. 2002.

MENDONÇA, P. P.; FERREIRA, R. A.; VIDAL JUNIOR, M. V.; ANDRADE, D. R.; SANTOS, M. V. B.; FERREIRA A.V.; REZENDE F. P. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Arch. Zootec.* 58 (223): 323-331. 2009.

MONCADA, A. Environmental fate of diuron. Environmental Monitoring Branch Department of Pesticide Regulation, CA 95812-4015, 2012.

MONTANHA, F. P.; PIMPÃO, C. T. Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes – Revisão. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária – ISSN: 1679-7353. Ano IX – Número 18 – Janeiro de 2012 – Periódicos Semestral.* 2012.

MORAES, R., ELFVENDAHL, S., KYLIN, H., MOLANDER, S. Pesticide Residues in Rivers of a Brazilian Rain Forest Reserve: Assessing Potential Concern for Effects on Aquatic Life and Human Health. *Ambio* 32, 258-263. 2003.

- NESKOVIC, N.K.; POLEKSIC, V.; ELEZOVIC, I.; KARAN, V., BUDIMIR, M. 1996. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp (*Cyprinus carpio*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 56, 295–3. 1996.
- NEWMAN, M. C.; OWNBY, D. R.; MEZIN, L. C. A.; POWELL, D. C. Applying species sensitivity distributions in ecological risk assessment: assumptions of distribution type and sufficient number of species. Environ Toxicol Chem, v. 19, n. 2, p. 508–515, 2000.
- NWANI, C. D.; NAGPURE, N. S.; KUMAR, R.; KUSHWAHA, B.; KUMAR, P.; LAKRA, W. S. Lethal concentration and toxicity stress of Carbosulfan, Glyphosate and Atrazine to freshwater air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). International Aquatic Research 2 105-111. 2010.
- OECD Guidelines for the testing of chemicals. Fish Acute Toxicity Test. Adopted test guideline 203. Paris (FR): OECD. Environment Directorate. 1992.
- OLIVEIRA, S. R. et al. Tolerance to temperature, pH, ammonia and nitrite in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, an amazonian ornamental fish. Acta Amazonica. vol. 38(4): 773 – 780. 2008.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Agricultural Outlook 2010-2019. Disponível em: <<http://www.agri-outlook.org/dataoecd/13/13/45438527.pdf>>. Acesso: 16 de Abril de 2014.
- OSTEN, J. R.; ORTÍZ-ARANA, A.; GUILHERMINO, L.; SOARES, A. M. V. M. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquito fish (*Gambusia yucatanana*) exposed to pesticides. Chemosphere 58, 627–636. 2005.
- PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. Chemosphere 61, 1115–1122.
- PENNINGTON, D.W. Extrapolating ecotoxicological measures from small datasets. Ecotoxicology and Environmental Safety 56 (2): 238-250. 2003. 2005.
- PERES, C. A.; SCHNEIDER, M. Subsidized agricultural resettlements as drivers of tropical deforestation. Biol Conserv, v. 151, p.65–68, 2012.
- PINTO, T. J.; SANTOS, H. WITKOSKI, A.C. Comunidades ribeirinhas amazonicas: modos de vida e uso dos recursos naturais. Universidade Federal do Amazonas - Projeto Piatam. EDUA, Manaus, Brazil. 224. 2007.
- POLAT, H.; ERKOC, F.U.; VIRAN, R.; KOCAK, O. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*. Chemosphere. v.49, p. 39-44, 2002.
- PORTO, M. F; SOARES, W. L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. Rev. bras. Saúde ocup., São Paulo, v. 37, n. 125, p. 17-50, 2012.
- POSTHUMA, L.; SUTER II, G. W.; TRAAS, T. P. Species sensitivity distributions in ecotoxicology. Lewis Publishers, Boca Raton. 587 p. 2002.

RICO, A. ; GEBER-CORRÊA, R. ; CAMPOS, P. S. ; Garcia, M. V. B. ; WAICHMAN, A. V.; VAN DEN BRINK, P. J. Effect of parathion-methyl on Amazonian fish and freshwater invertebrates: a comparison of sensitivity with temperate data. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 58, p. 765-771, 2009.

RÖMBKE, J.; WAICHMAN, A. V.; GARCIA, M. B. Risk Assessment of Pesticides for Soils of the Central Amazon, Brazil: Comparing Outcomes with Temperate and Tropical Data. Integr. Environ. Assess. Manag. 4, 94–104. 2008.

RUBACH, M. N.; BAIRD, D. J.; VAN DER BRINK, P. J. A new method for ranking specific sensitivity freshwater arthropods to insecticides and its relation biological traits. Environ Toxicol Chem 29:476-487, 2010.

SÁNCHEZ-BAYO, F. AND K. GOKA. Unexpected effects of zinc pyrethrin and imidacloprid on Japanese medaka fish (*Oryzias latipes*). Aquatic toxicol. 74: 285–293. 2005.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SARKAR, M.; BISWAS, P.; ROY, S.; KOLE, R.; CHOWDHURY, A. Effect of pH and type of formulation on the persistence of imidacloprid in water. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63(5): 604–609. 1999.

SAYEED, I.; PARVEZ, S.; PANDEY, S.; BIN-HAFEEZ, B.; HAQUE, R.; RAISUDDIN, S. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. Ecotoxicology and Environmental Safety 56 295–301. 2003.

SCHUETTE, JEFF. Environmental fate of glyphosate. Environmental Monitoring & Pest Management Department of Pesticide Regulation Sacramento, CA 95824-5624. 1998.

SHIOGIRI, N. S.; PAULINO, M. G.; CARRASCHI, S. P.; BARALDI, F. G.; DA CRUZ, C. FERNANDES, M. N. Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the Neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus*. Environmental toxicology and pharmacology 34 388–396. 2012.

SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. Vendas de defensivos agrícolas são recordes e vão a US\$ 8,5 bi em 2011. Disponível em: <[http://www.sindag.com.br/noticia.php?News\\_ID=2256](http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2256)> Acesso: 22/04/2012.

SOARES-FILHO, B. S et al. Cenários de desmatamento para a Amazônia. Estudos avançados 19 (54), 2. 2005.

SOARES, W. L.; PORTO, M. F. S. Estimating the social cost of pesticide use: an assessment from acute poisoning in Brazil. Ecological Economics, v. 68, n. 10, p. 2721-2728, Aug. 2009.

SPRAGUE, J. B. Factors that modify toxicity. In: Rand G.M. and Petrocelli S.R., eds., Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor and Francis. Bristol, PA, USA. Pp: 124-163. 1985.

SPRAGUE, J. B. Methods of fish biology. In: Schrech, C. B.; MOYLE, P. B. (Ed.). Aquatic toxicology. Maryland, USA: American Fisheries Society Bethesda. p. 491-528. 1990.

SRIVASTAV, A.K., SRIVASTAVA, S.K., SRIVASTAV, S.K. Impact of deltamethrin on serum calcium and inorganic phosphate of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 59, 841–846. 1997.

SUTER II, G. W. North American history of species sensitivity distributions. In: Posthuma L., Traas T. P., Suter G.W. (eds) The use of species sensitivity distributions in ecotoxicology. Lewis, Boca Raton, FL. Pp: 11-18. 2002.

TAN, C.; GAO N.; DENG, Y.; AN, N.; DENG, J. Heat-activated persulfate oxidation of diuron in water. Chemical Engineering Journal 203 294–300. 2012.

TOMIZAWA M, CASIDA. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 45:247–268. 2005.

ToxRat GmbH. Toxicity response analysis and testing software. ToxRat Solutions GmbH, Alsdorf, Germany. 2003.

VAN STRAALLEN, N. M.; VAN LEEUWEN, C. J. European history of species sensitivity distributions. In: Posthuma L., Traas T. P., Suter G. W. (eds) The use of species sensitivity distributions in ecotoxicology. Lewis, Boca Raton, FL. Pp: 19-35. 2002.

VAN VLAARDINGEN, P. L. A.; TRAAS, T.P.; WINTERSEN, A. M.; ALDENBERG, T. ETX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data. Bilthoven, the Netherlands: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM). Report no. 601501028/2004. 68 p. 2004.

VASCONCELOS, G. J. N; SILVA, N. M. Entomofauna de importância agrícola e uso de agrotóxico no Amazonas. Anais do I Seminário de Entomologia e Acarologia na Amazônia. p. 19-27. 2011.

VIRAN, R.; ERKOÇ, F. R.; POLAT, H.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 55, p. 82-85, 2003.

VISWANATHAN P. N. AND KRISHNA MURTI C. R. Effects of temperature and humidity on ecotoxicology of chemicals. In: Bordeau P., Haines J.A., Klein W. and Krishn (eds) Ecotoxicology and climate. Pp: 139-155. 1989.

WAICHMAN, A.V.; RÖMBKE, J.; RIBEIRO, M. O. A.; NINA, N. C. S. Use and fate of pesticides in the Amazon State, Brazil: Risk to human health and the environment. Environ. Sci. Pollut. Res. 9, 423-428. 2002.

WAICHMAN, A.V.; EVE, E.; NINA, N. C. S. Do farmers understand the information displayed on pesticide product labels? A question to reduce pesticides exposure and risk of poisoning the Brazilian Amazon. Crop Prot. 26, 576-583. 2007.

WAICHMAN, A. V. A problemática do uso de agrotóxicos no Brasil: a necessidade de construção de uma visão compartilhada por todos os atores sociais. *Rev. bras. Saúde ocup.* São Paulo, 37 (125): 17-50, 2012

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M. PEAKALL, D. B. *Principles of ecotoxicology*, Third Edition ed. CRC. 2006.

WEITZMAN, S. H. The osteology and relationship of the South American characoid fishes or the subfamily Gasteropelecinae. *Stanford Ichthyologica Bulletin*, 4(1): 213-263. 1954.

WEITZMAN, S. H.; PALMER, L. Family Gasteropelecidae (Freshwater hatchetfishes). p. 101-103. In R. E. Reis; S. O. Kullander; C. J. Ferraris, Jr. (eds), *Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil, 742 f. 2003.

WHEELER, J. R.; GRIST, E. P. M.; LEUNG, K. M. Y.; MORRITT, D.; CRANE M. Species sensitivity distributions: data and model choice. *Marine Pollut Bull*, v.45, p.192–202, 2002.

WHO. ENVIRONMENTAL HEALTH criteria No 149. Glyphosate. International programme on chemical safety. ISBN 92 4 157159 4. 1994.

WHO. Environmental health criteria 97 deltametrina. International programme on chemical safety. 1990. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc97.htm>> Acesso: 12 de Abril de 2014.

WONG, A.; LANZA, M. R. V.; SOTOMAYOR, M. D. P.T. Sensor for diuron quantitation based on the P450 biomimetic catalyst nickel (II) 1,4,8,11,15,18,22,25-octabutoxy-29H,31H-phthalocyanine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 690 83–88. 2013.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. São Carlos – RIMA, 478 p., 2006.

## ANEXO I

### Dados de Toxicidade Aguda (CL<sub>50</sub>) em µg/L para peixes de ambiente temperado utilizados para o cálculo da DSE.

<b>DELTAMETRINA</b>		
<b>Espécie</b>	<b>CL<sub>50</sub> (µg/L)</b>	<b>Fonte</b>
<i>Channa punctata</i>	0,754	ECOTOX database
<i>Clarias gariepinus</i>	8	ECOTOX database
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	96	ECOTOX database
<i>Cyprinodon variegatus</i>	0,4775	ECOTOX database
<i>Cyprinus carpio</i>	2,451	ECOTOX database
<i>Cyprinus carpio ssp. communis</i>	1659,42	ECOTOX database
<i>Danio rerio</i>	0,493	ECOTOX database
<i>Gibelion catla</i>	4,84	ECOTOX database
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	1620	ECOTOX database
<i>Heteropneustes fossilis</i>	2,3	ECOTOX database
<i>Labeo rohita</i>	1000	ECOTOX database
<i>Lepomis macrochirus</i>	0,905	ECOTOX database
<i>Macropodus cupanus</i>	51	ECOTOX database
<i>Melanotaenia duboulayi</i>	0,1986	ECOTOX database
<i>Oreochromis mossambicus</i>	0,8	ECOTOX database
<i>Oreochromis niloticus</i>	5,68	ECOTOX database
<i>Puntius sophore</i>	14,205	ECOTOX database

<b>IMIDACLOPRIDO</b>		
<b>Espécie</b>	<b>CL<sub>50</sub> (µg/L)</b>	<b>Fonte</b>
<i>Cyprinodon variegatus</i>	163000	ECOTOX database
<i>Lepomis macrochirus</i>	105000	ECOTOX database
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	156050	ECOTOX database

---

**GLIFOSATO**

---

<b>Espécie</b>	<b>CL<sub>50</sub> (µg/L)</b>	<b>Fonte</b>
<i>Carassius auratus</i>	6700310	ECOTOX database
<i>Channa punctata</i>	37330	ECOTOX database
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	100000	ECOTOX database
<i>Cyprinodon variegatus</i>	280000	ECOTOX database
<i>Cyprinus carpio</i>	645000	ECOTOX database
<i>Gambusia yucatana</i>	17790	ECOTOX database
<i>Ictalurus punctatus</i>	5500	ECOTOX database
<i>Lepomis macrochirus</i>	4500	ECOTOX database
<i>Morone saxatilis</i>	23500	ECOTOX database
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	360290	ECOTOX database
<i>Pimephales promelas</i>	75325	ECOTOX database
<i>Rhamdia quelen</i>	7300	ECOTOX database
<i>Salmo trutta</i>	4950	ECOTOX database

---

---

**DIURON**

---

<b>Espécie</b>	<b>CL<sub>50</sub> (µg/L)</b>	<b>Fonte</b>
<i>Cyprinodon variegatus</i>	3795	ECOTOX database
<i>Lepomis macrochirus</i>	24533	ECOTOX database
<i>Pimephales promelas</i>	14200	ECOTOX database
<i>Psetta máxima</i>	10076	ECOTOX database
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	11309	ECOTOX database
<i>Oreochromis mossambicus</i>	6426	ECOTOX database
<i>Oryzias melastigma</i>	7800	ECOTOX database

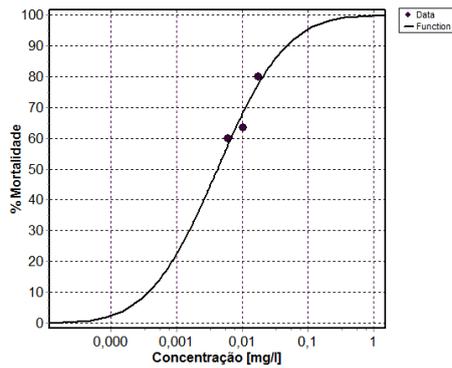
---

## ANEXO II

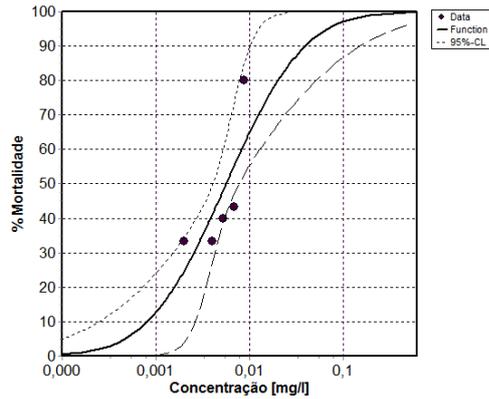
### Curvas Concentração-Resposta para espécies de peixes Amazônicas

#### 1) Curvas concentração-resposta (96h) e limite de confiança ( $\alpha=0.05$ ) para deltametrina:

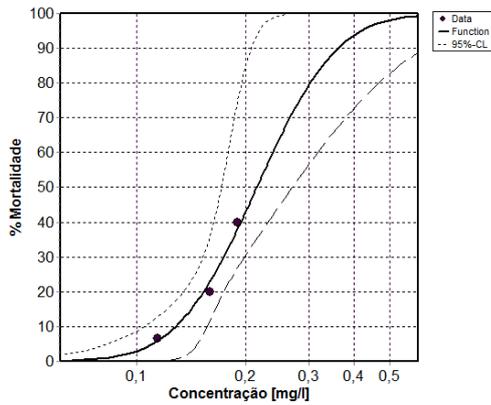
*Carnegiella strigata*



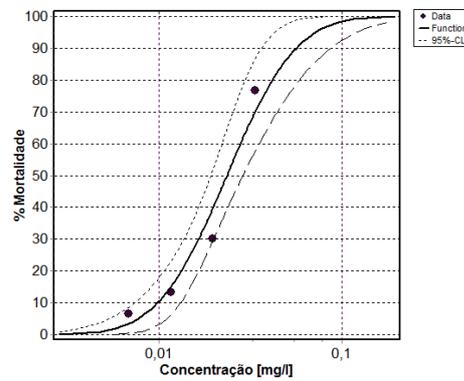
*Colossoma macropomum*



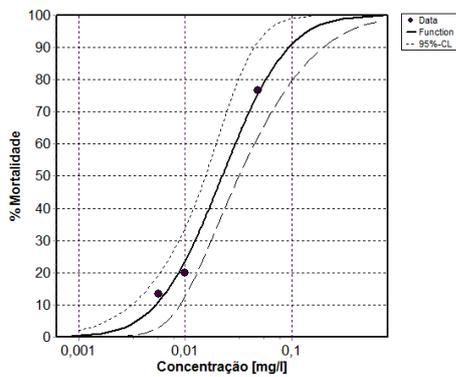
*Corydoras schwartzi*



*Hemigrammus rhodostomus*

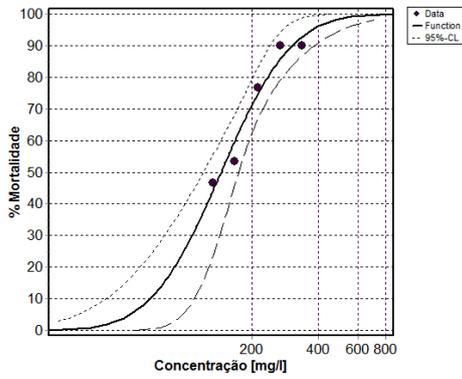


*Paracheirodon axelrodi*

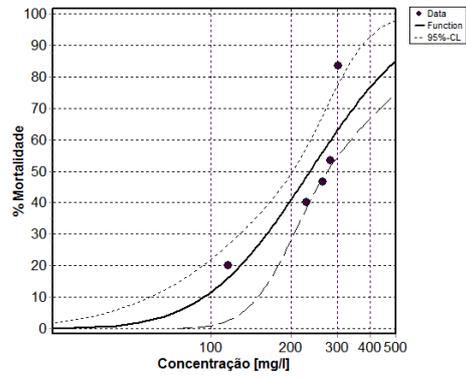


2) Curvas concentração-resposta (96h) e limite de confiança ( $\alpha=0.05$ ) para imidacloprido:

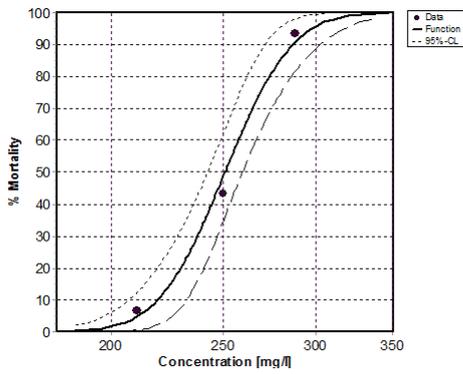
*Carnegiella strigata*



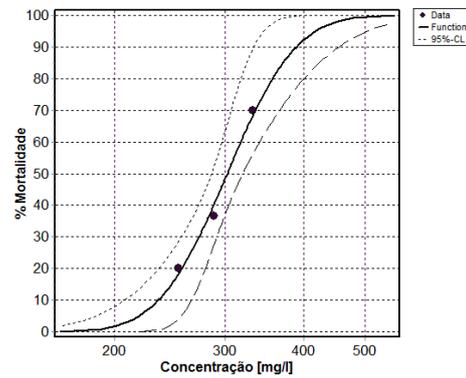
*Colossoma macropomum*



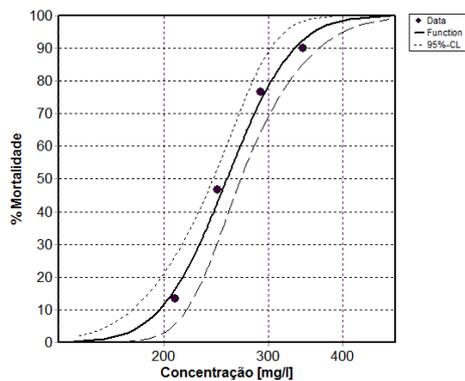
*Corydoras schwartzi*



*Hemigrammus rhodostomus*

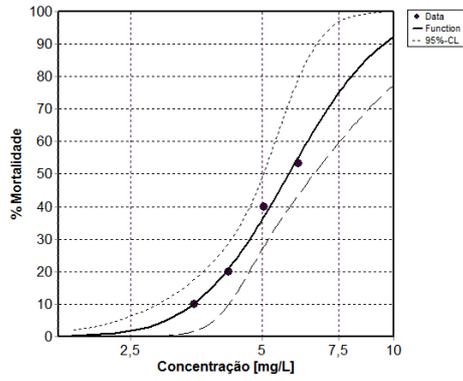


*Paracheirodon axelrodi*

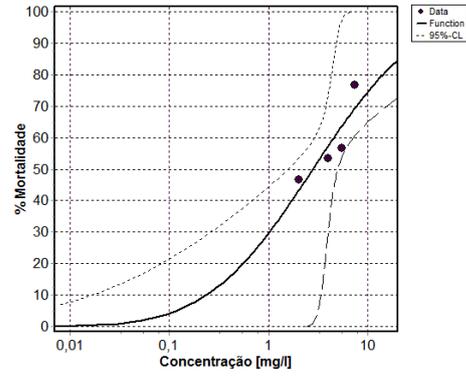


**3) Curvas concentração-resposta (96h) e limite de confiança ( $\alpha=0.05$ ) para glifosato:**

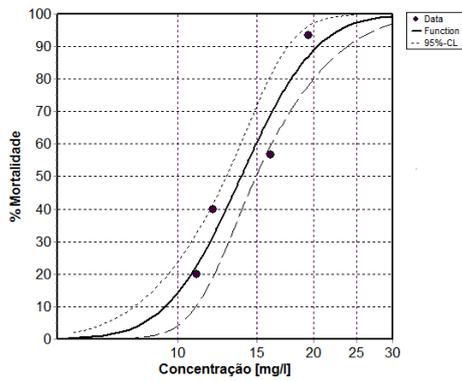
*Carnegiella strigata*



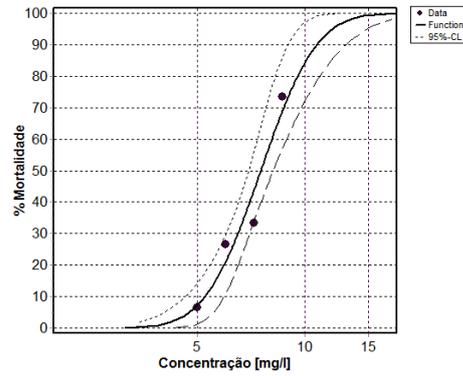
*Colossoma macropomum*



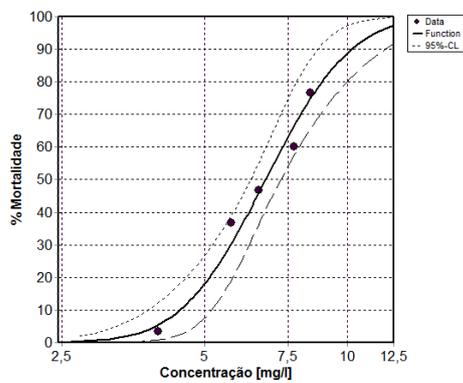
*Corydoras schwartzi*



*Hemigrammus rhodostomus*

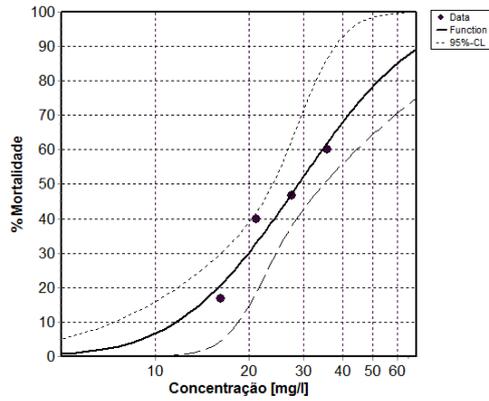


*Paracheirodon axelrodi*

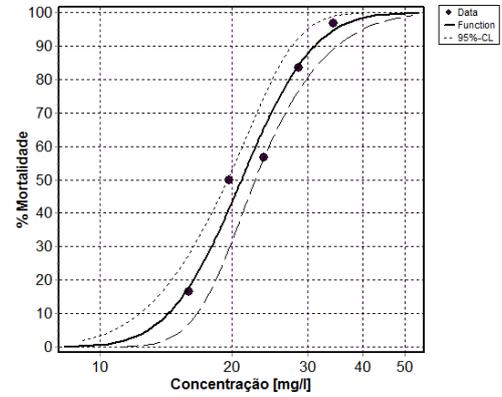


4) Curvas concentração-resposta (96h) e limite de confiança ( $\alpha=0.05$ ) para diuron:

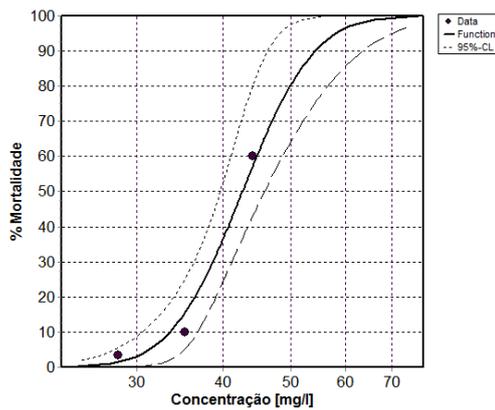
*Carnegiella strigata*



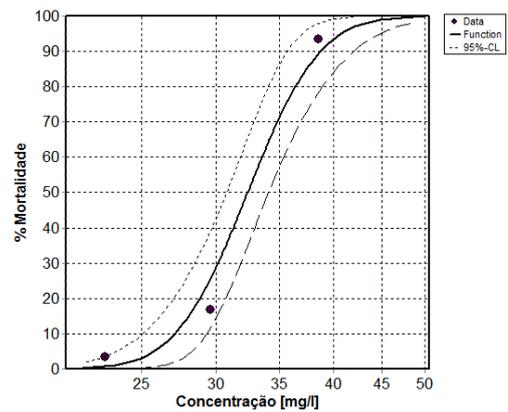
*Colossoma macropomum*



*Corydoras schwartzi*



*Hemigrammus rhodostomus*



*Paracheirodon axelrodi*

