

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
SÃO PAULO
CAMPUS BARRETOS LICENCIATURA
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

CECÍLIA ALVES DE PÁDUA

**ECOTOXICOLOGIA DO INSETICIDA AZAMETIFÓS PARA
BIOINDICADORES AQUÁTICOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BARRETOS

2021

CECÍLIA ALVES DE PÁDUA

**ECOTOXICOLOGIA DO INSETICIDA AZAMETIFÓS PARA BIOINDICADORES
AQUÁTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso ou Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Barretos.

Orientador: Prof. Dr. Marcos de Lucca Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Claudinei da Cruz

BARRETOS

2021

P125e Pádua, Cecília Alves

Ecotoxicologia do inseticida azametifós para bioindicadores aquáticos / Cecília Alvez Pádua. – 2021.

29 f. : il.; 30 cm

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de São Paulo - Campus Barretos, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Marcos de Lucca Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Claudinei da Cruz

1.Organofosforados. 2.Organismos. 3.Toxicidade. 4. Aquicultura.
I.Título.

CDD: 631.4

Dedico este trabalho a Deus, Nossa Senhora de Guadalupe, minha família, meu namorado, minha prima Isabella, meu professor e co-orientador Claudinei, meu orientador Marcão, meus amigos e todos que de alguma forma contribuíram para que ele acontecesse.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por ter me concedido a capacidade necessária para realizar este projeto e a Nossa Senhora por me guiar e me amparar nos meus momentos de desespero.

Agradeço a minha família por todo apoio desde o começo do curso, me auxiliando em todos os pontos da minha caminhada até aqui.

Agradeço em especial a minha mãe e meu pai por terem me aguentado em dias difíceis e de desespero, e por todo o suporte e cuidado.

Agradeço ao meu namorado por estar sempre ao meu lado, inclusive nas madrugadas que passei escrevendo, me dando força e ajudando no que podia, principalmente nas orações.

Agradeço a Isabella Alves Brunetti, minha prima, madrinha, amiga, irmã, confidente, por todo o apoio, sem ela não teria consigo realizar esse projeto, ela que nunca desistiu de mim.

Agradeço de forma especial, meu orientador (co-orientador) Claudinei da Cruz, por ter me acolhido em seu laboratório LEEA, por ter permitido que eu desenvolvesse esse projeto e o utilizasse como meu TCC, agradeço por todas as conversas, por ter sido como um pai para mim.

Agradeço ao meu orientador Marcos de Lucca (Marcão), por ter aceitado ser meu orientador e por sempre me auxiliar no que precisava, principalmente em meus momentos de desespero com a faculdade e os prazos.

Agradeço a banca, Rodrigo Zieri e Rodrigo Yamakami, por terem aceito meu convite e contribuírem para este trabalho.

Agradeço a todos os amigos que fiz no laboratório LEEA, em especial, a senhorinha Camila, Bella, Pam, Sr. Wilson (Paçoca), Giovanni, por terem me ajudado a realizar os experimentos, por todas as risadas, conversas e a parte que mais gostávamos, comer.

Agradeço também todos os amigos que fiz na faculdade e estiveram comigo, a Bruna, Letícia, Bia, Tico, Amanda, Mônica, Gianinni e Gabriel.

Agradeço a todos os meus professores do IFSP que mesmo com as minhas limitações tiveram paciência em me ensinar.

Agradeço a todos que intercederam por mim que foram muitos, em especial minha amiga Tamara e Maria Eduarda Lemes (Dudinha), vocês me deram muitas forças.

E por fim, agradeço a Rosa e seu marido Fabiano por terem me ajudado muito, por toda paciência e carinho.

“Nada é pequeno se feito com amor”
- Santa Teresinha do Menino Jesus

RESUMO

A mortalidade nas fases de larvicultura, alevinagem e nas fases iniciais de engorda de peixes tem causado perdas econômicas na piscicultura, devido às ocorrências de ecto e endoparasitos. Os compostos organofosforados têm sido utilizados no controle de ectoparasitos na aquicultura mundial e, dentre estes, o azametifós, considerado moderadamente tóxico e inibidor da acetilcolinesterase, é utilizado e registrado em outros países para a aquicultura e tem potencial para ser utilizado na piscicultura brasileira. Com isso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a toxicidade aguda do azametifós para os organismos não alvos e bioindicadores de exposição: *Wolffia brasiliensis*, uma planta aquática não alvo, *Macrobrachium acanthurus*, o camarão pitú-de-água-doce e o peixe *Hyphessobrycon eques*, conhecido como mato-grosso. Dessa forma, para executar os ensaios de toxicidade aguda em sala de bioensaio, os organismos foram submetidos a aclimação, com exceção de *Macrobrachium acanthurus*, por ser de natureza comportamental territorialista. Para a aclimação de *Hyphessobrycon eques*, estes foram colocados em aquários de 70L, sem fluxo contínuo, com manejo diário, realizando troca de água, com aeração contínua em temperatura de $27,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas por 7 dias. *Wolffia brasiliensis* passou por 4 dias de aclimação, temperatura $25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ e com fotoperíodo de 24 horas de luz. Após a aclimação, os ensaios foram realizados em sistema estático (sem alimentação e renovação de água), em triplicatas biológicas, com pesos de $0,60 \pm 0,3$ gramas para *Hyphessobrycon eques* e 0,92 e 2,35 gramas para *Macrobrachium acanthurus*. Os ensaios duraram 48 horas para *H. eques* e *M. acanthurus* e 7 dias para *W. brasiliensis*, ocorrendo avaliação de mortalidade no período de 24 e 48 horas e avaliação de qualidade da água, utilizando os equipamentos para medir pH, condutibilidade elétrica, temperatura e oxigênio dissolvido. Para *W. brasiliensis* realizou-se avaliação de mortalidade nos dias 3, 5 e 7. Para *H. eques* as concentrações de azametifós foram de 0,10; 0,50; 0,80; 1,07; e $3,50 \text{ mg L}^{-1}$ e controle, obteve-se CL_{50} de $1,18 \text{ mg L}^{-1}$ com limite superior de $1,49 \text{ mg L}^{-1}$ e limite inferior de $0,94 \text{ mg L}^{-1}$, sendo classificado como moderadamente tóxico. Para o camarão, as concentrações de azametifós utilizadas foram 0,00; 0,01; 0,05; 0,10; 0,50 e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e CL_{50} $0,07 \text{ mg L}^{-1}$, limite superior $0,11 \text{ mg L}^{-1}$ e inferior $0,04 \text{ mg L}^{-1}$, classificado como muito tóxico. As variáveis de qualidade da água de ambos não apresentaram variações significativas durante a realização do teste. E, por fim, para *W. brasiliensis*, as concentrações foram 0,0; 0,1; 1,07; 3,44; 11,16; 36,5 e $118,0 \text{ mg L}^{-1}$ e obteve-se CL_{50} $7,44 \text{ mg L}^{-1}$ com limite superior $9,18 \text{ mg L}^{-1}$ e inferior $6,03 \text{ mg L}^{-1}$, classificado como moderadamente tóxico. Dessa forma, concluiu-se e que o peixe *H. eques*, *Wolffia brasiliensis* e o camarão *Macrobrachium acanthurus* podem ser utilizados como bioindicadores para o azametifós.

RESUMO

Palavras-chave: Organofosforados. Organismos. Toxicidade. Aquicultura.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

LISTA DE SIGLAS

CL ₅₀	Concentração letal de 50%
LI	Limite inferior
LS	Limite superior

LISTA DE ACRÔNIMOS

USEPA	United States Environmental Protection Agency
-------	---

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)	19
2.1 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA PARA MACRÓFITAS <i>Wolffia brasiliensis</i> ..	19
2.2 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA PARA <i>Macrobrachium acanthurus</i>	20
3.3 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA PARA <i>Hyphessobrycon eques</i>	21
3.4 ANÁLISE DE DADOS	22
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
3.1 Ecotoxicologia	22
4 CONCLUSÃO	25
5 REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

A Ecotoxicologia é definida como a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais e não naturais no meio ambiente. Suas ferramentas de análise são capazes de responder, premeditadamente, à toxicidade de compostos químicos, indicando os potenciais ecotoxicológicos e seus métodos de ação em organismos vivos, a partir da obtenção de curvas concentração-efeito e concentração-resposta, bem como na detecção de ecotoxicidade em ambientes impactados (MAGALHÃES; FILHO, 2008). Essa necessidade surgiu por conta dos impactos negativos causados pela ação antrópica na natureza, possibilitando, dessa forma, uma investigação e monitoramento (SANTANA, 2014). No mundo inteiro, a ampliação fabril, urbana, agrícola e o aumento da população humana ao longo da história, vêm intensificando as pressões de contaminação ambiental, especialmente nos ecossistemas aquáticos (SANTANA, 2014).

Este estudo dos efeitos prejudiciais causados por substâncias químicas no ambiente é acompanhado de uma ciência criada no século XIX, chamada de toxicologia, palavra que está etimologicamente dentro da ecotoxicologia (DA CUNHA et al, 2020). A toxicologia tem o objetivo de estudar a intoxicação em relação à dose e suas consequências, podemos dizer que a diferença entre um veneno e o remédio é a forma de seu uso e dosagem (DA CUNHA et al, 2020).

A Ecotoxicologia é tida como uma ferramenta de monitoramento ambiental que auxilia na descoberta da ação de produtos químicos em organismos presentes no ambiente (MAGALHÃES; FILHO, 2008). Para isso, podem ser realizados testes agudos e crônicos, sendo que os agudos são uma forma de avaliar uma resposta mais rápida e severa dos organismos em relação ao agente tóxico, e o crônico depende dos resultados do teste agudo, porém é um teste mais longo em relação ao período de tempo (MAGALHÃES; FILHO, 2008).

Historicamente, foi relatado o primeiro teste toxicológico com insetos aquáticos no ano de 1816 (MAGALHÃES; FILHO, 2008), e se colocarmos em comparação os recursos de antigamente, há mais de 200 anos, e os de hoje, com todo o avanço da tecnologia, é notório que a ecotoxicologia vem passando por um aprimoramento e refinamento de dados mais confiáveis.

De acordo com Jardim (2004), a primeira etapa para se compreender os efeitos das substâncias tóxicas são os testes de toxicidade aguda, enquanto os testes crônicos fazem parte da segunda etapa e fornecem informações adicionais sobre as concentrações não detectadas nos testes agudos. O teste de toxicidade aguda fornece informações sobre a letalidade relativa de um material, sendo delineado para determinar a concentração suficiente para dizimar 50% dos

organismos-teste (CL₅₀). Essa concentração é estimada pela exposição a uma série de concentrações de uma solução e as respostas dos organismos são observadas.

Para que os testes ecotoxicológicos ocorram, são necessários organismos bioindicadores, os quais são uma base para a realização dos ensaios, sendo que os organismos são representantes de diversos níveis da cadeia alimentar (FLORENCIO et al., 2014). Os organismos-teste devem ser de fácil manejo, tendo uma vasta disponibilidade, cosmopolitas, de fácil e rápida reprodução, e possuir um tamanho suficiente para a amostragem de tecidos (BURGER et al., 2013). Organismos como *Hyphessobrycon eques* (CRUZ, 2008), *Pomacea canaliculata* (FLORÊNCIO et al., 2014), plantas macrófitas como *Azolla caroliniana* (SILVA et al., 2012), por se encaixarem nas especificidades são considerados bioindicadores para a aplicação de agentes químicos em testes de ecotoxicologia.

Os bioindicadores são considerados matrizes biológicas (nível molecular, organismo, população e demais níveis de organização) que através de suas características irão acusar como está a ação do ambiente sobre os mesmos. Os bioindicadores são importantes no processo de avaliação do risco que uma substância pode causar nesta matriz biológica, em seu ambiente natural, ou em laboratórios, quando se realizam bioensaios com produtos químicos, tais como os defensivos químicos, que chegam ou podem chegar até esse ambiente.

Segundo Marques (2019), os bioindicadores possuem relacionamento direto com elementos abióticos, tornando-se altamente sensíveis às perturbações humanas. É importante que os organismos escolhidos para testes ecotoxicológicos sejam de maneira geral de fácil cultivo, manejo e ampla disponibilidade, que estejam presentes em locais onde o agente químico pode chegar, que sejam de baixo custo e fácil aplicação. Um indicador é uma característica do ambiente que, quando medida, quantifica a magnitude do estresse, características do habitat, grau de exposição ao agente estressor, ou ainda, o grau de resposta ecológica à exposição, além disso, os seres bioindicadores estão nos mais variados níveis de organização biológica que fornecem informações complementares, necessárias para a análise de risco ecológico do ecossistema (PRESTES, 2019).

Para Callisto (2004), a utilização dos bioindicadores é extremamente útil, especialmente para a avaliação de impactos ambientais decorrentes de descargas pontuais de efluentes domésticos e industriais. E assim, o monitoramento de estações de amostragem, no local de lançamento e a jusante da fonte poluidora, pode-se identificar as consequências ambientais para a qualidade da água e saúde do ecossistema aquático.

Bioindicadores são espécies, grupos de espécies ou comunidades biológicas

cuja presença, quantidade e distribuição indicam a magnitude de impactos ambientais em um ecossistema aquático e sua bacia de drenagem 2 (Callisto & Gonçalves, 2002). Sua utilização permite a avaliação integrada dos efeitos ecológicos causados por múltiplas fontes de poluição. Além disso, o uso dos bioindicadores é mais eficiente do que as medidas instantâneas de parâmetros físicos e químicos (p.ex. temperatura, pH, oxigênio dissolvido, teores totais e dissolvidos de nutrientes, etc.) que são normalmente medidos no campo e utilizados para avaliar a qualidade das águas. A Agência de Controle Ambiental dos Estados Unidos (U.S. Environmental Protection Agency – USEPA) e a Diretriz da União Europeia (94C 222/06, 10 de agosto de 1994) recomendam a utilização de bioindicadores como complemento às informações sobre a qualidade das águas. (CALLISTO, 2004, p. 2-3)

Além disso, os bioindicadores mais utilizados são aqueles capazes de diferenciar entre fenômenos e estresses de origem antrópica, relacionados a fontes de poluição pontuais ou difusas (CALLISTO, 2004).

A maioria dos trabalhos com bioindicadores em ambientes terrestres são realizados com espécies vegetais, por serem sensíveis às perturbações, as quais provocam algum tipo de reação no organismo (PRESTES 2019). Já as espécies da fauna são mais utilizadas como bioindicadores da qualidade de ecossistemas aquáticos (PRESTES 2019). É importante, para que aumente a representatividade dos grupos ecológicos de avaliação, que o estudo com novos bioindicadores seja realizado, e para isso é necessário uma serie de avaliações sobre sua adaptação a condições laboratoriais, comportamento durante os testes ecotoxicológicos e validação de resposta à substância referência (CRUZ et al., 2008)

O peixe de nome popular mato-grosso (*Hypheosbrycon eques*) é uma espécie endêmica das principais bacias hidrográficas brasileiras, e possui importância ornamental e comercial. Além disso, foi possível seu ajuste nos critérios de organismo-teste, pois é facilmente obtido na natureza, está presente em ambientes que podem ter ligação com agentes tóxicos, reproduz facilmente em condição laboratorial e tem baixa taxa de mortalidade (CRUZ, 2008).

O peixe da espécie *Hypheosbrycon eques* (Figura 1), popularmente chamado de mato-grosso, pertence a ordem dos Characiformes, é um vertebrado e um dos principais grupos de peixes neotropicais de água doce (GOULART, 2012). Esta ordem é composta por 18 famílias, tem aproximadamente 270 gêneros e 1.674 espécies descritas (GOULART. 2012), em sua maior parte possuem cores chamativas, característica que os torna peixes ornamentais (NELSON, 2006). Estes se caracterizam por possuir nadadeira adiposa usualmente presente,

corpo na maioria das vezes coberto de escamas, nadadeira pélvica presente, nadadeira anal que pode ser de curta a moderadamente longa, linha lateral usualmente curvilínea e, algumas vezes, incompleta, mandíbula superior não protraída, dentes bem desenvolvidos e dentes faríngeos frequentemente presentes (NELSON, 2006).

Figura 1. Peixe Mato Grosso, espécie *Hyphessobrycon eques*.



Fonte: Foto retirada da internet

Possui, ainda, um comportamento gregário, ficando os indivíduos perto da superfície, entre as hastes de plantas, encontrada muitas vezes em águas estagnadas e forma sempre grandes cardumes. O mato-grosso foi observado como uma espécie estrategista para sua sobrevivência; após uma pesquisa, notou-se que no período reprodutivo há um rápido crescimento populacional (SANTANA; TONDATO; SUAREZ, 2019).

Sua distribuição geográfica abrange as bacias dos rios Amazonas e Paraguai. Sua dieta é muito ampla, podendo se alimentar de algas, plantas, vermes, crustáceos e insetos, e seu modo reprodutivo é ovíparo (HAHN et al, 2004). Sendo sensível às mudanças em seu ambiente natural, o *H. eques* é um potencial bioindicador de mudanças ambientais causadas por contaminantes (CRUZ et al., 2016).

Os camarões do gênero *Macrobrachium* (Figura 2) têm sido muito utilizados como bioindicadores atualmente. Estes respondem muito bem a alterações físico-químicas do ambiente e por isso podem ser considerados como bons organismos para o estudo de toxicidade (GALVÃO, 2018). Também, são fáceis de manejar em condição laboratorial, apresentam ampla distribuição geográfica no mundo e suas populações são numerosas (JALIHAI; SANKOLLI; SHEOY, 2013). Os camarões de água doce possuem um grande valor ecológico, pois participam de vários níveis tróficos, auxiliando na manutenção e equilíbrio de ecossistemas aquáticos, na ciclagem de energia e no fluxo de nutrientes (MACIEL; VALENTI, 2009). E por

habitarem rios e riachos, assim como outros organismos, estão susceptíveis a ação de poluentes (MELO, 2020).

Figura 2. Camarão Pitú de água doce, espécie *Macrobrachium acanthurus*.



Fonte: Foto de autoria própria

O *Macrobrachium acanthurus* é um crustáceo da ordem Decapoda, invertebrado, da família Palaemonidae, descrito por Wiemann no ano de 1836, e seu nome popular é pitú de água doce (VALENTI; MELLO; LOBÃO, 1989). Ele é comumente encontrado em locais costeiros brasileiros, principalmente em duas fases do seu ciclo de vida, a fase larval e como adultos reprodutivos, porém é encontrado em diversos sistemas aquáticos no Brasil (ALBERTONI, 2002).

No Rio de Janeiro, investigou-se que perto do oceano as fêmeas são encontradas em maior quantidade, e os machos são encontrados em maior número na região mais interna e em meio às macrófitas, sugerindo que a fecundação ocorre nesta área. Então, as fêmeas desovam em uma área mais próxima ao oceano (ALBERTONI, 2002). O pitú tem uma alta fecundidade, que cresce em relação ao peso e comprimento do animal, tornando a espécie atrativa e adequada para fins comerciais (VALENTI; MELLO; LOBÃO, 1989).

Segundo Gascaleyva (1991), estudos feitos com *M. acanthurus*, mostraram que sua taxa de consumo de oxigênio varia em relação a temperatura e salinidade da água. Há uma diminuição das taxas respiratórias com o aumento da salinidade, sendo mais acentuadas em temperaturas mais baixas e praticamente ausentes a 35,0°C. Estes dados propõem que o camarão pitú tem a capacidade de osmorregulação, sendo um conformador de oxigênio, com um poder muito limitado de suportar ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio (GASCALEYVA, 1991).

Ainda se tratando de bioindicadores, além de animais, as plantas também são eficazes para mostrar a resposta da ação de agrotóxicos. A macrófita *Wolffia brasiliensis* tem sido avaliada como organismo-teste há pouco tempo (PEREIRA, 2019). Pertencente à família Lemnaceae, a *Wolffia sp.* é presente em regiões tropicais-subtropicais e temperadas das Américas (DAHLGREN, 1985). Mostra ter potencial bioindicador, pois seu manejo é fácil e está presente em muitos rios em que os agrotóxicos podem entrar em contato.

A macrófita, *Wolffia brasiliensis* (Figura 3), é uma monocotiledônea, pertencente à família Lemnaceae, a qual consiste em aproximadamente 11 espécies, incluindo as menores plantas com flores (Angiospermas), conhecidas no mundo (PEREIRA, 2019). Plantas como a *W. brasiliensis* são de difícil identificação morfológica por conta de seu tamanho reduzido, e com isso, os termos utilizados para outras plantas, não se aplicam a elas (PEREIRA; POTT; TEMPONI, 2016). Possuem frondes flutuantes na superfície da água, globosas, ovóides a subcirculares, com distribuição em regiões tropicais-subtropicais e temperadas quentes das Américas (DAHLGREN et al., 1985).

Figura 3. Macrófita da espécie *Wolffia brasiliensis*.



Fonte: Foto de autoria própria

A maior parte dos gêneros de Lamnaceae são apresentados portando um alto potencial de fitorremediação, o que leva sua vasta utilização como um organismo para avaliação de toxicidade em diferentes águas residuais municipais e industriais infectadas por metais. Apresentam uma reprodução e um crescimento acelerados, atenuação microbiana e fitoplactônica e uma grande capacidade de nutrientes e acúmulo de metal. Tais causas estimularam grande número de pesquisas com gêneros de Lamnaceae, focalizando sua capacidade de fitorremediação (ALI et al., 2016)

Dentre os diversos agrotóxicos que são utilizados para o controle de variados organismos,

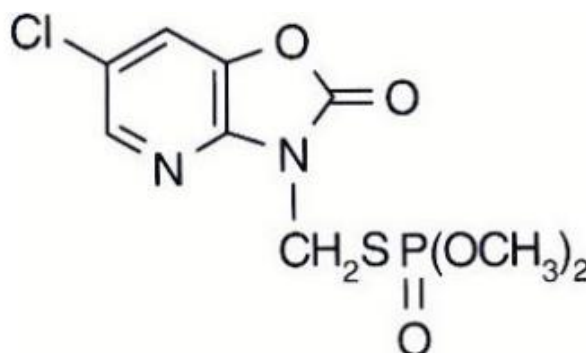
estão os organofosforados (OPs), os quais estão sendo amplamente utilizados como inseticidas, acaricidas e compostos anti-helmínticos por várias décadas (BRUNETTI, 2020). Os OPs são substâncias bioacumulativas e possuem o efeito de inibição da acetilcolinesterase, dessa forma afetando o sistema nervoso (BRUNETTI, 2020). Contudo, o uso irregular de tal composto químico pode resultar negativamente, pois uma quantidade excessiva pode estar em ambientes aquáticos, afetando diferentes organismos (DORES; DE-LAMONICA, 2001). Porém, se empregado de forma correta, pode ser utilizado na piscicultura para o controle de parasitoses.

A piscicultura no Brasil está se desenvolvendo, apresentando uma crescente produtividade, a qual está relacionada à grande demanda do mercado brasileiro (PEDROZA FILHO, *et al* 2020). Porém, algumas perdas econômicas são causadas pela ocorrência de ectoparasitos e endoparasitos, causando a morte dos organismos ou acarretando lesões nos tecidos, resultando na baixa qualidade da carne para o consumo (FONSECA, 2005). Em países como Chile e Noruega o azametifós é utilizado como fármaco para controle de piolhos de salmão (FRANTZEN, 2020). Seu emprego mostrou-se eficaz, intensificando a produção mundial de salmão do Atlântico (BRUNETTI, 2021). Pressupõe-se que esse composto pode ter potencial também para ser utilizado no Brasil.

A expressão dos efeitos de substâncias químicas torna-se visível quando estão presentes em altas concentrações, como as que causam mortalidade dos peixes. Porém, também provocam alterações histológicas e fisiológicas não externalizadas em organismos não alvos, no caso os peixes sobreviventes à intoxicação aguda (IGNÁCIO, 2018). Os agrotóxicos e as demais substâncias químicas, mesmo utilizadas em baixas concentrações no ambiente, afetam os ecossistemas e causam redução da biodiversidade (GRISOLIA, 2005). Os inseticidas, por exemplo, geralmente são aplicados em grande quantidade em áreas extensas, o que resulta em longa permanência no ambiente e causam sérios problemas na qualidade das águas superficiais e subterrâneas (BAIRD, 2002), além de resultar em intoxicação de muitas espécies não-alvo, inclusive os peixes de cativeiro (CARR e CHAMBERS, 1996)

O azametifós é um inseticida organofosforado, de nome químico S-6-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-1,3-oxazolo[4,5-b] pyridin-3-ylmethyl O, O dimethylphosphoro thioate, de acordo com a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Possui a fórmula bruta $C_{19}H_{10}ClN_2O_5PS$ e sua fórmula estrutural na figura a seguir (Figura 4). Segundo a bula, a quantidade recomendada para a utilização do azametifós como inseticida é de 2g por m^2 .

Figura 4. Fórmula estrutural da molécula de azametifós



O inseticida azametifós surgiu na Dinamarca para fins domésticos em 1983, quando se esperava que fosse eficaz devido à falta de resistência cruzada a organofosforados usados anteriormente (WEBB, 1982). Ele é um inseticida hidrossolúvel ($1,1 \text{ g L}^{-1}$) que permanece na fase aquosa no meio ambiente (BURRIDGE, 2013), e se decompõe principalmente por hidrólise em água, com meia-vida de 8,9 dias (SEPA, 2008). O azametifós, como os demais inseticidas desta classe, atua na inibição da atividade da acetilcolinesterase, com morte geralmente atribuída à queda respiratória. Os organofosforados ligam-se irreversivelmente à acetilcolinesterase nas sinapses e a transmissão sináptica de impulsos não é interrompida (TÓRO, 1999).

Baseado nas premissas de boas práticas de manejo, o desenvolvimento e prospecção de novas moléculas é fundamental no processo de tomada de decisão sobre o bom andamento da piscicultura brasileira. O azametifós apresenta histórico favorável à sua caracterização para a piscicultura, pois possui registro específico em outros países, porém é necessária a avaliação em condições e para modelos biológicos brasileiros. Assim, a sua caracterização é de fundamental importância para o conhecimento do seu perfil ecotoxicológico para utilização nos peixes nativos (BRUNETTI, 2021).

Dessa forma, podemos ver que o estudo ecotoxicológico se faz importante no sentido de definir parâmetros de qualidade de vida para organismos não alvos a partir do uso de diversos agentes químicos, que, após um determinado tempo de exposição e dosagem, podem ser nocivos ou não. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda do azametifós para os organismos não alvos e bioindicadores de exposição distintos, sendo eles a planta aquática não alvo *Wolffia brasiliensis*, o camarão pitú-de-água-doce (*Macrobrachium acanthurus*), um invertebrado e o peixe mato grosso (*Hyphessobrycon eques*), um vertebrado, os quais também podem coexistir no mesmo local.

3 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

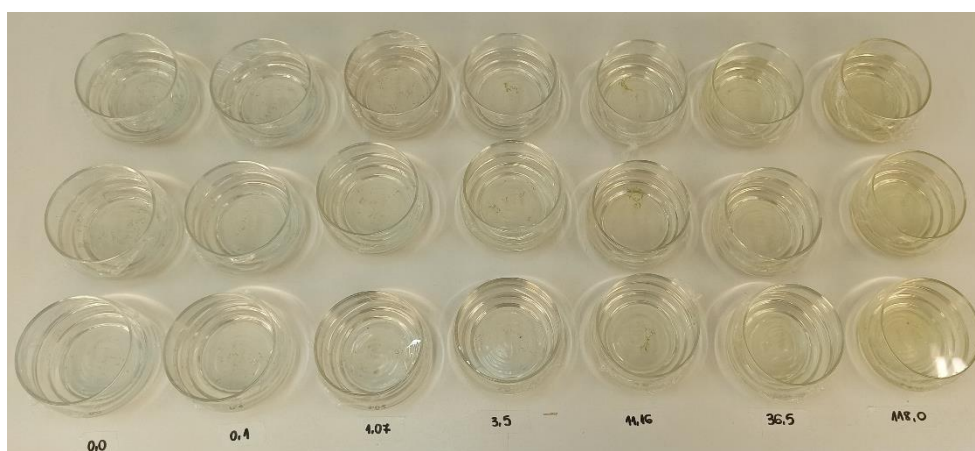
Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Ecotoxicologia e Eficácia de Agrotóxicos (LEEA), do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - SP.

3.1. ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA PARA MACRÓFITA *Wolffia brasiliensis*

A planta *Wolffia brasiliensis* foi cultivada no setor de criação de organismos aquáticos do LEEA, em caixas de 2,5 L contendo substrato orgânico, latossolo, areia (1:1;1; v v⁻¹), com fotoperíodo natural. Após seu crescimento, estas foram transferidas para sala de bioensaio com temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, com fotoperíodo de 24 horas de luz, por quatro dias (OECD, 2002). Para avaliação da sanidade do lote da planta, foi realizado um ensaio de toxicidade aguda (CL₅₀; 7d, ou seja, Concentração letal que causa mortalidade de 50% dos organismos, em 7 dias de teste) com a substância referência cloreto de sódio (NaCl) com as concentrações: 0,09; 0,80; 1,40; 2,45; 4,20 e 7,50 g L⁻¹ e o controle, com três réplicas, com duração de 7 dias (Figura 5).

Nos ensaios definitivos para a macrófita foram utilizadas as seguintes concentrações: 0,10; 1,07; 3,44; 11,16; 36,40; e 118,0 mg L⁻¹ e um controle, com três réplicas cada. A avaliação visual da mortalidade das plantas foi realizada no 3º, 5º e 7º dia e foram observadas a coloração e dado as notas em porcentagem, dividindo o recipiente em 4 partes (quadrantes), definindo se a planta apresentava clorose (perda de clorofila, a planta fica mais amarronzada) e necrose (morte das plantas, as quais ficam mais brancas, até ficarem transparentes) de acordo com a OECD (2002) e SILVA et al., (2012).

Figura 5. Ensaio definitivo do azametifós para a *Wolffia brasiliensis*.



Fonte: Foto de autoria própria

3.2. ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA PARA *Macrobrachium acanthurus*

Os exemplares de *Macrobrachium acanthurus* foram coletados em uma unidade rural próxima ao rio (Figura 6), a qual cultiva os organismos em tanques-rede. Os ensaios de toxicidade aguda para esta espécie foram realizados de acordo com os procedimentos da ABNT NBR 15088: 2016 para peixes, adaptada para os ensaios com o camarão garantindo a padronização dos resultados (ABNT, 2016). Os camarões foram criados em caixas com aeração, fluxo de água contínuo e alimentados com ração extrusada úmida (Figura 7).

Figura 6. Local onde os camarões foram coletados.



Fonte: Foto de autoria própria

Figura 7. Caixas de cultivo dos camarões, com aeração e fluxo contínuo.



Fonte: Foto de autoria própria

Foram utilizados camarões com peso entre 0,92 e 2,35 g. Não ocorreu aclimatação antes dos bioensaios, devido à natureza comportamental territorialista do *M. acanthurus*. A sanidade e sensibilidade do lote de organismos foram avaliadas por meio de ensaio com cloreto de potássio como substância de referência, utilizando as seguintes concentrações 0,00; 0,01; 0,10; 0,25; 0,50; 0,90 e 1,50 mg L⁻¹.

Após os ensaios com a substância de referência, os camarões foram submetidos à um ensaio preliminar estático em triplicata com azametifós, para determinar o intervalo de concentração que causa 0 e 100% de imobilidade/mortalidade no período de 48 horas. Após a determinação dos intervalos de concentração nos ensaios preliminares, foram realizados os ensaios definitivos.

Utilizou-se seis réplicas para cada concentração testada, com um camarão por réplica, em sistema estático com duração de 48 horas, sem alimentação dos animais durante o período de exposição. Os camarões foram submetidos ao ensaio definitivo nas concentrações de 0,01; 0,05; 0,1; 0,50; 1,0 mg L⁻¹ de azametifós. Os parâmetros de qualidade de água: pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade elétrica, foram mensurados em 0, 24 e 48 horas após exposição ao inseticida, com auxílio medidores específicos de cada, de acordo com as normas estabelecidas pela ABNT NBR 15088: 2016 (ABNT, 2016).

3.3. ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA PARA *Hyphessobrycon eques*

Os exemplares de mato-grosso (*Hyphessobrycon eques*), com peso entre 0,30 e 0,60 gramas, foram aclimatados em sala de bioensaio em aquários de 100 L com sistema de aeração contínuo promovido por bombas de ar, com temperatura a 25,0 ± 2,0 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz, e alimentados à vontade, uma vez ao dia, com ração comercial (28 a 32% de proteína bruta), por sete dias (ABNT, 2016). A concentração letal 50% e a comparação da sensibilidade dos lotes foram aferidos com os dados estabelecidos do laboratório, proposto por CRUZ et al. (2008).

Para avaliação da sanidade do lote de peixes, foi realizado um ensaio de toxicidade aguda (CL50;7d) com a substância referência cloreto de potássio (KCl) com as concentrações: 0,01; 0,10; 0,56; 1,00; 1,56 e 2,44 g L⁻¹ e o controle, com três réplicas, cada uma com três animais, com duração de 48 horas.

Nos ensaios definitivos para peixes foram utilizadas as seguintes concentrações: 0,10; 0,50; 0,80; 1,07 e 3,5 g L⁻¹ e um controle, com três réplicas cada. A avaliação da mortalidade foi realizada nos tempos de 24 e 48 horas e foram mensurados os parâmetros para qualidade de

água, sendo pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutibilidade, utilizando sonda multiparâmetros (MURTY, 1988).

3.4. ANÁLISE DE DADOS

Os dados de toxicidade aguda de *Wolffia brasiliensis*, *Hyphessobrycon eques* e *Macrobrachium acanthurus* foram sujeitos à regressão linear e à estimativa da concentração letal 50% pelo método de Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977), um software feito para testes de toxicologia, e classificação da ecotoxicidade de acordo com o proposto por USEPA, 2017 (Figura 2).

Figura 8. Categorias para classificação ecotoxicológica dos valores de concentração letal 50% (CI/CL/CE₅₀) para organismos não-alvos.

CL 50% (mg L ⁻¹)	CATEGORIAS
< 0,1	Extremamente tóxico
0,1 – 1,0	Muito tóxico
1,0 – 10,0	Moderadamente tóxico
10,0 – 100,0	Pouco tóxico
> 100,0	Praticamente não-tóxico

Fonte: USEPA (2017)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

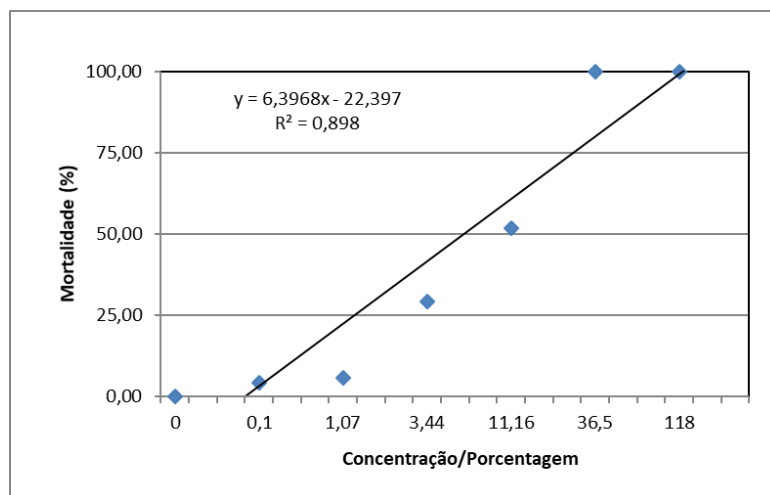
4.1 Ecotoxicologia

Os testes ecotoxicológicos realizados apresentaram resultados próximos entre os três organismos, porém o camarão apresentou uma maior sensibilidade ao azametifós.

Para *W. brasiliensis*, obteve-se 51% de mortalidade na concentração 11,16 mg L⁻¹ e 100% nas concentrações 36,5 e 118,0 mg L⁻¹. O resultado, no ensaio de toxicidade aguda foi para a concentração letal 50% (CL₅₀), 7,44 mg L⁻¹ (Tabela 1), sendo classificado como moderadamente tóxico. A equação linear que representa a concentração-mortalidade foi de $y = 7,46x - 14,94$ com coeficiente de determinação de $R^2 = 0,92$ (Gráfico 1). Em um estudo semelhante de Marques (2019), foi utilizado um inseticida, também organofosforado chamado clorpirifós, o qual assim como o azametifós, também é um inibidor da acetilcolinesterase. Nesta pesquisa, em que o experimento foi conduzido com o mesmo organismo, *Wolffia brasiliensis*, obteve-se a CL₅₀ de e 1271,63 mg. L⁻¹ classificado como praticamente não tóxico de acordo

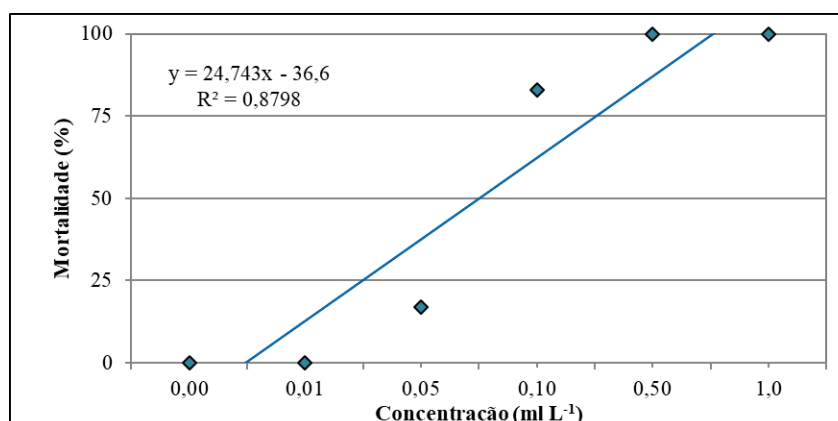
com a classificação da USEPA (2017).

Gráfico 1. Gráfico da *Wolffia brasiliensis* da concentração pela mortalidade, equação linear e coeficiente de determinação



O camarão de água doce, *M. acanthurus*, apresentou CL_{50} de $0,07 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabela 1), considerado muito tóxico. Na concentração $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ obteve-se 17% de mortalidade, na concentração $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ 83% de mortalidade e 100% nas concentrações de $0,50$ e $1,00 \text{ mg L}^{-1}$. A equação linear que representa a relação concentração-mortalidade é $y = 28,3x - 24,9$ com coeficiente de determinação de $R^2 = 0,87$ (Gráfico 2). Em comparação com o trabalho utilizando clorpirifós de Marques, a CL_{50} foi de $0,0020 \text{ mg L}^{-1}$, sendo classificado como extremamente tóxico. Pode se dizer que o camarão pitú de água doce apresenta uma grande sensibilidade ao inseticida organofosforado.

Gráfico 2. Gráfico do *M. acanthurus* da concentração pela mortalidade, equação linear e coeficiente de determinação



Para o peixe, *H. eques*, a CL_{50} foi de $1,18 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabela 1), não ocorrendo em mortalidade dos organismos nas concentrações $0,10$; $0,50$ e $0,80 \text{ mg L}^{-1}$, já na concentração de $1,07 \text{ mg L}^{-1}$ apresentou 67% de mortes dos organismos e na concentração $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ obteve-se 100% de mortalidade. A equação linear da relação concentração-mortalidade foi $y = 26,7x - 46,7$ com coeficiente de determinação de $R^2 = 0,8$ (Gráfico 3). No experimento de Marques, houve uma maior sensibilidade do peixe mato grosso em relação ao clorpirifós do que em relação ao azametifós. Para o clorpirifós obteve-se CL_{50} igual a $0,07 \text{ mg L}^{-1}$, sendo classificado pela USEPA como extremamente tóxico.

Gráfico 3. Gráfico do *H. eques* da concentração pela mortalidade, equação linear e coeficiente de determinação

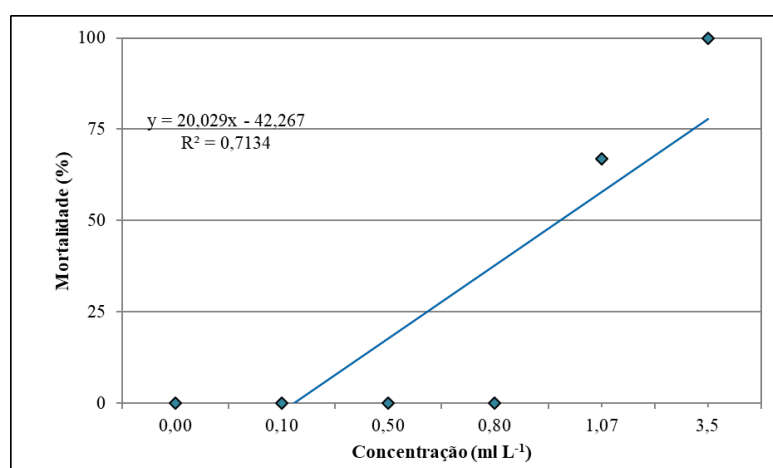


Tabela 1. Toxicidade aguda e classificação ecotoxicológica do azametifós para os organismos teste.

Organismos	L. inferior (mg L ⁻¹)	CL50 (mg L ⁻¹)	L. superior (mg L ⁻¹)	Classificação USEPA
<i>W. brasiliensis</i>	6,03	7,44	9,18	Moderadamente tóxico
<i>H. eques</i>	0,94	1,18	1,49	Moderadamente tóxico
<i>M. acanthurus</i>	0,04	0,07	0,11	Muito tóxico

No decorrer do ensaio de toxicidade aguda para os camarões, foram realizadas análises de qualidade de água, sendo as variáveis de temperatura, condutividade elétrica, pH e oxigênio dissolvido, nos tempos de 0h, 24h e 48h em todos os exemplares, incluindo o controle (Tabela 2). Os resultados obtidos se mantiveram dentro do recomendado pela norma de ecotoxicologia para peixes e adaptada para camarão neste estudo, da ABNT (2016).

Tabela 2. Média e desvio padrão geral das concentrações das análises de qualidade do ensaio de toxicidade aguda para *M. acanthurus*, exposto ao azametifós.

<i>Macrobrachium acanthurus</i>				
Tempos (horas)	Temperatura (°C)	Condutividade Elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	pH	Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})
0h	25,3±0,02	166,0±0,2	7,74±0,02	5,83±0,03
24h	25,5±0,01	168,1±0,3	7,61±0,06	4,90±0,1
48h	26,0±0,2	169,0±0,4	7,49±0,2	4,52±0,2

As avaliações de mortalidade de *H. eques* foram realizadas nos tempos de 24 e 48 horas (MURTY, 1988) e foram realizadas análises das variáveis de qualidade de água (temperatura, condutividade elétrica, pH e oxigênio dissolvido), que se mantiveram dentro do recomendado pela ABNT (2016), norma de ecotoxicologia para peixes, em todas as contrações e no controle, nos tempos 0h, 24h e 48h (Tabela 3).

Tabela 3. Média e desvio padrão geral das concentrações das análises de qualidade do ensaio de toxicidade aguda para *H. eques* exposto ao azametifós.

<i>Hyphessobrycon eques</i>				
Tempos (horas)	Temperatura (°C)	Condutividade Elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	pH	Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})
0h	21,70±0,2	98,21±1,4	8,85±0,02	3,33±0,9
24h	19,2±0,5	94,62±1,7	8,81±0,01	3,36±0,4
48h	20,01±0,3	97,7±0,9	8,83±0,02	3,27±0,6

5 CONCLUSÃO

O conhecimento das relações entre os seres vivos e o ambiente é de suma importância, considerando-se que na atualidade os ecossistemas, em sua maioria, recebem acentuadas interferências das atividades humanas em seus processos. Avaliar o efeito da influência de um inseticida organofosforado sobre as espécies *Wolffia brasiliensis*, *Hyphessobrycon eques* e *Macrobrachium acanthurus* vem a elucidar uma parte deste conhecimento.

No presente estudo, a realização dos testes de ecotoxicologia demonstraram que a toxicidade do azametifós para os bioindicadores, apresenta efeito muito tóxico para o *M. acanthurus* e moderadamente tóxico para *W. brasiliensis* e *H. eques*. Para as variáveis de qualidade, os resultados não apresentaram valores significativos de alteração.

O azametifós é um inseticida organofosforado de larga utilização no controle de pragas, inclusive na piscicultura como fármaco. Os bioensaios ecotoxicológicos têm relevância crucial no estabelecimento de padrões de fundamental importância para a proteção de espécies (e do

ecossistema) e para o contexto da análise ambiental frente a substâncias presentes no ambiente aquático, por exemplo.

Há a hipótese que o azametifós possa ser utilizado como um fármaco para peixes brasileiros, porém, apenas com este trabalho não podemos concluir esse argumento. Contudo, as espécies *Wolffia brasiliensis*, *Hyphessobrycon eques* e *Macrobrachium acanthurus* mostraram-se sensíveis aos efeitos do azametifós, sendo importantes bioindicadores nos estudos ambientais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15088:2016. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda**. São Paulo, terceira edição, 25p., 2016.

ALBERTONI, E.C. **Distribution and growth in adults of *Macrobrachium acanthurus* Wiegmann (Decapoda, Palaemonidae) in a tropical coastal lagoon**. Brazil. Rev. Bras. Zool., 19(2): 61-70. 2002.

ALI, Z.; WAHEED, H.; KAZI, A. G.; HAYAT, A.; AHMAD, M. **Duckweed: An Efficient Hyperaccumulator of Heavy Metals in Water Bodies**. In: AHMAD; P. (org.). *Plant metal interaction - emerging remediation techniques*. Índia: Elsevier, 2016. p. 411- 429.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2 ed. Bookman, Porto Alegre, 2002, 622 p.

BRUNETTI, I. A. **Avaliação da segurança ambiental e eficácia biológica de ectoparasiticida em tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Dissertação de mestrado em aquicultura. Unesp/ Caunesp. Jaboticabal, 2020.

BURGER, J.; GOCHFELD, M.; POWERS, C.W.; CLARKE, J.H.; BROWN, K.; KOSSON, D.; NILES, L.; DEY, A.; JEITNER, C.; PITTFIELD, T. **Determining Environmental Impacts for Sensitive Species: Using Iconic Species as Bioindicators for Management and Policy**. *Journal of Environmental Protection*,4:87-95, 2013.

BURRIDGE, L. **A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat Atlantic salmon against infestations of sea lice in southwest**. New Brunswick, Canada. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 25 pp. 2013.

CALLISTO, M.; GONÇALVES, Jr., J. F.; MORENO, P. **Invertebrados aquáticos como bioindicadores**. In: *Navegando o Rio das Velhas das Minas aos Gerais*. Belo Horizonte: UFMG, 2004. v. 1, p. 1-12.

CARR, R. L.; CHAMBERS, J. E. **Kinetic analysis of the in vitro inhibition, aging, and reactivation of brain acetylcholinesterase from rat and channel catfish by paraoxon and chlorpyrifos-oxon**. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* v. 139(2), p. 365-373, 1996

CRUZ, C.; CUBO, P.; GOMES, G.R.; VENTURINI, F.P.; GUILHERME, P.E.; PITELLI, R.A. **Sensibilidade de peixes neotropicais ao dicromato de potássio**. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*,3: 53-55, 2008.

CRUZ, C., SILVA, A. F., SHIOGIRI, N. S., GARLICH, N., PITELLIIMAZAPYR, R. A. **Herbicide efficacy on floating macrophyte control and ecotoxicology for non-target organisms**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Viçosa, v. 131, n. 1, p. 135- 142, 2016.

CRUZ, C. et al. **Eficácia do paration metílico e do extrato aquoso de folhas secas de Nim no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (monogenoidea) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. B. Inst. Pesca, São Paulo, v. 34, n.1, p. 61 - 69, 2008.

DA CUNHA, D. P. R., BARBOSA, D. M., HENRIQUE, R.; SILVA, L. K. De O.; OLIVEIRA, R. C. de; LUZ, J. M. Q.; OLIVEIRA JUNIOR, R. J. De; ARRUDA, A. S. **Uso de bioindicadores na avaliação da qualidade da água do município de Ipameri-Goiás**. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 12, p. 100812-100825, 2020.

DAHLGREN, R.T.M.; CLIFFORD, H.T.; YEO, P.F. **The families of monocotyledons: structure, evolution, and taxonomy**. Berlin: Springer Verlag, 1985. 520p

DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. **Contaminação do ambiente aquático por pesticidas**. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em primavera do Leste, Mato Grosso – análise preliminar. Quim. Nova, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.

FLORENCIO, T. CARRASCHI, S.P. CRUZ, C. SILVA, A.F. MARQUES, A.M. PITELLI. R.A. **Bioindicadores neotropicais de ecotoxicidade e risco ambiental de fármacos de interesse para a aquicultura**. Bol. Inst. Pesca. v.40. n.4. p. 569-576. 2014.

FRANTZEN, M.; BYTINGSVIK, J.; TASSARA, L.; REINARDY, H.; REFSETH, G.H.; WATTS, E.J; EVENSET, A. **Effects of the sea lice bath treatment pharmaceuticals hydrogen peroxide, azamethiphos and deltamethrin on egg-carrying shrimp (*Pandalus borealis*)**. Marine Environmental Research, v. 159, p. 105007, 2020.

FONSECA, M. G.; ILÁRIO, R. J.; DA SILVA, R. J. **Pesquisa de ecto e endoparasitos em peixes de tanques artificiais do município de Bebedouro**. Unifafibe, São Paulo, 2005.

GALVÃO, R. C. F. **Freshwater shrimps (*Macrobrachium depressimanum* and *Macrobrachium jelskii*) as biomonitors of Hg availability in the Madeira River Basin, Western Amazon**. Environmental Monitoring and Assessment, v. 190, n. 77, p. 1–8, 2018.

GASCA-LEYVA, J. F. E.; MARTINEZ-PALACIOS, C. A.; ROSS, L. G. **The respiratory requirements of *Macrobrachium acanthurus* (Weigman) at different temperatures and salinities**. Aquaculture, Amsterdam, v. 93, n. 2, p. 191-197, 199.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. Brasília: UNB, 2005

GOULART, A. M. A. **Efeitos toxicológicos do Dimilin® em machos adultos de *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882) (Teleostei: Characidae)**. Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2012.

HAHN, N.S.; FUGI, R.; ANDRIAN, I.F. **Trophic ecology of the fish assemblages**. In: THOMAZ, S.M.; AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. (Eds.). The Upper Paraná River and its floodplain: physical aspects, ecology and conservation. Leiden: Backhuys Publishers, p. 247-269, 2004.

IGNÁCIO, N. F. **Recuperação de alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) sobreviventes à intoxicação aguda por fipronil**. Tese de doutorado, FCAV, 2018.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água do sedimento do Rio Corumbataí, SP**. 2004. 119 p. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004

JALIHAL, D. R.; SANKOLLI, K. N.; SHEOY, S. **Evolution of larval developmental patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868** (Decapoda,

Palaemonidae). Proceedings of the First European Crustacean Conference, 1992, v. 65, n. 3, p. 365–376, 2013.

MACIEL, C. R.; VALENTI, W. C. **Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review**. Nauplius, v. 17, n. 2, p. 61–79, 2009.

MAGALHÃES, D. P.; FILHO, A. S. F. **A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos**. Oecologia Brasiliensis, v. 12, n. 3, p. 355- 381, 2008.

MELO, M. S. **Toxicidade do herbicida à base de glifosato (Roundup WG) no hepatopâncreas e sistema endócrino do camarão de água doce *Macrobrachium potiana***. Universidade Federal de Santa Catarina, campus Florianópolis, 2020.

MOREIRA, L. **Análise ecotoxicológica em viveiro de carcinicultura de água doce, utilizando o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* como organismo teste**. Boletim do Instituto de Pesca, [S.l.], v. 36, n. 1, p. 25 - 38, nov. 2018. ISSN 1678 2305. Disponível em: <<https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/899>>. Acesso em: 29 dez. 2020.

MURTY, A.S. **Toxicology of pesticide to fish**. Boca Raton, Editora: CRC Press., v.1, p, 129, 1988.

OECD, ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines for the testing of chemicals, Lemna sp. Growth inhibition test**. Paris-França: 22p. 2002.

PEDROZA FILHO, M. X.; FLORES, R. M. V.; ROCHA, H. S.; SILVA, H. J. T.; SONODA, D. Y.; CARVALHO, V. B.; OLIVEIRA, L.; RODRIGUES, F. L. M. **O mercado de peixes da piscicultura no Brasil: estudo do segmento de supermercados**. Embrapa Pesca e Aquicultura-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (*INFOTECA-E*), 2020.

PEREIRA, P. C., BRUNETTI, I. A., CASTRO, K. S., CHIAROTTI, L. F., SANTOS, B. E., MORAES, J. C., CRUZ, C. **Acute Toxicity of Herbicides and Sensibility of Aquatic Plant *Wolffia brasiliensis* as a Bioindicator Organism**. Planta Daninha, v. 37, 2019.

PEREIRA, S. F.; POTT, V. J.; TEMPONI, L. G. **Lemnoideae (Araceae) no estado do Paraná, Brasil**. Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 67, n. 3, p. 839-848, 2016.

PRESTES, R.M. & VINCENCI, K.L. **Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental**. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, 2019. 2(4): 1473-1493. DOI: 10.34188/bjaerv3n3-051

TÓRO, R.M. **Investigação dos princípios ativos de *Pinus* sp. Responsáveis pela atividade contra *Lernaea cyprinacea* em peixes**. Pg 14. 94pg. Dissertação. UFSCar. CCBS. PPGERN, 1999.

SANTANA, L. M. B. M. **Avaliação de risco ecotoxicológico de três estuários do litoral do Ceará, Nordeste do Brasil**. 2014. 160f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, 2014.

Scottish Environmental Protection Agency (SEPA). See attachments G in: Fish farm manual. 2008.

SILVA, A.F. CRUZ, C. NETO, A.N. PITELLI, R.A. **Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*)**. Planta Daninha, v.30, n.3, p.541-546, 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – US EPA. 2017. Technical Overview of ecological risk. Assessment – Analysis Phase: Ecological Effects characterization. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/technical-overview-ecological-risk-assessment-0>. Acesso em: 02/01/2021

VALENTI W.C.; MELO J.T.C.; LOBÃO V.A. **Fecundidade em *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) do Rio Ribeira de Iguape (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae)**. Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba, v. 6, n. 1, p. 9-15, 1989.

Webb, D. P. **Evaluation of azamethiphos for the control of multi-insecticide resistant strains of housefly (*Musca domestica*) in deep-pit poultry houses in the UK**. Int. Pest Control, 1982.
