

**UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA – UNIARA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO - MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO  
TERRITORIAL E MEIO AMBIENTE**

Carlos Eduardo Mateus Caires

**Análises Físico-Químicas, Ecotoxicológicas e Risco Ambiental de Ambientes  
Aquáticos em Assentamentos**

ARARAQUARA – SP

2018

Carlos Eduardo Mateus Caires

**Análises Físico-Químicas, Ecotoxicológicas e Risco Ambiental de Ambientes  
Aquáticos em Assentamentos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente, curso de Mestrado, da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente.

Área de Concentração: Desenvolvimento Territorial e Alternativas de Sustentabilidade.

**Orientadora:** Dra. Maria Lúcia Ribeiro

**Coorientador:** Dr. Guilherme Rossi Gorni

ARARAQUARA – SP

2018

C137a Caires, Carlos Eduardo Mateus

Análises físico-químicas, ecotoxicológicas e risco ambiental de ambientes aquáticos em assentamentos/Carlos Eduardo Mateus Caires. Araraquara: Universidade de Araraquara, 2018.  
76f.

Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente- Universidade de Araraquara-UNIARA

Orientador: Profa. Dra. Maria Lúcia Ribeiro

1. Assentamentos. 2. Qualidade da água. 3. Ecotoxicologia aguda.  
4. Glifosato. I. Título.

CDU 577.4

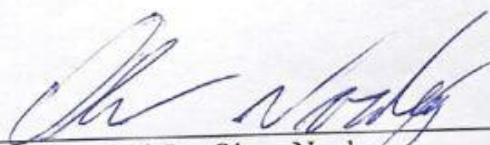
## FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME DO ALUNO: *Carlos Eduardo Mateus Caires*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente, curso de Mestrado, da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente.

Área de Concentração: Desenvolvimento Territorial e Alternativas de Sustentabilidade.

### BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Olavo Nardy  
UNIARA - Araraquara



Prof. Dr. José Maria Gusman Ferraz  
UNIARA - Araraquara



Profa. Dra. Maria Lucia Ribeiro  
UNIARA - Araraquara

Araraquara – SP, 29 de março de 2018.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais Olvarides e Conceição aos quais dedico este trabalho, como fruto do imenso amor que tem por mim e de sua criação e educação, tudo o que tenho hoje é graças ao esforço de vocês por seus filhos para que assim tivessem um futuro digno, meu muito obrigado por tudo o que fizeram.

Agradeço à Professora Maria Lúcia Ribeiro (Bilú) pela grande orientação oferecida ao longo deste trabalho e todos os conselhos que me ajudaram a crescer para a vida acadêmica.

Agradeço ao Professor Guilherme Gorni pela orientação compartilhada neste trabalho, seu conhecimento e companheirismo tornaram possível alcançar os objetivos deste trabalho.

Agradeço à minha namorada Karen, que percorreu comigo este caminho gratificante do mestrado e que sempre me apoia nos momentos de tribulação, me ajudando a enfrentar qualquer obstáculo com suas palavras que sempre me confortam e me motivam a cada em busca de vitórias na nossa vida.

Agradeço também ao meu irmão Alexandre, minhas irmãs Telma, Gislaine e Elaine, os quais contribuíram com apoio e amor durante toda a minha vida.

Agradeço ao Laboratório Keller que gentilmente concedeu os ensaios de Glifosato e AMPA.

Agradeço a todos os amigos do CEAM que sempre estavam dispostos a ajudar e colaborar com a elaboração deste trabalho.

Agradeço também a todos os professores e funcionários da UNIARA, meus familiares e amigos e também a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para que esse trabalho fosse concluído com êxito.

## RESUMO

Os impactos e contaminações ao meio ambiente provenientes da agricultura convencional ocorreram pós “Revolução Verde”, que devido ao uso de agroquímicos, entre eles os agrotóxicos, causam distúrbios ecológicos e por esse motivo são um dos objetos de estudo das ciências ambientais, que com o auxílio de métodos de avaliação ambiental, como análises físico-químicas e a ecotoxicologia, por exemplo, obtém dados que substanciam políticas de preservação do ambiente e a saúde humana. Dentre os agrotóxicos mais utilizados na agricultura convencional o Glifosato se destaca em volume e amplitude de uso, por isso o objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação por Glifosato em matrizes de água superficial de um córrego do Assentamento Bela Vista do Chibarro compartilhado por dois lotes, através da determinação de Glifosato e seu metabólito AMPA (Ácido Aminometilfosfônico) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de UV; avaliação físico-química com os parâmetros pH, oxigênio dissolvido (O.D.), condutividade elétrica e temperatura; determinação da ecotoxicidade aguda com os organismos-teste *Danio rerio*, *Allonais inaequalis*, *Chironomus xanthus* e *Lactuca sativa*; determinação do risco ambiental do Glifosato. Os resultados das análises físico-químicas sugerem impacto no ambiente quando comparados os valores de pH e condutividade; nas determinações de ecotoxicidade aguda, os resultados de índice de mortalidade foram determinados na faixa de 25 a 50% o que classifica a qualidade da água como Medianamente Tóxica (M.T.); a análise de Glifosato e AMPA determinou qualitativamente a presença destes contaminantes no ambiente aquático estudado; com relação às determinações da CL<sub>50</sub> para Roundup e risco ambiental, concluiu-se que o Glifosato, princípio ativo desse formulado, causa intoxicação a organismos aquáticos na faixa de 10 a 100 mg L<sup>-1</sup> e seu risco ambiental foi determinado entre Baixo a Médio Risco (Q), dependendo do nível trófico do organismo-teste utilizado, além de que o emprego destes métodos na avaliação ambiental possibilitou abrir uma discussão sobre a eficiência das metodologias e da necessidade de estudos que complementem os dados obtidos neste trabalho.

Palavras-chave: Assentamentos; Qualidade da água; Ecotoxicologia aguda; Glifosato.

## ASBTRACT

Impacts and contamination of the environment from conventional agriculture occurred after the "Green Revolution", which due to the use of agrochemicals, among them pesticides, causes ecological disturbances and for this reason are one objects of study the environmental sciences, which the support of environmental assessment methods such as physical-chemical analyzes and ecotoxicology, for example, obtain data that support policies for conservation the environment and human health. Among the pesticides most used in conventional agriculture, Glyphosate excels in volume and extent of use, for this the objective of this work was to evaluate the Glyphosate contamination in surface water of a stream from the Bela Vista do Chibarro settlement shared by two lots, through the determination of Glyphosate and its metabolite AMPA (Aminomethylphosphonic Acid) by high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detector; physical-chemical evaluation with parameters pH, dissolved oxygen (O.D.), electrical conductivity and temperature; determination of acute ecotoxicity with the test organisms *Danio rerio*, *Allonais inaequalis*, *Chironomus xanthus* and *Lactuca sativa*; determination of environmental risk assessment of Glyphosate. The results of the physical-chemical analyzes suggest an impact on the environment when comparing pH and conductivity values; in the acute ecotoxicity determinations, the mortality index scores were determined in the range of 25 to 50%, which classifies water quality as Moderately Toxic (M.T.); the analysis of Glyphosate and AMPA qualitatively determined the presence of these contaminants in the aquatic environment studied and with regard to the determinations of the LC<sub>50</sub> for Roundup and environmental risk, it was concluded that Glyphosate, the active ingredient of this formulation causes intoxication to aquatic organisms in the range of 10 to 100 mg L<sup>-1</sup> and its environmental risk assessment was determined between low to medium risk (*Q*), depending on the trophic level of the test organism used, and the use of these methods in the environmental assessment made it possible to open a discussion about the methodology's efficiency and the need for studies that complement the data obtained in this study.

Keywords: Settlements; Water quality; Acute ecotoxicology; Glyphosate.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação toxicológica dos agrotóxicos no Brasil – ANVISA.....	19
Figura 2: Localização do assentamento Bela Vista do Chibarro no município de Araraquara.....	28
Figura 3: Distribuição dos lotes do assentamento Bela Vista do Chibarro, Araraquara-SP, base cartográfica 1:200.....	29
Figura 4: Pontos de coleta localizados no Assentamento Bela Vista do Chibarro.....	33
Figura 5: <i>Danio rerio</i> .....	36
Figura 6: Bioensaio de Ecotoxicidade Aguda com <i>Danio rerio</i> .....	36
Figura 7: Bioensaio de Ecotoxicidade Aguda com <i>Chironomus xanthus</i> .....	37
Figura 8: Bioensaio de Ecotoxicidade aguda com <i>Allonais inaequalis</i> .....	38
Figura 9: Bioensaio de Fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> – Disposição das sementes na placa.....	39
Figura 10: Bioensaios de Fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> – Incubação das amostras.....	39
Figura 11: Índice pluviométrico do ano de 2017 em Araraquara-SP.....	43
Figura 12: Soluções padrão de Glifosato e AMPA.....	47
Figura 13: Amostra de água superficial.....	47
Figura 14: Resultados CL50 Roundup®.....	53



Figura 15: Risco Ambiental $Q$ – <i>Allonais inaequalis</i> .....	55
Figura 16: Risco Ambiental $Q$ – <i>Chironomus xanthus</i> .....	56
Figura 17: Risco Ambiental $Q$ – <i>Danio rerio</i> .....	57
Figura 18: Risco Ambiental $Q$ – <i>Lactuca sativa</i> .....	58
Figura 19: Risco Ambiental $Q$ – <i>Média dos organismos</i> .....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resumo de Registro de Agrotóxicos de 2005 a 2016.....	19
Tabela 2: Propriedades do Glifosato.....	21
Tabela 3: Propriedades do Ácido-aminometilfosfônico (AMPA).....	22
Tabela 4: Limite Máximo de Resíduos (LMR) para Glifosato.....	23
Tabela 5: Classificação dos Bioensaios de Ecotoxicidade.....	25
Tabela 6: Classificação de Risco Ambiental.....	26
Tabela 7: Coordenadas geográficas dos pontos de coleta no Assentamento Bela Vista do Chibarro.....	34
Tabela 8: Classificação de Ecotoxicidade Aguda.....	41
Tabela 9: Classificação do valor de $Q$ .....	43
Tabela 10: Escala de Toxicidade Relativa.....	44
Tabela 11: Parâmetros físico-químicos: 1ª campanha.....	45
Tabela 12: Parâmetros físico-químicos: 2ª campanha.....	45
Tabela 13: Análise de Glifosato e AMPA.....	47
Tabela 14: Resultados Índice de Mortalidade (%) Ecotoxicidade Aguda e Erro Padrão Associado (n=3).....	49
Tabela 15: Toxicidade Relativa: Índice de Mortalidade (%) média entre todos os	

Organismos-Teste (n=4).....52

Tabela 16: Resultados CL50 Glifosato (Roundup®).....53

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
1.1. Agricultura Orgânica em Contraponto a Convencional .....	14
1.2. Agrotóxicos .....	18
1.3. Glifosato .....	21
1.4. Ecotoxicologia e Risco Ambiental .....	24
1.5. Assentamento Rural Bela Vista do Chibarro.....	28
2. OBJETIVOS.....	32
2.1. Objetivo Geral .....	32
2.2. Objetivos Específicos .....	32
3. METODOLOGIA .....	33
3.1. Pontos de amostragem .....	33
3.2. Metodologia de amostragem .....	35
3.3. Determinação de Glifosato e AMPA por HPLC .....	35
3.4. Ensaio de toxicidade aguda com peixes – <i>Danio rerio</i> .....	36
3.5. Ensaio de toxicidade aguda com <i>Chironomus xanthus</i> .....	38
3.6. Ensaio de toxicidade aguda com <i>Allonais inaequalis</i> .....	39
3.7. Bioensaio de Fitotoxicidade Aguda com <i>Lactuca sativa</i> .....	40
3.8. Determinação da CL <sub>50</sub> .....	41
3.9. Determinação do Risco Ambiental.....	42
3.10. Determinação da Toxicidade Relativa .....	43
3.11. Tratamento estatístico dos dados .....	44
4. RESULTADOS .....	45
4.1. Parametros determinados em campo .....	45
4.2. Determinação de Glifosato e AMPA.....	47
4.3. Resultados de Ecotoxicidade Aguda .....	48
4.4. Avaliação da Toxicidade Relativa.....	52
4.5. Determinação da CL <sub>50</sub> Roundup® .....	53
4.6. Avaliação de Risco Ambiental .....	56
5. CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS .....	64
APÊNDICE A - Comandos utilizados no software R para determinação da CL <sub>50</sub> . .....	71
APÊNDICE B - Tabelas dos cálculos de avaliação de risco ambiental (Q).....	73

## 1. INTRODUÇÃO

O homem em suas atividades faz uso dos recursos naturais disponíveis e muitas vezes de forma excessiva. Na agricultura, por exemplo, o uso de produtos químicos nas plantações, tem causado contaminação destes recursos (VEIGA, 2006; CARVALHO, ORSINE, 2011).

A partir da década de 1960 a agricultura viveu um grande avanço em desenvolvimento tecnológico, denominado “Revolução Verde”, que possibilitou o aumento da produtividade no campo. Ao longo dos anos, estes avanços tecnológicos transformaram a agricultura no agronegócio, sendo uma atividade regida por grupos empresariais e consequentemente causou uma diminuição da diversidade dos alimentos disponíveis (SANTOS *et al.*, 2012; FARIAS, 2015).

O modelo atual de agronegócio por sua vez, exige alta produtividade e um consumo intensivo de insumos e recursos naturais. Dentro desse contexto o uso de agrotóxicos tem se mostrado como um dos métodos mais empregados, atuando no combate às “pragas” que podem ser: insetos, fungos, plantas ou qualquer outro agente biológico considerado indesejável ou nocivo às plantações (CALHEIROS, DORES, OLIVEIRA, 2006).

Durante os anos 70 do século passado, os impactos causados pelas técnicas agrícolas avançadas se tornaram conhecidos nos países desenvolvidos, devido à contaminação difusa que ocorre durante o cultivo e manejo de monoculturas em grande escala influenciando na qualidade dos recursos hídricos superficiais e também na taxa de recarga dos aquíferos (LOURENCETTI, 2006). A utilização de agrotóxicos na agricultura espalha esses contaminantes tóxicos no ambiente, poluindo os rios próximos à lavoura e, por sua capacidade de lixiviação no solo contaminam os reservatórios de águas subterrâneas (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Segundo Dores e De-Lamonica-Freire (2001):

“A preocupação com a contaminação de ambientes aquáticos aumenta, principalmente, quando a água é usada para o consumo humano.”

Frente a isso, instituições como a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabelecem níveis de monitoramento para estes compostos, baseados em estudos

toxicológicos, epidemiológicos e ambientais (CASSAL *et al.*, 2014).

No Brasil o estudo e determinação destes valores ficam a cargo de órgãos como o Ministério do Meio Ambiente (MMA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que, por meio avaliações toxicológicas realizadas nos agrotóxicos, fornecem subsídios para a elaboração de legislações com Valores Máximos Permitidos (VMP) ou Limites Máximos de Resíduos (LMR) destes compostos em água, solo e nos alimentos (RIBEIRO *et al.*, 2007; CASSAL *et al.*, 2014).

Considerando estas questões, avaliar os impactos ambientais proveniente do uso de agrotóxicos se mostra um desafio. Para isso, áreas de estudos da ecologia, como a ecotoxicologia, vêm desenvolvendo técnicas laboratoriais e métodos de avaliação que complementem as análises físico-químicas tradicionais (COSTA *et al.*, 2008; HAMADA, 2008).

Neste contexto, este trabalho se propôs a avaliar o impacto em recursos hídricos por agrotóxicos e o risco ambiental associado numa área heterogênea de culturas e manejos (Assentamento de Reforma Agrária).

### **1.1. Agricultura Orgânica em Contraponto a Convencional**

O desenvolvimento tecnológico agrário foi movido pela aplicação de técnicas como, plantio de monoculturas em larga escala, mecanização da mão de obra com implementos agrícolas e um grande número de insumos (fertilizantes e agrotóxicos) que auxiliaram o controle fitossanitário, de pragas, correção e fertilidade do solo, e em conjunto, o refinamento de técnicas genéticas há tempos propostas por Mendel, as quais possibilitaram o surgimento da transgenia e melhoramento genético de sementes. Todo este pacote permitiu um aumento significativo da produção agrícola da época (EHLERS, 1994; SANTOS *et al.*, 2012; FARIAS, 2015).

Em contra partida, com o decorrer destes eventos ao longo dos anos, um êxodo rural, impulsionou a migração das famílias que viviam no campo para os centros urbanos que estavam em crescimento, pós-revolução industrial, possibilitando que a agricultura alcançasse o atual modelo de agronegócio, acarretando diminuição da diversidade de alimentos disponíveis e um aumento de produção agrícola para fins energéticos, como, cana-de-açúcar para produção de etanol e insumos para pecuária,

como, produção de soja e milho para a alimentação de criações de corte (SANTOS *et al.*, 2012; FARIAS, 2015).

Durante a década de 1970 a revolução verde adentrou ao Brasil, que na época se caracterizava pela hegemonia agrícola baseada na cultura do café. Obteve sucesso principalmente nas regiões sul e sudeste do país, tornando o Brasil o maior produtor de café naquele momento. Este modelo de produção latifundiário e monocultor diminuiu no cenário agrícola a produção de alimentos regionais, sempre em menor escala, porém, com grande variedade de alimentos (ALVES, TEDESCO, 2015; EHLERS, 1994; SANTOS *et al.*, 2012).

Entretanto este modelo de agricultura, conhecido atualmente como “convencional”, não supre as necessidades alimentares da população, além de impactar o setor socioeconômico e ambientalmente sustentável. Como forma de mudança, frente estes obstáculos, movimentos de soluções alternativas ganham força (SANTOS *et al.*, 2012; FARIAS, 2015).

Tais movimentos surgiram em meados da década de 1920 e, segundo Ehlers (1994), podem ser agrupados em quatro grandes vertentes:

“Na Europa tem-se a *agricultura biodinâmica* iniciada por Rudolf Steiner em 1924, a *agricultura orgânica*, cujos princípios foram fundamentados entre os anos de 1925 e 1930 pelo pesquisador inglês Sir Albert Howard e disseminados na década de 40, por Jerome Irving Rodale no E.U.A. e a *agricultura biológica*, inspirada nas ideias do suíço Hans Peter Müller e mais tarde difundida na França por Claude Aubert. A outra vertente, a *agricultura natural*, surgiu no Japão a partir de 1935 e baseava-se nas ideias de Mokiti Okada”.

Dentre estas vertentes, a agricultura orgânica tem por princípios a não utilização de insumos potencialmente poluidores, respeito aos ciclos biogeoquímicos e preservação do meio ambiente (água, solo e ar), buscando assim proporcionar com os alimentos uma fonte de vida saudável e sustentável (FARIAS, 2015).

A agricultura orgânica movimentou nos últimos anos, bilhões de dólares no mercado europeu e está em constante crescimento. Em 2015, seu maior produtor e também consumidor na Europa é Alemanha e em nível global, esta posição é ocupada pelos Estados Unidos. Este modelo de agricultura é registrada e praticada em mais de 150 países, chegando ao Brasil na década de 1970 (ALVES, TEDESCO, 2015).

Sua expansão no território brasileiro somente tomou força no início da década de

1990 devido à criação do Instituto de Biodinâmica e Desenvolvimento Rural (IBD), que por meio de pesquisas fomentava o movimento orgânico pelo país. No ano de 2007 a agricultura orgânica foi implantada, por meio do decreto nº 6.323 de 27 de dezembro o qual regulamentava a lei nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003, conhecida como a *lei dos orgânicos*, disciplinou as atividades orgânicas de pecuária, apicultura e agricultura. (BRASIL, 2007; SANTOS *et al.*, 2012).

E, de acordo com o artigo 3º do decreto, foram abordados aspectos de conservação ambiental, saúde humana, amparo social e incentivo à agricultura familiar:

- “I - contribuição da rede de produção orgânica ao desenvolvimento local, social e econômico sustentáveis;
- II - manutenção de esforços contínuos da rede de produção orgânica no cumprimento da legislação ambiental e trabalhista pertinentes na unidade de produção, considerada na sua totalidade;
- III - desenvolvimento de sistemas agropecuários baseados em recursos renováveis e organizados localmente;
- IV - incentivo à integração da rede de produção orgânica e à regionalização da produção e comércio dos produtos, estimulando a relação direta entre o produtor e o consumidor final;
- V - inclusão de práticas sustentáveis em todo o seu processo, desde a escolha do produto a ser cultivado até sua colocação no mercado, incluindo o manejo dos sistemas de produção e dos resíduos gerados;
- VI - preservação da diversidade biológica dos ecossistemas naturais e a recomposição ou incremento da diversidade biológica dos ecossistemas modificados em que se insere o sistema de produção, com especial atenção às espécies ameaçadas de extinção;
- VII - relações de trabalho baseadas no tratamento com justiça, dignidade e equidade, independentemente das formas de contrato de trabalho;
- VIII - consumo responsável, comércio justo e solidário baseados em procedimentos éticos;
- IX - oferta de produtos saudáveis, isentos de contaminantes, oriundos do emprego intencional de produtos e processos que possam gerá-los e que ponham em risco o meio ambiente e a saúde do produtor, do trabalhador ou do consumidor;
- X - uso de boas práticas de manuseio e processamento com o propósito de manter a integridade orgânica e as qualidades vitais do produto em todas as etapas;
- XI - adoção de práticas na unidade de produção que contemplem o uso saudável do solo, da água e do ar, de modo a reduzir ao mínimo todas as formas de contaminação e desperdícios desses elementos;
- XII - utilização de práticas de manejo produtivo que preservem as condições de bem-estar dos animais;
- XIII - incremento dos meios necessários ao desenvolvimento e equilíbrio da atividade biológica do solo;
- XIV - emprego de produtos e processos que mantenham ou incrementem a fertilidade do solo em longo prazo;
- XV - reciclagem de resíduos de origem orgânica, reduzindo ao mínimo o emprego de recursos não-renováveis; e
- XVI - conversão progressiva de toda a unidade de produção para o sistema orgânico.”



Apontado na lei dos orgânicos, no art. 87, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ficou a cargo da criação e implementação de instruções técnicas normativas, como por exemplo, a IN 46 de Outubro de 2011 alterada pela IN 35 de 8 de setembro de 2017. Foram estabelecidos regulamentos técnicos para os sistemas de produção orgânica que auxiliam os produtores desde a etapa de transição do sistema convencional para o orgânico, certificação dos produtos como orgânicos até o incentivo da produção orgânica pela agricultura familiar, amparado pelas Organizações de Controle Social (OCS's) que garantem a confiabilidade da produção e assistência técnica aos pequenos produtores (BRASIL, 2007). Possuem papel importante na expansão da agricultura orgânica, bem como na capacitação técnica dos produtores baseados nas normativas do MAPA.

Uma OCS é definida em lei como:

“Grupo, associação, cooperativa, consórcio com ou sem personalidade jurídica, previamente cadastrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, a que está vinculado o agricultor familiar em venda direta, com processo organizado de geração de credibilidade a partir da interação de pessoas ou organizações, sustentado na participação, comprometimento, transparência e confiança, reconhecido pela sociedade.”

Para desenvolvimento da agricultura orgânica também é necessário o uso de insumos, porém de forma criteriosa, a IN 35 de 2017, por exemplo, normatiza diversos insumos como: biofertilizantes obtidos a partir de excremento animal, resíduos de aquicultura e pesca, argilas, pó de rochas, enzimas (desde que não modificadas geneticamente), entre outros produtos liberados para uso como fertilizantes e corretivos de solo nas produções orgânicas.

Baseado nestes critérios a utilização de produtos como resíduos orgânicos, provenientes de sistemas de tratamento de esgoto, devem ser analisados e somente serem permitidos, caso os níveis de contaminantes, presentes neste material, estejam em acordo com a normativa. O cuidado fitossanitário deve ser realizado sempre em conjunto com a assistência técnica e autorização das OCS's ou do Organismo de Avaliação de Conformidade Orgânica (OAC), quando se tratar de estabelecimentos produtores ou comerciais de produtos orgânicos (BRASIL, 2017).

A mesma conduta é adotada para a utilização de compostos de origem não orgânica, controles de pragas, fitossanitários entre outros. Estas instruções redigidas

pelo MAPA são utilizadas para manter o padrão de produção, certificado como orgânico, amparados pela lei; porém, estudos de viabilidade, econômico-ambiental, qualidade do produto e aperfeiçoamento das técnicas orgânicas são necessários para que este movimento não perca força (BRASIL, 2017).

Considerando estas questões, ações de criação de políticas públicas e de fomento aos sistemas orgânicos são necessários para a ampliação desse movimento, pois este sistema de produção funciona atualmente como a mola propulsora de trabalho das famílias que vivem em assentamentos de reforma agrária pelo país (ALENCAR *et al.*, 2013, BRASIL, 2017).

## **1.2. Agrotóxicos**

São considerados agrotóxicos o grupo de substâncias químicas utilizadas na agricultura e que têm por função o controle e eliminação de pragas nocivas às plantações, podem ser utilizados para o combate a ervas daninhas, insetos, aranhas, fungos, roedores ou qualquer outro tipo de forma de vida que prejudique a produtividade de uma cultura, São também empregados no controle de vetores de doenças humanas, como uma medida sanitária, além de muitos outros usos e aplicações (EHLERS, 1994; PERES, MOREIRA, DUBOIS, 2003).

Até o ano de 1989, a legislação brasileira denominava estas substâncias como “defensivos agrícolas”, e, por esta nomenclatura, excluía de sua lista todos os princípios ativos que eram utilizados como sanitários urbanos. O termo agrotóxico passou a ser empregado, após a publicação da Lei 7802 de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 2002) no Artigo 2º, como:

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

Surgiram para fins bélicos, pois eram utilizados como armas químicas durante a segunda grande guerra mundial. Com o término dos conflitos as “sobras” das armas químicas, produzidas em larga escala, ganharam outros direcionamentos, sendo que alguns grupos produziram bons resultados em pesquisas agrárias no controle de pragas. Estes produtos passaram então a serem usados como agroquímicos e tiveram ascensão com a Revolução Verde (FRANZ, LINK, 2011; PERES, MOREIRA, DUBOIS, 2003).

Esta mudança tornou a agricultura como a atividade antrópica a mais ampla e significativa realizada no planeta. Dados mostram que em 99, 37% da área continental da Terra era ocupada por plantações e pasto para a criação de animais, os agrotóxicos em conjunto acompanharam este crescimento, chegando a obter vendas mundiais no valor de US\$ 47 trilhões (BOMBARDI, 2017).

No Brasil, o crescimento não foi diferente do observado no cenário mundial, inclusive é um dos destaques na quantidade de toneladas de agrotóxicos utilizados no campo, o que lhe confere o título de campeão mundial no consumo destes químicos. Em um período de 14 anos (2000 – 2014) o consumo que era de 170 mil toneladas ano, saltou para 500 mil toneladas ano, aumentando em mais de 100% o volume consumido (BOMBARDI, 2017).

Estas substâncias também são utilizadas para inúmeras outras aplicações, como por exemplo, produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas (agricultura), pastagens (pecuária), proteção de florestas nativas ou implantadas e manutenção de ambientes urbanos e rodoviários (capina e poda). Para atender essa demanda, novas formulações e princípios ativos são desenvolvidos ano após ano, como demonstrado na Tabela 1, que apresenta um panorama do número de agroquímicos lançados, no Brasil, no período de 2005 a 2016, além dos permitidos para a agricultura orgânica (POSSAVATZ *et al.*, 2014; BRASIL, 2016).

**TABELA 1: Resumo de Registro de Agrotóxicos de 2005 a 2016.**

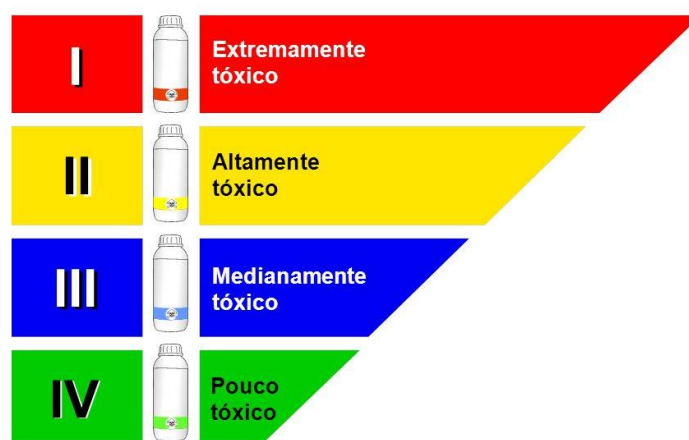
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total Geral
<b>PF</b>	62	66	130	136	52	32	20	15	23	23	15	28	<b>602</b>
<b>PF/PTE</b>	0	6	19	2	49	28	49	72	28	33	50	47	<b>383</b>
<b>Subtotal Químicos</b>	<b>62</b>	<b>72</b>	<b>149</b>	<b>138</b>	<b>101</b>	<b>60</b>	<b>69</b>	<b>87</b>	<b>51</b>	<b>56</b>	<b>65</b>	<b>75</b>	<b>985</b>
<b>Biológicos</b>	0	0	0	1	1	4	10	4	5	0	5	16	<b>46</b>
<b>Extrato/Org</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	<b>1</b>
<b>Extrato</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	<b>3</b>
<b>Biológicos/Org</b>	0	0	0	0	0	0	3	12	5	7	23	22	<b>72</b>
<b>Subtotal Biológicos</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>29</b>	<b>39</b>	<b>122</b>

PF/PTE = Produto formulado a base de produto técnico equivalente; PF = Produto formulado; Org = Produtos aprovados para agricultura orgânica.

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2017.

Os agrotóxicos podem ser classificados quanto ao organismo alvo: inseticidas (controle de insetos), acaricidas (ácaros), nematicidas (nematoides), fungicidas (fungos) herbicidas (plantas), entre outros. Quanto ao seu grupo químico: organoclorados, organofosforados, piretróides, carbamatos, tiazinhas, triazois, dimetiltiocarbamatos, clorociclodienos, entre outros. Em relação à classificação toxicológica apresentada na Figura 1, são caracterizadas com base na toxicidade determinada das substâncias em laboratório (ANVISA, 2008).

**FIGURA 1: Classificação toxicológica dos agrotóxicos no Brasil – ANVISA.**



Fonte: Google imagens, 2018.

O uso excessivo de agrotóxicos representa um risco para a saúde e ao meio ambiente, considerando que são compostos tóxicos, os quais se bioacumulam na teia trófica atuando sobre sistemas biológicos vitais como, nervoso, respiratório, imunológico, entre outros (FERNANDES, 2014).

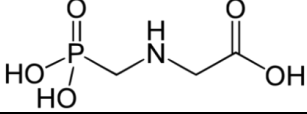
Além de gerar dependência à cultura na qual é aplicado, causam desequilíbrios nos sistemas ecológicos, eliminando defensores naturais de pragas e de doenças e para manter a eficiência, pode ser necessário aumentar o volume utilizado na pulverização, gerando, conseqüentemente, aumento na quantidade de resíduos presentes no ambiente (CHIQUETTI, 2013).

Diante do exposto, sobre a questão dos agrotóxicos, a literatura nos mostra a importância dos estudos ambientais realizados sobre a temática da conservação. Bombardi (2017) expõe em sua obra a geografia do uso dos agrotóxicos no Brasil, onde mapeia, através dos dados disponíveis, os casos de intoxicação humana por agrotóxicos; Marcondes (2001) estudou a influência da degradação de pesticidas em diferentes tipos de solo; Pinheiro, Moraes e Silva (2011) identificaram os pesticidas presentes em solo em área de plantações de cebolas; Andréa *et al.* (2004) estudaram a influência de agrotóxicos na bioatividade do solo; Yenny *et al.* (2010) validaram métodos de identificação de pesticidas por cromatografia líquida; Mattos *et al.* (2002) realizaram o monitoramento ambiental do agrotóxico glifosato em água. Fornecendo assim subsídios para novos estudos relacionados ao impacto dos agrotóxicos em ambientes aquáticos.

### **1.3. Glifosato**

Dentre os agrotóxicos, o Glifosato (Tabela 2) é um contaminante da classe dos herbicidas (plantas são seu organismo alvo), não seletivo e de amplo espectro, sendo comercializado desde 1970 como princípio ativo do Roundup®. Desenvolvido pioneiramente pela Monsanto, seus resultados em campo o tornaram um dos pesticidas mais utilizados no mundo (SAMSEL, SENEFF, 2013; WHO, 1997).

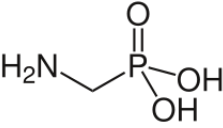
**TABELA 2: Propriedades do Glifosato.**

<b>Nome comum</b>	Glifosato (glyphosate)
<b>Sinonímia</b>	CP 67573
<b>CAS number</b>	1071-83-6
<b>Nome químico</b>	N-(phosphonomethyl)glycine
<b>Fórmula</b>	$C_3H_8NO_5P$
<b>Estrutura</b>	
<b>Solubilidade em água</b>	1,01 g/100 ml (20 °C)
<b>Grupo químico</b>	Organofosforados
<b>Classe</b>	Herbicida
<b>Classificação toxicológica</b>	IV

Fonte: Anvisa, 2015; BCPC, 2009.

Quando em contato com o solo é fortemente adsorvido, ficando imóvel. Causa perda da degradação microbiana devido à liberação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Em água a molécula do glifosato se degrada e tem como principal metabólito o AMPA (Tabela 3) (BCPC, 2009).

**TABELA 3: Propriedades do Ácido-aminometilfosfônico (AMPA).**

<b>Nome comum</b>	Ácido aminometilfosfônico
<b>Sinonímia</b>	CB 5139354
<b>CAS number</b>	1066-51-9
<b>Nome químico</b>	(Aminomethyl)phosphonic acid
<b>Fórmula</b>	$CH_6NO_3P$
<b>Estrutura</b>	
<b>Solubilidade em água</b>	5,0 g/100 ml (20 °C)
<b>Grupo químico</b>	Organofosforados
<b>Classe</b>	Metabólito
<b>Classificação toxicológica</b>	-

Fonte: Chemical Book, 2016.

No Brasil, a ANVISA libera diversos usos para este composto, para fins agrícolas e não agrícolas, e, dentre estes, estão: aplicação em margem de rodovias e ferrovias, áreas sob-rede de transmissão elétrica, pátios industriais, óleodutos e jardinagem. Os LMR's de Glifosato em algumas culturas permitidos pela ANVISA, União Europeia e Estados Unidos estão descritos na Tabela 4 (ANVISA, 2015).

**TABELA 4: Limite Máximo de Resíduos (LMR) para Glifosato**

<b>Culturas</b>	<b>LMR (mg kg<sup>-1</sup>) Brasil</b>	<b>LMR (mg kg<sup>-1</sup>) U.E.</b>	<b>LMR (mg kg<sup>-1</sup>) E.U.A.</b>
Algodão	3	10	210
Ameixa	0,2	0,1	-
Arroz	0,2	0,1	0,1
Aveia preta	20	20	-
Azevém	10	10	-
Banana	0,02	0,1	0,2
Cacau	0,1	0,1	0,2
Café	1	0,1	1
Cana-de-açúcar	1	0,1	2
Citros	0,2	0,1	1,5
Coco	0,1	0,1	0,1
Feijão	0,05	0,1	0,2
Maçã	0,2	0,1	0,2
Mamão	0,1	0,1	0,2
Milho	1	1	0,1
Pêra	0,2	0,1	0,1
Pêssego	0,2	0,1	0,1
Soja	10	20	20
Trigo	0,05	10	0,1
Uva	0,2	0,1	0,1

**Fonte: Monografia ANVISA - Resolução RE nº 1.297 de 29/04/15 (DOU de 30/04/15), EU Pesticides Database, e-CFR Code of Federal Regulations U.S.A.**

Quando em contato com organismos alvo o Glifosato é absorvido pelas folhas e caule, onde se desloca por toda a planta até se concentrar no meristema. Sua ação causa perturbação da via do ácido chiquímico, por meio da inibição da síntese da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato (EPSP), causando redução da produção de aminoácidos de síntese proteica e retardamento do crescimento. Apresenta também perda da coloração verde, enrugamento, malformação da folha e morte dos tecidos, esse ciclo de ação pode variar de 4 a 20 dias. O glifosato associado em sais, como por

exemplo, o sal de sódio de glifosato, pode atuar como regulador de crescimento e acelerar a maturação dos frutos (USEPA, 1993; WHO, 1997; VARGAS, ROMAN, 2006).

Devido a grande importância, econômica e ambiental do glifosato, a literatura vem disponibilizando estudos em diferentes áreas, especialmente a ambiental, demonstrando a preocupação que os danos do uso deste princípio ativo podem causar ao ambiente e à saúde: Rodrigues *et al.* (2016) determinou os efeitos ecotoxicológicos de dois formulados a base de glifosato em diferentes organismos-teste; Amarante Junior *et al.* (2002) discutiu sobre as propriedades, uso e toxicidade do glifosato em comparação à legislação brasileira; Ulzurrún e Leaden (2012) estudaram a sensibilidade de biotipos de *Lolium multiflorum* ao glifosato; Ramirez *et al.* (2012) determinou o efeito de doses subletais de Roundup® no sistema nervoso de alevinos peixes; Mattos *et al.* (2002) investigou a presença de Glifosato e seu metabólito AMPA em água de lavoura de arroz irrigado; Samsel e Seneff (2013) estudaram os efeitos da toxicidade do glifosato associado a doenças em humanos.

Além disso, a crescente utilização de cultivares resistentes aos herbicidas (HRCs), como por exemplo, as espécies de soja transgênicas, tem contribuído para o aumento da utilização de Glifosato no campo e conseqüentemente aumenta o volume de resíduos presentes nos ambientes aquáticos e no solo (MONQUERO, 2005).

Com base nos dados disponíveis na literatura sobre o Glifosato, estudos que questionem a necessidade deste agrotóxico na agricultura, bem como o risco ambiental associado se fazem necessários para contrapor os dados informados pelos órgãos licenciadores de agrotóxicos no Brasil.

#### **1.4. Ecotoxicologia e Risco Ambiental**

Para o monitoramento dos níveis de agrotóxicos no ambiente, como em matrizes de água, por exemplo, são realizadas análises laboratoriais, que utilizam técnicas como a cromatografia considerando variáveis como, compostos de interesse, grupo químico, limite de detecção e dificuldade de extração do composto, a fim de se obter resultados confiáveis (BELO *et al.*, 2012; CHIQUETTI, 2013; LOURENCETTI, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2007).



Em complemento as análises físico-químicas, a ecotoxicologia se mostra como ferramenta eficiente (HAMADA, 2008). Esse ramo da ciência que trabalha em conjunto conceitos da ecologia e da toxicologia, estuda os efeitos nocivos causados por substâncias químicas a organismos vivos (ecotoxicidade), por meio de bioensaios realizados sob condições controladas em laboratório ou realizados *in situ* (COSTA *et al.*, 2008).

Consistem basicamente na exposição de organismos-teste, validados como bioindicadores, a um contaminante ou uma matriz (água, solo, resíduos, efluentes, etc.), com o intuito de se simular os efeitos tóxicos causados em nível ecológico (população). Estes podem ser realizados de acordo com três classificações (Tabela 5), agudos, crônicos ou crônicos de curta duração (HAMADA, 2008).

**TABELA 5: Classificação dos Bioensaios de Ecotoxicidade.**

<b>Toxicidade</b>	<b>Duração</b>	<b>Definição</b>
Aguda	Curta	Abrangem apenas parte do ciclo de vida dos organismos, avaliando-se efeitos como mortalidade ou imobilidade.
Crônica	Prolongada	Podem abranger todo o ciclo de vida dos organismos, avaliando-se parâmetros sub-letais, como deformidades.
Crônica de curta duração	Mediana	Abrangem partes sensíveis do ciclo de vida dos organismos, avaliando-se efeitos sub-letais.

**Fonte: Hamada, 2008.**

Podem ser utilizados como organismo-teste: algas, macrófitas aquáticas, peixes, invertebrados (bentônicos ou pelágicos) e vegetais, que possibilitam avaliação ecológica, uma vez que representam diferentes níveis da cadeia trófica (DORNFELD, 2002). A escolha do organismo-teste deve levar em consideração quesitos como: a representatividade dentro do grupo ecológico em nível taxonômico ou trófico; facilidade de manuseio e cultivo em laboratório; estabilidade genética (como partenogênese, por exemplo, em *Daphnia*); conhecimento da biologia e sensibilidade a contaminantes (CAIRES, 2015).

Com esta ferramenta, pesquisas como a de Cauble e Wagner (2005) utilizaram

larvas de *Rana cascadae* (espécie de rã norte americana) para exposição a diferentes concentrações do agrotóxico Roundup®, para testar os efeitos crônicos do glifosato no crescimento, desenvolvimento e metamorfose das larvas de *R. cascadae*. Em bioensaios preliminares de ecotoxicidade aguda, determinaram uma Concentração Letal a 50% da população exposta,  $CL_{50}$ , 3,2 mg L<sup>-1</sup>.

Corbi, Gorni e Correa (2015) realizaram estudos de sensibilidade com o organismo *Allonais inaequalis* (Oligochaeta: Naididae), expostos em ensaios estáticos, durante 96 horas e foram encontrados resultados de  $CL_{50}$  com cloreto de potássio e cloreto de zinco, de 3,55 a 5,36 g L<sup>-1</sup> e 0,09 a 0,510 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, propondo assim este organismo em protocolos de ecotoxicologia para amostras de água e sedimento de regiões tropicais, como o Brasil.

Porém, ao se interpretar os dados ecotoxicológicos, avaliando os efeitos dos contaminantes em escalas ecológicas de comunidades, são necessárias ferramentas estáticas e análises de modelos, como por exemplo, o modelo de análise de risco ambiental (COSTA *et al.*, 2008).

Em laboratório os ensaios de ecotoxicidade, são realizados sobre condições específicas e com *endpoints* de interesse, como tóxico e não tóxico (ecotoxicidade aguda), e outros como taxa de reprodução (ecotoxicidade crônica) e, proporcionam dados em nível de população, para uma espécie a uma substância. Em ambientes naturais diversas espécies coabitam os ecossistemas, interagindo e respondendo de formas particulares a contaminação presente no ambiente (SANTOS *et al.*, 2015).

Por isso, extrapolar os dados obtidos de indivíduos para comunidades e correlacionar com índices ecológicos, tem se mostrado um desafio para as pesquisas ambientais. Para isso, são necessários cálculos que combinem os resultados ecotoxicológicos com modelos matemáticos baseados nas propriedades conhecidas dos contaminantes estudados (DOU *et al.*, 2014).

Assim, ao se determinar o risco ambiental de um contaminante é necessário determinar a ecotoxicidade aguda e/ou crônica e avaliar um ou mais *endpoints* em conjunto com a avaliação da dose-resposta. A dose resposta pode ser mensurada em dois tipos, Concentração Letal a 50% da população ( $CL_{50}$ ) e Concentração Efetiva a 50% da população ( $CE_{50}$ ), sendo a CL utilizada para organismos vertebrados e invertebrados e a CE utilizada para vegetais e algas.

Utilizando estes dados, pode-se calcular o risco ambiental baseado na ecotoxicidade, como por exemplo, por meio do método da análise de  $Q$  (Tabela 6) (SOUZA, 2008).

**TABELA 6: Classificação de Risco Ambiental.**

Risco com nenhum efeito adverso se $Q \leq 0,1$
Risco com moderado efeito adverso se $0,1 < Q \leq 10$
Risco com alto efeito adverso se $Q > 10$

Fonte: Urban e Cook, 1986.

Onde:  $Q = CAE / CE_{50}$  ou  $CL_{50}$

CAE = Concentração ambiental estimada é o valor de um contaminante que chega efetivamente ao ambiente; este valor pode ser utilizado de acordo com dados da literatura, ou em alguns casos, como em ecossistemas aquáticos, é considerado como 100% da maior dose normalmente utilizada (GOKTEPE, PORTIER, AHMEDNA, 2004; MEDEIROS, 2008; SOUZA, 2008; ABE, 2012).

Baseado nestas metodologias, Solomon *et al.* (1996) testaram o agrotóxico Atrazina, um dos mais usados na América do Norte na época nas plantações de milho, no controle de plantas gramíneas invasoras. Foi determinada a presença do agrotóxico em 76 reservatórios em 11 estados norte-americanos obtendo uma porcentagem de 92% de ocorrência do contaminante; além disso, foi determinado o risco ambiental ( $Q$ ) com base nos ensaios de ecotoxicidade com os organismos de grupos de fitoplâncton, zooplâncton, macrófitas aquáticas, macroinvertebrados bentônicos e peixes; concluíram que a Atrazina não possui risco ambiental significativo, pois apresentou toxicidade com valores acima de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ , sendo o encontrado nas determinações de Atrazina valores menores ou iguais a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Goktepe, Portier e Ahmedna (2004), avaliaram o risco ambiental do composto Azadiractina em duas bases de óleo de neem, em 6 espécies de animais aquáticos, *Promcambarus clarkii*, *Penaeus setiferus*, *Palaemonetes pugio*, *Callinectes sapidus*, *Daphnia pulex* e *Culex quinquefasciatus* e o risco foi calculado pelo valor de  $Q$ . Os autores concluíram que as formulações Bioneem™ e Neemix™, não apresentam Risco Ambiental significativo, pois os resultados não foram superiores a  $Q = 0,5$ .

Pusceddu *et al.* (2017) realizaram estudos de risco ambiental em sedimentos

contaminados com triclosan, testando os organismos *Chironomus xanthus* para toxicidade aguda e *Ceriodaphnia dubia* para toxicidade crônica; determinaram a CL<sub>50</sub> de 45,26 µg L<sup>-1</sup> para *C. xanthus* e para ecotoxicidade crônica a LOEC (Menor Concentração de Efeito Observado) de 6,94 µg L<sup>-1</sup> para *C. dubia* no sedimento, sendo estes resultados equivalentes aos valores de CL<sub>50</sub> e LOEC encontrados nos bioensaios de ecotoxicidade com o contaminante que são respectivamente de 47,28 µg L<sup>-1</sup> e 7,24 µg L<sup>-1</sup>. Concluíram que os sedimentos contaminados com triclosan representam um alto risco para os organismos aquáticos.

Diante do exposto, a avaliação de risco ambiental é um conceito importante e deve ser aplicado para as avaliações de liberação de agrotóxicos perante os órgãos reguladores e fiscalizadores em conjunto aos ensaios de ecotoxicidade. É pela aplicação metodologias como essas, que os estudos ecológicos criam subsídios para a elaboração de políticas públicas voltadas a conservação do meio ambiente.

### **1.5. Assentamento Rural Bela Vista do Chibarro**

No Brasil, somente os índios e os quilombolas possuem direito à terra assegurado por direto constitucional, as demais comunidades, como por exemplo, os assentados, possuem direitos na condição de posseiros (ALLEGRETTI, 2008).

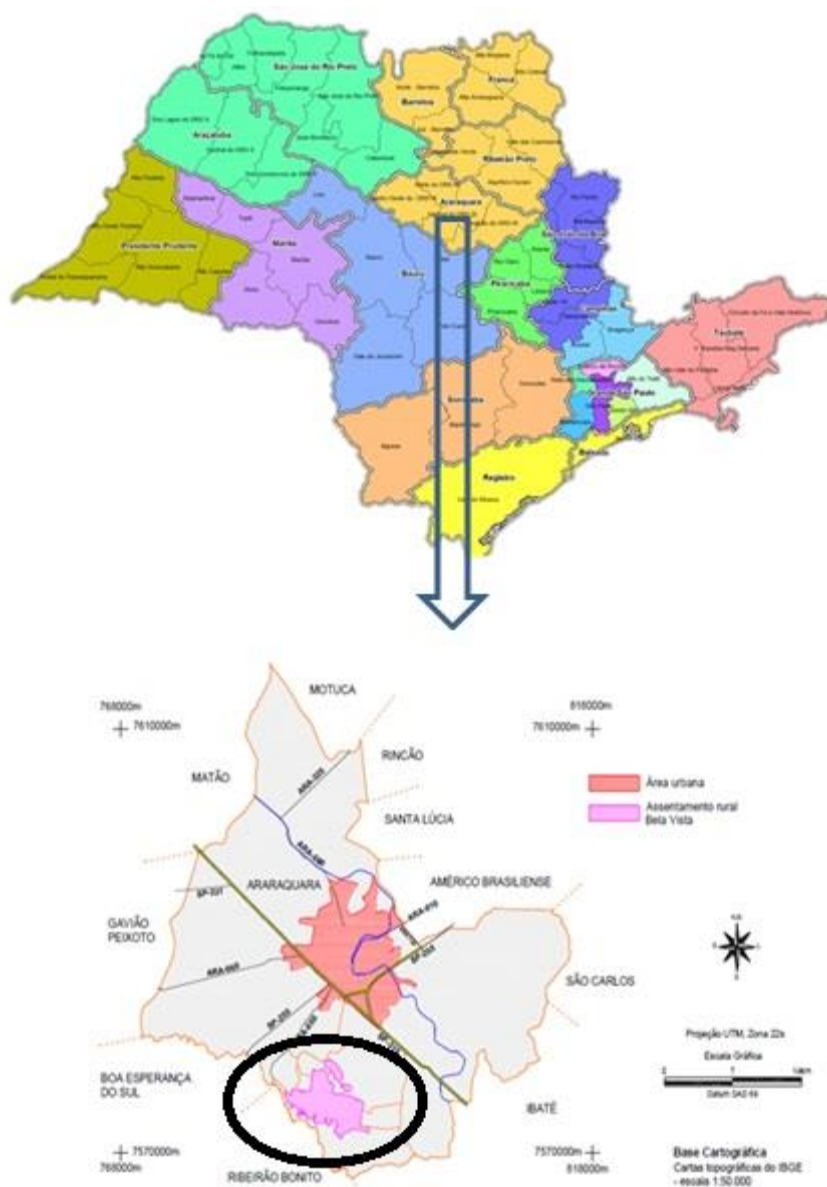
Perante esta situação, as famílias que moravam no campo precisaram obter o seu direito a terra. Antes fora do cenário político, estes não influenciavam e tão pouco possuía voz para exigir direito de terra, mesmo muitas vezes sendo possuindo origens no campo (FABRINI, 2002).

Em 1966, por meio do Decreto nº 59.456 de 4 de novembro, foi idealizado o primeiro Plano de Reforma Agrária do Brasil e em 1970, através do Decreto nº 1.110 de 9 de julho, foi criado o Instituto Nacional de Colonização e reforma agrária (INCRA, 2018).

Neste contexto foram criados inúmeros assentamentos de reforma agrária no Brasil, entre eles o assentamento Bela Vista do Chibarro. Localizado no município de Araraquara, região central do estado de São Paulo, o assentamento Bela Vista se assumiu como área de reforma agrária em 1989 com a desapropriação do território pelo governo federal (FERRANTE, BARONE, DUVAL, 2012). Segundo dados de Silva

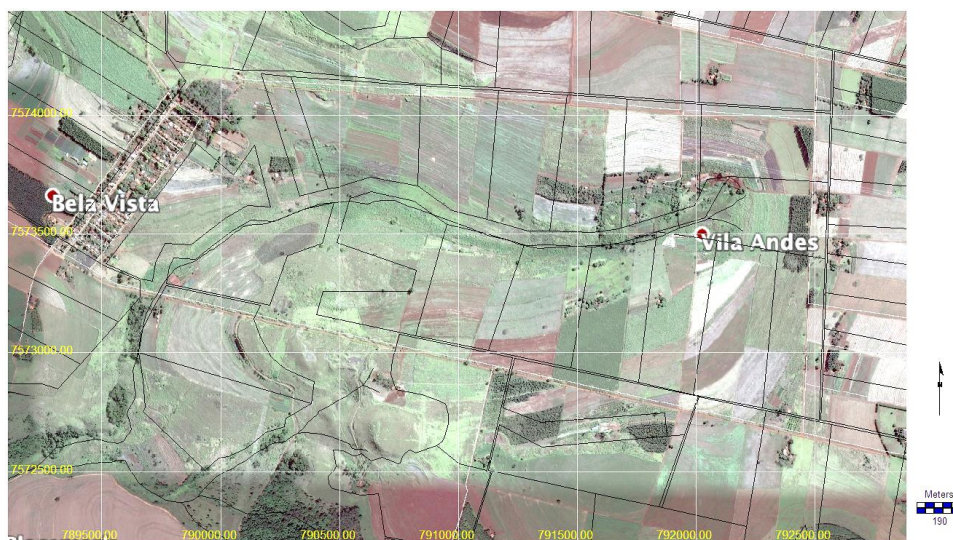
(2011), o assentamento está localizado na região sul do território da cidade (Figura 2) com área total de 3.427 ha e cerca de 220 loteamentos (Figura 3), distribuídos em sua extensão e de acordo com consulta feita no Sistema Eletrônico do Serviço de Informação ao Cidadão (e-SIC versão 2.6.2) realizada no dia 22 de janeiro de 2018, existem 227 famílias assentadas.

**FIGURA 2: Localização do assentamento Bela Vista do Chibarro no município de Araraquara.**



Fonte: Silva, 2011; Google Imagens, 2018.

**FIGURA 3: Distribuição dos lotes do assentamento Bela Vista do Chibarro, Araraquara-SP, base cartográfica 1:200.**



**Fonte: Próprio autor, 2017.**

No que diz respeito aos recursos hídricos, o assentamento pertence à UGRHI 13 (Tietê-Jacaré), englobando as sub-bacias dos rios Chibarro e Jacaré-Guaçu. Com relação ao tipo e declividade do terreno, predomina a formação basalto, apresentando pouca declividade em grande parte de sua extensão, seguido de locais com declividades medianas e elevadas. O tipo de solo encontrado, na maior parte da área, é o latossolo vermelho-escuro, de textura argilosa, e encontra-se ocupado quase que em sua totalidade por áreas agrícolas (SILVA, 2011).

Durante o século XIX, a área do assentamento foi um dos grandes polos de produção de café e, devido ao declínio das exportações e fim da mão - de - obra escrava, a antiga fazenda passou da produção de café para a monocultura de cana, tendo como marco a Usina Tamoio. Em 1989 o INCRA – Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária, oficializou a desapropriação das terras. A fazenda foi dividida inicialmente em 176 lotes, sendo duas áreas ambientais, que foram distribuídas para 171 famílias através da Portaria INCRA/P 661/90 de 1990 (LOPES *et al.*, 2015).

Restou ao assentamento parte da estrutura da antiga Usina, que pode ser representada na disposição de 100 casas em uma agrovila central, que eram cedidas aos antigos trabalhadores da usina. Estas casas foram ou são utilizadas por parte das famílias assentadas e a disposição dos lotes de produção se faz no entorno das mesmas,

formando um núcleo central (AMARAL, FERRANTE, 2007).

O assentamento foi formado por seis grupos de moradores pioneiros e, em 1988 um ano após a ocupação do Bela Vista, as terras foram declaradas de interesse social para reforma agrária (PUGLIESE, 2016). Em um levantamento realizado no ano de 2011 foi determinada a existência de 202 famílias provenientes de várias cidades do estado de São Paulo e de outros estados (SILVA, 2011).

É importante ressaltar que o assentamento está cercado por usinas, sendo as mais próximas a Usina Zanin e a Tamoio. Esta característica regional favoreceu a entrada da cana-de-açúcar no assentamento, já que essa cultura é um produto de fácil comercialização (LOPES *et al.*, 2015). De acordo com Ferrante, Barone e Duval. (2012), a mobilização que levou à instalação deste Projeto de Assentamento acabou sendo emblemática da luta dos trabalhadores rurais nas terras dos canaviais.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar a presença do agrotóxico Glifosato e seu metabólito AMPA (ácido aminometilfosfônico) em matrizes de água superficial no Assentamento Bela Vista do Chibarro (Araraquara-SP) e seus efeitos ecotoxicológicos.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Determinação dos parâmetros físico-químicos das amostras de água: pH, condutividade, temperatura e oxigênio dissolvido (O.D.);
- Determinação laboratorial de resíduos do agrotóxico Glifosato e de seu metabólito AMPA;
- Determinação de toxicidade aguda com os organismos teste: *Danio rerio*, *Allonais inaequalis*, *Chironomus xhantus* e *Lactuca sativa* em matriz de água superficial;
- Determinação da  $CL_{50}$  do agrotóxico Glifosato na formulação Roundup® com os organismos teste: *Danio rerio*, *Allonais inaequalis*, *Chironomus xhantus* e *Lactuca sativa*;
- Determinação do risco ambiental associado ao contaminante Glifosato (Roundup®) pelo cálculo do quociente  $Q$ .



### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Pontos de amostragem**

Os pontos de amostragem foram selecionados após visita aos lotes do assentamento Bela Vista do Chibarro, o critério de seleção dos lotes estudados foi à presença de um córrego, mina ou qualquer outra fonte de abastecimento de água superficial e esta deveria ser compartilhada por pelo menos dois lotes e que a diferença entre elas fosse à característica apresentada do ambiente aquático, lântico, lóticos e de transição. Empregando esses critérios foi possível realizar a escolha de dois lotes que compartilhavam estas características especificadas, os lotes nº 161 e nº 15.

O lote nº 161 do assentamento possui um total de 16 hectares, sendo uma parcela utilizada para produção de olericultura com manejo orgânico. Em sua produção estão incluídos: berinjela, jiló, mandioca, e hortaliças como couve-flor, brócolis, repolho e variedades de alface. O espaço utilizado para a horta com manejo orgânico se encontra em terreno com declive, e no seu entorno existem plantações de milho, banana e cana-de-açúcar e um pasto para criação de gado, separado da horta por cerca de arame farpado. Neste lote o ambiente aquático é caracterizado como lântico, ou seja, de água parada (sem correntezas) e nele está localizado o ponto nº 01, a montante da área da olericultura uma lagoa foi construída para represamento do córrego, que corta o lote, para irrigação da horta e localizado a jusante da plantação está localizado o ponto nº 02 o qual se encontra na área de divisa da horta com o pasto utilizado para a criação de bovinos.

O lote nº 15, localizado próximo à agrovila central, possui 16 hectares e uma parcela é utilizada para agricultura com manejo convencional e aplicação do agrotóxico Roundup®. A plantação olerícola irrigada inclui alface de diferentes tipos, couve, salsa, cebolinha, rúcula, entre outros. O ambiente aquático deste lote é considerado como lótico, pois neste ponto o curso da água apresenta movimentação (correnteza), sendo o ponto nº 03 situado à montante da plantação e o ponto nº 04 à jusante da propriedade, em uma área de influência de plantação de eucaliptos.

As coordenadas geográficas dos pontos de coleta das amostras estão descritas na Tabela 7.

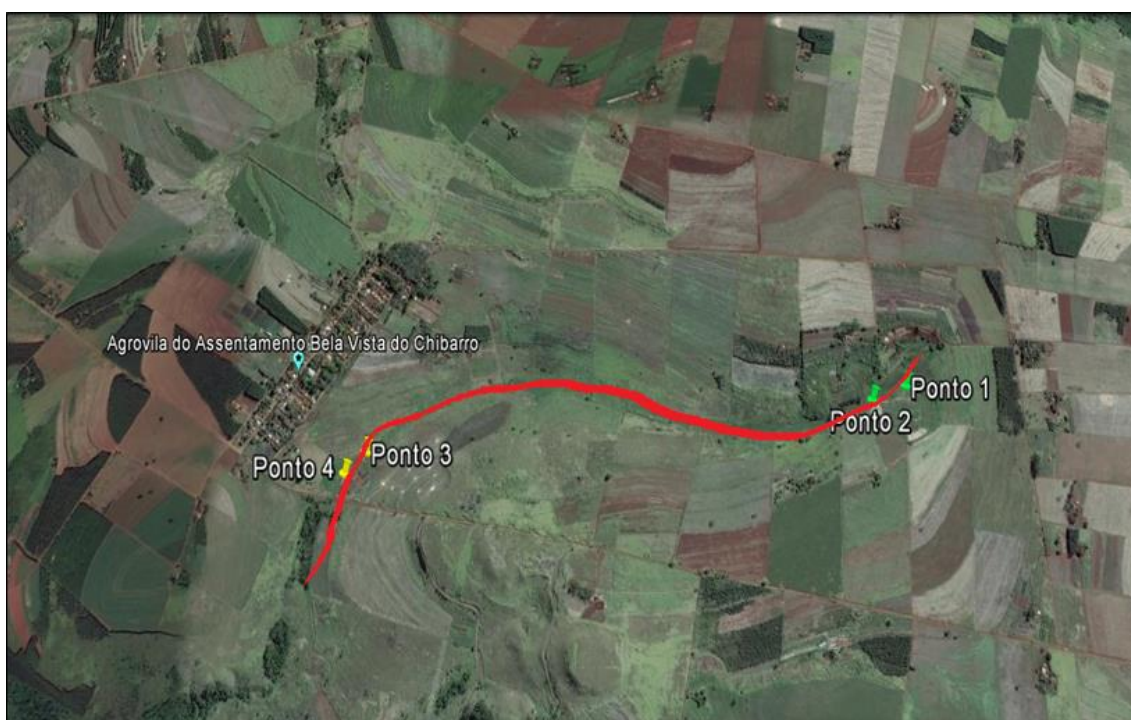
**TABELA 7: Coordenadas geográficas dos pontos de coleta no Assentamento Bela Vista do Chibarro.**

<b>Pontos</b>	<b>Coordenadas</b>
P-01	21°55'6.10"S 48°10'23.54"O
P-02	21°55'7.73"S 48°10'28.40"O
P-03	21°55'12.53"S 48°11'39.90"O
P-04	21°55'14.99"S 48°11'42.55"O

**Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2017.**

A Figura 4 mostra um esboço do córrego compartilhado pelos lotes em uma visão de satélite obtida no Google Earth PRO, versão 7.1.7.2606, com a visão na altura de 1026 metros.

**FIGURA 4: Pontos de coleta localizados no Assentamento Bela Vista do Chibarro.**



**Fonte: Google Earth, 2017.**

### **3.2. Metodologia de amostragem**

O processo de amostragem foi realizado de acordo com os procedimentos descritos no Guia Nacional de Coleta e preservação de amostras da CETESB. As amostras foram coletadas em frascos plásticos de 1 litro com tampa, sem adição de preservação química, sendo coletados 13 litros de amostra por ponto. Do volume total amostrado, 1 litro foi utilizado para determinação de Glifosato e AMPA e os outros 12 litros utilizados para os bioensaios ecotoxicológicos.

Os frascos foram devidamente etiquetados com a data da coleta e a identificação do ponto, acondicionados em caixa térmica com gelo para transporte. Os frascos dos bioensaios foram encaminhados ao Laboratório de Ecotoxicologia Aquática da Universidade de Araraquara, UNIARA, e mantidos em geladeira sob temperatura de 2 a 6°C. Para a determinação de Glifosato e AMPA, as amostras foram encaminhadas ao laboratório Keller Ambiental.

Em campo, para a determinação dos parâmetros físico-químicos: pH, Oxigênio dissolvido (O.D.), condutividade e temperatura, foi utilizada a sonda multiparâmetro YSI modelo 556 MPS do Centro de Estudos Ambientais (CEAM), da UNIARA.

### **3.3. Determinação de Glifosato e AMPA por HPLC**

A determinação do resíduo do herbicida glifosato e seu metabólito AMPA foi realizada pelo laboratório de análises de água Keller Ambiental, o qual possui acreditação vigente da ISO/IEC 17025:2005 junto ao INMETRO no registro CRL 0400, e é realizado de acordo com o método de ensaio interno ME 91 revisão 04.

O método consiste na filtração de 1 mL de amostra em filtro de membrana 0,22 µm de porosidade em vial de 2 mL com septo de PTFE. Após a filtração da amostra é realizado o processo de derivatização com cloroformiato de 9-fluorenilmetila (Cloreto de FMOC / FMOC-Cl); a análise é realizada em CLAE com detector de UV para quantificação dos resíduos destes contaminantes.

Os dados de validação do método, curva analítica, condições cromatográficas e requisitos do equipamento são confidenciais. Os valores referentes ao limite de quantificação (L.Q. 50 µg L<sup>-1</sup> para Glifosato e de 200 µg L<sup>-1</sup> para AMPA) e de detecção

do método (L.D.  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  para ambos os compostos), esses dados podem ser consultados junto ao escopo de acreditação vigente do laboratório, disponível no site do Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO).

#### **3.4. Ensaio de toxicidade aguda com peixes – *Danio rerio***

O organismo-teste *Danio rerio* foi adquirido comercialmente junto à piscicultura São Matheus. Os lotes de peixes foram aclimatados antes da realização dos ensaios pelo período de uma semana no sistema de recebimento e cultivo dos peixes instalado no laboratório de ecotoxicologia da UNIARA com água livre de cloro e sistema de filtração biológica, em temperatura de  $22 \pm 2,0^\circ\text{C}$  com fotoperíodo de 12 horas, os peixes alimentados com a ração comercial *TetraMin*® uma vez ao dia. Quanto à aclimação dos peixes, foram adotados os seguintes critérios:

- Mortalidade excedendo 10 % da população em sete dias será rejeitado o lote;
- Mortalidade abaixo de 5 % da população na primeira semana o lote será aceito (OECD, 1992).

Este organismo-teste (Figura 5) foi escolhido para a utilização dos ensaios devido a sua fácil criação em cativeiro e ampla comercialização para uso ornamental, o que facilita o acesso deste organismo-teste, sua padronização é descrita no protocolo adotado da OECD nº 205.

A espécie *Danio rerio* (Hamilton, 1822) é um peixe Actinopterygii da ordem dos Cypriniformes, encontrado naturalmente em países da Ásia, como por exemplo, Paquistão, Índia, Nepal e Mianmar; atinge quando adulto no máximo 3,8 cm e não possui dimorfismo sexual (FROESE, 2017).

**FIGURA 5: *Danio rerio*.**



Fonte: Google imagens, 2017.

Os ensaios de toxicidade aguda (Figura 6) foram realizados com a exposição de 3 organismos, tamanho entre  $2,0 \pm 1$  cm, em 1000 mL de amostra durante o período de 96 horas. As amostras foram analisadas em triplicata, o controle do bioensaio foi realizado nas mesmas condições das amostras, com a água de cultivo. O bioensaio é realizado de forma estática, sem alimentação e sem renovação da solução teste em temperatura de  $22 \pm 2,0^\circ\text{C}$  (OECD, 1992).

**FIGURA 6: Bioensaio de Ecotoxicidade Aguda com *Danio rerio*.**

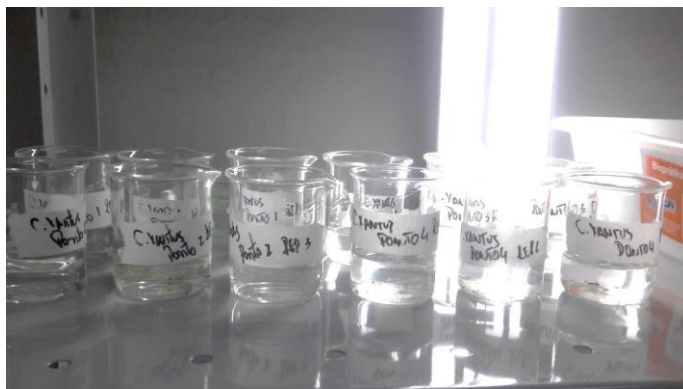


Fonte: Próprio autor, 2017.

### 3.5. Ensaio de toxicidade aguda com *Chironomus xanthus*

O bioensaio de ecotoxicidade aguda (Figura 7) foi realizado com a exposição de 10 larvas de *Chironomus xanthus* na fase do primeiro *instar* em 20 mL de amostra por um período de 48 horas em temperatura de  $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$  com foto período de 12 horas de forma estática e sem alimentação das larvas. As amostras foram analisadas em triplicata, o controle do ensaio foi realizado nas condições descritas anteriormente com exposição dos organismos-teste a água de cultivo (OECD, 2011).

**FIGURA 7: Bioensaio de Ecotoxicidade Aguda com *Chironomus xanthus*.**



Fonte: Próprio autor, 2017.

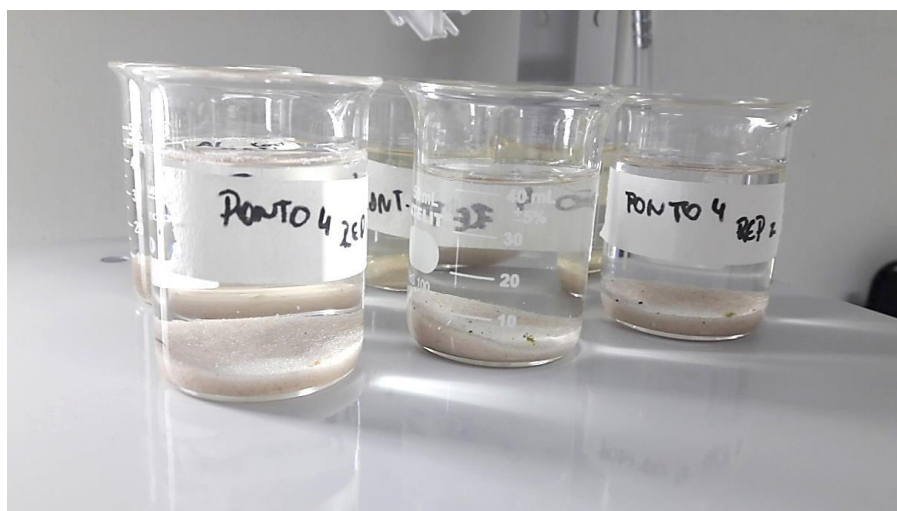
Os organismos-teste *Chironomus xanthus* utilizados, são de culturas mantidas no laboratório de ecotoxicologia da UNIARA. São criados em bandejas plásticas cobertas com gaiolas de nylon para a retenção dos organismos adultos, a temperatura de cultivo é de  $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$  com fotoperíodo de 12 horas e os organismos são alimentados duas vezes por semana com ração comercial *TetraMin*®.

Como processos preliminares aos ensaios foi verificada a existência de desovas nos sistemas de cultivo e, após a seleção de uma desova fecundada, esta foi separada em uma placa de Petri com cerca de 10 mL de água de cultivo e acompanhada diariamente a eclosão dos ovos. O protocolo utilizado para este bioensaio foi o OECD nº 235 – *Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test.

### 3.6. Ensaio de toxicidade aguda com *Allonais inaequalis*

O ensaio de toxicidade aguda com *Allonais inaequalis* foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Corbi, Gorni e Correa (2015) que consiste na exposição de 10 *Allonais inaequalis* em 50 mL de amostra (Figura 8) em conjunto com 5 g de sedimento estéril (areia de aquário) durante o período 96 horas em temperatura de  $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$  com foto período de 12 horas, de forma estática e sem alimentação dos organismos. As amostras foram analisadas em triplicata, o controle do ensaio foi realizado nas condições descritas anteriormente com exposição dos organismos-teste a água de cultivo.

**FIGURA 8: Bioensaio de Ecotoxicidade aguda com *Allonais inaequalis*.**



Fonte: Próprio autor, 2017.

Os organismos-teste utilizados nos bioensaios foram obtidos das culturas do laboratório de ecotoxicologia da UNIARA, estes são cultivados em caixas plásticas em temperatura de  $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ , com foto período de 12 horas e alimentados duas vezes na semana com a ração comercial *TetraMin*®.

### 3.7. Bioensaio de Fitotoxicidade Aguda com *Lactuca sativa*

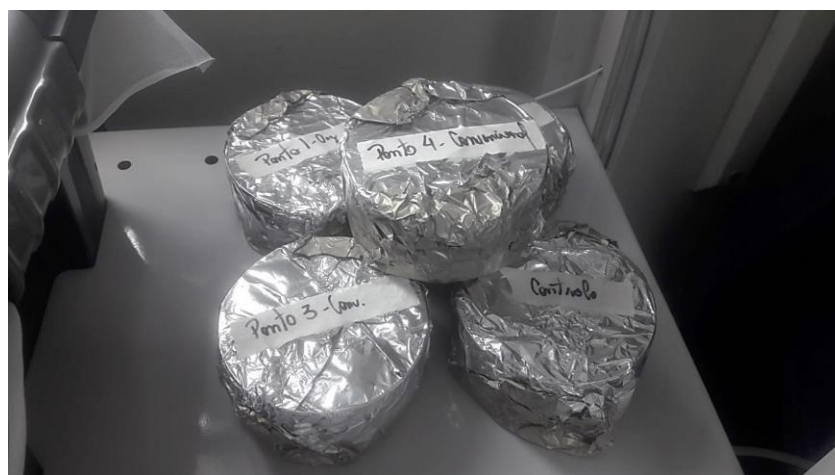
Os bioensaios de fitotoxicidade com sementes de alface (*Lactuca sativa*) foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Sobrero e Ronco (2004). O ensaio consiste na exposição de 20 sementes de alface (Figura 9) em 4 mL de amostra; as sementes são dispostas em placas de Petri estéreis (diâmetro de 90 mm) forradas com papel filtro estéril. O papel filtro é embebido em 4 mL da amostra e embalado com folha de papel de alumínio a fim de manter as placas em ausência de luz (Figura 10), o período do bioensaio é de 120 horas com temperatura de  $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ .

FIGURA 9: Bioensaio de Fitotoxicidade com *Lactuca sativa* – Disposição das sementes na placa.



Fonte: Próprio autor, 2017.

FIGURA 10: Bioensaios de Fitotoxicidade com *Lactuca sativa* – Incubação das amostras.



Fonte: Próprio autor, 2017.



As sementes de alface utilizadas neste trabalho foram da mesma variedade, lote e ausentes de qualquer tipo de tratamento químico.

### 3.8. Determinação da CL<sub>50</sub>

Para a determinação da CL<sub>50</sub> do Roundup® com os organismos *Danio rerio*, *Allonais inaequalis* e *Chironomus xanthus*, foram utilizadas soluções preparadas com Roundup® em água nas seguintes concentrações: 0, 1, 5, 10, 20, 40 e 60 mg L<sup>-1</sup>, enquanto para a determinação com *Lactuca sativa* as concentrações foram : 0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup>.

Os ensaios foram realizados em triplicata totalizando 21 testes e para *Lactuca sativa* um total de 24 testes. Estas concentrações foram selecionadas por meio de dados da literatura de Quaresma, Garcia, Garcia (2008) e Rodrigues (2016), e também com testes preliminares, a fim de se estabelecer um intervalo de concentrações adequado para cada organismo-teste.

Para o controle dos ensaios (concentração 0), foi utilizado água deionizada, seguindo o mesmo procedimento utilizado para as demais concentrações e em triplicata.

Os resultados de CL<sub>50</sub> para o formulado Roundup®, foram calculados com o pacote drc. (Christian Ritz e Jeans Strebig, 2016) no software R versão 3.4.3.

As concentrações determinadas foram compradas com a classificação de Ecotoxicidade Aguda (Tabela 8) proposta por Zucker, 1985.

**TABELA 8: Classificação de Ecotoxicidade Aguda.**

<b>Extremamente tóxico se CL<sub>50</sub> ou CE<sub>50</sub> &lt; 0,1 mg/L<sup>-1</sup></b>
<b>Altamente tóxico se 0,1 &lt; CL<sub>50</sub> ou CE<sub>50</sub> &lt; 1,0 mg/L<sup>-1</sup></b>
<b>Moderadamente tóxico se 1,0 &lt; CL<sub>50</sub> ou CE<sub>50</sub> &lt; 10,0 mg/L<sup>-1</sup></b>
<b>Ligeiramente tóxico se 10,0 &lt; CL<sub>50</sub> ou CE<sub>50</sub> &lt; 100,0 mg/L<sup>-1</sup></b>
<b>Praticamente não tóxico se CL<sub>50</sub> ou CE<sub>50</sub> &gt; 100,0 mg/L<sup>-1</sup></b>

Fonte: Zucker, 1985.

### 3.9. Determinação do Risco Ambiental

O risco ambiental foi avaliado utilizando os valores de CL<sub>50</sub>, determinados para cada organismo, por meio do cálculo descrito por Solomon *et al.* (1996) e Goktepe, Portier, Ahmedna (2004) apresentado a seguir:

$$Q = CAE / CE_{50} \text{ ou } CL_{50}$$

$Q$  = Quociente do Risco de Intoxicação Ambiental

CAE = Concentração ambiental estimada

Para determinação do valor de CAE, foram adotados os critérios hipotéticos baseados na literatura:

- O produto estava uniformemente distribuído pelo espelho d'água de um reservatório de 10.000 m<sup>2</sup>, tal valor hipotético é utilizado pela EPA, para fins de avaliação de risco ambiental (SOLOMON *et al.*, 1996);
- A maior e a menor dose de aplicação do agrotóxico formulado Roundup® Original DI, referente à quantidade de concentração do sal de Isopropilamina de Glifosato por hectare aplicado (g.ia h<sup>-1</sup>); estes dados foram obtidos na bula do produto, sendo: maior dose 5760 g.ia h<sup>-1</sup> utilizado na aplicação contra Taboca (*Guadua angustifolia*) e a menor dose 240 g.ia h<sup>-1</sup> utilizado na aplicação contra o Capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*).
- Foram consideradas as proporções percentuais de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 1,56% da maior e menor dosagem do agrotóxico (ABE, 2012; MEDEIROS, 2012);
- As profundidades utilizadas para o cálculo de CAE foram de 0,3 m e 2 m. O menor valor de profundidade utilizado é referente à faixa na qual é encontrado o plâncton, já a maior profundidade utilizada é padrão da EPA (SOLOMON *et al.*, 1996; GOKTEPE, PORTIER, AHMEDNA, 2004).

Seguindo os critérios descritos acima a fórmula utilizada para o cálculo de CAE foi:

$$CAE = \frac{A \text{ (mg ha}^{-1}\text{)}}{B \times C}$$

A = Dose maior ou menor do produto (g.ia h<sup>-1</sup>);

B = Área do espelho d'água (m<sup>2</sup>);

C = Profundidade (m) (ABE, 2012; MEDEIROS, 2012).

A classificação de *Q* foi estabelecida tendo como base os dados da Tabela 9.

**TABELA 9: Classificação do valor de *Q*.**

<b>Quoeficiente de Risco</b>	<b>Classificação</b>
$Q > 0,5$	Alto Risco
$0,05 \leq Q \leq 0,5$	Médio Risco
$Q < 0,05$	Baixo Risco

Fonte: Goktepe, Portier, Ahmedna, 2004.

### 3.10. Determinação da Toxicidade Relativa

A análise de Toxicidade Relativa foi realizada calculando a porcentagem de mortalidade obtida, para cada organismo-teste nos ensaios de ecotoxicidade, das matrizes de água superficial pela comparação com a escala de Brandolt e Lobo (2010), descrita na Tabela 10, o qual preconiza a toxicidade relativa baseada na % de sobrevivência.

**TABELA 10: Escala de Toxicidade Relativa.**

<b>CE 48/96h</b>	<b>Toxicidade Relativa</b>
< 25%	Extremamente Tóxica
≥ 25 – 50%	Altamente Tóxico
≥ 50 – 75%	Medianamente Tóxica
> 75%	Pouco Tóxica

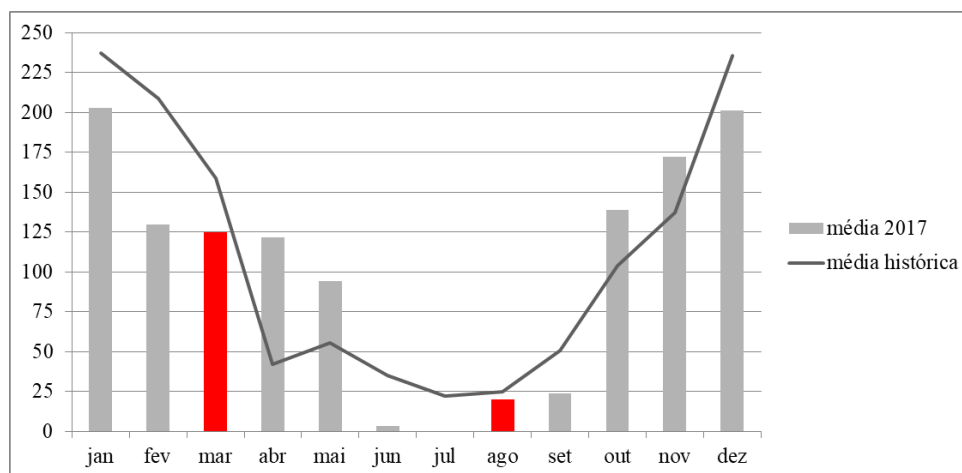
Fonte: Brandolt e Lobo, 2010.

### 3.11. Tratamento estatístico dos dados

Os testes *t student* das médias dos resultados de ecotoxicidade aguda foram calculados com o auxílio do software Paleontological Statistics (PAST) versão 3.18, utilizando as condições comparativas: área de ambiente lântico x área de ambiente lótico e período de seca x período de chuva.

Para a definição do período sazonal entre seca e chuva, os meses relativos às campanhas, foram comparados com os dados pluviométricos retirados do site da Somar Meteorologia e descritos na Figura 11.

**FIGURA 11: Índice pluviométrico do ano de 2017 em Araraquara-SP.**



Fonte: Somar Meteorologia, 2018; DAEE, 2018.

Assim, as campanhas realizadas em março e agosto de 2017, foram consideradas como períodos de chuva e seca, respectivamente.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Parametros determinados em campo

Os parâmetros físico-químicos: Temperatura, Condutividade Elétrica, Oxigênio Dissolvido e pH, foram determinados em campo nas duas campanhas de amostragem realizadas. Os resultados estão descritos nas Tabelas XI e XII.

**TABELA 11: Parâmetros físico-químicos: 1ª campanha.**

<b>1ª Campanha - 25/03/2017</b>				
	<b>Temp.</b> (°C)	<b>Cond.</b> (µS/cm <sup>2</sup> )	<b>OD(mg/L)</b>	<b>pH</b>
<b>Ponto 1</b>	24,28	83,00	<b>2,87</b>	<b>10,33</b>
<b>Ponto 2</b>	25,70	80,00	<b>3,03</b>	<b>10,11</b>
<b>Ponto 3</b>	22,00	63,00	<b>4,82</b>	<b>9,58</b>
<b>Ponto 4</b>	22,02	65,00	6,80	<b>10,50</b>

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2017.

**TABELA 12: Parâmetros físico-químicos: 2ª campanha.**

<b>2ª Campanha - 14/08/2017</b>				
	<b>Temp.</b> (°C)	<b>Cond.</b> (µS/cm <sup>2</sup> )	<b>OD(mg/L)</b>	<b>pH</b>
<b>Ponto 1</b>	21,88	87,00	<b>1,53</b>	7,74
<b>Ponto 2</b>	23,09	<b>231,00</b>	<b>3,08</b>	7,86
<b>Ponto 3</b>	21,28	91,00	5,89	7,87
<b>Ponto 4</b>	20,63	93,00	7,76	7,90

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2017.

A determinação destas variáveis físico-químicas foi utilizada para uma avaliação inicial da qualidade da água e fornece subsídios para a discussão e complementação dos resultados ecotoxicológicos propostos neste trabalho, assim como realizado por Dornfeld (2006).

Com relação a estes parâmetros, a temperatura é um fator importante para o desenvolvimento dos organismos e, durante as duas campanhas, foram determinados valores entre 20 a 25°C, com pequena oscilação entre todos os pontos ao longo das campanhas.

A condutividade depende da concentração de íons presentes na água e, pode ser um indicativo de impactos ambientais, deposição inadequada de resíduos e de acordo com as políticas de avaliação da CETESB, valores observados acima de  $100\mu\text{S}/\text{cm}^2$  indicam impacto no ambiente aquático. Como apresentado nas Tabelas XI e XII, o valor médio de condutividade entre todos os pontos foi da ordem de  $99\mu\text{S}/\text{cm}^2$ . O maior resultado obtido foi no ponto 2 durante a segunda campanha:  $231\mu\text{S}/\text{cm}^2$ . Resultados de condutividade na mesma ordem foram determinados no estudo de Caires (2015), que observou valor médio de condutividade em torno de  $90\mu\text{S}/\text{cm}^2$  nos córregos estudados na área do mesmo assentamento. Estes dados de condutividade apontam impacto nos corpos hídricos estudados, sendo os mais dados mais elevados nos pontos 1 e 2, estas que representam a área de ambiente aquático lântico.

Os valores de pH observados nos pontos durante a primeira campanha situaram-se acima do preconizado pelo CONAMA 357 de 2005 que é de 6,0 a 9,0 sendo o menor valor 9,58 no ponto 3 e o maior valor 10,5 no ponto 4. Na segunda campanha os valores observados estavam em acordo com a resolução. O pH em ecossistemas aquáticos influencia diretamente no funcionamento fisiológico das espécies e, também, na velocidade de degradação de agrotóxicos, como observado no trabalho de Marcondes (2001).

O O.D. é um parâmetro indicador de possíveis impactos como eutrofização e poluição orgânica alóctone. Os valores de O.D. observados neste trabalho, quando comparados com CONAMA 357 de 2005, podem indicar a decomposição de matéria orgânica por microrganismos aeróbios, por exemplo. Nos pontos 1 e 2, foram obtidos os menores valores de O.D., demonstrando a variação existente entre os ambientes aquáticos de estado lântico (águas de movimentos lentos ou estagnado) e lótico (águas continentais correntes) (RUBILAR; UEDA, 2013; CAIRES, 2015).

Esta caracterização físico-química comprova a diferença existente entre os tipos de ambientes aquáticos estudados neste trabalho e fornece base para a discussão e interpretação dos dados obtidos nos bioensaios de ecotoxicidade aguda.

## 4.2. Determinação de Glifosato e AMPA

A determinação de Glifosato e AMPA (Tabela XIII) foi realizada pelo laboratório de análise de água Keller Ambiental. O Glifosato possui alta capacidade de sorção pelo solo, onde é fortemente adsorvido aos coloides e de acordo com Mattos *et al.* (2002). Este agrotóxico é classificado como de persistência média, permanecendo no ambiente entre 30 a 90 dias, dependendo de fatores como: fração mineral do solo, teor de argila, teor de fósforo, teor de matéria orgânica e atividade microbiana, apresenta em sua degradação como principal metabólito o AMPA.

**TABELA 13: Análise de Glifosato e AMPA.**

	1ª Campanha		2ª Campanha	
	Glifosato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	AMPA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Glifosato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	AMPA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
<b>Ponto 01</b>	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.
<b>Ponto 02</b>	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.
<b>Ponto 03</b>	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.
<b>Ponto 04</b>	< L.D.	< L.D.	< L.Q.	< L.Q.

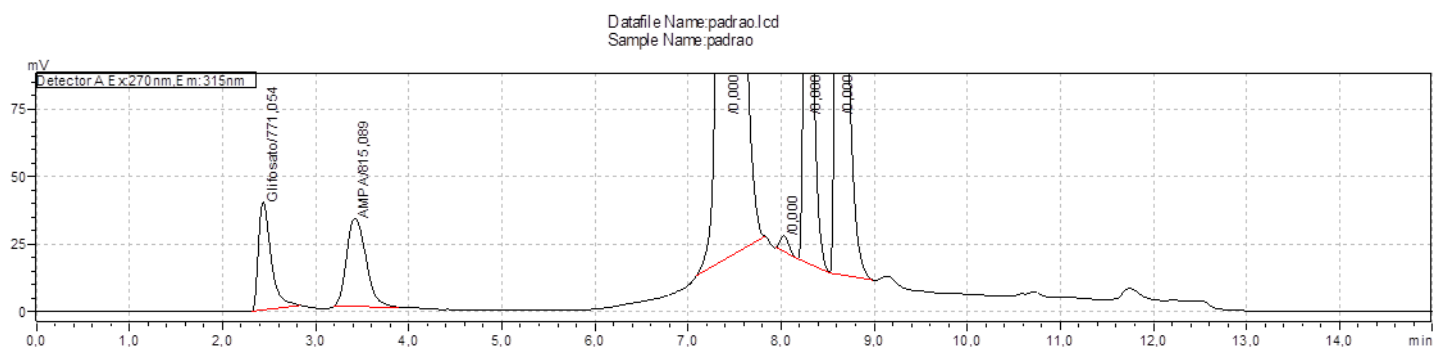
*L.D.* = Limite de Detecção (Glifosato e AMPA =  $5\mu\text{g L}^{-1}$ );

*L.Q.* = Limite de Quantificação (Glifosato =  $50\mu\text{g L}^{-1}$  e AMPA =  $200\mu\text{g L}^{-1}$ ).

**Fonte:** Elaborada pelo próprio autor, 2017.

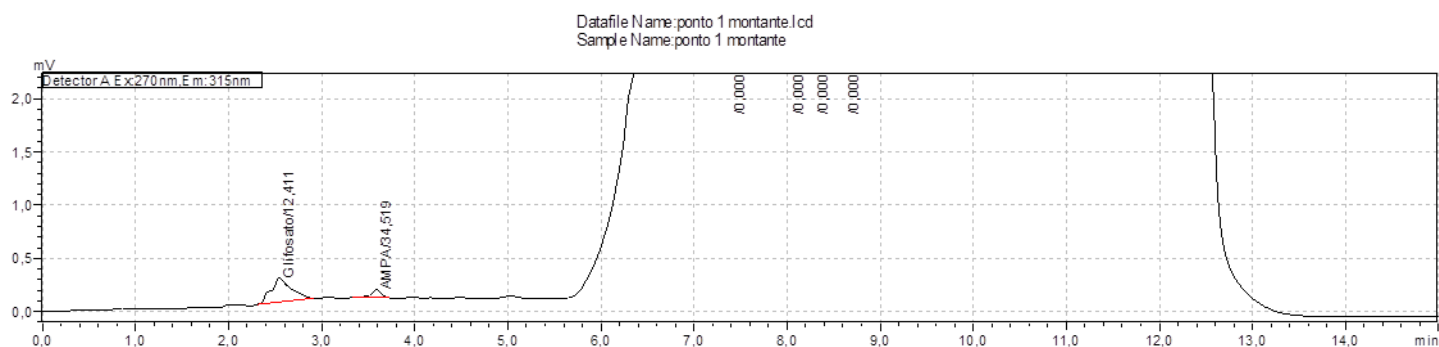
Foi observada a presença destes contaminantes (Figura 12) somente na 2ª campanha, porém em valores inferiores ao L.Q. do método. Silva, Peralba e Mattos (2003) determinaram valores na ordem de 20 a  $30\mu\text{g L}^{-1}$  em 46,7% das amostras de água superficial em seu trabalho, o que corrobora os valores menores do que o L.Q. do método observado neste trabalho. Como pode ser verificado nos cromatogramas das Figuras 13 (soluções padrão de glifosato e AMPA) e Figura XII (amostra), os picos de Glifosato e AMPA observados, durante o processo analítico, representam as concentrações de uma solução padrão de  $200\mu\text{g L}^{-1}$  e de uma amostra da segunda campanha.

**FIGURA 12: Soluções padrão de Glifosato e AMPA.**



Fonte: Keller Ambiental, 2017.

**FIGURA 13: Amostra de água superficial.**



Fonte: Keller Ambiental, 2017.

### 4.3. Resultados de Ecotoxicidade Aguda

Os bioensaios de ecotoxicidade aguda foram realizados com os organismos-teste *Danio rerio*, *Allonais inaequalis* e *Chironomus xanthus* e sementes de *Lactuca sativa*. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 14 em % de mortalidade e de inibição da germinação para a alface, em conjunto com o Erro Padrão associado descrito nos valores entre parênteses.



**TABELA 14: Índice de Mortalidade (%), Ecotoxicidade Aguda e Erro Padrão Associado (n=3).**

<b>1ª Campanha (25/03/2017)</b>				
	<i>Danio rerio</i>	<i>Allonais inaequalis</i>	<i>Chironomus xanthus</i>	<i>Lactuca sativa</i>
<b>Ponto 1</b>	0 (0)	57 (21,9)	80 (5,8)	70 (0,05)
<b>Ponto 2</b>	0 (0)	60 (5,8)	83 (16,7)	28 (0,09)
<b>Ponto 3</b>	0 (0)	43 (3,3)	40 (5,8)	19 (0,08)
<b>Ponto 4</b>	0 (0)	53 (18,6)	37 (16,7)	28 (0,09)
<b>2ª Campanha (14/08/2017)</b>				
	<i>Danio rerio</i>	<i>Allonais inaequalis</i>	<i>Chironomus xanthus</i>	<i>Lactuca sativa</i>
<b>Ponto 1</b>	0 (0)	17 (8,8)	87 (13,3)	31 (1,37)
<b>Ponto 2</b>	0 (0)	33 (6,7)	67 (3,3)	37 (0,58)
<b>Ponto 3</b>	0 (0)	13 (3,3)	80 (15,3)	72 (0,44)
<b>Ponto 4</b>	0 (0)	7 (3,3)	70 (5,8)	39 (1,51)

**Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.**

Não foi observado índice de mortalidade (valores percentuais da ordem de 0%) nos bioensaios com *Danio rerio* em todos os pontos analisados, uma vez que, em relação aos demais organismos utilizados, este é um vertebrado e possui maior volume de massa por indivíduo. Este resultado é corroborado por Caires (2015), que ao avaliar a ecotoxicidade aguda de amostras de nascentes no assentamento Bela Vista do Chibarro obteve resultados similares com peixes. Na literatura, bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* são utilizados em conjunto com análises físico-químicas e também em testes com agrotóxicos formulados como o Roundup® Original DI, realizado por Rodrigues *et al.*, 2016. Cabe ressaltar que estes ensaios são padronizados nos métodos nacionais ABNT NBR 15088 e internacionais OECD 203.

Com relação aos bioensaios com *Allonais inaequalis*, valores médios de índice de mortalidade foram observados na ordem de 53 de 17% na primeira campanha e segunda campanha, respectivamente. Esta diferença de resultados pode ser atribuída à sazonalidade que ocorreu entre as campanhas, sendo que a primeira foi realizada no período de chuvas, o que promove o carreamento de matéria orgânica e outros contaminantes de fontes alóctones para o corpo hídrico, como agrotóxicos, fertilizantes minerais, entre outros. Alcorinte (2015) determinou valores de mortalidade na ordem de 50 a 100%, nos bioensaios com *Allonais inaequalis* em amostras de água e sedimento

na área do assentamento estudado neste trabalho corroborando os dados observados, além de reforçar a sensibilidade destes organismos para bioensaios de ecotoxicidade aguda, como proposto por Corbi, Gorni e Correa (2015).

Entretanto para os bioensaios com *Chironomus xanthus* foram observados valores médios de índice de mortalidade da ordem de 60 e 76% na primeira campanha e na segunda campanha, respectivamente. Dornfeld (2002) discute que espécies de Chironomidae utilizadas como organismos-teste em bioensaios de ecotoxicidade, apresentam diferenças de sensibilidade entre cada *instar*, sendo o primeiro, o mais sensível de acordo com o protocolo da OECD, o que corrobora os maiores índices de mortalidade observados em relação ao *Danio rerio* e *Allonais inaequalis*.

E por fim para a *Lactuca sativa*, foram determinados os resultados de inibição da germinação de 70% no ponto 1 da primeira campanha, enquanto que na segunda campanha para o mesmo ponto, o resultado observado foi de 31%. Analisando todos os dados obtidos para *Lactuca sativa* foi determinado que no ponto 3 da segunda campanha o resultado foi de 72%, sendo que na primeira campanha nesse ponto foi determinado o resultado de 19%, essa variação pode ser relacionada com a sazonalidade entre os períodos de chuva e seca e uma variação similar foi observada nos bioensaios com o *Allonais inaequalis*.

Quando realizada uma análise dos dados comparando os ambientes lântico e lótico, foram observados que na primeira campanha a área de ambiente lântico, apresentou inibição de germinação de 49% e o lótico de 23%, na segunda campanha os resultados observados foram inversos, onde o valor médio de 34% foi observado no ambiente lântico e de 55% no lótico. Entretanto Rodrigues *et al.* (2013) ao determinar a fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento do Córrego do Pântano determinaram que houve uma variação nas amostras de acordo com o volume de chuva, sendo nos períodos de chuva os menores valores de inibição da germinação foram determinados. Esses resultados demonstram que em testes com alface, pode ser observado variação sazonal.

Dornfeld (2006) relata que somente dados obtidos de análises ecotoxicológicas isolados não são suficientes para a realização de uma avaliação de qualidade ambiental de ambientes aquáticos e que a determinação de diferentes parâmetros complementares são importantes para uma avaliação integrada.

Rodrigues (2016) aponta que a utilização de bioensaios para a avaliação ecotoxicológica sobre o ambiente são ferramentas de análise de qualidade de ecossistemas, pois somente as determinações físico-químicas, comumente utilizadas, não distinguem compostos que afetam os sistemas biológicos dos inertes ao meio ambiente, bem como o potencial impacto ambiental destes contaminantes.

Abordando estas questões, o desenvolvimento deste trabalho contemplou a avaliação de parâmetros físico-químicos em conjunto com ensaios ecotoxicológicos em mais de um nível trófico, possibilitando uma abordagem ecológica em nível de comunidade na avaliação de ambientes aquáticos.

Com relação aos testes *t student* (média dos dados de ecotoxicidade aguda) foram realizadas comparações de acordo com a metodologia descrita no item 3.11, sendo constatado que não há variação significativa entre os ambientes lântico e lótico: valores médios de 33,92 a 38% e  $p=0,528$ , respectivamente. Com relação à comparação sazonal, os resultados são similares aos calculados para a comparação entre as áreas: média entre os períodos de seca e chuva 34,52 a 37,4% e  $p=0,657$ , ou seja, independentemente do ambiente estudado ou da sazonalidade, os resultados de ecotoxicidade não apresentam diferença significativa comprovada estatisticamente.

Cabe ressaltar que neste trabalho o delineamento amostral no universo de pesquisa foi extremamente complexo, pois o assentamento rural é composto por um mosaico agrícola com várias culturas e manejos (orgânico e convencional) empregados nos lotes existentes, sem uma separação ou qualquer outro tipo de segregação sistemática, de modo que, as práticas realizadas em um lote não interfiram no outro. Este quadro aumenta a dificuldade de se caracterizar e isolar determinadas áreas para estudo comparativo, pois é grande a probabilidade de contaminação difusa dos recursos hídricos, que são compartilhados entre diversos lotes com diferentes manejos. Portanto a divisão com cercas nos lotes não separa os possíveis impactos gerados nos ambientes aquáticos do assentamento

#### 4.4. Avaliação da Toxicidade Relativa

A avaliação da toxicidade relativa foi realizada calculando a média dos resultados de ecotoxicidade entre todos os organismos-teste utilizados. Os resultados estão descritos na Tabela 15.

TABELA 15: Toxicidade Relativa: Índice de Sobrevivência (%) média entre todos os Organismos-Teste (n=4).

	Lêntico		Lótico		Toxicidade Relativa
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	
1ª Campanha (25/03/2017)	48	57	74	70	M.T.
2ª Campanha (14/08/2017)	66	66	59	71	M.T.
Médias Campanhas	57	61	66	70	M.T.

M.T. = Medianamente Tóxica

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

Foi observado na maioria dos pontos de coleta, independentemente da campanha, que as médias de índice de sobrevivência estão entre 50 a 75%, o que classifica a toxicidade relativa como Medianamente Tóxica; somente no ponto 1, durante a primeira campanha, foi observado um resultado na faixa de Altamente Tóxica (48%). Este padrão de resultados aponta a presença de impacto no corpo hídrico do assentamento estudado. Cabe ressaltar que o assentamento Bela Vista do Chibarro é uma área heterogênea no sentido de que, no entorno das áreas estudadas, existe variedade de manejos empregados: áreas de agricultura orgânica, convencional e de pecuária. Na área do assentamento foi verificada a presença de culturas como: cana-de-açúcar, milho, *Pinus spp.*, soja, banana, entre outras com manejo tradicional (DUVAL *et al.*, 2012).

Esta escala de toxicidade relativa observada ocorre pela contribuição de diversos fatores referentes ao uso e ocupação do solo. Brandolt e Lobo (2010) ao estudarem a toxicidade relativa de água de lavoura de arroz com o organismo-teste *Daphnia magna*, observaram resultados de toxicidade relativa classificada como Pouco Tóxica. Este estudo levou em consideração uma gama de organismos-teste que representassem, em escala ecológica, os níveis de produtores, consumidores primários e secundários, aumentando a complexidade da avaliação ecotoxicológica, além de a área de estudo

possuir características heterogêneas, o que aumenta a possibilidade de contaminação difusa.

Brandolt e Lobo (2010) realizaram seu estudo, pautado em uma espécie e obtiveram dados específicos para o organismo-teste *Daphnia magna*, responde de forma particular aos impactos existentes no ambiente, sendo que ocupa um nível da cadeia trófica, sendo assim, a avaliação ecológica em nível de comunidades (interações ecológicas) não é possível de se observar.

O impacto ambiental sugerido pelos resultados observados na escala de toxicidade relativa é reforçado quando comparados com os resultados físico-químicos descritos no item 4.1 deste trabalho. Tais resultados reforçam a necessidade de ao se avaliar impactos ambientais, estudar diferentes variáveis, pois os resultados ecotoxicológicos são complementares aos obtidos em análises físico-químicas (DORNFELD, 2006).

#### 4.5. Determinação da CL<sub>50</sub> Roundup®

Os bioensaios para determinação da CL<sub>50</sub> do agrotóxico formulado à base de Glifosato o Roundup® da Monsanto, foram realizados para os organismos *Allonais inaequalis*, *Chironomus xanthus*, *Danio rerio* e *Lactuca sativa* seguindo as metodologias descritas nos protocolos utilizados para a determinação da ecotoxicidade aguda (item 4.3).

Os resultados estão descritos na Tabela 16 expressos em mg L<sup>-1</sup> e com classificação de ecotoxicidade aguda de acordo com os critérios do método proposto por Zucker, (1985).

**Tabela 16: Resultados CL<sub>50</sub> Glifosato (Roundup®).**

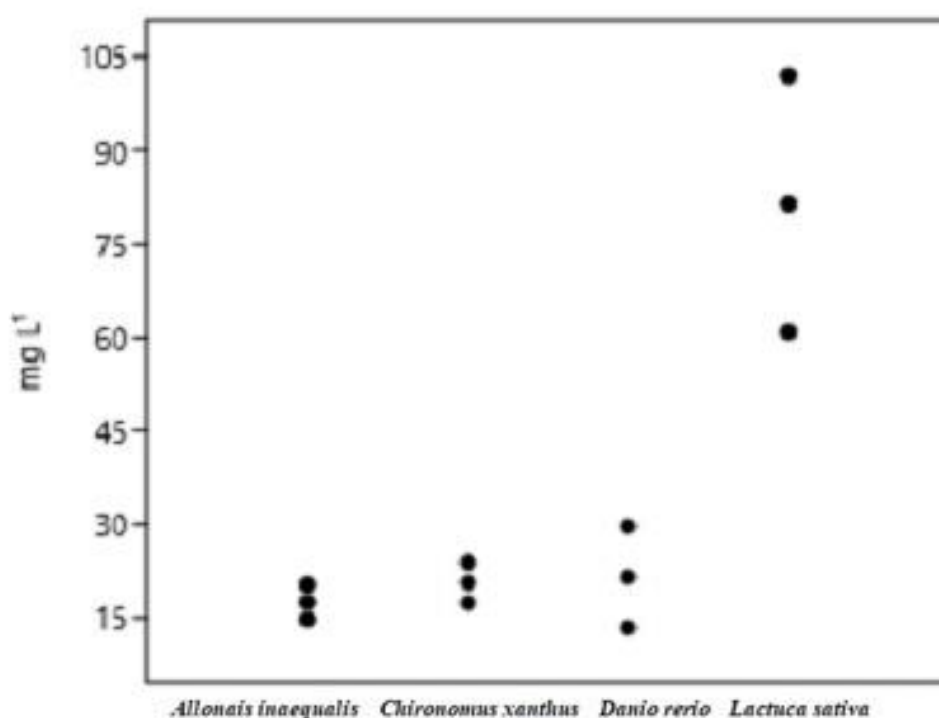
Organismo-teste	CL <sub>50</sub> mg L <sup>-1</sup>	Intervalo de confiança mg L <sup>-1</sup>	Classificação Ecotoxicidade Aguda
<i>Allonais inaequalis</i>	17,54	14,76 - 20,32	Ligeiramente Tóxico
<i>Chironomus xanthus</i>	20,64	17,39 - 23,89	Ligeiramente Tóxico
<i>Danio rerio</i>	21,54	13,40 - 29,67	Ligeiramente Tóxico
<i>Lactuca sativa</i>	81,43	60,88 - 101,97	Ligeiramente Tóxico

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

Dentre os resultados obtidos, o menor valor de  $CL_{50}$  foi determinado no organismo-teste *A. inaequalis* na ordem de  $17,54 \text{ mg L}^{-1}$  e o maior valor nas sementes de *L. sativa* na ordem de  $81,43 \text{ mg L}^{-1}$ , classificando o formulado Roundup® como Ligeiramente Tóxico para ambos os organismo-teste expostos.

Quando comparados os dados entre os organismos aquáticos, exceção das sementes de *L. sativa*, foi observados valores próximos a  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de  $CL_{50}$  (Figura 14).

**FIGURA 14: Resultados  $CL_{50}$  Roundup®.**



Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

Diferente do determinado para *L. sativa*, que respondeu de forma menos sensível em relação aos demais organismos, a classificação toxicológica do Glifosato foi determinada em Ligeiramente Tóxica e quando comparado o valor máximo obtido no intervalo de confiança ( $\alpha=0,05$ ) para alface, o resultado de  $101,97 \text{ mg L}^{-1}$  classifica esse agrotóxico como Praticamente Não Tóxico. Entretanto dados disponíveis na literatura, como os de Rodrigues *et al.* (2016)  $CE_{50}$  de  $60,80 \text{ mg L}^{-1}$  e Arias, Mattos e Peris (2015),  $CE_{50}$  de  $45,96 \text{ mg L}^{-1}$ , obtiveram resultados próximos ao observado para sementes de alface neste trabalho e de mesma classificação toxicológica.

A compilação dos resultados de pesquisas similares descritas na literatura permite a comparação dos valores de  $CL_{50}$  para Roundup®: 28,23 mg L<sup>-1</sup> para *Danio rerio* (RODRIGUES, 2016); 71 mg L<sup>-1</sup> para *Danio rerio* em condições naturais ( ARAUJO, GARCIA E GARCIA 2008); 15,18 mg L<sup>-1</sup> para *Leporinus macrocephalus* ( ALBINATI *et al.*,2007); 21,63, 15,33 e 20,06 mg L<sup>-1</sup> para os peixes *Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio* e *Colossoma macropomum*, respectivamente (MOURA ,2009) e corroboram os valores de  $CL_{50}$  ,determinados neste estudo para este agrotóxico, em peixes.

Pode-se destacar que uma das contribuições deste trabalho para a literatura, refere-se à determinação de  $CL_{50}$  para Roundup® para os organismos-teste *Allonais inaequalis* e *Chironomus xanthus*.

Referente aos dados obtidos neste trabalho cabe ressaltar que de acordo com a monografia da ANVISA para o Glifosato, esta substancia é classificada como pouco tóxica e seu formulado o Roundup, neste trabalho, foi determinado como ligeiramente tóxico, porém ao se analisar a tabela de classificar proposta por Zucker (1985) qualquer substancia que apresente  $CL_{50}$  acima de 10 mg L<sup>-1</sup> é considerada de baixa toxicidade.

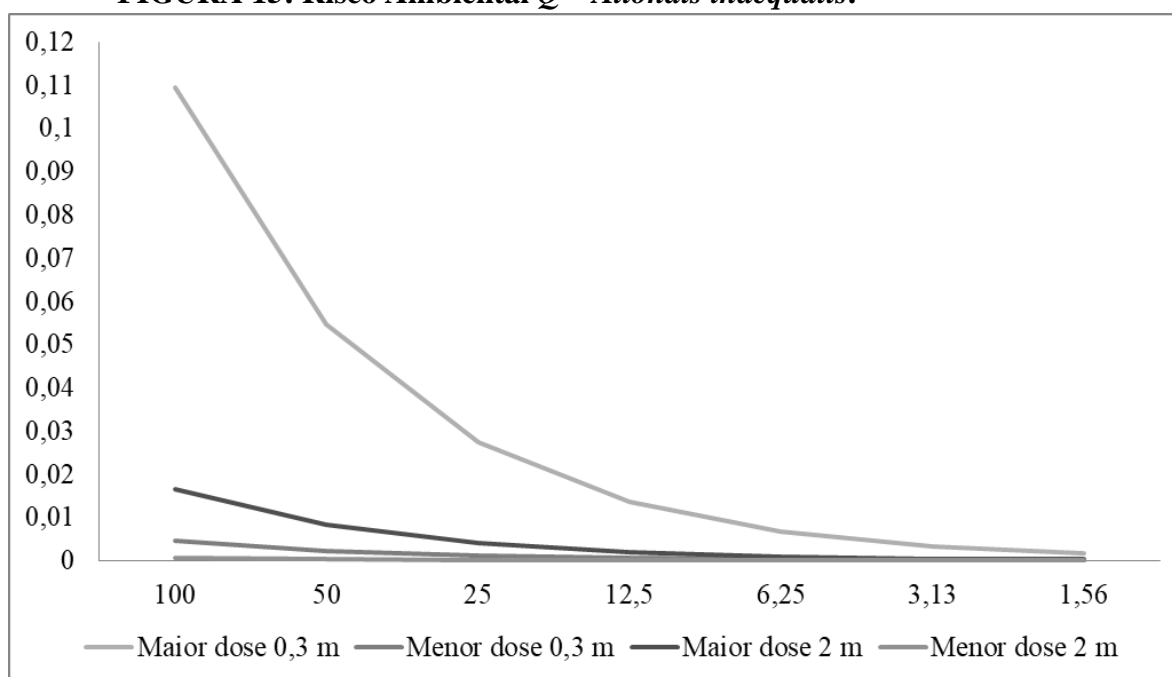
Levando em consideração os valores de  $CL_{50}$  determinados neste trabalho há uma diferença de quase dez vezes a mais de concentração letal entre o organismo-teste mais sensível (*Allonais inaequalis*) do menos sensível (*Lactuca sativa*), com isso, cabe questionar se o volume de agrotóxico dispersado no campo não extrapola os limites o qual os organismos aquáticos resistem, bem como deve ser levado em consideração que, substancias como o Glifosato, em água, se degradam facilmente, principalmente em climas tropicais como o do Brasil. Portanto, estudos que avaliem os efeitos ecotoxicológicos dos produtos de degradação dos agrotóxicos(Glifosato – AMPA), bem os efeitos a longo prazo (ecotoxicidade crônica), se fazem necessários para o entendimento dos impactos ecológicos causados em ambientes aquáticos pelo uso de agrotóxicos.

#### 4.6. Avaliação de Risco Ambiental

Em ambientes aquáticos a exposição dos organismos aos impactos ambientais pode afetar diversos parâmetros do equilíbrio ecológico, como ausência de reprodução, deformidades no crescimento, bioacumulação na cadeia trófica, entre outros fatores de *stress*. A fim de se prever esses agravos aos organismos aquáticos, a avaliação de risco ambiental é um método alternativo, que complementa os bioensaios ecotoxicológicos e auxilia a gestão ambiental (ABE, 2012; MEDEIROS, 2008; MOURA, 2009).

A análise de risco ambiental foi realizada pelo cálculo do coeficiente de risco ( $Q$ ) de acordo com a metodologia descrita no item 3.9 deste trabalho. Os resultados obtidos da CAE (concentração ambiental efetiva) e  $Q$  estão descritos nas Figuras 15, 16, 17, 18 e 19 e as Tabelas com os cálculos realizados estão descritas no Apêndice 2.

**FIGURA 15: Risco Ambiental  $Q$  – *Allonais inaequalis*.**

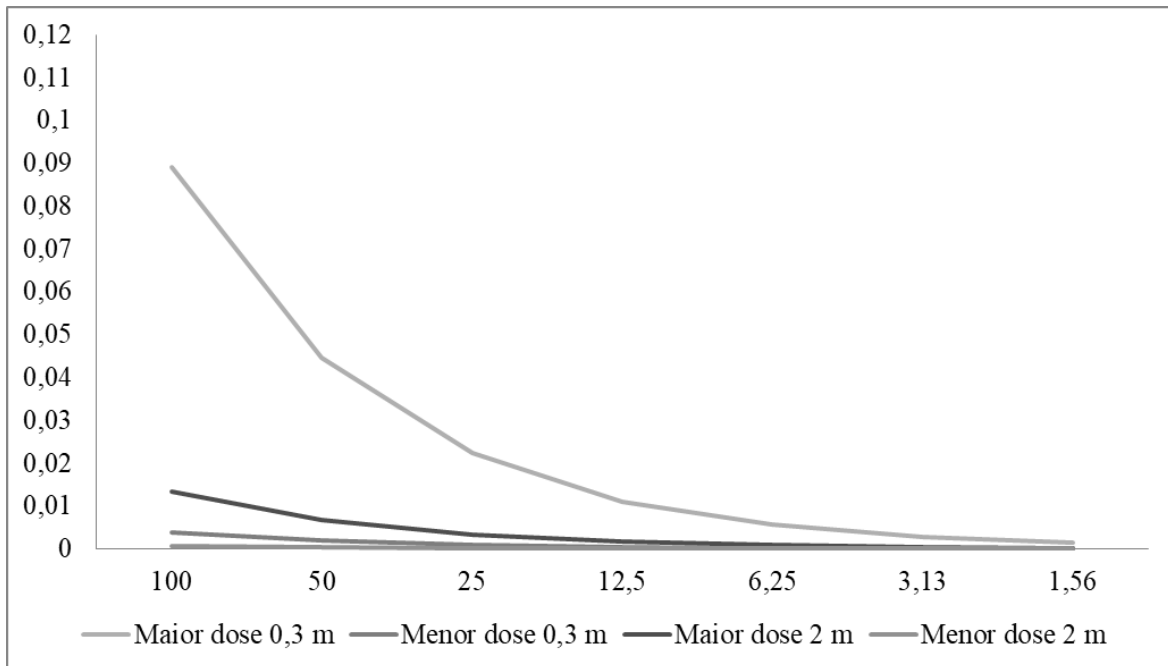


Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

Para *Allonais inaequalis*, o risco ambiental médio, foi determinado para as hipóteses de aplicação de 5760 e 2880 g.ia h<sup>-1</sup> de Glifosato, sendo considerada a profundidade de 0,3 metros, para as demais hipóteses testadas foi observado baixo risco ambiental.



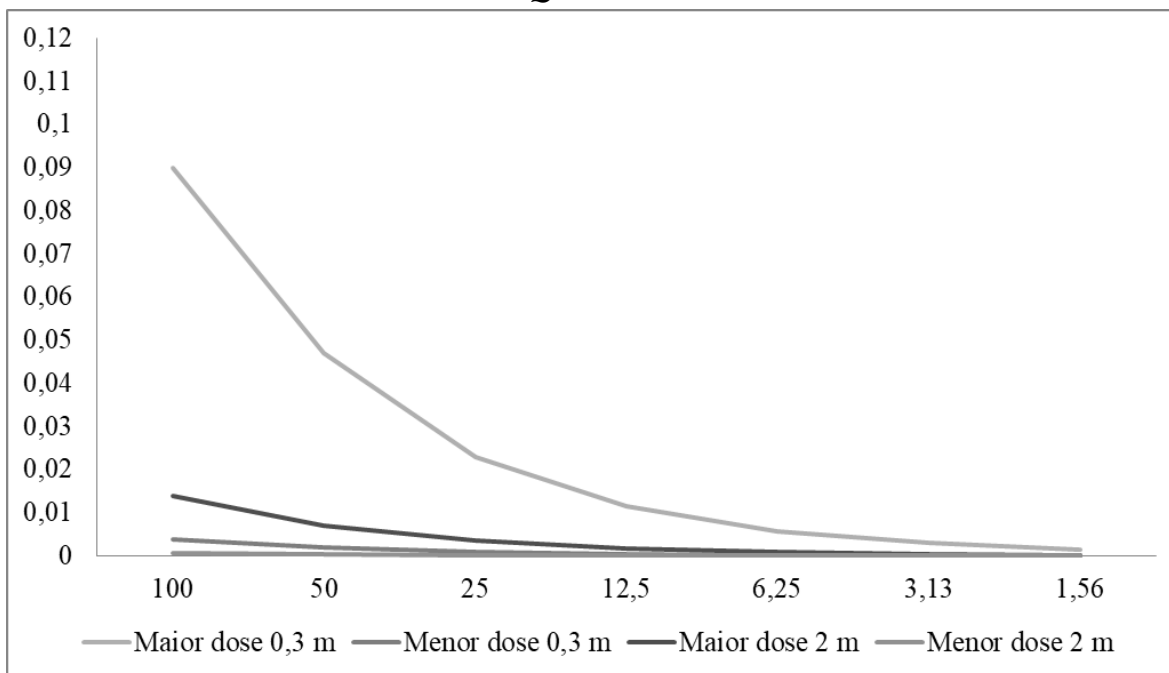
**FIGURA 16: Risco Ambiental  $Q$  – *Chironomus xanthus*.**



**Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.**

Entretanto o risco ambiental médio para *Chironomus xanthus*, foi observado apenas na hipótese de aplicação de  $5760 \text{ g.ia h}^{-1}$  de Glifosato na profundidade de 0,3 metros, para as demais hipóteses testadas foi observado baixo risco ambiental.

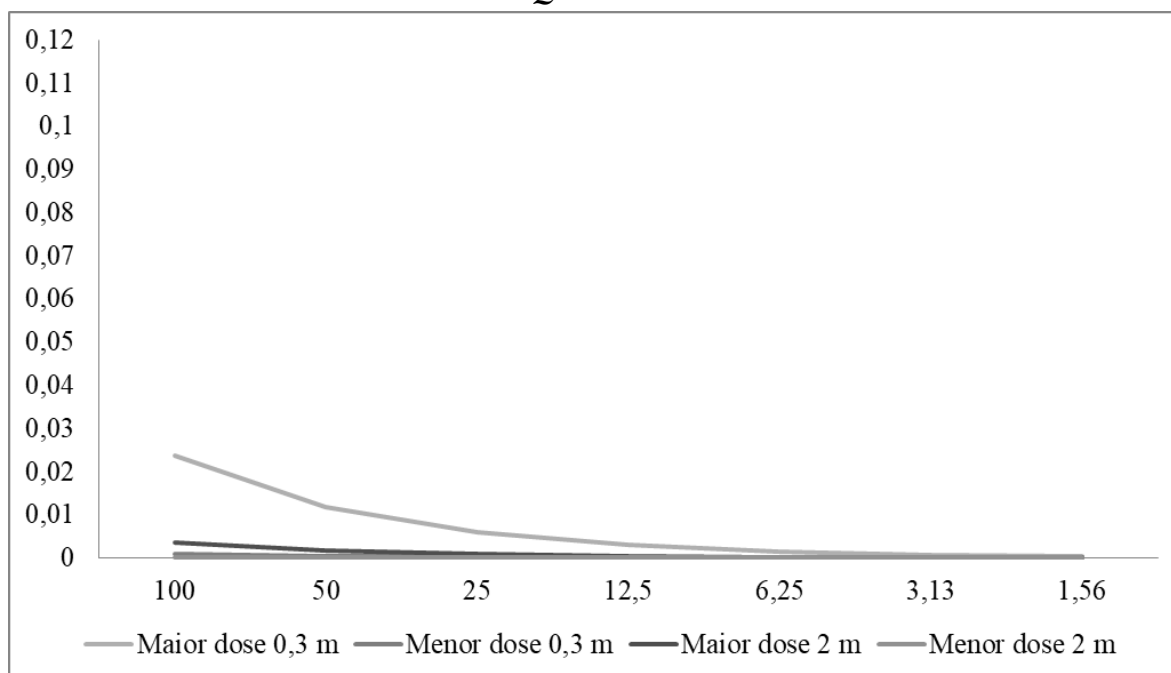
**FIGURA 17: Risco Ambiental  $Q$  – *Danio rerio*.**



**Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.**

Para o peixe *Danio rerio*, foi observado um quadro de risco ambiental semelhante ao do *Chironomus xanthus*, pois como para o cálculo de  $Q$  é utilizado o valor de  $CL_{50}$ , estes organismos apresentaram respostas muito próximas de concentração letal.

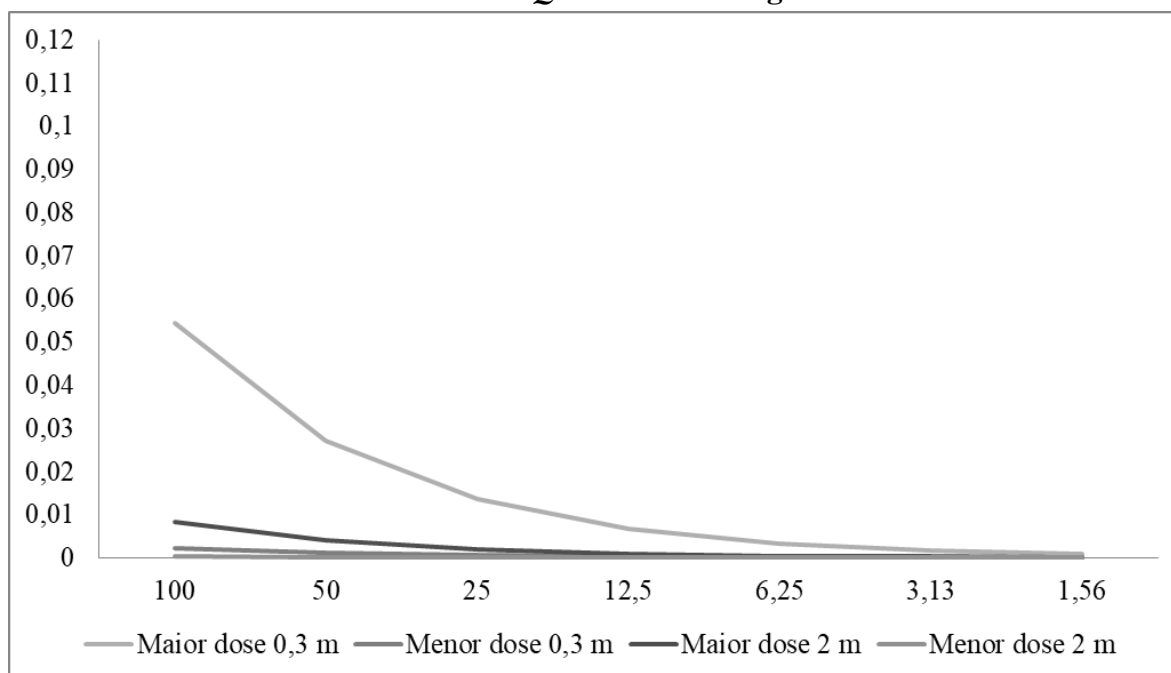
**FIGURA 18: Risco Ambiental  $Q$  – *Lactuca sativa*.**



**Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.**

Porém para *Lactuca sativa*, dentre todas as hipóteses testadas, foi determinado baixo risco ambiental, isso, pois em comparação a  $CL_{50}$ , a alface foi o organismo menos sensível ao Glifosato, porém sua classificação toxicológica dentre os organismos-teste, utilizados neste trabalho foi à mesma, **Ligeiramente Tóxico**.

**FIGURA 19: Risco Ambiental  $Q$  – Média dos organismos.**



Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

Em uma avaliação individual do Risco Ambiental para os organismos, foi observado que os resultados de  $Q$  variam de baixo a médio risco, sendo os maiores valores, observados para o organismo *Allonais, inaequalis*, o qual apresentou em determinação laboratorial a menor  $CL_{50}$  para Roundup®. Quando compilados todos os dados de risco ambiental, com os organismos-teste utilizados neste trabalho, foi determinado para a hipótese de aplicação de  $5760 \text{ g.ia h}^{-1}$  (100% da maior dose) de Glifosato apresenta Médio Risco.

Moura (2009) estudando tres especies diferentes de peixes (Carpa-comun, Tilapia do Nilo e Tambaqui), determinou a  $CL_{50}$  para o agrotóxico Roundup® e o Risco Ambiental obtendo  $CL^{50}$  de  $15,33 \text{ mg L}^{-1}$  (Carpa-comun),  $20,06 \text{ mg L}^{-1}$  (Tambaqui) e  $21,63 \text{ mg L}^{-1}$  (Tilapia do Nilo). Relatou também, comportamentos diferenciados dos peixes expostos ao agrotóxico em comparação ao controle do teste. Com relação ao risco ambiental, observou resultados similares aos determinados neste trabalho para *Danio rerio*.

Abe (2012) em seu estudo de risco ambiental do agrotóxico Diflubenzuron (DFB) com diferentes organismos, determinou que para o organismo-teste *L. Minor* (produtor primário) o risco ambiental foi Baixo e para o agrotóxico organofosforado

Temefós (organofosforado) foi Risco Medio.

Abe (2012), Medeiros (2008) e Souza (2008), ao determinar a ecotoxicidade aguda e o risco ambiental de agrotóxicos com diferentes organismos, entre eles: *Daphnia magna*, *Lemna minor* e *Poecilia reticulata*, observaram um padrão de respostas aos organismos invertebrados, sendo estes os que apresentam menores valores de CL<sub>50</sub>, ao contrário do observado nos estudos com peixes, algas e vegetais, tal padrão de determinações, foram observados neste trabalho.

Contudo a determinação de risco ambiental é realizada de forma hipotética e generalista, levando em consideração apenas a determinação laboratorial da concentração letal da substância em estudo, fatores como, clima, temperatura da água, potencial de degradação e toxicidade dos subprodutos, necessitam ser levadas em consideração, a fim de aproximar a classificação de risco da realidade do ambiente estudado.

## 5. CONCLUSÕES

Com as determinações físico-químicas, pH e Condutividade Elétrica, é possível inferir impacto na qualidade dos ambientes aquáticos estudados, independentemente da característica lântica ou lótica da área.

Por meio de uma análise qualitativa das amostras de água foi detectada a presença de Glifosato e AMPA, pois, como discutido neste trabalho, a determinação destas substâncias em amostras ambientais são complexas, e por isso a utilização de métodos como a Ecotoxicologia se faz necessária para a obtenção de subsídios, promovendo políticas públicas de gestão ambiental.

Os dados ecotoxicológicos obtidos demonstraram que, os organismos-teste de menor nível trófico (*A. inaequalis*, *C. xanthus* e *L. sativa*), responderam em efeito agudo, enquanto o de maior nível trófico, o peixe *Danio rerio*, não respondeu de forma aguda.

Foi realizada uma comparação entre os resultados de ecotoxicidade aguda e a escala de toxicidade relativa, utilizada por Brandolt e Lobo (2010), onde foi observado que os ambientes aquáticos estudados neste trabalho são Medianamente Tóxicos; complementando assim as hipóteses de impacto levantadas pelas determinações físico-químicas.

Realizando o conjunto de análises utilizadas neste trabalho para a avaliação da qualidade da água, foi sustentada a afirmação de Dornfeld (2006) de que as análises físico-químicas são um complemento a Ecotoxicologia.

Na determinação da  $CL_{50}$  do Roundup® foi observado que, independente do organismo-teste, a classificação toxicológica foi Ligeiramente Tóxico, faixa o qual compreende resultados de  $CL_{50}$  entre 10 a 100 mg L<sup>-1</sup>. Porém uma faixa de variação de dez vezes cabe uma reflexão, pois um organismo que apresenta intoxicação com 17 mg L<sup>-1</sup> e outro com 85 mg L<sup>-1</sup> são diferentes quanto a sensibilidade ao contaminante, e tomar decisões de mitigação com base em uma escala ampla pode induzir a equívocos.

Os resultados obtidos na determinação da  $CL_{50}$  corroboram dados disponíveis na literatura para *Danio rerio*, já para os organismos *Allonais inaequalis* e *Chironomus xanthus* este trabalho trás dados inéditos. Para *Lactuca sativa* os dados obtidos abrem questionamentos quanto à padronização do bioensaio, pois não é levada em consideração a variação da espécie de alface quando comparado os dados da literatura

com o determinado neste trabalho, a variação observada diverge entre a classificação toxicológica do agrotóxico.

As análises de Risco Ambiental do Glifosato apresentaram resultados entre Baixo e Médio Risco, dependendo das variáveis utilizadas para o cálculo do coeficiente de risco ( $Q$ ), pois o Risco Ambiental é determinado a partir da  $CL_{50}$ . Como neste trabalho foram utilizados organismos que forneceram dados da  $CL_{50}$  diferentes (Faixa de 10 a 100 mg L<sup>-1</sup>), o Risco Ambiental variou em nível de classificação, ao contrário do observado na análise de ecotoxicidade aguda, em que os dados obtidos classificam o agrotóxico na mesma faixa para todos os organismos-teste utilizados.

Em resumo, os dados obtidos neste trabalho apontam impacto no corpo hídrico estudado independentemente das características das áreas (lêntico e lótico); os resultados determinados para Ecotoxicidade Aguda ( $CL_{50}$  Roundup®) e Risco Ambiental ( $Q$ ), demonstraram que a utilização destes métodos na avaliação ambiental de agrotóxicos geram subsídios para questionar se a classificação toxicológica descrita nas embalagens, condiz com o determinado neste experimento que contempla não somente o princípio ativo, mas também o produto formulado.

As conclusões obtidas neste trabalho abrem possibilidades para estudos que abordem assuntos como: utilização do organismo-teste *Danio rerio* sobre efeitos de ecotoxicidade crônica, análises de bioacumulação de contaminantes na cadeia trófica e avaliações ecotoxicológicas para os produtos de degradação de agrotóxicos, como por exemplo, o AMPA.

## REFERÊNCIAS

- ABE, F. R. **Avaliação ecotoxicológica e risco ambiental dos inseticidas usados no controle de larva de *Aedes aegypti* para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e Peixes.** Dissertação (Mestrado em Aquicultura) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012;
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA).** Brasília, 2008;
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. **Índice monográfico G01 - Glifosato.** Brasília, 2015;
- ALCORINTE, M. G. **Avaliação ecotoxicológica de nascentes localizadas no assentamento Bela Vista do Chibarro (Araraquara, SP).** 27 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade de Araraquara, Araraquara, 2015;
- ALLEGRETTI, M. A construção social de políticas públicas. Chico Mendes e o movimento dos seringueiros. **Revista Desenvolvimento e Meio Ambiente.** Curitiba, n. 18, p. 39-59, jul/dez. 2008;
- ALENCAR, G. V. *et al.* Percepção Ambiental e uso do Solo por Agricultores de Sistemas Orgânicos e Convencionais na Chapada da Ibiapaba, Ceará. **Revista de Economia e Sociologia Rural.** Piracicaba, v. 51, n. 2, p 217-236, abr/jun. 2013;
- ALVES, C. T. TESDESCO, J. C. A revolução verde e a modernização agrícola na mesorregião nordeste do Rio Grande do Sul – 1960/1970. **Teoria e Evidência Econômica.** Rio Grande do Sul, ano. 21, n. 45, p 257-281, jul/dez. 2015;
- AMARAL, D. T. FERRANTE, V. L. S. B. Assentamentos rurais e desenvolvimento local: produção comercial de cana em parcerias com a agroindústria. **Raízes.** Campina Grande, v. 26, n. 1 e 2, p 101-112, jan./ dez. 2007;
- AMARANTE JUNIOR, O. P. *et al.* Glifosato: propriedades, toxicidade, uso e legislação. **Química Nova.** São Paulo, v. 25, n. 4, p 589-593, jan. 2002;
- ANDRÉA, M. M. *et al.* Glyphosate: Influência na bioatividade do solo e ação de minhocas sobre a sua dissipação em terra agrícola. **Revista Planta Daninha.** Viçosa, Minas Gerais, v. 22, n. 1, p 95-100, jan/dez. 2004;
- BELO, M. S. S. P. *et al.* Uso de agrotóxicos na produção de soja do estado do Mato Grosso: um estudo preliminar de riscos ocupacionais e ambientais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional.** São Paulo, v. 37, n. 125, p 78-88, mar. 2012;
- BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia.** São Paulo: FFLCH - USP, 2017. 296 p;



BRANDOLT, T. D. LOBO, E. A. Avaliação ecotoxicológica utilizando bioensaios com *Daphnia magna* em água de lavoura de arroz no município de Mostardas, RS, Brasil. **Revista Tecno-Lógica**. Santa Cruz do Sul, v. 14, n. 2, p. 47-51, jul/dez. 2010;

BRASIL. **Decreto nº 6.323, de 27 de Dezembro de 2007**. Brasília, 2007. 26 p;

BRASIL. **Decreto nº 4.074 de Janeiro de 2002**. Brasília, 2002. 8 p;

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA nº 35, de 08 de Setembro de 2017**: Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. Brasília: MAPA, 2017. 52 p;

BRASIL. Senado Federal. **Constituição da República Federativa do Brasil**: texto constitucional promulgado em 5 de outubro de 1988, com as alterações determinadas pelas Emendas Constitucionais de Revisão nos 1 a 6/94, pelas Emendas Constitucionais nos 1/92 a 91/2016 e pelo Decreto Legislativo no 186/2008. Brasília: Senado Federal, Coordenação de Edições Técnicas, 2016. 496 p.

CAIRES, C. E. M. **Avaliação de nascentes do assentamento Bela Vista do Chibarro (Araraquara-SP) por bioensaios com *Poecilia reticulata* (Teleostei, Poeciliidae)**. 41 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade de Araraquara, Araraquara, 2015;

CALHEIROS, D. F. DORES, E. F. G. OLIVEIRA, M. D. Poluição por pesticidas, nutrientes e material em suspensão nos rios formadores do Pantanal mato-grossense. **Artigo de Divulgação na Mídia, Embrapa Pantanal**. Corumbá, n. 96, p 1-4, mar. 2006;

CARVALHO, J. C. B. ORSINE, J. V. C. Contaminação do meio ambiente por fontes diversas e os agravos à saúde da população. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**. Goiânia, v. 7, n. 13, p 1107-1118, nov. 2011;

CASSAL, V. B. *et al.* Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Digital**. Santa Maria, v. 18, n. 1, p 437-445, abr. 2014;

CAUBLE, K. WAGNER, R. S. Sublethal Effects of the Herbicide Glyphosate on Amphibian Metamorphosis and Development. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. Washington, v. 75, p 429-435, set. 2005;

**CHEMICAL BOOK**. Disponível em [https://www.chemicalbook.com/ProductList\\_En.aspx?kwd=1066-51-9](https://www.chemicalbook.com/ProductList_En.aspx?kwd=1066-51-9) acesso em 30 de jun. 2017;

CHIQUETTI, S. C. **Deteção de metamidofós em solos por métodos ecotoxicológico e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS)**. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013;

CORBI, J. J. GORNI, G. R. CORREA, R. C. An evaluation of *Allonais inaequalis* Stephenson, 1911 (Oligochaeta: Naididae) as a toxicity test organism. **Ecotoxicological Environmental Contamination**, v. 10, n. 1, p.7-11, 2015;

COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e método de avaliação. **Química Nova**. São Paulo, v. 31, n. 7, p 1820-1830, set. 2008;

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. **Química Nova**. São Paulo, v. 24, n. 1, p 27-36, jan. 2001;

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaios de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP)**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002;

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises *Chironomus* sp (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006;

DOU, J. *et al.* Potencial genotoxicity and risk assessment of a chlorinated flame retardant, Dechlorane Plus. **Chemosphere**. p 1-5, dez. 2014;

DUVAL, H. C. Sistemas produtivos em perspectiva comparada nos assentamentos das regiões central e leste. **Retratos de Assentamentos**. Araraquara, v. 15, n. 1, p 1-43, jan/jun. 2012;

EHLERS, E. M. **O que se entende por agricultura sustentável?** Dissertação (Mestrado em Ciência Ambiental). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994;

**ELETRONIC CODE OF FEDERAL REGULATIONS**. Disponível em <[https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=2c85909360c7c5aff63ddd1447545d6a&mc=true&node=se40.24.180\\_1364&rgn=div8](https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=2c85909360c7c5aff63ddd1447545d6a&mc=true&node=se40.24.180_1364&rgn=div8)> acesso em 15 de abr. 2018;

**EUROPE UNION PESTICIDES DATABASE**. Disponível em <<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.CurrentMRL&language=EN&pestResidueId=120>> acesso em 15 de abr. 2018;

FRABRINI, J. E. **Os Assentamentos de Trabalhadores Rurais Sem Terra do Centro-Oeste/PR Enquanto Território de Resistência Camponesa**. Tese (Doutorado em Geografia). Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2002;

FARIAS, A. B. E. O papel da agricultura familiar para a diversificação e valorização da produção de alimentos pós revolução verde no Brasil. **Revista de Direito Agrário e Agroambiental**. Minas Gerais, v. 1, n. 2, p 75-90, jan/dez. 2015;

FERNANDES, Cátia Marisa Moura. **Aplicação de técnicas analíticas para detecção de resíduos de pesticidas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química). Instituto Politécnico de Tomar, Tomar, 2014;

FERRANTE, V. L. S. B. BARONE, L. A. DUVAL, H. C. O final de um ciclo? Reflexões sobre assentamentos rurais no estado de São Paulo. **Revista Espaço de Diálogo e Desconexão**. Araraquara, v. 5, n. 1, p 72-99, dez. 2012;

FRANZ, A. LINK, D. Um olhar sobre a utilização de agrotóxicos no município de novo barreiro/rs, através do projeto de educação ambiental, aplicado nas séries finas do ensino fundamental na escola municipal de ensino fundamental Zeferino Brasil. **Monografias Ambientais**. Santa Maria, Rio Grande do Sul, n. 4, p 672-695, jan/dez. 2011;

FROESE, R. *Danio rerio* (Hamilton, 1822). **Fishbase**. Disponível em <<http://www.fishbase.org/summary/4653>> acesso em 28 de mai. 2017;

GOKTEPE, I. PORTIER, R. AHMEDNA, M. Ecological Risk Assessment of Neem-Based Pesticides. **Journal of Environmental Science and Health**. v. B39, n. 2, p 311-320, 2004;

HAMADA, N. **Ensaio de toxicidade empregados na avaliação de efeitos no sistema de tratamento de esgotos e efluentes, ETE Suzano, e seu entorno, utilizando organismos aquáticos**. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008;

INCRA. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária. **História de Reforma Agrária**. Disponível em <<http://www.incra.gov.br/reformaagrariahistoria>>, acessado em 24 de abr. 2018;

LOPES, M. M. *et al.* Dilemas da dimensão ambiental nos assentamentos rurais: percepção e práticas ambientais. **Revista Brasileira de Educação Ambiental**. São Paulo, v. 10, n. 2, p 301-317, jun. 2015;

LOURENCETTI, Carolina. **Herbicidas mais empregados no cultivo de cana-de-açúcar no município de Araraquara (SP): Desenvolvimento e validação de método de quantificação e avaliação do potencial de lixiviação em solo argiloso e arenoso (área de recarga do sistema Aquífero Guarani)**. Tese (Doutorado em Química). Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006;

MATTOS, M. L. T. *et al.* Monitoramento ambiental do glifosato e seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. Curitiba, v. 12, p 145-154, jan/dez. 2002;

MARCONDES, M. A. **Influência de aplicações de pesticidas na degradação do herbicida C-2,4-D em diferentes solos**. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear – Aplicação). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2001;

MEDEIROS, L. S. **Toxicidade aguda e risco ambiental do inseticida Tefluberzuron para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e *Poecilia reticulata***. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008;

MONQUERO, P. A. Plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas. **Revista Bragantia**. Campinas, v. 64, n. 4, p 517-531, jan/dez. 2005;

MOURA, E. E. S. **Determinação da toxicidade aguda e caracterização de risco ambiental do herbicida Roundup (Glifosato) sobre três espécies de peixes**. Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009;

OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. **Fish, Acute Toxicity Test - 203**. Paris. 1992;

OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. ***Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test - 235**. Paris. 2011;

PERES, F. MOREIRA, J.C. DUBOIS, G. S. Parte I – Agrotóxicos, saúde e ambiente: panorama atual e dilemas. In: PERES, F. MOREIRA, J.C. **É Veneno ou Remédio?** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2003. p. 21-42;

PINHEIRO, A. MORAES, J. C. S. SILVA, M. R. Pesticidas no perfil de solos em áreas de plantação de cebolas em Ituporanga, SC. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 5, p. 533-538, 2011.

POSSAVATZ, J. *et al.* Resíduos de pesticidas em sedimento de fundo de rio na Bacia Hidrográfica do Rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Ambiente e Água**. Taubaté, v. 9, n. 1, p 83-96, mar. 2014;

PUGLIESE, L. **Segurança alimentar dos agricultores assentados no território de Araraquara / SP: Uma análise a partir do índice UFSCAR e das efetividades do programa de aquisição de alimentos (PAA)**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente). Universidade de Araraquara, Araraquara, 2016;

PUSCEDDU, F. H. *et al.* Environmental risk assessment of freshwater sediments contaminated with triclosan. **Ecotoxicological Environmental Contamination**. v. 12, n. 1, jan. 2017;

QUARESMA, C. C. GARCIA, M. V. B. GARCIA, T. B. Toxicidade aguda do herbicida glifosato 480 Agripec® para Danio rerio em condições tropicais. **Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus, p 26-35, mar. 2008;

RAMIREZ, E. G. *et al.* Efecto de dosis subletalis de un herbicida comercial en el sistema nervioso de alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). **Orinoquia Suplemento**. Colombia, v. 16, n. 2, 2012;

RIBEIRO, M. L. *et al.* Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**. São Paulo, v. 30, n. 3, p 688-694, jan. 2007;

RODRIGUES, L. B. **Efeitos ecotoxicológicos do glifosato e formulações em diferentes organismos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016;

RODRIGUES, L. C. A. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento do córrego urbano em bioensaios com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 17, n. 10, p 1099-1108, jul. 2013;

RUBILAR, C. S.; UEDA, A. C. Análise físico-química de águas do município de Apucarana – PR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 3, 2013, Salvador. **IV Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Salvador: IBEAS, 16 p. 2013;

SANTOS, J. O. *et al.* A evolução da agricultura. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental GVAA Grupo Verde de Agroecologia e Abelhas**. Pombal, v. 6, n. 1, p 35-41, jan/dez. 2012;

SANTOS, C. B. *et al.* Ecological modelling and toxicity data coupled to assess population recovery of marine amphipod *Gammarus locusta*: Application to disturbance by chronic exposure to aniline. **Aquatic Toxicology**. v. 163, p 60-70, mar. 2015;

SAMSEL, A. SENEFF, S. Glyphosate's Suppression of Cytochrome P450 Enzymes and Amino Acid Biosynthesis by the Gut Microbiome: Pathways to Modern Diseases. **Entropy**. Albany, v. 15, p 1416-1463, abr. 2013;

SILVA, A. M. R. C. **Análise ambiental do assentamento Bela Vista do Chibarro (Araraquara-SP): Legislação incidente, uso e ocupação do solo e percepção ambiental**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente). Universidade de Araraquara, Araraquara, 2011;

SILVA, M. D. PERALBA, M. C. R. MATTOS, M. L. T. Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. Curitiba, v. 13, p 19-28, jan/dez. 2003;

SOBRERO, M. C. RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda com semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones.** Canadá, p 55-67, 2004;

SOUZA, J. P. **Toxicidade aguda e risco ambiental do diflubenzuron para *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Lemna minor* na ausência e presença do sedimento. Dissertação (Mestrado em Aquicultura).** Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008;

SOLOMON, K. R. *et al.* Ecological risk assessment of atrazine in North America surface waters. **Environmental Toxicology and Chemistry.** Estados Unidos, v. 15, n. 1, p 31-76, 1996;

THE PESTICIDE MANUAL: a world compendium. **Alton: British Crop Protection Council,** 2009. v. 15, p. 1457;

ULZURRUN, P. D. LEADEN, M. I. Análisis de la sensibilidad de biotipos de *Lolium multiflorum* a herbicidas inhibidores de la enzima ALS, ACCasa y Glifosato. **Planta Daninha.** Viçosa, v. 30, n. 3, p 667-673, 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Prevention, Pesticides and Toxic Substances – R.E.D. Facts Glyphosate.** Washington. 1993;

URBAN, D.J.; COOK, N.J. Hazard Evaluation Division - **Standard Evaluation Procedure Ecological risk assessment.** Washington. 1986;

VARGAS, L. ROMAN, E. S. Resistencia de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução. **Artigo de Divulgação na Mídia, Embrapa Trigo.** Passo Fundo, p 1-22, ago. 2006;

VEIGA, M. M. Agrotóxicos: eficiência econômica e injustiça socioambiental. **Ciência e Saúde Coletiva.** Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p 145-152, jul. 2006;

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO/FAO Data sheets on pesticides n° 91 Glyphosate.** Genebra. 1997;

YENNY, A. *et al.* Validación de una metodología para la determinación de carbofuran en suelos mediante cromatografía líquida de alta eficiencia con detección ultravioleta (CLAR-UV). **Revista Colombiana de Química.** Cauca, Colômbia, v. 39, n. 3, p 359-370. 2010;

ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure - Acute toxicity test for freshwater fish. **U.S.EPA Publication 540/9-85-006.** 1985.

## APÊNDICE A

### Comandos utilizados no software R para determinação da CL<sub>50</sub>.

```
<- read.csv(file.name <- choose.files(), sep=";", header=TRUE)
> rd
  conc dead
1    0 0.0
2    0 0.0
3    0 0.0
4    1 0.0
5    1 0.0
6    1 0.0
7    5 0.0
8    5 0.0
9    5 0.3
10   10 0.0
11   10 0.3
12   10 0.3
13   20 0.6
14   20 0.4
15   20 0.6
16   40 1.0
17   40 1.0
18   40 1.0
19   60 1.0
20   60 1.0
21   60 1.0
> mod <- drm(dead ~ conc, data = rd, fct = LL.2())
> mod
```

A 'drc' model.

Call:

```
drm(formula = dead ~ conc, data = rd, fct = LL.2())
```

Coefficients:

```
b:(Intercept) e:(Intercept)
-2.844      17.542
```

```
> drm(formula = dead ~ conc, data = rd, fct = LL.2())
```

A 'drc' model.

Call:

```
drm(formula = dead ~ conc, data = rd, fct = LL.2())
```

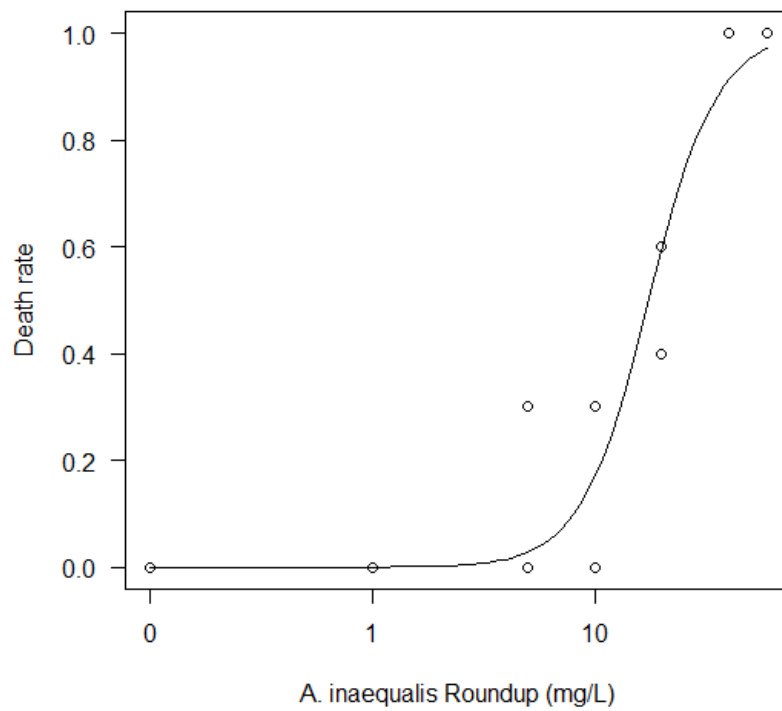
Coefficients:

```
b:(Intercept) e:(Intercept)
-2.844      17.542
```

```
> Estimated effective doses
Erro: unexpected symbol in "Estimated effective"
> ED(mod, 50, interval = "delta")
```

Estimated effective doses

```
Estimate Std. Error Lower Upper
e:1:50 17.5420 1.3263 14.7661 20.3180
> plot(mod, type="all", ylab = "Death rate", xlab = "A. inaequalis Roundup (mg/L)")
>
```





## APÊNDICE B

### Tabelas dos cálculos de avaliação de risco ambiental (*Q*).

**Tabela 1: Avaliação de Risco Ambiental: *Allonais inaequalis*.**

<i>Allonais inaequalis</i> 0,3 m de Profundidade						
Maior dose			Menor dose			
%	CAE	Q	CLASSE	CAE	Q	CLASSE
100	1,92	0,1095	Médio risco	0,08	0,004561	Baixo risco
50	0,96	0,0547	Médio risco	0,04	0,002281	Baixo risco
25	0,48	0,0274	Baixo risco	0,02	0,001140	Baixo risco
12,5	0,24	0,0137	Baixo risco	0,01	0,000570	Baixo risco
6,25	0,12	0,0068	Baixo risco	0,005	0,000285	Baixo risco
3,13	0,06	0,0034	Baixo risco	0,0025	0,000143	Baixo risco
1,56	0,03	0,0017	Baixo risco	0,00125	0,000071	Baixo risco
<i>Allonais inaequalis</i> 2 m de Profundidade						
Maior dose			Menor dose			
%	CAE	Q	CLASSE	CAE	Q	CLASSE
100	0,288	0,01642	Baixo risco	0,012	0,000684	Baixo risco
50	0,144	0,00821	Baixo risco	0,006	0,000342	Baixo risco
25	0,072	0,00410	Baixo risco	0,003	0,000171	Baixo risco
12,5	0,036	0,00205	Baixo risco	0,0015	0,000086	Baixo risco
6,25	0,018	0,00103	Baixo risco	0,00075	0,000043	Baixo risco
3,13	0,009	0,00051	Baixo risco	0,00038	0,000021	Baixo risco
1,56	0,0045	0,00026	Baixo risco	0,00019	0,000011	Baixo risco

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

**Tabela 2: Avaliação de Risco Ambiental: *Chironomus xanthus*.**

<b><i>Chironomus xanthus</i> 0,3 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	1,92	0,0900	<b>Médio risco</b>	0,08	0,003876	<b>Baixo risco</b>
50	0,96	0,0470	<b>Baixo risco</b>	0,04	0,001938	<b>Baixo risco</b>
25	0,48	0,0230	<b>Baixo risco</b>	0,02	0,000969	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,24	0,0116	<b>Baixo risco</b>	0,01	0,000484	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,12	0,0058	<b>Baixo risco</b>	0,005	0,000242	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,06	0,0029	<b>Baixo risco</b>	0,0025	0,000121	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,03	0,0015	<b>Baixo risco</b>	0,0012	0,000060	<b>Baixo risco</b>
<b><i>Chironomus xanthus</i> 2 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	0,288	0,01395	<b>Baixo risco</b>	0,012	0,00058	<b>Baixo risco</b>
50	0,144	0,00698	<b>Baixo risco</b>	0,006	0,00029	<b>Baixo risco</b>
25	0,072	0,00349	<b>Baixo risco</b>	0,003	0,00015	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,036	0,00174	<b>Baixo risco</b>	0,0015	0,00007	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,018	0,00087	<b>Baixo risco</b>	0,00075	0,00004	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,009	0,00044	<b>Baixo risco</b>	0,00038	0,00002	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,004	0,00022	<b>Baixo risco</b>	0,00019	0,00001	<b>Baixo risco</b>

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

**Tabela 3: Avaliação de Risco Ambiental: *Danio rerio*.**

<b><i>Danio rerio</i> 0,3 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	1,92	0,0891	<b>Médio risco</b>	0,08	0,00371	<b>Baixo risco</b>
50	0,96	0,0446	<b>Baixo risco</b>	0,04	0,00186	<b>Baixo risco</b>
25	0,48	0,0223	<b>Baixo risco</b>	0,02	0,00093	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,24	0,0111	<b>Baixo risco</b>	0,01	0,00046	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,12	0,0056	<b>Baixo risco</b>	0,005	0,00023	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,06	0,0028	<b>Baixo risco</b>	0,0025	0,00012	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,03	0,0014	<b>Baixo risco</b>	0,0012	0,00006	<b>Baixo risco</b>
<b><i>Danio rerio</i> 2 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	0,288	0,0134	<b>Baixo risco</b>	0,012	0,00056	<b>Baixo risco</b>
50	0,144	0,0067	<b>Baixo risco</b>	0,006	0,00028	<b>Baixo risco</b>
25	0,072	0,0033	<b>Baixo risco</b>	0,003	0,00014	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,036	0,0017	<b>Baixo risco</b>	0,0015	0,00007	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,018	0,0008	<b>Baixo risco</b>	0,0008	0,00003	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,009	0,0004	<b>Baixo risco</b>	0,0004	0,00002	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,004	0,0002	<b>Baixo risco</b>	0,0002	0,00001	<b>Baixo risco</b>

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

**Tabela 4: Avaliação de Risco Ambiental: *Lactuca sativa*.**

<b><i>Lactuca sativa</i> 0,3 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	1,92	0,0236	<b>Baixo risco</b>	0,08	0,00098	<b>Baixo risco</b>
50	0,96	0,0118	<b>Baixo risco</b>	0,04	0,00049	<b>Baixo risco</b>
25	0,48	0,0059	<b>Baixo risco</b>	0,02	0,00025	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,24	0,0029	<b>Baixo risco</b>	0,01	0,00012	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,12	0,0015	<b>Baixo risco</b>	0,005	0,00006	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,06	0,0007	<b>Baixo risco</b>	0,0025	0,00003	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,03	0,0004	<b>Baixo risco</b>	0,0012	0,00002	<b>Baixo risco</b>
<b><i>Lactuca sativa</i> 2 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	0,288	0,00354	<b>Baixo risco</b>	0,012	0,000147	<b>Baixo risco</b>
50	0,144	0,00177	<b>Baixo risco</b>	0,006	0,000074	<b>Baixo risco</b>
25	0,072	0,00088	<b>Baixo risco</b>	0,003	0,000037	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,036	0,00044	<b>Baixo risco</b>	0,0015	0,000018	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,018	0,00022	<b>Baixo risco</b>	0,0008	0,000009	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,009	0,00011	<b>Baixo risco</b>	0,0004	0,000005	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,004	0,00006	<b>Baixo risco</b>	0,0002	0,000002	<b>Baixo risco</b>

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

**Tabela 5: Avaliação de Risco Ambiental: média dos organismos-teste (n=4).**

<b>Média dos organismos-teste 0,3 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	1,92	0,0544	<b>Médio risco</b>	0,08	0,00227	<b>Baixo risco</b>
50	0,96	0,0272	<b>Baixo risco</b>	0,04	0,00113	<b>Baixo risco</b>
25	0,48	0,0136	<b>Baixo risco</b>	0,02	0,00057	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,24	0,0068	<b>Baixo risco</b>	0,01	0,00028	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,12	0,0034	<b>Baixo risco</b>	0,005	0,00014	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,06	0,0017	<b>Baixo risco</b>	0,0025	0,00007	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,03	0,0008	<b>Baixo risco</b>	0,0012	0,00004	<b>Baixo risco</b>
<b>Média dos organismos-teste 2 m de Profundidade</b>						
<b>Maior dose</b>				<b>Menor dose</b>		
<b>%</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>	<b>CAE</b>	<b>RQ</b>	<b>CLASSE</b>
100	0,288	0,0082	<b>Baixo risco</b>	0,012	0,000340	<b>Baixo risco</b>
50	0,144	0,0041	<b>Baixo risco</b>	0,006	0,000170	<b>Baixo risco</b>
25	0,072	0,002	<b>Baixo risco</b>	0,003	0,000085	<b>Baixo risco</b>
12,5	0,036	0,001	<b>Baixo risco</b>	0,0015	0,000043	<b>Baixo risco</b>
6,25	0,018	0,0005	<b>Baixo risco</b>	0,0008	0,000021	<b>Baixo risco</b>
3,13	0,009	0,0003	<b>Baixo risco</b>	0,0004	0,000011	<b>Baixo risco</b>
1,56	0,0045	0,0001	<b>Baixo risco</b>	0,0002	0,000005	<b>Baixo risco</b>

Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.