



## VI-197 – AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE AGUDA EM *Danio rerio* DOS HERBICIDAS DIURON E HEXAZINONA

**Michel Augusto Camargo Ravaneli**

Mestrando, Tecnologia Ambiental, Universidade da Associação de Ensino de Ribeirão Preto (UNAERP) Ribeirão Preto-SP.

**Cristina Filomena Pereira Rosa Paschoalato<sup>(1)</sup>**

Engenheira Química, Mestre e Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP). Professora da Universidade da Associação de Ensino de Ribeirão Preto (UNAERP) Ribeirão Preto-SP.

**Bruno Moreira da Silva**

Aluno de Iniciação Científica do Curso de Engenharia Química da UNAERP

**Marcio Resende Trimailovas**

Aluno de mestrado da Medicina Social da Universidade de São Paulo campus Ribeirão Preto SP

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Argeu Fuliotto, 419 Ribeirânia -Ribeirão Preto -SP CEP: 14096-520 Tel.: (16) 3603 6718. email: [cpaschoa@unaerp](mailto:cpaschoa@unaerp) ou [lrh@unaerp.br](mailto:lrh@unaerp.br)

### RESUMO

O desenvolvimento tecnológico do homem moderno tem produzido além de todos os seus benefícios e bem estar, efeitos adversos e com intensidades variáveis no ambiente, afetando os demais organismos e também a sua própria qualidade de vida. No Brasil a cana-de-açúcar é uma das culturas agrícolas mais importantes economicamente. A aplicação de defensivos agrícolas é uma importante prática no controle de pragas das culturas, dentre eles, o diuron e a hexazinona destacam-se como herbicidas, necessários no controle do crescimento de ervas daninhas, utilizados amplamente no cultivo da cana-de-açúcar, mas com risco de serem carregados por diversos mecanismos até os corpos d'água. Dentro deste contexto o presente trabalho objetivou avaliar a toxicidade de um herbicida comercial utilizado na cultura canavieira, composto por 46,8% em massa de diuron e 13,2% em massa de hexazinona e 40% em massa de ingredientes inertes, através de ensaios de ecotoxicidade aguda para a determinação da  $CL_{50}$ , utilizando-se o organismo-teste *Danio rerio* como bioindicador. Os ensaios foram realizados de acordo com as normas da ABNT 15088 (2004) e EPA (2002) para a espécie. A  $CL_{50}$  para *Danio rerio* foi determinada em 581,50 mg/L, em concentrações a partir de 50mg/L do herbicida comercial pôde-se observar alterações comportamentais significativas, causando hipotatividade relacionada ao movimento natatório em mais de 50% dos organismos. Os dois componentes principais do herbicida comercial, a hexazinona e o diuron foram analisados separadamente considerando suas percentagens utilizadas no ensaio definitivo com o herbicida comercial para a comparação da toxicidade. O hexazinona nas concentrações estudadas não apresentou mortalidade e alteração comportamental relacionado ao movimento natatório. Devido a baixa solubilidade do diuron 42 mg/L, foram utilizadas concentrações abaixo das obtidas no ensaio definitivo com o herbicida comercial, nestas concentrações o diuron não apresentou mortalidade e alteração comportamental.

**PALAVRAS-CHAVE:** ecotoxicologia, toxicidade aguda, agrotóxicos, bioindicador

### INTRODUÇÃO

A área plantada hoje de cana-de-açúcar ocupa 7 milhões de hectares, perfazendo um total de 2% de toda a terra agricultável do Brasil, tornando o maior produtor mundial, seguido por países como a Índia, Tailândia e Austrália. As regiões de cultivo são Sudeste, Centro-Oeste, Sul e Nordeste, permitindo duas safras por ano (UNICA, 2008). A previsão da produção para a atual safra indica que o total dessa matéria prima que será processada pelo setor sucroalcooleiro deverá atingir um montante de 558,72 milhões de toneladas, correspondendo a 11,4% a mais do que os 501,54 milhões de toneladas processadas na safra anterior (CONAB, 2008). O estado de São Paulo é responsável por 56% deste total (AGRIANUAL, 2008).

Ribeirão Preto é a 9ª (nona) maior cidade em população do Estado de São Paulo, com 547.417 habitantes (IBGE, 2008). A atividade econômica do município é intensa e diversificada destacando-se como um dos



principais pólos de geração tecnológica do país. Isso se deve à lavoura canavieira, à fertilidade da terra e à diversidade de culturas como: soja, amendoim, laranja, feijão, manga, limão e abóbora. A região é a maior produtora mundial de açúcar e álcool, com 21 usinas que utilizam fertilizantes e agroquímicos (tóxicos e não tóxicos) no cultivo da cana-de-açúcar, dentre eles destacam-se os herbicidas constituídos de uma mistura contendo principalmente diuron e hexazinona.

A Bacia Hidrográfica do rio Pardo abrange 39 municípios que enfrentam problemas de poluição com a intensiva cultura canavieira, agroindústria e lançamento de esgotos sem tratamento de diversas cidades, inclusive de Ribeirão Preto, que, segundo o Departamento de Água e Esgoto de Ribeirão Preto (DAERP, 2008), a Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) trata atualmente aproximadamente 90% do esgoto da cidade, no entanto os outros 10% ainda têm seu destino final os corpos d'água.

O abastecimento de água para consumo da cidade de Ribeirão Preto, SP, atualmente é realizado pelo Departamento de Água e Esgoto de Ribeirão Preto (DAERP), sendo que 99,9% da população são abastecidos por água subterrânea proveniente do Aquífero Guarani os outros 0,1% por poços de sistema alternativo.

A crescente demanda de água subterrânea e conseqüente rebaixamento dos níveis estático e dinâmico do aquífero têm preocupado o DAERP. Além disso, há uma preocupação com a possível presença de microcontaminantes que podem afetar a qualidade da água. Segundo o Jornal Gazeta de Ribeirão em uma matéria publicada em 13 de julho de 2008, cita que "Uso do Aquífero Guarani tem limites" e considera a possibilidade do município recorrer ao rio Pardo como manancial para o abastecimento público sendo uma possível solução para o problema de escassez.

A Resolução CONAMA n° 357 de 2005 estabelece padrões de qualidade para as águas superficiais divididos em classes e os compostos diuron e hexazinona não estão citados. Segundo o parágrafo 4° do artigo 8, as possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos (BRASIL, 2005).

Portanto a realização de ensaios de ecotoxicidade faz-se necessário em função do uso em grandes quantidades de agroquímicos na cultura da cana-de-açúcar, futuramente, junto com outras avaliações tais como, análise de riscos, poderão dar subsídios aos órgãos reguladores de qualidade das águas para estabelecerem valores máximos permissíveis em futuras revisões dos padrões de qualidade da água.

O estudo teve por objetivo geral a determinação da toxicidade aquática do herbicida composto por diuron e hexazinona utilizado nas lavouras de cana-de-açúcar.

Para atingir o objetivo geral, foi necessário o desenvolvimento dos seguintes objetivos específicos:

- Determinação da concentração mínima do herbicida que pode ocasionar 100% da letalidade dos peixes *Danio rerio* e da concentração máxima que não causa mortalidade ( $CE_{zero}$ );
- Obtenção da concentração letal mediana a 50% dos peixes ( $CL_{50}$ );
- Observação do efeito tóxico aparente no comportamento natatório dos peixes durante a realização do ensaio definitivo sob ação do herbicida comercial.

## MATERIAIS E MÉTODO

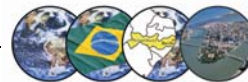
Os ensaios de ecotoxicidade foram realizados no Laboratório de Recursos Hídricos da UNAERP, a metodologia aplicada foi estabelecida conforme recomendações da ABNT 15088 (2004) e USEPA (2002). Os paulistinhas (*Danio rerio*) foram adquiridos junto a uma piscicultura de peixes ornamentais, localizada na cidade de Ribeirão Preto interior do estado de São Paulo. Os peixes foram cultivados em tanques escavados no solo, onde ocorria troca parcial, com água de boa qualidade para o cultivo, oriunda de uma nascente da propriedade.

### Controle da sanidade, aclimação e soltura dos peixes

Foi utilizada uma caixa d'água de 200 litros com água da rede de abastecimento desclorada com adição de tiosulfato de sódio, os peixes foram aclimatados e permaneceram nesta caixa por um período de 10 dias, o fundo foi sifonado e sua água foi trocada em torno de 30% semanalmente.

### Preparo da água de diluição

A água de diluição foi preparada a partir da dissolução de sais em água desionizada conforme ABNT 15088 (2004). Para o preparo da água de diluição foram produzidos duas soluções estoque, a solução 1 era composta



de 3000 mg sulfato de cálcio diidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) avolumado para 2000 mL de água desionizada, foi colocado sob agitação e aquecimento até que fosse totalmente dissolvido, a solução 2 era composta por 20 mg de cloreto de potássio (KCl), 4800 mg de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) e 6100 mg de sulfato de magnésio heptaidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) dissolvidos e avolumados a 1000 mL de água desionizada.

A partir destas duas soluções estoque, era produzida a água de diluição, onde 2 litros da solução 1 mais 1 litro da solução 2 eram avolumados a 100 litros de água destilada e desclorada com tiosulfato, a dureza e pH eram sempre observados e anotados, quando necessário o pH era corrigido com uma solução de HCl 2N, sendo mantido dentro do estabelecido pela ABNT 15088 (2004), onde o pH deveria permanecer entre 7,0 e 7,6 e a dureza total em torno 40 e 48 mg de  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ .

Logo após o preparo da água dentro do recipiente de 100 litros, foi colocado para a aeração durante 24 horas com a ajuda de um compressor de ar, saturando de oxigênio, estabilizando e dissolvendo totalmente os sais.

### **Aclimação a água de diluição**

Após o período de observação na caixa d'água, os peixes foram transferidos para um aquário onde foram aclimatados de forma similar a quando chegaram ao laboratório, sendo aclimados a 100% de água de diluição.

### **Ensaio preliminar com o herbicida comercial**

Nos ensaios preliminares foram utilizadas as concentrações 20, 30, 50, 60, 70, 80, 100, 300, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 e 4000 mg/L do herbicida dissolvidos e avolumados para 3 litros com água de diluição previamente preparada, aerada durante 24 horas antes do início do ensaio e dentro das especificações de dureza e pH, mais o controle somente com água de diluição. As soluções de água contaminada com herbicida foram pesadas em copos descartáveis, depois dissolvidas dentro dos próprios recipientes ensaio, amostras de cada recipiente foram coletados para posterior análise de pH, dureza, condutividade, oxigênio dissolvido.

Para cada concentração de água contaminada foram colocados 5 peixes e no controle também, todos os peixes ficaram sem alimentação 24 horas antes do início do ensaio, a cada 24 horas eram observadas a mortalidade e o comportamento dos peixes.

### **Ensaio definitivo com o herbicida comercial**

A partir dos ensaios preliminares estabeleceu-se o intervalo de 300 mg/L como a menor concentração que não causa nenhuma mortalidade e 900 mg/L a maior concentração que causa 100% de letalidade. Todos os ensaios seguiram o mesmo procedimento e em todos os casos não apresentaram nenhuma mortalidade no controle.

No ensaio definitivo foram utilizadas as seguintes concentrações: 500; 550; 650; 700; 750; 800; 850 e 900 mg/L de herbicida mais o controle, todos em duplicatas, utilizando-se 10 peixes por recipiente, a massa correspondente de herbicida foi dissolvida em 3 litros em água de diluição previamente preparada, os parâmetros para controle de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e dureza foram realizadas conforme no ensaio preliminar. A temperatura e mortalidade no recipiente ensaio também foram observadas, os parâmetros eram verificados posteriormente a cada 24 horas até o término dos testes.

O método estatístico Trimmed Spearman-Kärber foi utilizado para determinação da  $\text{CL}_{50}$  conforme recomenda USEPA (2002).

### **Ensaio definitivo com os principais componentes do herbicida comercial**

As concentrações destes ensaios foram determinadas pelas concentrações utilizadas no ensaio definitivo com o herbicida comercial.

Nos ensaios definitivos com hexazinona foram utilizadas as concentrações: 0, 66, 73, 86, 92, 99, 106, 112 e 119 mg/L.

Devido a baixa solubilidade do diuron em água, em torno de 42 mg/L, o que não permitiu que fossem utilizadas as concentrações obtidas no ensaio definitivo com o herbicida comercial, para os ensaios definitivos com diuron foram utilizadas as concentrações: 0, 1, 5, 10, 20, 30, 40 mg/L.

### **Ensaio de sensibilidade e de repetibilidade**

O ensaio de sensibilidade do organismo teste foi realizado utilizando-se a substância de referência dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) seguindo a mesma metodologia do ensaio definitivo com o herbicida comercial, as concentrações utilizadas para o ensaio foram: 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 mg/L e com o programa estatístico



Trimmed Spearman Karber obteve-se a concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ). Depois foi realizado outro ensaio com 16 réplicas utilizando-se a mesma concentração da  $CL_{50}$  de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em todos os recipientes ensaio.

Para o ensaio de repetibilidade com o herbicida comercial utilizou-se a mesma concentração obtida a partir do cálculo da  $CL_{50}$  para o herbicida comercial em 10 réplicas seguindo a mesma metodologia do ensaio definitivo.

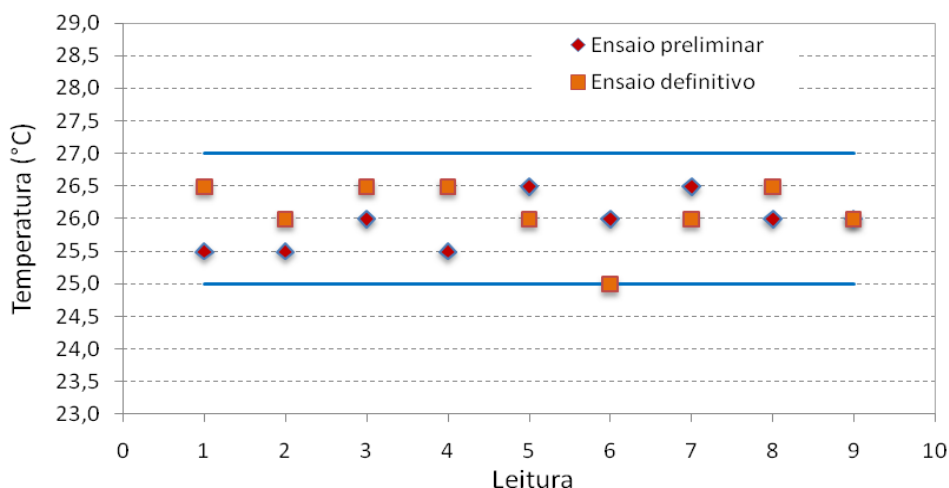
Para a execução dos cálculos estatísticos dos resultados do ensaio de sensibilidade e de repetibilidade com o herbicida comercial foi utilizado o programa computacional Excel®, a partir destes resultados obteve-se média amostral ( $\bar{X}$ ), do limite superior de controle (LSC), do limite inferior de controle (LIC) e do coeficiente de variação (CV) que foram utilizados na construção da carta-controle de sensibilidade e a carta controle do ensaio de repetibilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados dos controles de pH e dureza total das águas de diluição que foram preparadas para a realização dos testes foram analisados e verificou-se que todos os valores obtidos estiveram de acordo com os estabelecidos na norma da ABNT 15088 (2004), onde o pH da água de diluição deveria estar contido entre pH 7,0 e 7,6 e dureza total de 40 a 48 mg de  $CaCO_3/L$ .

Com os resultados do ensaio preliminar com o herbicida comercial estabeleceu-se o intervalo entre a menor concentração que causou 100% de mortalidade 1000 mg/L e a concentração efetiva zero ( $CE_{zero}$ ) 400mg/L onde não se observou mortalidade, a partir deste resultado determinou-se o intervalo para o ensaio definitivo.

As variações de temperatura durante as medições foram pouco significativas no decorrer dos ensaios preliminares e definitivos, a mínima temperatura registrada ficou em 25,5°C e a máxima em 26,5°C permanecendo dentro da faixa aceitável de  $26 \pm 1^\circ C$  conforme estabelece a norma da ABNT 15088 (2004), os resultados estão apresentados na Figura 1.



**FIGURA 1 - Controle da temperatura durante os ensaios preliminares e definitivos com herbicida comercial.**

Com base nos resultados obtidos nos ensaios de ecotoxicidade aguda do herbicida comercial para o organismo teste *Danio rerio* foi determinada a concentração letal mediana  $CL_{50-48h}$  de 581,50 mg/L. Após 24 horas do início do ensaio pôde-se observar maior incidência da mortalidade, na Tabela 1 está apresentado o número de mortes de peixes que ocorreram em 24 e 48 horas a partir do início de cada ensaio e o total em porcentagem de mortalidade observado para cada concentração do herbicida comercial.



**TABELA 1 - Concentração do herbicida, número de animais por concentração, número total de mortes em 24h e 48h após o início do ensaio e a porcentagem total de mortos por concentração de herbicida.**

Concentração do herbicida comercial (mg/L)	Nº de animais	Nº total de mortes		% total de mortes
		24h	48h	
Controle	20	0	0	0
500	20	1	8	45
550	20	1	7	40
650	20	1	12	65
700	20	2	16	90
750	20	7	11	90
800	20	3	16	95
850	20	7	13	100
900	20	8	12	100

O parâmetro de dureza total apresentou pequenas variações, aumentando ligeiramente se comparado com a dureza total encontrada nos recipientes de controles, indicando que os componentes do herbicida comercial nas concentrações estudadas causam pequenas alterações na dureza total. As alterações do pH puderam ser observadas principalmente nos recipientes ensaio onde haviam o herbicida comercial, a ligeira queda do pH se deve as excretas metabólicas que foram produzidas pelos organismos testes e pela degradação da matéria orgânica, os resultados estão apresentados na Tabela 2.

**TABELA 2 - Resultados dos valores médios dos parâmetros de controle obtidos nos ensaios com *Danio rerio* para diferentes concentrações do herbicida comercial.**

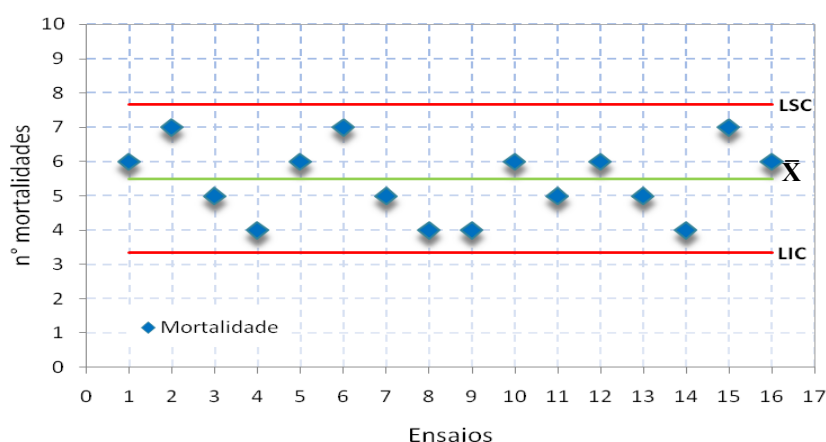
Concentração herbicida mg/L	Início				48 horas			
	pH	Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	O. D. (mg/L)	Cond. (µS/cm)	pH	Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	O. D. (mg/L)	Cond. (µS/cm)
Controle 1	7,4	42	7,2	147	7,3	42	5,7	142
500	7,5	45	7,1	163	7,2	45	5,8	161
550	7,4	45	7,2	165	7,2	45	4,7	163
Controle 2	7,6	44	7,1	151	7,5	44	5,5	152
650	7,7	47	7,1	166	7,3	48	5,3	167
700	7,8	48	7,1	169	7,3	48	5,5	171
750	7,8	48	7,1	171	7,2	49	5,6	174
Controle 3	7,5	46	7,2	150	7,2	46	6,1	149
800	7,7	48	7,2	171	7,3	48	6,2	174
850	7,8	48	7,2	174	7,3	48	5,8	174
900	7,8	49	7,2	177	7,3	49	5,8	174

O crescente aumento das concentrações do herbicida comercial se refletiu no aumento da condutividade, no entanto, a condutividade inicial não apresentou alterações significativas com relação à condutividade final. Quanto aos resultados de oxigênio dissolvido observou-se uma redução na concentração que pode ser atribuída à degradação de matéria orgânica e aumento do consumo dos peixes que se encontravam sob

situação de estresse, mas o oxigênio dissolvido manteve-se acima do limite mínimo permitido de 4 mg/L conforme ABNT 15088 (2004).

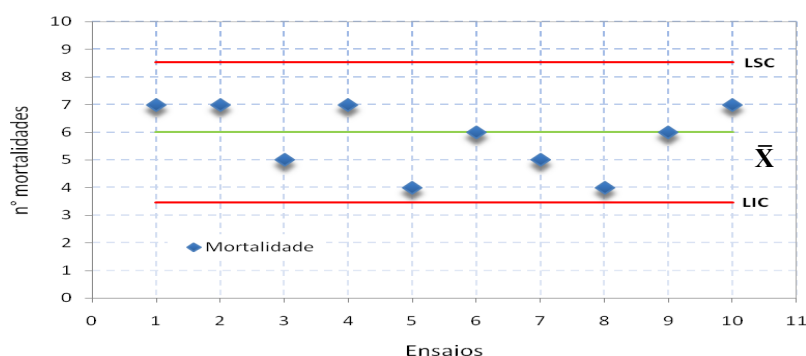
No início do ensaio com o herbicida comercial observou-se que nas concentrações entre 40 e 50 mg/L ocorreu uma hiperatividade que esta relacionada ao aumento do movimento natatório em mais de 50% dos organismos, demonstrando que o herbicida comercial nestas concentrações pode causar estresse, aumentando a atividade locomotora que neste caso está relacionado à resposta de escape.

Entre os ensaios definitivos foram realizados os ensaios de sensibilidade utilizando-se como substância de referência o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), inicialmente obteve-se a concentração letal mediana  $CL_{50}$  = 114 mg/L, a partir das réplicas realizadas com a  $CL_{50}$  foram obtidos dados para os cálculos onde o desvio padrão encontrado foi de  $\pm 2,17$  e o coeficiente de variação encontrado foi de 20%. Esse resultado enquadra-se dentro do limite do coeficiente de variação de 45% (CV) proposto pela USEPA (2002). Na Figura 2 estão descritos os resultados da carta controle de sensibilidade, a média amostral ( $\bar{X}$ ) ficou estabelecida em 5,5, o limite superior de controle (LSC) em 7,7 e o limite inferior em 3,3 (LIC).



**FIGURA 2 – Carta-controle da sensibilidade com os resultados das mortalidades, a média amostral ( $\bar{X}$ ), o limite superior de controle (LSC) e o limite inferior de controle (LIC), utilizando-se como substância de referência dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ).**

No ensaio de repetibilidade realizado com o herbicida comercial, obteve-se um desvio padrão de  $\pm 2,53$  e o coeficiente de variação (CV) de 21%, enquadrando-se dentro do limite do coeficiente de variação de 45% proposto pela USEPA (2002). Na Figura 3 estão apresentados obtidos com o ensaio de repetibilidade com o herbicida comercial, onde a média amostral ( $\bar{X}$ ) ficou estabelecida em 6, o limite superior de controle (LSC) em 8,5 e o limite inferior em 3,5 (LIC).

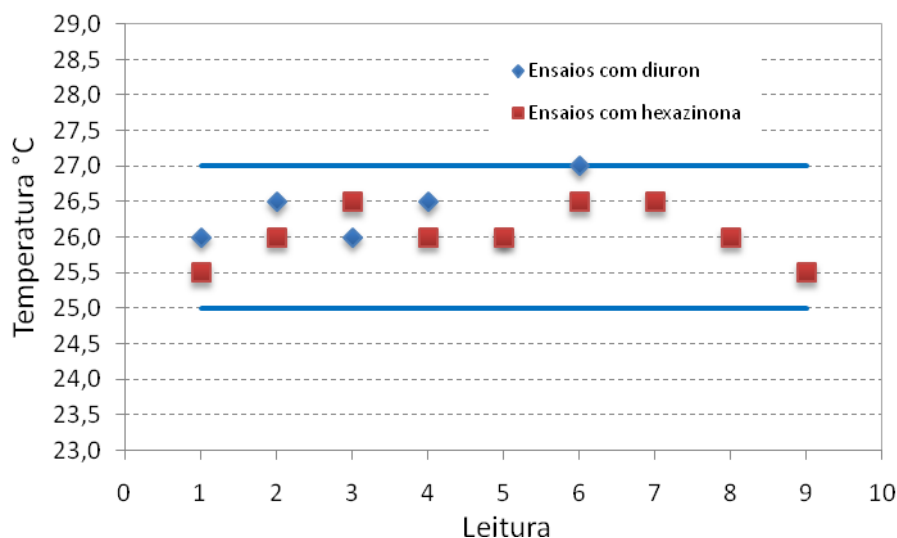


**FIGURA 3 – Resultados das mortalidades do ensaio de repetibilidade com o herbicida comercial, média amostral ( $\bar{X}$ ), limite superior de controle (LSC) e limite inferior de controle (LIC).**





A variação da temperatura dos ensaios com hexazinona e com o diuron manteve-se dentro da faixa aceitável ( $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ) conforme ABNT 15088 (2004), variando entre a máxima de  $27^\circ\text{C}$  e a mínima de  $25,5^\circ\text{C}$ , estas variações da temperatura foram pouco significativas, na Figura 4 estão descritos os resultados do controle da temperatura realizados no ensaios com diuron e com a hexazinona.



**FIGURA 4 - Controle da temperatura durante os ensaios definitivos com diuron e com a hexazinona.**

Os resultados do parâmetro de dureza total obtido durante o ensaio definitivo com hexazinona não apresentou nenhuma alteração significativa, as alterações de pH também foram pouco significativas. As concentrações de hexazinona utilizadas não foram suficientes para causar alterações significativas na condutividade durante os ensaios, permanecendo estável o parâmetro condutividade, quanto ao oxigênio dissolvido ocorreu à diminuição da concentração, no entanto os níveis de oxigênio se mantiveram acima do limite mínimo de  $4 \text{ mg/L O}_2$ . Os resultados dos valores médios dos parâmetros de controle estão apresentados na Tabela 3.

**TABELA 3 - Resultados dos valores médios dos parâmetros de controle obtidos nos ensaios com *Danio rerio* para diferentes concentrações do herbicida hexazinona.**

Concentração herbicida mg/L	Início				48 horas			
	pH	Dureza total (mg $\text{CaCO}_3/\text{L}$ )	O. D. (mg/L)	Cond. ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	pH	Dureza total (mg $\text{CaCO}_3/\text{L}$ )	O. D. (mg/L)	Cond. ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
Controle 1	7,2	43	7,3	141	7,4	43	6,4	141
66	7,2	42	7,3	140	7,5	43	6,1	140
73	7,2	42	7,3	140	7,5	41	6,2	141
Controle 2	7,4	41	7,4	130	7,3	41	6,6	132
86	7,4	41	7,3	131	7,4	41	6,4	131
92	7,4	41	7,3	131	7,4	41	6,1	132
99	7,4	41	7,2	131	7,3	41	6,3	132
Controle 3	7,3	41	7,2	134	7,3	41	6,4	132
106	7,3	42	7,3	135	7,3	42	6,5	131
112	7,3	41	7,3	135	7,3	41	6,2	131
119	7,1	41	7,3	135	7,1	49	6,0	131



Nos ensaios realizados com diuron os valores da dureza total analisados não tiveram alterações significativas, o pH se manteve estável. As concentrações de diuron utilizadas não foram suficientes para causar alterações significativas na condutividade durante os ensaios, permanecendo estável o parâmetro condutividade. Os resultados dos valores médios dos parâmetros de controle obtidos durante os ensaios com o herbicida diuron estão apresentados na Tabela 4.

**TABELA 4 - Resultados dos valores médios dos parâmetros de controle obtidos nos ensaios com *Danio rerio* para diferentes concentrações do herbicida diuron.**

Concentração herbicida mg/L	Início				48 horas			
	pH	Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	O. D. (mg/L)	Cond. (µS/cm)	pH	Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	O. D. (mg/L)	Cond. (µS/cm)
Controle 1	7,9	44	7,3	133	7,2	44	6,7	133
1	7,9	44	7,3	133	7,2	44	6,8	133
5	7,8	45	7,3	133	7,2	45	6,7	132
10	7,9	44	7,4	134	7,2	44	6,8	133
Controle 2	7,4	43	7,3	132	7,0	42	6,7	132
20	7,8	42	7,3	132	7,0	43	6,6	132
30	7,8	43	7,2	132	7,0	43	6,7	132
40	7,8	44	7,2	132	7,0	43	6,7	133

Durante os ensaios com o diuron, ocorreram à diminuição da concentração do oxigênio dissolvido, no entanto os níveis de oxigênio se mantiveram acima do limite mínimo de 4 mg/LO<sub>2</sub>.

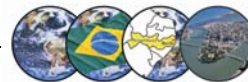
Os ensaios realizados tanto com o herbicida diuron quanto com o herbicida hexazinona, nas concentrações que foram testadas, obtidas a partir do ensaio definitivo com o herbicida comercial, não apresentaram mortalidade e aparentemente não afetaram o comportamento natatório dos peixes.

## CONCLUSÕES

As principais conclusões obtidas na presente pesquisa foram:

- Nas condições em que foram realizados os ensaios, o herbicida comercial estudado apresentou toxicidade CL<sub>50</sub> de 581,5 mg/L para o organismo teste *Danio rerio*.
- Os organismos apresentaram alterações significativas no comportamento, onde foi observado hiperatividade, com um aumento na mobilidade, em concentrações entre 40 e 50 mg/L e em concentrações do herbicida comercial acima de 50 mg/L foi observado uma hipoatividade, demonstrada pela diminuição da mobilidade o que fica demonstrado que nestas concentrações podem ser observadas alterações que podem vir a causar impactos ambientais negativos em um nicho ecológico que está espécie de organismo possa vir a representar.
- Para os principais compostos do herbicida comercial estudados separadamente, nas concentrações utilizadas, não foi observado nenhuma mortalidade ou alteração comportamental nos organismos teste.
- Os resultados dos ensaios de sensibilidade realizados com o organismo teste *Danio rerio* obtidos com a utilização da substância de referência dicromato de potássio demonstraram ser satisfatórios, pois o coeficiente de variação obtido esteve abaixo do limite estabelecido pelas normas USEPA (2002).
- Utilizando-se como parâmetro o limite do coeficiente de variação de 45% estabelecido pela USEPA (2002) para os ensaios de sensibilidade, o ensaio de repetibilidade realizado para a validação dos resultados dos ensaios com o herbicida comercial demonstrou ser válido.





## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. NBR 15088: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio em peixes. Rio de Janeiro, 19p. 2004.
2. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY-USEPA. *Methods for Mensuaring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*. Fifth Edition. Washignton, DC, 2002.
3. CASTRO, D. O uso do aquífero tem limites. Jornal Gazeta de Ribeirão. Edição 451, matéria publicada em 13 de julho de 2008.
4. AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. Consultoria & Comércio. Disponível em (<http://www.fnp.com.br/>). Acesso em 3 de novembro de 2008.
5. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em (<http://www.ibge.gov.br/home/estatística/população/contagem2007/default.shtm>). Acesso em 24 de outubro de 2008.
6. UNICA – União Da Indústria de Cana-de-Açúcar. Disponível em (<http://www.unica.com.br/content/show.asp?cntCode=9E97665F-3A81-46F2-BF69-26E00C323988>). Acesso em 18 de setembro de 2008.
7. BRASIL. Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357, de 17 de março de 2005. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Diário Oficial da União, Brasília, DF. 2005.
8. CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. Cana-de-açúcar. Safra 2008 segundo levantamento. agosto de 2008. Disponível em ([www.conab.gov.br/conabweb/safra/cana.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/safra/cana.pdf)). Acesso em 28 de outubro de 2008.