



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**



**TOXICIDADE AGUDA E RISCO ECOTOXICOLÓGICO DO
FIPRONIL PARA O GUARU (*Poecilia reticulata*) E
DISSIPACÃO NO AMBIENTE AQUÁTICO**

Wilson Gómez Manrique

Médico Veterinário Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro 2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**TOXICIDADE AGUDA E RISCO ECOTOXICOLÓGICO DO
FIPRONIL PARA O GUARU (*Poecilia reticulata*) E
DISSIPACÃO NO AMBIENTE AQUÁTICO**

Wilson Gómez Manrique

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Gonçalves Machado Neto

Dissertação apresentada ao Centro de Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

Fevereiro 2009

Gomez Manrique, Wilson
G633t Toxicidade aguda, risco ambiental do fipronil para o guarú (*Poecilia reticulata*) e dissipação no ambiente aquático / Wilson Gómez Manrique. -- Jaboticabal, 2009
vi, 56 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2009

Orientador: Joaquim Gonçalves Machado Neto

Banca examinadora: Flávio Ruas de Moraes, Claudinei da Cruz

Bibliografia

1. inseticida. 2. toxicidade. 3. risco ambiental. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.31

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Actúa en vez de suplicar. Sacrificate sin esperanza de gloria ni recompensa! Si quieres conocer los milagros, hazlos tú antes. Sólo así podrá cumplirse tu peculiar destino.

Ludwig van Beethoven

Dedico este trabajo a Dios y mi familia que son la base de sustentación. A mis papitos: Isidro y Ligia, mis hermanos: Robinson, William, Wilmer y Yeissom, mi hijo Whernner Dubbeth, a mis sobrinos, a mi linda Esperanza, y a todas aquellas personas que de una u otra forma ayudaron a construir este sueño, hoy convertido en realidad. A todos ellos gracias por apoyarme y creer en mí.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Joaquim Gonçalves Machado Neto, pela orientação e paciência. Obrigado por não ter duvidado da minha capacidade e interesse de desenvolver este trabalho.

Aos amigos, Cesar Andrey Galindo, Henry Cardona Cadavid, Julián David Alvarado, Geovani Mendoza, Verónica González, Yuli Melisa Sierra, Yohana, Camilo Guerrero, Guido Almansan, André (Catatau), Guillerme, Thiago (Tigrão), Felipe, Severino, e todos os amigos colombianos, brasileiros e de outras nacionalidades que acreditaram em mim, obrigado pela agradável convivência e pelos momentos inesquecíveis.

Agradecimento especial aos amigos e irmãos Alessandro Borges Amorim e Raul Aspilcueta Borquis, pela convivência neste tempo de mestrado e por terem sempre as mãos estendidas para mim.

Aos amigos e colegas de laboratório: Letícia A. S. N. Francischini, Jaqueline Pérola, Louise de S. Medeiros, Maurício L. de Oliveira, Artur Franco Barrêto, George F. G. de Carvalho, Ângela A. Machado, Daniele A. Duó, Elissandra U. Winkaler, Bruno Duó, Melina Espanhol, Bárbara Schiavetti, Patrícia Carraschi, José Rodolfo Guimarães, Claudinei da Cruz, Ana Carla Coleone e Márcia Macri, pela amizade e colaboração.

Ao pessoal do Departamento de Fitossanidade, Maria Isabel, Raquel, Reinaldo, Gilson, Jurandir, Natalina, Wanderley.

À Professora Dra Irene Bastos F. Vicentini, por estar sempre disposta a ajudar.

À Secretária da Pós-graduação do CAUNESP, Veralice Capatto pela paciência e amizade.

Ao Centro de Aqüicultura da UNESP pela oportunidade de realização do curso.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO..... | v |
| ABSTRACT..... | vi |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 3 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA..... | 3 |
| 3.1. Biodisponibilidade e toxicidade das substâncias..... | 4 |
| 3.2. Características gerais e propriedades físico-químicas..... | 5 |
| 3.2.1. Mecanismo de ação tóxica do fipronil..... | 6 |
| 3.2.2. Dissipação do fipronil no ambiente..... | 7 |
| 3.3. Estudos ecotoxicológicos..... | 8 |
| 3.4. Testes de ecotoxicidade aguda..... | 10 |
| 3.4.1. Organismo-teste (<i>Poecilia reticulata</i>)..... | 10 |
| 3.5. Influência do sedimento no ecossistema aquático..... | 11 |
| 3.6. Classificação das substâncias tóxicas pela toxicidade aguda ou periculosidade | 12 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 13 |
| 4.1. Local de realização dos bioensaios..... | 13 |
| 4.2. Obtenção, manutenção e aclimação dos peixes..... | 13 |
| 4.3. Testes de toxicidade aguda..... | 15 |
| 4.3.1. Testes de sensibilidade..... | 15 |
| 4.3.2. Testes preliminares e definitivos..... | 15 |
| 4.4. Classificação do fipronil pela toxicidade aguda e pelo risco ambiental..... | 17 |
| 4.5. Estudo de dissipação do fipronil..... | 18 |
| 4.5.1. Análises cromatográficas..... | 19 |
| 4.5.1.1. Condições cromatográficas e calibração do equipamento..... | 19 |
| 4.5.1.2. Limites de detecção e quantificação do fipronil..... | 20 |
| 4.5.1.3. Estudos de recuperação e extração do padrão analítico..... | 21 |
| 4.5.2. Recuperação e extração do fipronil (Regent 800 WG®) da matriz água.. | 21 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 23 |

| | |
|--|-----------|
| 5.1. Toxicidade aguda para <i>Poecilia reticulata</i> | 23 |
| 5.2. Classificação do fipronil quanto à toxicidade aguda e ao risco ambiental... | 25 |
| 5.3. Dissipação do fipronil na água..... | 26 |
| 6. CONCLUSÕES | 35 |
| 7. REFERÊNCIAS | 36 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 1. | Estrutura molecular do inseticida fipronil..... | 5 |
| Figura 2. | Exemplar de <i>Poecilia reticulata</i> | 14 |
| Figura 3. | Tanque para aclimação 1000 L (A) e 250 L (B)..... | 14 |
| Figura 4. | Cromatograma do padrão analítico do fipronil (0,75 mg.L ⁻¹), tempo de retenção 2,6 minutos..... | 20 |
| Figura 5. | Bateria de extração do fipronil da água..... | 22 |
| Figura 6. | Cromatograma referente à extração do fipronil (0,75 mg.L ⁻¹) da matriz água após 33 dias de teste..... | 22 |
| Figura 7. | Representação gráfica da mortalidade (%) do guarú em função da concentração (mg.L ⁻¹) de fipronil em ausência e presença de sedimento..... | 24 |
| Figura 8. | Dissipação do fipronil (0,75 mg.L ⁻¹) na água no fator temperatura (30,0 e 25,4 °C), e relação das concentrações (0,150; 0,08 mg.L ⁻¹) que causaram 100, 50 de mortalidade no teste de toxicidade aguda para o guarú..... | 29 |
| Figura 9. | Dissipação do fipronil (0,75 mg.L ⁻¹) na água no fator substrato, e relação das concentrações (0,150; 0,08 e 0,025 mg.L ⁻¹) que causaram 100, 50 e 0,0% de mortalidade no teste de toxicidade aguda para o guarú..... | 31 |
| Figura 10. | Dissipação do fipronil (0,75 mg.L ⁻¹) na água no fator luminosidade, e relação das concentrações (0,150; 0,08 mg.L ⁻¹) que causaram 100, 50 e mortalidade no teste de toxicidade aguda para o guarú..... | 33 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tabela 1. | Média dos valores diários das variáveis físico-químicas da água dos testes de toxicidade aguda para <i>Poecilia reticulata</i> sem e com sedimento..... | 16 |
| Tabela 2. | Análises químicas e físicas do solo usado como sedimento nos aquários nos testes de toxicidade aguda e no estudo de dissipação do fipronil no ambiente aquático..... | 17 |
| Tabela 3. | Classes de toxicidade aguda para organismos aquáticos (ZUCKER, 1985)..... | 17 |
| Tabela 4. | Classes de risco de intoxicação ambiental (USEPA, 1996)..... | 18 |
| Tabela 5. | Tratamentos empregados para o estudo de dissipação do fipronil na água..... | 19 |
| Tabela 6. | Média dos valores diários das variáveis físico-químicas da água dos ensaios de dissipação do fipronil na água a temperatura controlada e ambiente..... | 19 |
| Tabela 7. | Valores da CL(I)50:96h, limites superior e inferior, equação e R ² , dos testes de toxicidade aguda realizados com guarú sem e com sedimento..... | 23 |
| Tabela 8. | Concentração ambiental estimada (CAE) para <i>P. reticulata</i> com ausência de sedimento nas diferentes colunas de água em função da contaminação..... | 26 |
| Tabela 9. | Concentração ambiental estimada (CAE) para <i>P. reticulata</i> com presença de sedimento nas diferentes colunas de água em função da contaminação..... | 26 |
| Tabela 10. | Concentrações, equação e valor do R ² das coletas após fortificação de 0,75 mg.L ⁻¹ de fipronil na água nos diferentes fatores..... | 27 |

RESUMO

Os agrotóxicos são utilizados na agricultura para evitar as perdas de produtividade causadas por insetos, ácaros, plantas daninhas, fungos, entre outros. Porém, o uso excessivo destes produtos químicos tem provocado impactos negativos no ambiente. Dentre os efeitos nocivos, destacam-se a presença de resíduos no solo, água, ar, plantas e animais. O fipronil é um inseticida utilizado na cultura de cana-de-açúcar que pode ser carregado para o ambiente aquático. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o risco de intoxicação ambiental da maior concentração de fipronil usada na agricultura com base no valor da CL50 estimados nos testes de toxicidade aguda para *Poecilia reticulata* como organismo bioindicador; e determinar a dissipação do inseticida no ambiente aquático. Os testes de toxicidade aguda foram realizados de acordo com as normas nacionais. A CL50(l);96h foi estimada em 0,08 mg.L⁻¹ de fipronil sem sedimento e 0,09 mg.L⁻¹ com sedimento. Com estes valores da CL(l)50;96h, o fipronil classifica-se como extremamente tóxico para *Poecilia reticulata* em ambos os casos. O fipronil classifica-se também como de alto risco de intoxicação ambiental para espelhos d'água de um ha e 0,30 m de profundidade, sem e com sedimento. Para espelhos d'água com um ha e 2,0 m de profundidade, o fipronil classifica-se medianamente tóxico. A dissipação do fipronil na água não foi afetada pela temperatura, substrato (ausência e presença de sedimento) e luminosidade (com luz e sem luz). O tempo mínimo onde o fipronil causa 50% de mortalidade aguda (0,08 mg.L⁻¹) para o guarú após da diluição da concentração de 0,75 mg.L⁻¹ é de 242 dias e o intervalo de segurança, onde não ocorre mortalidade (0,025 mg.L⁻¹) é de 263 dias.

Palavras- chave: inseticida, toxicidade, risco ambiental, peixe

ABSTRACT

The pesticides are used in agriculture to avoid the loss of productivity caused by insects, mites, weeds, fungi, and others. However, the excessive use of these chemicals has caused negative impacts in the environment. Among the harmful effects to the environment, stands out the presence of residues in soil, water, air, plants and animals. The insecticide fipronil is widely used in cultivation of sugar cane, and it is subject to movement and the runoff to the aquatic environment. Thus, the objective of this study was to evaluate the environmental risk of intoxication using the highest dose applied in agriculture of fipronil on the estimated value of the LC50 in acute toxicity tests for *Poecilia reticulata* used as indicator organism, and dissipation of the insecticide in aquatic environment. The acute toxicity tests were conducted according to national standards. The LC(I)50;96h was estimated at 0.08 mg.L⁻¹ of fipronil without sediment and 0.09 mg.L⁻¹ with sediment. With these values of LC(I)50;96h, the fipronil is classified as extremely toxic to *Poecilia reticulata* in both cases. The fipronil was also classified as high risk of intoxication environmental in water surface 1 ha and 0.30 m depth, with and without sediment. To water surface with 1 ha and 2.0 m depth, the fipronil is classified with medium toxicity. The dissipation of fipronil in water was not affected by the factors, temperature, substrate and lightness. The minimum time where fipronil cause 50% mortality (0.08 mg.L⁻¹) to guaru after dilution of concentration 0.75 mg.L⁻¹ is 242 days and range of safety, where not deaths occurred (0.025 mg.L⁻¹) is 263 days.

Keywords: insecticide, toxicity, environmental risk, fish

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como um dos países de maior potencial para a expansão da aquicultura, neste momento em que é crescente a demanda mundial por alimentos de origem aquática – não apenas em função da expansão populacional, mas também pela preferência por alimentos mais saudáveis (BAILEY 1997, FAO 1999, VALENTI et al., 2000).

O ambiente rural brasileiro, em especial a região Centro-Sul, ao longo das últimas duas décadas tem influenciado com a dicotomia rural-urbana como resultado do processo de industrialização da agricultura (GRAZIANO, 1997).

A pesca esportiva praticada em lagos particulares, conhecida como “pesque-pague”, surgiu no Brasil em meados da década de 80 (LOPES et al., 2001). Os Estados do Sul e Sudeste, parte do crescimento da produção de alevinos e da aquicultura extensiva de peixes deve-se à grande expansão de tanques dedicados a “pesque e pague”, locais de pesca esportiva (CASTAGNOLLI, 1996), onde a grande maioria encontra-se no meio dos canaviais.

Os agrotóxicos podem atingir os ambientes aquáticos pela aplicação intencional, no tratamento sanitário dos cultivos aquáticos, ou por meio de deriva e escoamento superficial, a partir de aplicações em áreas agrícolas e pecuárias. A lixiviação dos agrotóxicos através do perfil dos solos pode ocasionar a contaminação de lençóis freáticos (EDWARDS, 1973).

Em estudos realizados em várias regiões do mundo observa-se que a porcentagem dos produtos utilizados na agricultura que atingem os ambientes aquáticos é geralmente baixa (JURY et al., 1987; SOLOMON et al., 1996). Entretanto, pesticidas persistentes e com grande mobilidade no ambiente têm sido detectados em águas superficiais e subterrâneas (BUSER, 1990; BALINOVA e MONDESKY, 1999), assim como em algumas espécies de animais aquáticas, onde o fipronil pode se bioacumular (GUNASEKARA et al., 2007).

No ambiente aquático, dependendo das características físico-químicas, o agrotóxico pode tanto se ligar ao material particulado em suspensão, como se depositar

no sedimento ou ser absorvido por organismos, que o degrada ou acumula. Há interações contínuas dos agrotóxicos entre sedimento e água e são influenciadas pelo movimento da água, turbulência e temperatura (NIMMO, 1985). Destas interações pode resultar maior tempo de exposição dos organismos aquáticos aos compostos tóxicos.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e a região centro-sul é o maior centro produtor. O Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor e usuário de tecnologia na cultura de cana-de-açúcar; que o posiciona como líder em produtividade, (SINDAG, 2006).

Além da cultura de cana-de-açúcar, a aplicação de fipronil é eficaz, mesmo em baixas doses para o controle de grande variedade de insetos foliares em culturas de arroz (BALANÇA e DE VISSCHER, 1997), verduras e frutas (COLLIOT et al., 1992; ZHAO et al., 1995; STEVENS et al., 1998). O fipronil também tem uso terapêutico na área veterinária para o controle de parasitas externos (HAINZL e CASIDA, 1996).

O freqüente uso do fipronil deve-se à excelente eficácia no controle de insetos, inclusive os resistentes aos inseticidas piretróides, organofosforado e carbamatos (KIDD e JAMES 1991; BOBÉ et al., 1997). Com o uso intenso nos canaviais, espera-se a presença de resíduos de fipronil contaminando a rede hidrográfica das áreas aplicadas, que podem atingir este meio por lixiviação ou escorrimento.

A contaminação ambiental com os compostos tóxicos resulta em alterações no equilíbrio biológico e ecológico das populações de animais, no ciclo de vida e na cadeia alimentar dos ambientes aquáticos (NAKAGOME et al., 2007). Estas alterações podem afetar o crescimento, o desenvolvimento, a reprodução e favorecer a ocorrência de doenças, mudanças bioquímicas, fisiológicas e comportamentais nos organismos aquáticos. Além dos impactos ambientais negativos, a exposição do homem às substâncias tóxicas pode ocorrer por meio das cadeias tróficas alimentares e causar efeitos adversos sobre a saúde humana (MARKAVERICH et al., 2002).

O gerenciamento de compostos tóxicos em lagos e reservatórios visam proteger a vida aquática e a saúde humana de impactos causados por este xenobiótico. Os que permanecem retidos por mais tempo nas águas represadas e nos sedimentos que nas águas correntes, proporcionam maior risco à exposição, devido à maior concentração e

tempo de exposição, para os organismos aquáticos e seres humanos, que dependem da água potável ou de alimentos retirados de lagos e reservatórios (MATSUI, 2002).

Considerando-se a grande quantidade usada, a alta toxicidade do fipronil e o alto potencial de contaminação da rede hidrográfica, tornam-se relevantes os estudos ecotoxicológicos e de avaliação do potencial de risco deste inseticida. Entre os organismos-teste indicados em normas nacionais e internacionais destacam-se os peixes e as daphnias como os mais representativos do ambiente aquático (BRIGANTE e ESPÍNDOLA, 2003). Portanto, o peixe da espécie *Poecilia reticulata* foi selecionado para realização da avaliação da toxicidade e do risco do fipronil em ambiente aquático.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

Estimar e classificar a toxicidade aguda CL(I)50;96h do fipronil para *Poecilia reticulata* em ausência e presença de sedimento.

Classificar o fipronil pela toxicidade aguda avaliada com a *Poecilia reticulata* com base nos valores da CL(I)50;96h.

Avaliar o efeito do sedimento na biodisponibilidade do fipronil na água.

Classificar o fipronil quanto ao risco de intoxicação ambiental.

Avaliar a dissipação do fipronil na água à temperatura controlada (30°C) e ambiente, com ausência e presença de sedimento, e com e sem luz.

Estimar os períodos de toxicidade aguda e de segurança após a diluição de 0,75 mg.L⁻¹ de fipronil na água em cenários com espelho d'água de um há com 0,3 m e 2,0 m de profundidade.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Existe carência de informações sobre os possíveis impactos que os agrotóxicos podem causar em sistemas aquáticos, mas sabe-se que o risco de transporte desses das lavouras para a rede hidrográfica pode resultar em ação tóxica direta ou indireta

sobre organismos não-alvos, pela alteração do hábitat dos organismos ou interferência na cadeia alimentar (NAKAGOME et al., 2007).

A exposição é definida como o contato do componente químico com a superfície externa do corpo do organismo. A biodisponibilidade depende diretamente das características físico-químicas do meio aquático. Assim, a absorção dos compostos biodisponíveis no ambiente pelos organismos aquáticos depende da solubilidade do composto na água, da duração e frequência da exposição e da concentração do agente no ambiente (NAKAGOME et al., 2007).

3.1. Biodisponibilidade e toxicidade das substâncias

Os compostos hidrossolúveis estão mais prontamente disponíveis aos organismos do que aqueles mais lipofílicos, que são fortemente adsorvidos ou ligados às partículas em suspensão, matéria orgânica ou sistemas biológicos. Os agentes químicos mais hidrossolúveis podem penetrar em um organismo através da superfície do corpo, brânquias e boca e os mais lipofílicos têm que ser ingeridos e absorvidos no trato gastrointestinal (RAND e PETROCELLI, 1985).

A duração e a frequência da exposição dos organismos ao agente químico também afetam o risco de intoxicação. Na exposição aguda, os organismos entram em contato com o composto químico em um evento único ou em eventos múltiplos que ocorrem em pequeno período de tempo, que variam de horas a dias. Nas exposições agudas, onde o agente químico é rapidamente absorvido, normalmente os efeitos são imediatos; embora seja possível a produção de efeitos tardios e similares àqueles resultantes de exposição crônica (RAND e PETROCELLI, 1985).

A frequência da exposição também altera o efeito tóxico dos compostos químicos. A exposição aguda a uma única concentração pode resultar em efeito adverso imediato no organismo, enquanto duas exposições sucessivas cumulativas, iguais à exposição aguda única, podem ter pequeno ou nenhum efeito. Esta resposta diferencial pode ser devida ao metabolismo do organismo entre as exposições ou à aclimatação do organismo ao composto (RAND e PETROCELLI, 1985).

Na exposição crônica, os organismos são submetidos a baixas concentrações do agente tóxico, que é liberado continuamente ou com alguma periodicidade num longo período de tempo (semanas, meses ou anos). A exposição crônica aos compostos químicos pode também causar efeitos rápidos e imediatos, como os agudos, em adição aos efeitos que se desenvolvem lentamente (RAND e PETROCELLI, 1985).

A toxicidade depende da suscetibilidade dos organismos ao composto químico. Diferentes espécies possuem suscetibilidades diferentes devido ao aparato metabólico, hábitos alimentares, comportamento, fase de desenvolvimento, dentre outros aspectos (RAND e PETROCELLI, 1985).

Indivíduos jovens ou imaturos geralmente são mais suscetíveis aos agentes químicos do que os adultos, provavelmente em função das diferenças no grau de desenvolvimento dos mecanismos de detoxificação (RAND e PETROCELLI, 1985).

3.2. Características gerais e propriedades físico-químicas

O fipronil (Figura 1) é um inseticida do grupo químico dos pirazóis de segunda geração, desenvolvido pela empresa Rhône-Poulenc Agro, em 1987 (BOBÉ et al., 1998 ab).

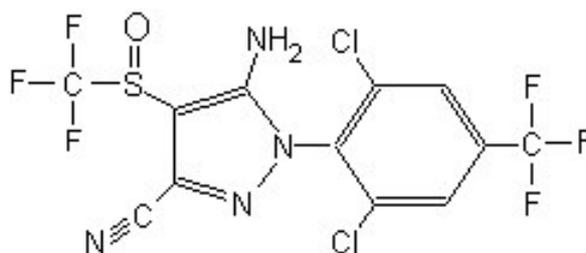


Figura 1. Estrutura molecular do inseticida fipronil.

O nome químico do fipronil, de acordo com a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), é (5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-[(trifluorometil) sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrila).

Este inseticida foi utilizado pela primeira vez em 1993 e registrado nos Estados Unidos em 1996 (BOBÉ et al., 1998 a; BCPC, 1997).

A solubilidade do fipronil na água é de 2,4 mg.L⁻¹ em pH 5 e 2,2 mg.L⁻¹ em pH 9. A vida média (hidrólise) a 32°C e pH de 7,1 e 9,1 é de 15,6 e 11,3 dias, respectivamente; no meio aquático (aeróbio) é de 14,5 dias e a degradação por fotólise no solo é de 34 dias (USEPA, 1996).

A degradação no meio aquoso, em ausência de luz a 22 °C e pH ácido (5,5) e neutro (7,0), é estável ao redor de 80% após 100 dias nas duas condições (BOBÉ et al., 1998b). O aumento de temperatura de 22 a 45°C diminuiu o tempo de degradação do fipronil de 114 para 18 horas em pH 9,0 (BOBÉ et al., 1998b).

O fipronil é um composto não-iônico (PIASAROLO, 2008), utilizado como produto de uso caseiro em forma de isca, para o controle de baratas, formigas, grilos e cupins (KIDD e JAMES, 1991). É utilizado também como antiparasitário em animais domésticos, no controle de pulgas e carrapatos. Atualmente é registrado no Brasil para o controle de cupins, besouros, lagartas e brocas nas culturas de algodão, batata, cana-de-açúcar, milho e soja (AGROFIT, 2007).

3.2.1. Mecanismo de ação tóxica do fipronil

O fipronil atua diretamente no sistema nervoso central (SNC) dos insetos, inibe o impulso nervoso normal por competição com o neurotransmissor ácido gamma aminobutírico (GABA). O inseticida bloqueia a porta de entrada dos canais de cloreto dos neurônios e impede a passagem do impulso nervoso normal, que resulta em atividade neural excessiva (KIDD e JAMES, 1991). O aumento da atividade neural causa paralisia e, conseqüentemente, a morte do inseto (BOBÉ et al., 1998a).

O GABA é o neurotransmissor inibitório mais importante no SNC, pois cerca de 30% das sinapses são GABAérgicas. O complexo de receptores do GABA é constituído por várias subunidades que formam um canal iônico e contém o sítio de reconhecimento para o GABA e outras substâncias agonistas e antagonistas. Quando os sítios de reconhecimento dos receptores são ocupados por agonistas, a atividade

GABAérgica é incrementada e quando são ocupados por antagonistas, diminui (MOHLER et al., 2004).

O efeito do fipronil no desenvolvimento embrionário do peixe paulistinha (*Danio rerio*) é a degeneração da notocorda com a concentração na água de $333 \mu\text{m.L}^{-1}$, devido ao encurtamento das fibras musculares na direção rostro-caudal, redução da transmissão interneural na medula espinal, que resulta em morte por tetânia (STEHR et al., 2006).

3.2.2. Dissipação do fipronil no ambiente

No ar o fipronil tem pressão de vapor relativamente baixa, segundo a lei de Henry's (constante), e não se volatiliza rapidamente. Em aplicações por aspersão é provável que não se encontre vapores presentes no ar (BCPC, 1997; USEPA, 1996).

No solo, o valor médio do coeficiente de adsorção do fipronil à matéria orgânica do solo (K_{oc}) é 803, que confere ao composto de baixa a moderada adsorção por área de superfície (MEDE e RHÔNE-POULENC AGRICULTURAL LIMITED, 1997; DPR, 2001). A molécula tem baixa capacidade de dispersão na terra, mas isto não resulta em baixo potencial para a contaminação das águas subterrâneas (USEPA, 1996; BURR, 1997).

Em estudo comparativo da adsorção do fipronil, em dois tipos de solo no mediterrâneo, foi constatado que a adsorção estava diretamente relacionada com a quantidade de matéria orgânica presente no solo (BOBÉ et al., 1997).

No ambiente aquático a solubilidade determinada para o fipronil foi de 2,0 a 2,4 mg.L^{-1} (USEPA, 1996; KIDD e JAMES, 1991; AYLIFFE, 1998). O fipronil foi adsorvido rapidamente em sedimento com areia contendo 8% de matéria orgânica e pH 5,8 (FEUNG e YENNE, 1997). A vida média do fipronil em condições aquáticas aeróbias é de aproximadamente 14,5 dias. Nesta condição, a maior quantidade de metabólito formado é de sulfito, que correspondeu a 74% do resíduo total depois de 30 dias (FEUNG e YENNE, 1997).

CONNELLY (2001) descreveu a transformação do fipronil no meio aquático, onde gera o desulfenil, subproduto com ação neurotóxica semelhante à molécula original do fipronil, que mantém a ação tóxica aos organismos expostos.

Em estudos metabólicos observa-se que há um potencial de bioacumulação do desulfinil em tecidos gordurosos (DEMCHECK e SKROBIALOWSKI, 2003; CONNELLY, 2001).

Em estudos de campo e de laboratório em diferentes tipos de solo, sob diversas condições ambientais, foram estabelecidas as rotas de degradação do fipronil em água e em solo. O composto pode ser metabolizado via redução ao sulfeto, via oxidação a sulfona, e via hidrólise à amida. Em presença de luz solar, o fipronil é fotodegradado e forma o desulfinil fipronil (FENET et al., 2001).

3.3. Estudos ecotoxicológicos

Na avaliação do impacto de substâncias tóxicas em sistemas aquáticos, as análises químicas são muito importantes, mas são limitadas e insuficientes para a real compreensão dos processos e interações com o meio e a biota, e estimar os efeitos na estrutura e função ecológica. Para suprir estas limitações os testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos são utilizados, pois permitem testar hipóteses mais abrangentes relativas à saúde dos sistemas hídricos submetidas às mais diversas formas de poluição química (ESPÍNDOLA et al., 2003).

Os testes ecotoxicológicos podem ser utilizados como instrumento de predição (ESPÍNDOLA et al., 2003), antecipação e diagnóstico de possíveis impactos ecológicos causados pelos compostos tóxicos (CALOW, 1993), bem como para classificação, regulação e mapeamento da contaminação (CAIRNS et al., 1998).

Os estudos em toxicologia aquática são qualitativos e quantitativos em relação aos efeitos tóxicos sobre os organismos aquáticos. HERRICKS (2002) cita que os efeitos tóxicos podem incluir tanto a letalidade (mortalidade) e efeitos subletais, como alterações no crescimento, desenvolvimento, reprodução, respostas farmacocinéticas, patologia, bioquímica, fisiologia e comportamento.

Os efeitos podem ser expressos por meio de critérios mensuráveis como o número de organismos mortos, porcentagem de ovos chocados, alterações no tamanho e peso, porcentagem de inibição enzimática, incidência de tumor, dentre outros. A toxicologia aquática também está relacionada com as concentrações ou quantidades dos agentes

químicos que podem ocorrer no ambiente aquático, como água, sedimento ou alimento (RAND e PETROCELLI, 1985).

A toxicidade de um composto químico depende da exposição, da suscetibilidade do organismo, das características químicas do agente e de fatores ambientais. O efeito esperado varia em função da concentração e do período de tempo em que uma dada concentração é mantida (HERRICKS, 2002).

Normalmente, concentrações elevadas produzem respostas agudas, e concentrações baixas respostas crônicas, que demandam intervalo longo para causar efeitos. O início de uma resposta observável define um limite quantificável. O aumento da concentração produz resposta variável em função da gravidade do aumento ocorrido (HERRICKS, 2002).

O objetivo dos testes e das análises dos efeitos das substâncias tóxicas em lagos e reservatórios é apoiar o gerenciamento e a implantação de estratégias de controle capaz de minimizar impactos ambientais, e manter a integridade física, química e biológica dos sistemas. As melhores diretrizes para o gerenciamento das substâncias tóxicas podem ser encontradas na literatura sobre identificação de toxicidade e determinação de riscos (HERRICKS, 2002).

A ecotoxicidade aguda do fipronil foi avaliada para alguns organismos não-alvos. CHANDLER et al. (2004) estimaram a CL(I)50;96h de fipronil para o copépode *Amphiascus tenuiremis* em 0,0068 mg.L⁻¹ e determinaram a sobrevivência de 90% expostos a 0,22 mg.L⁻¹; 94 % de inibição da reprodução com 0,42 mg.L⁻¹ e atraso no tempo de expulsão dos ovos pelas fêmeas.

Para o microcrustáceo *Daphnia pulex*, a CL(I)50;96h estimada foi de 0,016 mg.L⁻¹ (STARK et al., 2005). A CL(I)50;96h calculada para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foi de 0,248 mg.L⁻¹ (USEPA, 1996).

SCOTT et al. (2008) determinaram o efeito do fipronil nos córregos usados para irrigação da cultura de arroz, por meio da avaliação da comunidade macroinvertebrada. Verificaram que a persistência, após seis meses de uma única aplicação de 0,005 mg.L⁻¹ diminuiu a população dos macroinvertebrados aquáticos estudados.

GUNASEKARA et al. (2007) fizeram uma revisão de literatura e concluíram que o fipronil classifica-se como altamente tóxico para varias espécies de organismos aquáticos.

3.4. Testes de ecotoxicidade aguda

Entre os organismos aquáticos, os peixes são os mais utilizados em testes como bioindicadores (HERRICKS, 2002). Devido às suas múltiplas interações ecológicas nos ambientes aquáticos, foram eleitos como bioindicadores de substâncias tóxicas em diversas normas de estudos desta natureza e em trabalhos científicos (HELFRICH et al., 1996).

A finalidade dos testes de ecotoxicidade aguda é avaliar a letalidade ou a imobilidade dos organismos submetidos a um curto período de tempo de exposição à substância tóxica e estabelecer um intervalo de concentração dentro da qual se estima o valor da CL(I)50;96h (concentração letal inicial 50% em 96 horas de exposição) (HELFRICH et al., 1996). A CL50 é definida como a concentração letal que causa mortalidade em 50% do organismo-teste. Estas concentrações são expressas em μ ou mg.L^{-1} do meio e por períodos de 24 a 96 horas (HELFRICH et al., 1996).

3.4.1. Organismo-teste (*Poecilia reticulata*)

O guarú (*Poecilia reticulata*) é um peixe teleósteo euriliano com grande capacidade adaptativo, usado como referência para os modelos biológicos e é utilizado para estudos dos efeitos das variações ambientais sobre seu organismo (SILVA et al., 2003). Está presente em diversos habitats, desde águas altamente turvas em charcos e canais (KENNY, 1995), assim como águas paradas com vegetação (ALLEN, 1991). Têm ampla faixa de tolerância à salinidade da água, porém requerem temperaturas entre 23 e 24 °C e vegetação estática para sua vivência (SKELTON, 1993). As fêmeas atingem até 5,0 cm de comprimento (ALLEN, 1991). Os machos amadurecem sexualmente em dois meses e as fêmeas, em três (RIEHL e BAENSCH, 1991). Com estas características, o guarú é um peixe adequado para ser utilizado como organismo testes em estudos ecotoxicológicos com agrotóxicos.

3.5. Influência do sedimento no ecossistema aquático

O sedimento é o resultado de diversos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem nos ecossistemas aquáticos e exerce influência no metabolismo de todo o sistema. Portanto, é um dos mais importantes compartimentos que devem ser estudados durante a avaliação do nível de contaminação dos ecossistemas aquáticos, dada a sua grande capacidade em acumular compostos orgânicos e inorgânicos, principalmente por processos de decantação (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

O sedimento é constituído normalmente por um complexo de argila, areia, sais minerais e matéria orgânica. A composição do sedimento pode variar desde totalmente mineral até com predominância orgânica, que dependem de fatores naturais e antrópicos, e são considerados uma das partes mais complexas existentes nos ecossistemas aquáticos (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Desde a origem do material particulado em solução, que compete com a coluna de água pela adsorção de inúmeros compostos, até a sedimentação no leito dos rios, lagos ou reservatórios, as mudanças são inúmeras (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

O material de natureza orgânica e inorgânica, dissolvido e particulado, que penetra no ambiente aquático inevitavelmente se associa por meio de processos de superfície como adsorção, complexação e reprecipitação, aos particulados suspensos preexistentes no ambiente e, conseqüentemente, tendem a se depositar no fundo desses ambientes, passando a fazer parte do sedimento. A reatividade dos sólidos particulados suspensos e de fundo será mais elevada quanto mais fina for a partícula, isto é, quanto maior a área superficial (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Quando presentes no sedimento, os contaminantes podem se associar às partículas e ficarem indisponíveis ao ecossistema, sofrer transformações e originar formas mais ou menos tóxicas, assim como migrar para organismos bentônicos ou coluna de água. Grandes quantidades de poluentes presentes no sedimento podem ou não ocasionar efeitos sobre os organismos aquáticos; fica na dependência de vários fatores que afetam a disponibilidade e a toxicidade (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

A variação da toxicidade de compostos orgânicos não-iônicos em diferentes sedimentos está relacionada ao conteúdo de carbono orgânico presente nos mesmos.

Isso ocorre porque a partição desses compostos entre o sedimento e a água é influenciada pelo conteúdo de matéria orgânica. Portanto, para os compostos orgânicos não-iônicos, a característica dominante que afeta o comportamento dos mesmos é o conteúdo de matéria orgânica associada ao sedimento e à água intersticial (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

A resposta dos organismos aos contaminantes pode ser afetada pelo estágio de vida, saúde e pela forma como o composto é metabolizado. Além disso, o hábito alimentar, incluindo o tipo de alimento e a taxa de alimentação pode controlar a quantidade de contaminantes à qual o organismo está exposto. É importante lembrar que invertebrados bentônicos selecionam como alimento partículas com elevadas concentrações de matéria orgânica, que podem conter elevadas concentrações de contaminantes (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

ARAUCO et al. (2005) realizaram estudos ecotoxicológicos com três espécies de daphnias (*D. magna*, *D. similis* e *D. Laevis*) para avaliar o potencial tóxico do inseticida organofosforado triclorfon (usado em agricultura e piscicultura) e do sulfato de cobre na presença e ausência de sedimento. A presença de sedimento diminuiu a biodisponibilidade de ambos os produtos utilizados para as três espécies de daphnias.

3.6. Classificação das substâncias tóxicas pela toxicidade aguda ou periculosidade

Os resultados dos estudos toxicológicos e ecotoxicológicos, principalmente os dados calculados em testes, são utilizados para classificar as substâncias tóxicas em classes de toxicidade ou periculosidade e risco ambiental. A periculosidade expressa o potencial tóxico das substâncias e é utilizada para classificá-las em potencial de periculosidade (HELFRICH et al., 1996).

HELFRICH et al. (1996) citam uma classificação dos compostos tóxicos pela toxicidade aguda ou periculosidade dividida em seis classes, cujas denominações das substâncias tóxicas variam de minimamente não-tóxica a super tóxica ou perigosa.

O risco de intoxicação ambiental dos agrotóxicos é definido como a probabilidade da exposição de um organismo a um composto tóxico no ambiente causar lesões e

efeitos tóxicos. Portanto, a avaliação de risco ambiental é realizada com base em dados ecotoxicológicos e nas concentrações ambientais estimadas (CAE) dos agrotóxicos, cujas relações quantitativas são utilizadas para classificar os riscos ambientais das substâncias tóxicas específicas (URBAN e COOK, 1986; KOKTA e ROTHERT, 1992; SOLOMON, 1996; USEPA, 1999).

As CAEs dos agrotóxicos presentes nos ambientes aquáticos são estimadas para cenários de lâmina de águas e contaminações (SOLOMON, 1996; BURNS, 2001). Os cenários para o cálculo da CAE são estabelecidos tendo em conta a coluna de água de 0,30 m; por compreender a faixa onde se encontram o zooplâncton e o fitoplâncton, que são as bases da cadeia alimentar aquática (BOOCK e MACHADO NETO, 2000). Outro cenário considerado também é da coluna de água de 2,0 m; recomendada pela USEPA, para avaliação de risco em ambientes aquáticos (SOLOMON, 1996).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada nos testes de toxicidade aguda do fipronil para *P. reticulata* está de acordo com o método padronizado pela norma do IBAMA (1987).

4.1. Local de realização dos bioensaios

Os testes para a avaliação da toxicidade aguda do fipronil foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia dos Agrotóxicos e Saúde Ocupacional do Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal, associado ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP).

O agrotóxico em estudo foi o fipronil com o nome químico (\pm)-5-amino-1-(2,6-dicloro- α,α,α -trifluoro-*p*-tolyl)-4=trifluorometilsulfinilpirazol-3-carbonitrilo, inseticida de segunda geração do grupo dos pirazois. A formulação comercial utilizada denomina-se Regent 800 WG[®], fabricada pela empresa BASF S.A e registrada no Brasil sob o número 05794 (AGROFIT, 2007).

4.2. Obtenção, manutenção e aclimação dos peixes

Os exemplares de guarú (Figura 2) foram coletados em tanques de criação do

Centro de Aquicultura da UNESP, localizado no Campus de Jaboticabal e transportados até o laboratório de Ecotoxicologia e Saúde Ocupacional.

Os lotes de peixes foram aclimatados por sete dias em reservatório de fibra de amianto revestido com resina epóxi de 1000 L de capacidade (Figura 3 A), em ambiente aberto e na sombra. Em seguida, os peixes foram transferidos ao reservatório com capacidade de 250 L dentro da sala climatizada, onde os testes foram realizados (Figura 3 B). A água de abastecimento utilizada foi de poço artesiano, com renovação e aeração constante, e temperatura em torno de 23 ± 1 °C (IBAMA, 1987), controlada com o uso de termostato. Os peixes foram alimentados com ração comercial “Poli peixes” Polinutre LTDA. (28% pb), fornecida uma vez ao dia. A limpeza dos reservatórios de aclimação foi realizada por sifonamento.

Os períodos de aclimação foram necessários para a observação da sanidade dos animais e a recuperação do estresse da captura.



Figura 2. Exemplar de *Poecilia reticulata*

Fonte: <http://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.asp?speciesID=863>



Figura 3. Tanque para aclimação, 1000 L (A) e 250 L (B).

4.3. Testes de toxicidade aguda

4.3.1. Testes de sensibilidade

Para avaliar a sensibilidade dos organismos testes foram realizados testes de toxicidade aguda periódicos com as substâncias de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), de acordo com IBAMA (1987).

Após o período de aclimação, os peixes foram expostos às concentrações de 0, 40, 60, 80, 100, 120, 140 e 160 $mg.L^{-1}$ de dicromato de potássio, em aquários de vidro com capacidade de 8,0 L em 5,0 L de solução teste.

Os aquários-teste foram inicialmente preenchidos com 3,0 L de água e adicionados cinco peixes adultos com peso $0,42 \pm 0,06$ g ($n=5$). As soluções-teste foram adicionadas 24 h após a transferência dos organismos. A densidade de peixe utilizada foi o recomendado pela norma do IBAMA (1987): no máximo, 1 g de peixe por litro de água.

As diluições foram preparadas em 2,0 L de água e completado para o volume total de 5,0 L de solução-teste por réplica. Para cada concentração, foram utilizadas três réplicas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC). Os testes foram mantidos em sala climatizada a 23 ± 1 °C, sem alimentação e sem aeração por 96 horas (IBAMA, 1987). A cada 24 horas foram registradas as variáveis físico-químicas das soluções-teste das parcelas experimentais, e os peixes mortos registrados e retirados dos aquários.

A $CL(I)50;96h$ média ($n=3$) dos testes de sensibilidade ao dicromato de potássio, calculada ao longo dos experimentos foi, $83,8 \pm 1,2$ $mg.L^{-1}$ com limite superior (LS) 98,6 $mg.L^{-1}$ e limite inferior (LI) 63,1 $mg.L^{-1}$.

4.3.2. Testes preliminares e definitivos

Os testes preliminares foram realizados para determinar o intervalo de concentração do fipronil para ser utilizada nos testes definitivos. Nestes testes foi determinada a maior concentração não letal (0,0% mortalidade) e a menor que causa 100% de morte dos organismos-testes. Com o intervalo das concentrações obtidas nos testes preliminares para a espécie foram realizados os testes definitivos.

As diluições do fipronil na água foram realizadas de acordo com a concentração do ingrediente ativo na formulação comercial Regent 800 WG® (800 g/kg).

Para as diluições da solução-teste os aquários, inicialmente foram preenchidos com 3 L de água e adicionados cinco peixes adultos com peso $0,43 \pm 0,08$ g (n=5). A solução-teste foi adicionada 24 h após a transferência dos organismos. As diluições foram preparadas em 2,0 L de água e o volume total de 5,0 L de solução-teste por réplica, completado com água. Para cada concentração, foram utilizadas três réplicas e o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC).

As condições dos testes, assim como a avaliação foram as mesmas empregadas nos testes de sensibilidade.

Os peixes foram expostos às concentrações de 0; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15 mg.L⁻¹ de fipronil. Os testes foram realizados com presença e ausência de sedimento. Durante a realização do teste definitivo foram avaliadas as variáveis físico-químicas da água às 14:00 horas (Tabela 1). As análises físico-químicas do sedimento empregado nos testes encontram-se na Tabela 2.

Diariamente foram observados e registrados os sinais de intoxicação dos peixes. Os sinais observados foram os seguintes: hiper-excitação, natação errática, localização na coluna de água, letargia.

Os valores da CL(I)50;96h estimados nos ensaios realizados na presença e ausência de sedimento foram calculados com o software Trimmed Spearman – Karber (HAMILTON et al., 1997).

Tabela 1. Média dos valores diários das variáveis físico-químicas da água dos testes de toxicidade aguda para *Poecilia reticulata* sem e com sedimento.

| Tempo (horas) | Variáveis físico-químicas da água | | | | | |
|---------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Sem Sedimento | | | Com Sedimento | | |
| | pH | Condutividade elétrica (µS/cm) | Oxigênio (mg.L ⁻¹) | pH | Condutividade elétrica (µS/cm) | Oxigênio (mg.L ⁻¹) |
| 24 | 7,86±0,23 | 183,71±5,09 | 5,14±1,41 | 7,05±0,20 | 141,82±9,19 | 5,12±0,96 |
| 48 | 8,16±0,17 | 179,81±5,69 | 5,08±1,70 | 6,97±0,18 | 141,53±8,92 | 4,71±1,02 |
| 72 | 7,98±0,16 | 189,63±4,62 | 5,14±1,31 | 7,06±0,17 | 139,17±5,78 | 4,59±1,05 |
| 96 | 8,09±0,10 | 185,70±5,13 | 5,06±0,70 | 7,11±0,13 | 138,03±8,01 | 5,07±0,90 |

Tabela 2. Análises químicas e físicas do solo usado como sedimento nos aquários nos testes de toxicidade aguda e no estudo do fipronil no ambiente aquático.

| Composição Química | Valores | Composição Física | Valores |
|---|---------|------------------------------------|----------|
| pH (em CaCl ₂) | 5,5 | Argila (g.kg ⁻¹) | 425 |
| MO (%) | 3,8 | Limo (g.kg ⁻¹) | 166 |
| K (mmol _c /dm ³) | 4,8 | Areia fina (g.kg ⁻¹) | 197 |
| Ca (mmol _c /dm ³) | 59,0 | Areia grossa (g.kg ⁻¹) | 212 |
| Mg (mmol _c /dm ³) | 20,0 | Classe textural | Argilosa |
| H+ Al (mmol _c /dm ³) | 34,0 | | |
| T (mmol _c /dm ³) | 117,8 | | |
| V (%) | 71,0 | | |

MO = Matéria Orgânica; H + Al = Hidrogênio + Alumínio; SB = Soma de Bases; T = Capacidade de Troca de Cátions; V = Porcentagem de saturação de bases

4.4. Classificação do fipronil pela toxicidade aguda e pelo risco ambiental

Os valores da CL(l)50;96h obtidos para a espécie estudada foi utilizado para classificar o fipronil quanto ao potencial tóxico para esta espécie, de acordo com as classes toxicológicas apresentadas na Tabela 3, citadas por ZUCKER (1985).

Tabela 3. Classes de toxicidade aguda para organismos aquáticos (ZUCKER, 1985)

| Classe de toxicidade | CL50 ou CE50 (mg.L ⁻¹) |
|-------------------------|------------------------------------|
| Extremamente tóxico | < 0,1 |
| Altamente tóxico | 0,1 a 1,0 |
| Moderadamente tóxico | > 1,0 a < 10 |
| Ligeiramente tóxico | > 10 a < 100 |
| Praticamente não-tóxico | > 100 |

Para o cálculo da CAE, foram considerados os cenários em que o inseticida se encontra uniformemente distribuído no espelho de água de um reservatório de um hectare (10.000 m²) de área e com 0,3 m de profundidade (BOOCK e MACHADO-NETO, 2000) e 2,0 m de profundidade (SOLOMON, 1996).

Considerou-se a diluição do fipronil na água nas proporções de 100,0%, 50,0%,

25,0%, 12,5%, 6,25%, 3,12% e 1,56% da maior dosagem (400 g i.a./ha) recomendada para uso agrícola (ANDREI, 1999), para calcular as CAES nos dois cenários.

O fipronil também foi classificado quanto ao risco de intoxicação ambiental nas classes citadas pela USEPA (1996), estabelecidas de acordo com resultado da divisão da concentração ambiental estimada (CAE) pela CL50 do fipronil estimadas nos testes de toxicidade aguda. Este resultado é um número puro, as unidades se anulam na divisão, e é denominado de Quociente de Risco ($RQ = CAE/CL50$). Para a classificação do risco de intoxicação ambiental, de acordo com os valores do RQ calculados com as diluições do fipronil na água, foram utilizadas as classes propostas pela USEPA (1996), que estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Classes de risco de intoxicação ambiental (USEPA, 1996)

| Classificação | Descrição | RQ (mg.L⁻¹) |
|----------------------|---|-------------------------------|
| Baixo Risco | É recomendada cautela no uso do produto | < 0,05 |
| Médio Risco | Produto com uso restrito | 0,05 > < 0,5 |
| Alto Risco | É recomendada a revisão da permissão de uso ou cancelamento | > 0,5 |

4.5. Estudo de dissipação do fipronil na água

Para a avaliação do fipronil na água foram considerados os seguintes fatores: temperatura (30°C e ambiente), luminosidade (ausência e presença) e sedimento (ausência e presença), totalizando oito tratamentos, que foram analisados em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições, conforme se observa na Tabela 5.

Foi realizado o mesmo procedimento de diluição da concentração de 0,75 mg.L⁻¹ no volume final de 1,0 L de água para o estudo de dissipação em ausência de sedimento. Para o estudo com sedimento o volume final foi de 2,0 L de água e 1,0 kg de sedimento. Cujas características físico-químicas encontram-se na Tabela 2. Os recipientes para avaliar a dissipação do fipronil sem luz foram cobertos com papel alumínio para evitar a incidência de luz e cobertos com filme plástico, para evitar a

evaporação. As parcelas experimentais foram recipientes de vidro com 3,0 L de capacidade.

Tabela 5. Tratamentos empregados para o estudo de dissipação do fipronil na água

| Temperatura | Substrato | Luminosidade | Tratamentos |
|--------------------------|---------------|--------------|-------------|
| 30 °C | Sem sedimento | Com luz | 1 |
| | | Sem luz | 2 |
| | Com sedimento | Com luz | 3 |
| | | Sem luz | 4 |
| Ambiente (25,4±1,7°C) | Sem sedimento | Com luz | 5 |
| | | Sem luz | 6 |
| | Com sedimento | Com luz | 7 |
| | | Sem luz | 8 |

A dureza da água utilizada nos testes foi 53 mg.L⁻¹ em termos de CaCO₃, classificando-se como mole (TAVARES, 1994).

As coletas de amostras 30 mL de água por recipiente foram realizadas às 14:00 h às 8 horas após a diluição do inseticida na água e um, três, sete, 12, 18, 25 e 33 dias. Durante o tempo do experimento foram registrados os parâmetros físico-químicos da água, conforme se observa na Tabela 6. Os valores de temperatura ambiente foram: máxima 27,6±1,2 °C, mínima de 23,2±0,9 °C, e a média de 25,4 ± 1,7 °C.

Tabela 6. Média dos valores diários das variáveis físico-químicas da água dos ensaios de dissipação do fipronil na água a temperatura controlada e ambiente.

| Condições Ambientais | Temperatura da água (°C) | Condutividade (µS.cm) | Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹) | pH |
|----------------------|--------------------------|-----------------------|---|------------|
| 30 °C | 30,02 ± 0,8 | 200,58 ± 26,7 | 6,02 ± 0,2 | 7,12 ± 0,1 |
| 25,4 ± 1,7°C | 25,25 ± 0,4 | 191,31 ± 17,2 | 6,13 ± 0,3 | 6,96 ± 0,2 |

4.5.1 Análises Cromatográficas

4.5.1.1 Condições cromatográficas e calibração do equipamento

A determinação do fipronil foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em um cromatógrafo Thermo Finnigan Surveyor, equipado com detector

UV/Vis e coluna ACE 5 C18 de fase reversa, com 150 x 4,6 mm de comprimento e tamanho de partícula de 5 μm .

A fase móvel empregada foi uma solução de acetonitrila e água ultrapura (Elga[®] Purelab UHA) (80:20; v/v), em sistema isocrático, com fluxo de 1,0 mL/min e comprimento de onda do detector de 280 nm, e a temperatura da coluna de 35°C (HADJMOHAMMADI et al., 2006).

A curva analítica foi construída com as áreas dos picos dos cromatogramas das soluções-padrão de 0,0625; 0,125; 0,25; 0,50; 0,75 mg.L^{-1} . O padrão analítico do fipronil utilizado foi da marca BASF[®], com pureza de 98,9%, diluído em acetonitrila (grau HPLC). Na Figura 4 observa-se um cromatograma após a injeção de uma amostra de solução-padrão de fipronil na concentração de 0,75 mg.L^{-1} v. O tempo de retenção do analito foi de 2,6 minutos (Figura 4).

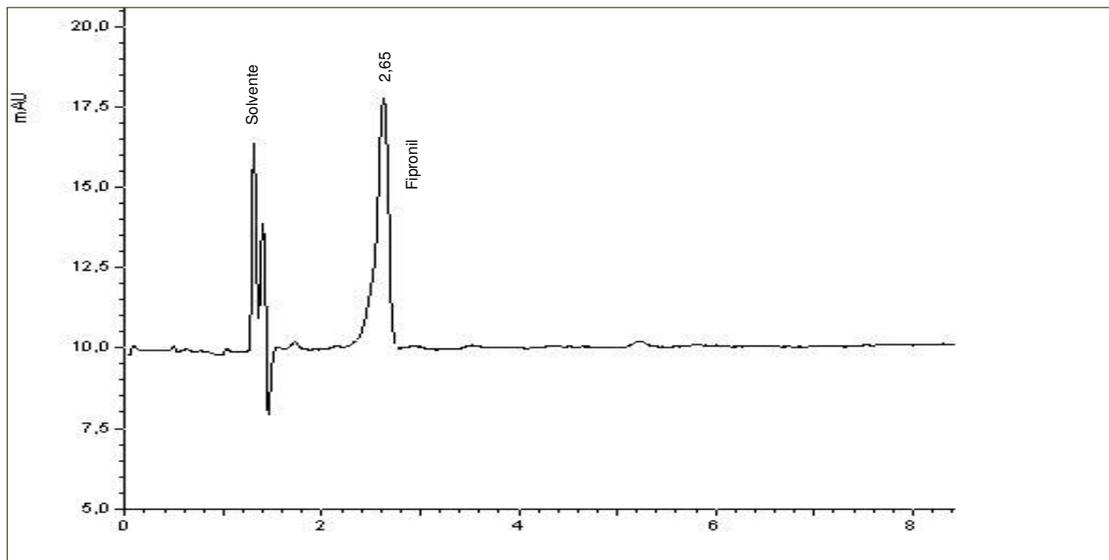


Figura 4. Cromatograma do padrão analítico do fipronil (0,75 mg.L^{-1}), tempo de retenção 2,6 min.

4.5.1.2. Limites de detecção e de quantificação do fipronil

O limite de detecção (LD) é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as

condições experimentais estabelecidas. O LD obtido para o fipronil foi $0,006 \text{ mg.L}^{-1}$, o valor estimado da concentração do analito que produz um sinal três vezes superior ao ruído da linha de base, medido após a injeção do branco ($n=10$).

O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor concentração do analito que pode ser quantificada com exatidão e com fidelidade ($n=10$) após a injeção do branco (LANÇAS, 2004).

O limite de quantificação (LQ) foi $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$ e encontra-se dentro do recomendado pela ANVISA (2003), que determina LQ como três vezes maior que o LD.

4.5.1.3. Estudos de recuperação e extração do padrão analítico

O estudo de recuperação do fipronil foi realizado com a fortificação (adição de padrão analítico) na matriz água (Figura 5).

A concentração da matriz aquosa ($0,75 \text{ mg.L}^{-1}$) foi realizado em triplicata e injetada no sistema de cromatografia líquida imediatamente após a extração.

A extração do analito nas amostras de água coletadas dos recipientes de vidro foi realizada de acordo com a metodologia determinada nos estudos de recuperação.

A recuperação do padrão analítico do fipronil ($0,75 \text{ mg.L}^{-1}$) foi de 95,12%, e coeficiente de variação de 1,65%. Estes resultados qualificam o método de extração como adequado para a matriz analisada. O valor de recuperação do inseticida está dentro da faixa de aceitabilidade de recuperação definida pela norma da ANVISA (2003).

4.5.2. Recuperação e extração do fipronil (Regent 800 WG[®]) da matriz água

As amostras de água foram fortificadas com solução-padrão de $0,75 \text{ mg.L}^{-1}$ de fipronil na formulação comercial Regent 800 WG[®] e transferidas para funil de separação de 125 mL (Figura 5 A). Em seguida, foram adicionados 50 mL de diclorometano (DCM) e as amostras, agitadas manualmente por aproximadamente dois minutos, até a separação das fases orgânica (solvente) e aquosa (Figura 5 B).

Em cada amostra foram realizadas quatro partições com DCM. A fração aquosa foi descartada e as frações orgânicas (camada inferior), filtradas em papel filtro Qualy[®]

(0,47 μm de porosidade) com sulfato de sódio anidro e coletadas em balão de fundo redondo.

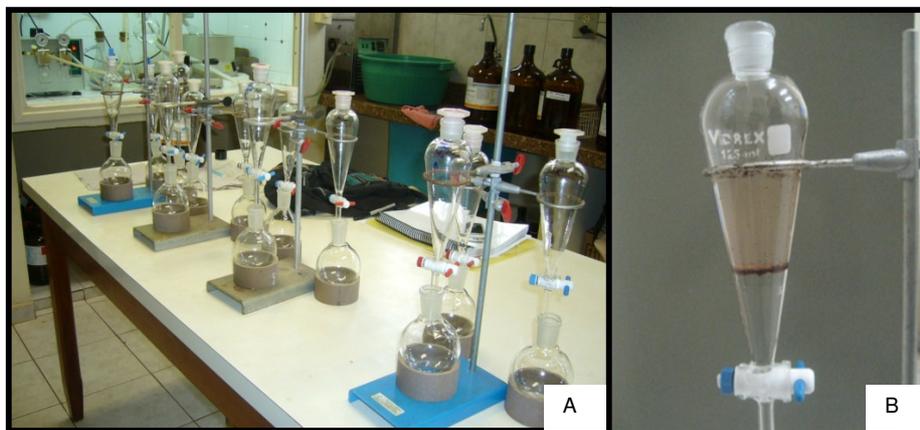


Figura 5. Bateria de extração do fipronil da água.

O balão contendo as quatro partições (200 mL) do solvente foi levado ao rotaevaporador (Fisatom[®]) a 35 °C. Após a secagem completa, foram ressuspendidas em 5,0 mL de acetonitrila. Para facilitar o descolamento do eluato da parede dos balões, utilizou-se um aparelho de ultra-som (Cleaner, Odontobrás[®], 40 KHz) durante três minutos e transferido para o vial, para leitura no sistema CLAE. Na figura 6 observa-se um dos cromatogramas após 33 dias de fortificação com 0,75 mg.L⁻¹ de fipronil na água.

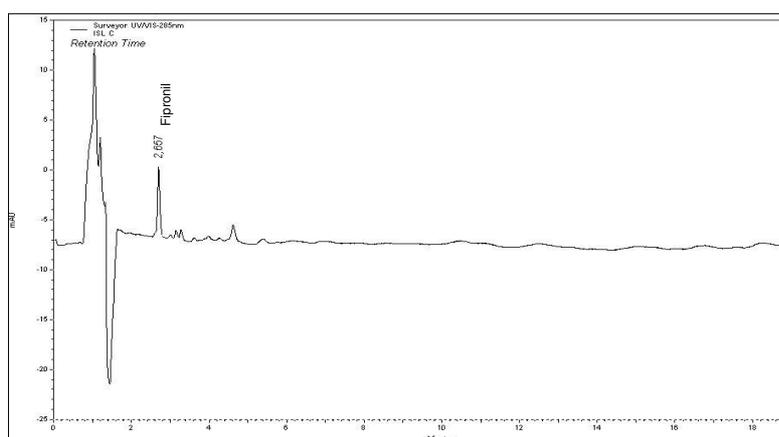


Figura 6. Cromatograma referente à extração do fipronil (0,75 mg.L⁻¹) da matriz água após 33 dias de teste.

Os resultados da dissipação do fipronil na água foram analisados utilizando-se a análise de variância com o teste F, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, quando o F foi significativo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Toxicidade aguda para *Poecilia reticulata*

O valor médio da CL(I)50;96h do fipronil estimado para o guarú nos experimentos sem sedimento foi de $0,08 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$; e com sedimento, $0,09 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$, conforme se observa na Tabela 7.

Nos experimentos a mortalidade média do grupo controle ($0,0 \text{ mg.L}^{-1}$) nos testes sem sedimento e com sedimento não superaram o 10% segundo a norma do IBAMA, 1987. Portanto os experimentos são considerados válidos.

Para a espécie peixe-guelra-azul (*Lepomis macrochirus*) a CL(I)50;96h do fipronil estimada foi de $0,08 \text{ mg.L}^{-1}$ (USEPA, 1996), que é um valor muito próximo da CL(I)50;96h estimada do fipronil para o guarú em ausência de sedimento. Para a tilápia (*Oreochromis niloticus*), a CL(I)50;96h foi de $0,25 \text{ mg.L}^{-1}$ (USEPA, 1996).valor que caracteriza este inseticida como três vezes mais tóxico para tilápia que para do guarú.

Tabela 7. Valores da CL50(I);96h, limites superior e inferior, equação e R^2 , dos testes de toxicidade aguda realizados com guarú sem e com sedimento

| Condições | CL(I)50;96h (mg.L^{-1}) | Limites (mg.L^{-1}) | | Equação (Mortalidade) | R^2 |
|---------------|---------------------------------------|--------------------------------|----------|-----------------------|-------|
| | | Inferior | Superior | | |
| Sem sedimento | 0,08 | 0,07 | 0,09 | $y = 676,03x - 3,10$ | 0,96 |
| Com sedimento | 0,09 | 0,08 | 0,10 | $y = 723,54x - 7,62$ | 0,98 |

Na Figura 7 estão apresentadas as porcentagens de mortalidade média do guarú após a exposição de 96 horas ao fipronil, nos experimentos realizados para a estimativa da CL(I) 50;96h com e sem sedimento nos aquários.

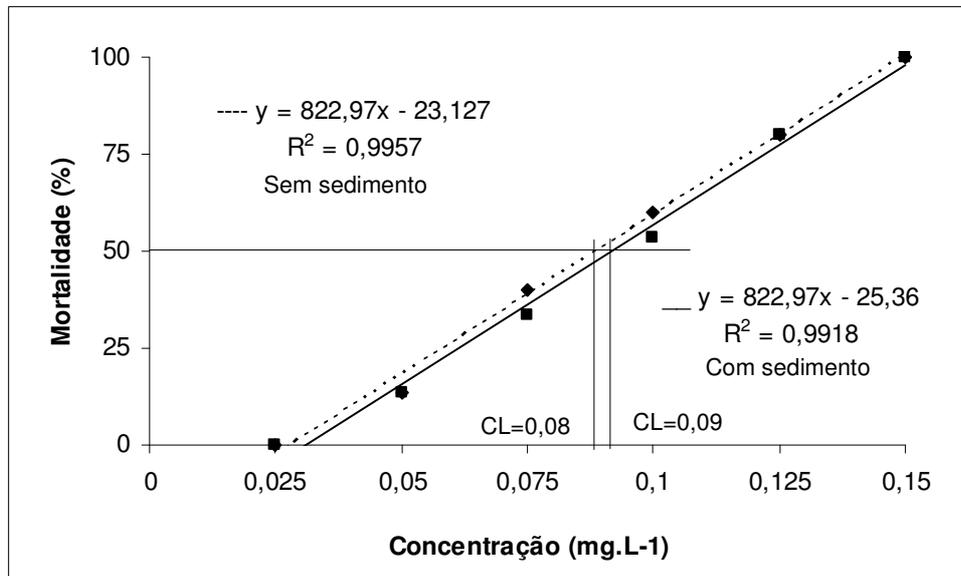


Figura 7. Representação gráfica da mortalidade (%) e concentração letal 50% para o guarú em função da concentração (mg.L⁻¹) de fipronil em ausência e presença de sedimento.

Para os testes sem e com sedimento, os sinais de intoxicação começaram após 12 h de exposição nas maiores concentrações (0,1; 0,125 e 0,15 mg.L⁻¹). Observou-se nos peixes hiper-excitação e nado errático. Após 24 horas de exposição, estes sinais também foram observados nas menores concentrações (0,025 e 0,050 mg.L⁻¹), mas com menor severidade. No final do teste, após 96 horas estes sinais ainda foram observados nos peixes expostos a todas as concentrações de fipronil na água.

Estes sinais podem ser resultantes do fechamento dos canais de cloreto dos neurônios causados pela inibição do GABA (BOBÉ et al., 1998a), que resulta em tetania e contração muscular e flexão lateral (STEHR et al., 2006).

O efeito do fipronil no desenvolvimento embrionário do peixe paulistinha (*Danio rerio*) é a degeneração da notocorda com a concentração de 333 µm.L⁻¹ na água, causado pelo encurtamento das fibras musculares na direção rostro-caudal, redução da transmissão interneural na medula espinal, que resulta em morte por tetania (STEHR et

al., 2006). Este efeito explica a maior excitação com flexão lateral nos peixes expostos às concentrações de 0,1 até 0,15 mg.L⁻¹ de fipronil.

5.2. Classificação do fipronil quanto à toxicidade aguda e ao risco ambiental

Pelas classes contidas na Tabela 3 verifica-se que o fipronil classifica-se como extremamente tóxico para *P. reticulata*, de acordo com ZUCKER (1985). Os valores da CL50;96h, na ausência e presença de sedimento são inferiores a 0,1 mg.L⁻¹ (Tabela 7).

Em corpos de água com profundidade de 0,30 m (Tabelas 8 e 9), na ausência e presença de sedimento nos testes de toxicidade aguda para o guarú, o fipronil classifica-se como de alto risco de intoxicação ambiental para o guarú, entre as concentrações 0,133 e 0,066 mg.L⁻¹, oriundas da maior dosagem de uso agrícola recomendada (400 g i.a/ha). Nestes cenários, o índice RQ encontra-se em concentrações superiores 0,5 mg.L⁻¹, o que recomenda revisão da permissão de uso ou cancelamento (Tabela 4).

O fipronil classifica-se como de risco médio entre as concentrações 0,033 e 0,008 mg.L⁻¹, onde o RQ encontrase entre 0,05 e 0,5 mg.L⁻¹, intervalo que recomenda o produto com uso restrito.

O fipronil classifica-se como de baixo risco nas concentrações de 0,04 e 0,002 mg.L⁻¹, onde o valor do RQ é inferior a 0,05 mg.L⁻¹, o que recomenda o uso com cautela (Tabela 4).

Em corpos de água com profundidade de 2,0 m, com ausência e presença de sedimento (Tabelas 8 e 9) nos testes de toxicidade aguda para o guarú, o inseticida classifica-se como de risco médio entre as concentrações 0,02 e 0,005 mg.L⁻¹. Neste cenários, o RQ está entre 0,05 e 0,5 mg.L⁻¹ e o classifica com uso restrito. O fipronil classifica-se de baixo risco de intoxicação ambiental em concentrações inferiores a 0,05 mg.L⁻¹, o que recomenda cautela no uso do inseticida (Tabela 4).

Tabela 8. Concentração ambiental estimada (CAE) para *P. reticulata* com ausência de sedimento nas diferentes colunas de água em função da contaminação.

| Coluna de água de 0,30 m de profundidade | | | | Coluna de água de 2,0 m de profundidade | | | |
|--|---------------------------|--------------------------|-------|---|---------------------------|--------------------------|-------|
| Dosagem (%) | CAE (mg.L ⁻¹) | RQ (mg.L ⁻¹) | Risco | Dosagem (%) | CAE (mg.L ⁻¹) | RQ (mg.L ⁻¹) | Risco |
| 100,0 | 0,133 | 1,66 | Alto | 100,0 | 0,0200 | 0,25 | Médio |
| 50,0 | 0,066 | 0,83 | Alto | 50,0 | 0,0100 | 0,125 | Médio |
| 25,5 | 0,033 | 0,41 | Médio | 25,0 | 0,0050 | 0,0625 | Médio |
| 12,5 | 0,016 | 0,20 | Médio | 12,5 | 0,0025 | 0,0312 | Baixo |
| 6,2 | 0,008 | 0,10 | Médio | 6,2 | 0,0012 | 0,0156 | Baixo |
| 3,1 | 0,004 | 0,05 | Baixo | 3,1 | 0,0006 | 0,0078 | Baixo |
| 1,5 | 0,002 | 0,02 | Baixo | 1,5 | 0,0003 | 0,0039 | Baixo |

(%): Porcentagens decrescentes da maior dosagem recomendada (400 g ia/ha), RQ: Quociente de risco.

Tabela 9. Concentração ambiental estimada (CAE) para *P. reticulata* com presença de sedimento nas diferentes colunas de água em função da contaminação.

| Coluna de água de 0,30 m de profundidade | | | | Coluna de água de 2,0 m de profundidade | | | |
|--|---------------------------|--------------------------|-------|---|---------------------------|--------------------------|-------|
| Dosagem (%) | CAE (mg.L ⁻¹) | RQ (mg.L ⁻¹) | Risco | Dosagem (%) | CAE (mg.L ⁻¹) | RQ (mg.L ⁻¹) | Risco |
| 100,0 | 0,133 | 1,47 | Alto | 100,0 | 0,0200 | 0,2200 | Médio |
| 50,0 | 0,066 | 0,73 | Alto | 50,0 | 0,0100 | 0,1110 | Médio |
| 25,0 | 0,033 | 0,36 | Médio | 25,0 | 0,0050 | 0,0555 | Médio |
| 12,5 | 0,016 | 0,17 | Médio | 12,5 | 0,0025 | 0,0277 | Baixo |
| 6,2 | 0,008 | 0,08 | Médio | 6,25 | 0,0012 | 0,0138 | Baixo |
| 3,1 | 0,004 | 0,04 | Baixo | 3,12 | 0,0006 | 0,0070 | Baixo |
| 1,5 | 0,002 | 0,02 | Baixo | 1,56 | 0,0003 | 0,0035 | Baixo |

(%): Porcentagens decrescentes da maior dosagem recomendada (400 g ia/ha), RQ: Quociente de risco.

5.3. Dissipação do fipronil na água

O método ajustado para a extração do fipronil comercial (Regent 800 WG[®]) na água foi considerado satisfatório, simples, rápido e não foi observada alguma interferência da matriz durante o processo de extração. As condições cromatográficas foram adequadas para a separação e determinação analítica do fipronil.

Na Tabela 10 estão contidas as concentrações do fipronil nas amostras de água coletadas após a fortificação com $0,75 \text{ mg.L}^{-1}$, sob as condições variáveis dos três fatores ambientais em estudo. Para o fator temperatura, observa-se que a dissipação foi maior na temperatura ambiente ($25,4 \pm 1,7^\circ\text{C}$) com dissipação de 18,8% que na controlada (30°C) 17,3%, ao final das coletas aos 33° dia após aplicação (DAA). Verifica-se a dissipação na temperatura ambiente foi significativamente menor que na controlada aos 25 e 33 DAA.

A dissipação do fipronil na água, com a temperatura controlada (30°C) foi de 4,0% a partir do primeiro até o terceiro dia da diluição, não diferindo estatisticamente com a temperatura ambiente ($25,4 \pm 1,7^\circ\text{C}$). A partir do terceiro ao 12° DAA, a dissipação foi de 5,3%. A partir do 13° até o 25° DAA a dissipação foi significativamente maior, com 10,6% de redução da concentração inicial na água.

Tabela 10. Concentrações médias \pm desvio padrão, equação e valor do R^2 das coletas após fortificação de $0,75 \text{ mg.L}^{-1}$ de fipronil na água nos diferentes fatores.

| Coletas (dias) | Fatores | | | | | |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | Temperatura | | Sedimento | | Luz | |
| | 30°C | 25,4 \pm 1,7°C | Presente | Ausente | Presente | Ausente |
| 0 | 0,75 \pm 0,04 aA | 0,75 \pm 0,05 aA | 0,75 \pm 0,03 aA | 0,75 \pm 0,05 aA | 0,75 \pm 0,05 aA | 0,75 \pm 0,03 aA |
| 0,33 | 0,75 \pm 0,05 aA | 0,74 \pm 0,13 bB | 0,74 \pm 0,09 bA | 0,73 \pm 0,07 bB | 0,73 \pm 0,13 bA | 0,74 \pm 0,05 bA |
| 1 | 0,73 \pm 0,06 bA | 0,73 \pm 0,15 bA | 0,74 \pm 0,12 bA | 0,72 \pm 0,08 bB | 0,73 \pm 0,14 bA | 0,73 \pm 0,07 bA |
| 3 | 0,72 \pm 0,05 bA | 0,72 \pm 0,14 bA | 0,73 \pm 0,09 bA | 0,72 \pm 0,12 bA | 0,72 \pm 0,10 cA | 0,73 \pm 0,09 bB |
| 7 | 0,71 \pm 0,03 cA | 0,71 \pm 0,15 cB | 0,72 \pm 0,08 cA | 0,71 \pm 0,14 cA | 0,71 \pm 0,07 cA | 0,72 \pm 0,13 cB |
| 12 | 0,71 \pm 0,04 cA | 0,71 \pm 0,18 cA | 0,71 \pm 0,04 cA | 0,70 \pm 0,17 cA | 0,70 \pm 0,07 dA | 0,71 \pm 0,14 dB |
| 18 | 0,70 \pm 0,05 dA | 0,71 \pm 0,15 cA | 0,71 \pm 0,05 cA | 0,70 \pm 0,14 cA | 0,70 \pm 0,07 dA | 0,71 \pm 0,11 dB |
| 25 | 0,67 \pm 0,16 dA | 0,67 \pm 0,24 dB | 0,66 \pm 0,15 dA | 0,68 \pm 0,22 dA | 0,68 \pm 0,12 eA | 0,66 \pm 0,21 eB |
| 33 | 0,63 \pm 0,16 eA | 0,61 \pm 0,31 eB | 0,64 \pm 0,45 eA | 0,63 \pm 0,26 eA | 0,63 \pm 0,50 fA | 0,64 \pm 0,13 fA |
| Equação y= | -0,0031x+0,74 | -0,0033x+0,74 | -0,0031x+0,75 | -0,0027x+0,73 | -0,0028x+0,74 | -0,003x+0,74 |
| R ² | 0,93 | 0,87 | 0,95 | 0,87 | 0,91 | 0,93 |

Colunas do mesmo fator seguidas pela mesma letra em minúscula não diferem significativamente entre si. Médias na mesma linha nos dias das coletas, seguidos pela mesma letra maiúsculas nas duas colunas do mesmo fator não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Na última coleta, 33° DAA, a dissipação do fipronil foi significativamente maior que as anteriores, com 16,0% de redução, com a concentração final de 0,63 mg.L⁻¹. No intervalo entre o 25° e o 33° DAA ocorreu a maior dissipação do fipronil e na temperatura foi significativamente maior que na temperatura (25,4±1,7°C).

Para a temperatura ambiente (25,4±1,7°C) a dissipação começou a partir do primeiro até o terceiro DAA, e foi de 4,0%, e não houve diferenças significativas à dissipação a 30°C. Após sete dias e até ao 18° DDA, a dissipação foi 5,3% maior, mas não significativamente às dissipações das coletas anteriores. Para a coleta aos 25 DAA, a dissipação aumentou para 10,6%. Na última coleta (33° DAA) a dissipação foi significativamente maior e com redução de 18,6% concentração final do fipronil, 0,61 mg.L⁻¹ (Tabela 10).

Nestes dados de dissipação do fipronil foram ajustados às seguintes equações: $y = -0,0031x + 0,74$, para 30°C e $y = -0,0033x + 0,74$ para 25,4±1,7°C. A meia vida do fipronil na água, o tempo para que ocorra a dissipação de 50% (0,375 mg.L⁻¹) da concentração inicial, foi calculado com essas equações ajustadas em 118 dias nas condições com a temperatura controlada a 30°C, e em 111 dias, para a condição de temperatura ambiente (25,4±1,7°C). Para o 100% dissipação do fipronil na água na condição de temperatura 30°C, o tempo necessário calculado foi 239 dias e para temperatura ambiente, 125 dias.

Na Figura 8 verifica-se que as concentrações que poderiam causar 100% de mortalidade dos peixes (0,150 mg.L⁻¹) se mantêm até aos 180 dias da diluição do fipronil na água, para a condição de temperatura ambiente (25,4±1,7°C) e aos 191 dias a 30°C. Verifica-se também que a concentração tóxica, A concentração tóxica, que poderia causar 50% de mortalidade dos peixes (0,08 mg.L⁻¹), se mantêm até aos 214 dias da diluição na temperatura de 30°C e 200, na de 25,4°C.

O período de carência, ou intervalo de segurança; definido como o tempo onde não ocorre mortalidade dos organismos-teste expostos na maior concentração (EMBRAPA, 2003), no caso deste estudo com o fipronil, 0,025 mg.L⁻¹, começa a partir de 201 dias após a diluição na temperatura de 30°C e aos 217 dias na de 25,4°C (Figura 8).

BOBÉ et al. (1997) observaram que o aumento da temperatura de 22 a 35 °C fez com que a adsorção do fipronil no sedimento aumentasse significativamente de 7,3 a 9,3%. No presente trabalho, a diferença de temperatura (25,4 e 30°C) não foi suficiente para alterar a dissipação, em termos percentagens, da água.

Para o fator substrato, o fipronil apresentou dissipação total de fipronil na água de 14,6% sem sedimento e 16,0% com sedimento ao final das coletas, não diferindo significativamente.

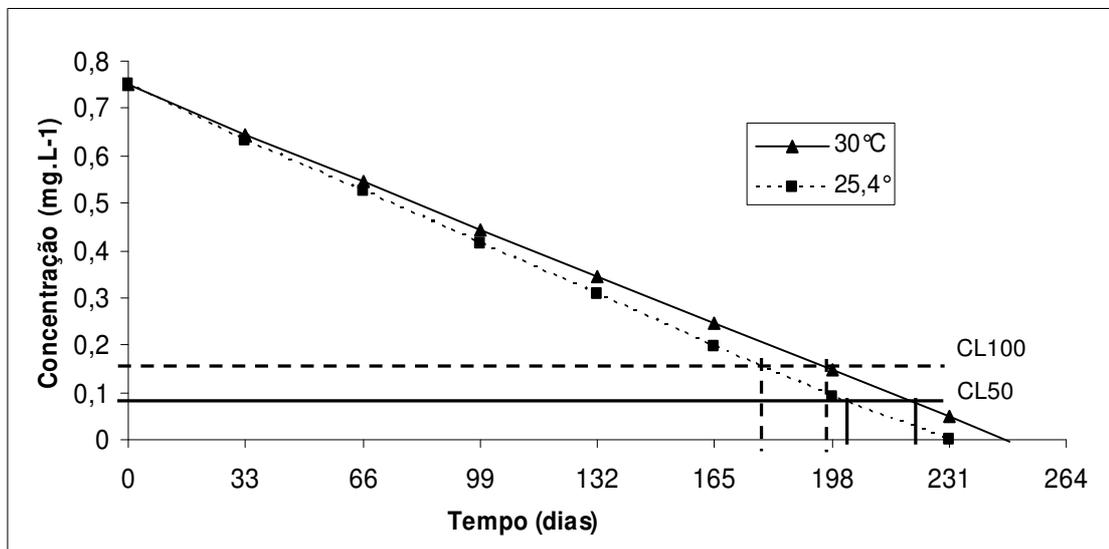


Figura 8. Dissipação do fipronil ($0,75 \text{ mg.L}^{-1}$) na água no fator temperatura (30,0 e 25,4°C), e relação das concentrações (0,15; $0,08 \text{ mg.L}^{-1}$) que causam 100, 50% de mortalidade no teste de toxicidade aguda para o guarú.

Para a condição sem sedimento, a dissipação do fipronil inicia-se no primeiro dia após a diluição na água e no terceiro DAA foi de 4,0%; não ocorreu diferença significativa entre as coletas, mas houve diferença significativa entre a presença e ausência do sedimento. No intervalo entre o sétimo e o 18° DAA não ocorreu diferença significativa, e a dissipação foi 5,3%. No 25° DAA, a dissipação foi significativamente maior que nos valores anteriores e com a redução do fipronil na água de 12,0%. Na última coleta (33° DAA) a concentração final foi de $0,63 \text{ mg.L}^{-1}$ e a dissipação de 14,6%.

Na presença de sedimento, a diferença começou a partir do sétimo DAA, com dissipação de 4,0% até 12° DAA. No 18° DAA, a dissipação foi de 6,7%, e não diferiu das dos dias de coleta anteriores. Aos 25 DAA ocorreu dissipação de 9,3% do fipronil, que é significativamente menor que as outras coletas. Na coleta aos 33° DAA a dissipação total foi de 16,0% que é significativamente superior às coletas anteriores, com a concentração final de 0,64 mg.L⁻¹. Para a condição com sedimento, apesar das diferenças significativas entre algumas coletas e entre a presença e ausência não foram observadas diferenças significativas no último dia de coleta; aos 33 dias após a diluição do fipronil na água (Tabela 10).

Nestes dados de dissipação do fipronil foram ajustados às seguintes equações: $y = -0,0031x + 0,75$, com ausência de sedimento e $y = -0,0033x + 0,74$ para presença de sedimento. A meia vida do fipronil na água, o tempo para que ocorra a dissipação de 50% (0,375 mg.L⁻¹) da concentração inicial, foi calculado com essas equações ajustadas em 119 dias nas condições com sedimento, e em 133 dias, para a condição com sedimento. Para o 100% dissipação do fipronil na água na condição de ausência de sedimento, o tempo necessário calculado foi 272 dias e na condição presença de sedimento, 240 dias.

Na Figura 9 verifica-se que as concentrações que poderiam causar 100% de mortalidade dos peixes (0,150 mg.L⁻¹) se mantêm até aos 192 dias em presença de sedimento e aos 216 dias em ausência de sedimento. A concentração tóxica, que poderia causar 50% de mortalidade dos peixes (0,08 mg.L⁻¹), se mantêm até o dia 214 em presença de sedimento e 232 na ausência de sedimento.

O período de carência ou intervalo de segurança para o fipronil, com a concentração de 0,025 mg.L⁻¹, começa a partir de 232 dias após a diluição em presença de sedimento e 263 em ausência de sedimento (Figura 9).

Para CONNELLY (2001) a transformação do fipronil no meio aquático em desulfinil, subproduto que possui ação tóxica aos organismos expostos, ação semelhante à molécula original do fipronil.

NGIM e CROSBY (2001) citam que a degradação do fipronil na água é influenciada pela fotólise, e que a redução a fipronil sulfeto foi a principal rota de degradação em presença de solo.

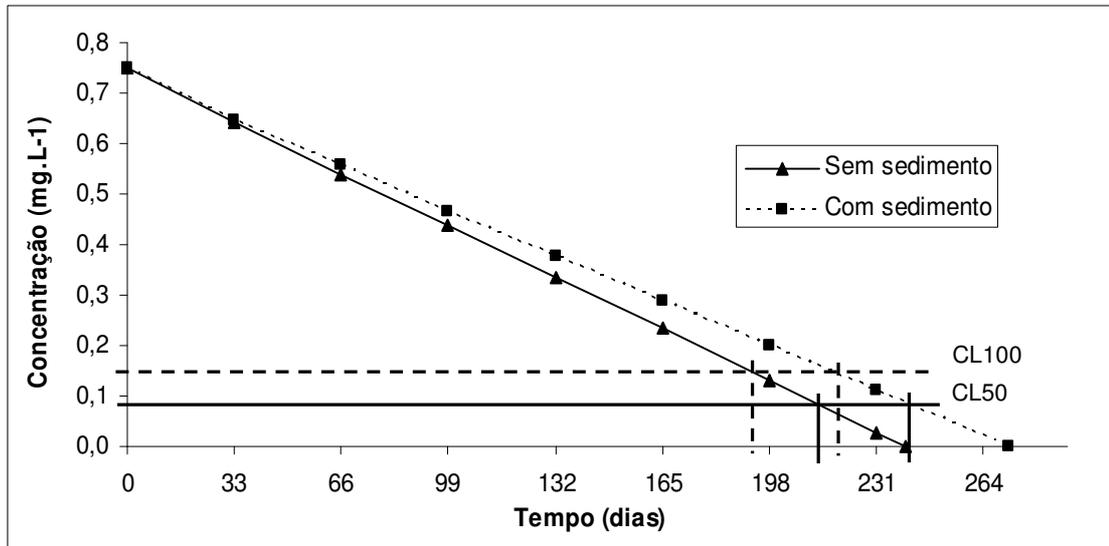


Figura 9. Dissipação do fipronil ($0,75 \text{ mg.L}^{-1}$) na água no fator substrato, e relação das concentrações ($0,15$; $0,08 \text{ mg.L}^{-1}$) que causaram 100, 50% de mortalidade no teste de toxicidade aguda para o guarú.

Para o fator luminosidade, a dissipação do inseticida ao longo do tempo foi diminuindo linearmente sem diferença significativa entre os tratamentos sem e com luz, com reduções de 16,0% em presença de luz e 14,7% em ausência de luz, aos 33° DAA. Não ocorreram diferenças significativas entre as coletas de água (Tabela 10).

Em presença de luz, a dissipação do fipronil foi significativamente inferior a partir do primeiro dia da diluição, com 2,7% de redução da concentração inicial. No período entre terceiro e o sétimo não ocorreu diferença significativa e a dissipação foi de 5,3%. Do 12° ao 18° DAA a dissipação foi de 6,6% e significativamente maior que às das coletas anteriores. No 25° DAA ocorreu dissipação de 9,3% e ao 33° DAA, 16%.

Na condição sem luz, não ocorreu diferença significativa entre o primeiro e o terceiro DAA, e a dissipação foi de 2,7%. No sétimo dia, a dissipação foi de 4,0%, e

significativamente maior que às das coletas anteriores. Para a do 18° DAA ocorreu dissipação de 6,6%, que não diferiu significativamente da coleta anterior (12° DAA). Na coleta do 25° DAA, a dissipação foi de 12% e na de 33° DAA, de 14,7%; que foi significativamente maior que do 25° DAA. Entre presença e ausência de luz ocorreram diferenças significativas nas coletas entre o terceiro até o 25° DAA, exceto na última coleta (Tabela 10).

Nestes dados de dissipação do fipronil foram ajustados às seguintes equações: $y = -0,0028x + 0,74$, com ausência de luz e $y = -0,003x + 0,74$ com luz. A meia vida do fipronil na água, o tempo para que ocorra a dissipação de 50% ($0,375 \text{ mg.L}^{-1}$) da concentração inicial, foi calculado com essas equações ajustadas em 234 em presença de luz, e em 247 dias, para a condição ausência de luz. Para o 100% dissipação do fipronil na água na condição de ausência de luz, o tempo necessário calculado foi 239 dias e para temperatura ambiente, 125 dias.

Na Figura 10 verifica-se que as concentrações que poderiam causar 100% de mortalidade dos peixes ($0,150 \text{ mg.L}^{-1}$) se mantêm até aos 208 dias em presença de luz e aos 198 dias em ausência de luz. A concentração tóxica, que poderia causar 50% de mortalidade dos peixes ($0,08 \text{ mg.L}^{-1}$) se mantêm até aos 234 dias após a diluição do fipronil na água com luz e aos 221 sem luz.

O período de carência ou intervalo de segurança para o fipronil, com a concentração de $0,025 \text{ mg.L}^{-1}$, começa a partir de 254 dias após a diluição do fipronil na água em presença de luz e de 239 em ausência de luz (Figura 10).

LYONS et al. (2008) estudaram a transformação e a adsorção do fipronil em córregos com sedimento sob condições anaeróbias e constataram a persistência de 25 a 91 dias. A esterilização do sedimento diminuiu a dissipação, onde se observa que a atividade microbiana é um importante fator na dissipação do fipronil no sedimento.

A estabilidade do fipronil no sedimento depende da disponibilidade do oxigênio para a conversão do fipronil nos metabólitos sulfona e sulfeto (LYONS et al., 2008).

No presente trabalho, a presença de matéria orgânica (3,8%) não influenciou significativamente na dissipação do fipronil na água após 33 dias das diluições, pois ao final desde período a dissipação foi de 14,7% com sedimento e 16% em ausência de

sedimento, é o oxigênio dissolvido que foi em torno de $6,1 \text{ (mg.L}^{-1}\text{)}$. Esta baixa dissipação pode explicar em parte a baixa atividade dos microorganismos no sedimento utilizado.

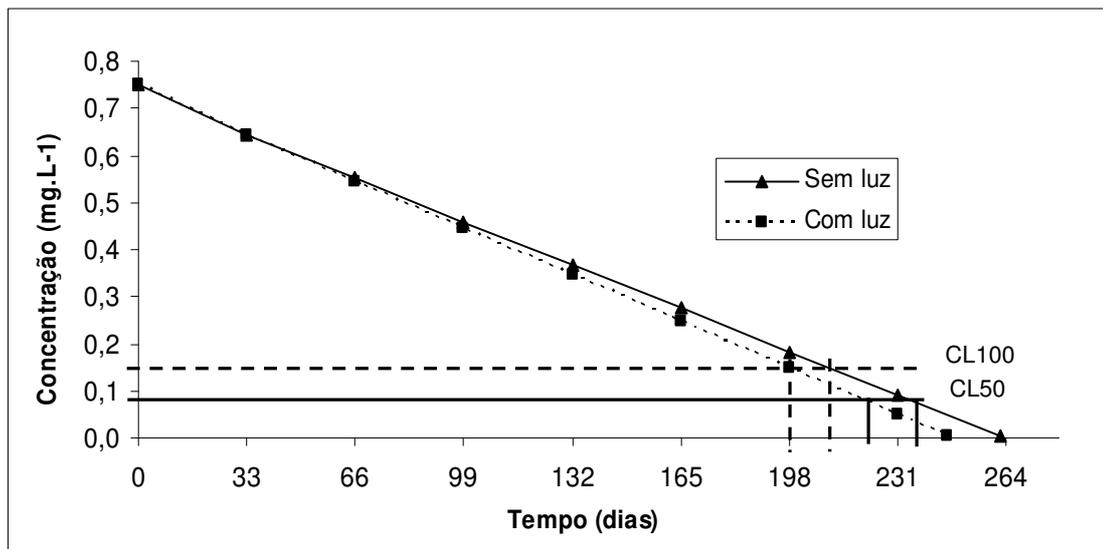


Figura 10. Dissipação do fipronil ($0,75 \text{ mg.L}^{-1}$) na água no fator luminosidade, e relação das concentrações ($0,15$; $0,08 \text{ mg.L}^{-1}$) que causaram 100, 50% de mortalidade no teste de toxicidade aguda para o guarú.

Em estudos de degradação do fipronil em solos tropicais no Brasil em condições de laboratório (não autoclavado e autoclavado), foi constatado que a vida média do fipronil na concentração de $0,098 \text{ mg.kg}^{-1}$ foi de 83 dias a na de $0,67 \text{ mg.kg}^{-1}$, 200 dias. Foi constatado também que ocorreu a formação de fipronil sulfona, originado por oxidação (MASUTTI e MERMUT, 2007). Verifica-se neste estudo a alta importância da presença dos microorganismos na dissipação do fipronil; atividade que se acredita que não ocorreu no presente trabalho.

A fotólise é a reação mais importante de degradação do fipronil no meio aquoso, e a hidrólise torna-se importante se o meio aquoso tem pH básico, devido ao fato de que a molécula é estável em água com pH ligeiramente ácido ($5,0 - 6,0$) a neutro, sem presença de luz (CONNELLY, 2001).

As médias dos valores de pH ao longo das coletas, no fator temperatura controlada (30°C) e ambiental (25,4±1,7°C) das diluições do presente trabalho foi próximo de 7,0 (Tabela 6). Este resultado explica-se pela estabilidade que tem a molécula na água com pH neutro, onde a luz não foi um fator influente na dissipação.

A degradação do fipronil no sedimento ocorre em taxas moderadas, pois RAVETON et al. (2007) determinaram que os metabólitos predominantes produzidos no sedimento foram fipronil sulfeto e fipronil amina. Em contraste, o metabolito fipronil desulfetil, que é originado pela ação da luz, foi apenas detectado. Estes resultados são determinados pela quantidade de matéria orgânica e pela composição físico-química do solo.

A estabilidade do pH está relacionada à concentração de carbonato de cálcio contido na água (53 mg.L⁻¹) fazendo que o pH permaneça estável, atuando como uma solução tampão devido à dissociação do carbonato na água. HARRYS (1995) determinou que o valor do pH na água pode interferir no equilíbrio de dissociação ou grau de ionização dos inseticidas, modifica a atividade biológica dos compostos, assim como a presença de sais minerais como o cálcio e o magnésio, pode alterar as características físico-químicas de alguns compostos químicos.

A dissipação observada neste trabalho foi em taxas moderadas, pois aos 33 DAA a dissipação não superou 20%; que possibilitam a suposição de que a matéria orgânica não foi um fator influente na dissipação do fipronil. AAJOUND et al. (2003) estudaram, durante três meses, a dissipação do fipronil no meio aquoso, e constataram que durante este período foram formados subprodutos como fipronil amida e destio-fipronil. Citam que estes subprodutos tóxicos foram reduzidos pelos microorganismos e originaram fipronil sulfeto e fipronil sulfona, cujo grupo de base fraca (CN) da molécula faz com que sejam transformadas em grupos hidrofílicos não tóxicos.

Nas condições avaliadas, o fipronil persistiu na água provavelmente devido ao fato da molécula ser não-iônica ou pela baixa capacidade de retenção do sedimento. A baixa capacidade de adsorção do sedimento utilizado pode ser constatada nos parâmetros físico-químicos com a matéria orgânica de 38% e textura do solo argiloso

(425 g.kg⁻¹) condições que aumentam a capacidade de troca catiônica (117,8 mmol/dm³) (BRADY, 1989).

PIASAROLO, et al., (2008) determinaram que a sorção de compostos não-iônicos entre eles o fipronil, é influenciada pela polaridade e partição hidrofóbica na matéria orgânica. Em contraste, neste trabalho, a baixa adsorção pode estar relacionada à alta capacidade de intercâmbio catiônico e ao fato de que a molécula do fipronil é pouco polar, que proporcionou baixa adsorção do fipronil no sedimento utilizado (CARVALHO, et al., 2002).

LIMA e RIGITANO (2008) determinaram que a meia vida do fipronil na água avaliada por médio da cinética de sorção pelo método de incubação foi 433 dias, e explica este longo período de tempo pela baixa polaridade que tende a manter-la em equilíbrio no meio.

6. CONCLUSÕES

A CL50;96h do fipronil (Regent 800 WG[®]) estimada para o *P. reticulata* é de 0,08 mg.L⁻¹ em ausência de sedimento e de 0,09 mg.L⁻¹ em presença de sedimento.

O fipronil é extremamente tóxico para o *P. reticulata* na ausência e presença de sedimento.

A presença de sedimento não diminuiu a biodisponibilidade do fipronil na água, devido à baixa dissipação da molécula no ambiente aquático.

Em um espelho de água de um ha e com 0,3 m de profundidade, o fipronil é classificado como de alto risco ambiental para o *P. reticulata* em concentrações superiores a 0,066 mg.L⁻¹ e de baixo risco em concentrações inferiores a 0,004 mg.L⁻¹.

Em um espelho de água de um ha e com 2,0 m de profundidade, o fipronil é classificado como de risco ambiental médio para o *P. reticulata* em concentrações superiores a 0,005 mg.L⁻¹ e de baixo risco, em inferiores a 0,0025 mg.L⁻¹.

A dissipação do fipronil na água não é afetada pela variância da temperatura controlada (30°C) e do ambiente (25,4±1,7°C), pela presença e ausência de sedimento e pela ausência e presença de luz á sombra.

Para os fatores ambientais temperatura, substrato e luminosidade o tempo mínimo para ocorrer 50% de mortalidade aguda ($0,08 \text{ mg.L}^{-1}$) para o guarú após a diluição da concentração de $0,75 \text{ mg.L}^{-1}$ de fipronil na água é de 242 dias e o intervalo de segurança, onde não ocorre mortalidade ($0,025 \text{ mg.L}^{-1}$) é de 263 dias.

7. REFERÊNCIAS

AAJOUND, A.; RAVANEL, P.; TISSUIT, M. Fipronil metabolism and dissipation in simplified aquatic ecosystem. **J. Agric. Food Chem.**, v.51, p.1347-1353, 2003.

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Regent 800 WG**: Relatório de produtos formulados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2007. 3p.

ALLEN, G.R. **Field guide to the freshwater fishes of New Guinea**. Christensen Research Institute, Madang, Papua New Guinea. 1991. Disponível em: <<http://filaman.ifm-geomar.de/References/ReferencesList.Cfm?Author=&Year=&Title=&Source=&RefNo=2847&database=FB>>. Acesso em: 03 ago. 2008.

ANDREI, E. (Ed.). **Compêndio de defensivos agrícolas**: Guia prático de produtos fitossanitários. 6ta. ed. São Paulo. 1999. 672p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Resolução N° 899, de 29 de maio de 2003. Portaria n.º 238, de 31 de março de 2003, aprovado em 6 de março de 2003, republicada no Diário Oficial da União de 22 de dezembro 2003. Disponível em <http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?mode =PRINT _VERSION &i d=15132>. Acesso em: 01 dez. 2008.

ARAUCO, L.R.R.; CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J.G. Efeito da presença de sedimento na toxicidade aguda do sulfato de cobre e do triclorfon para três espécies de *Daphnia*. **Pest.: Rev. Ecotox. Meio Amb.**, v.15, p.55-64, 2005.

AYLIFFE, J. M. **[14C]-fipronil Degradation and Retention in Two Water/Sediment Systems**. Sacramento, Rhône- Poulenc Agricultural. Data Package ID No. 177754. DPR No.52062-282, 1998.

AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos, São Paulo: Editora Rima, 2003. 340p.

BAILEY, C. 1997. Aquaculture and basic human needs. **World Aqua.**, v. 28, p. 28-31, 1997.

BALANÇA, G.; DE VISSCHER, M. Impacts on non-target insects of a new insecticide compound used against the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forsk. 1775). **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v.32, p.58-62, 1997.

BALINOVA, A. M.; MONDESKY, M. Pesticide contamination of ground and surface water in Bulgarian Danube plain. **J. Environ. Sci. Health.**, v.34, p.33-46, 1999.

BCPC. The British Crop Protection Council. **The Pesticide Manual: A world compendium: fipronil**. 11th ed. Ed. Tomlin, 1997, p.545-546.

BOBÉ, A.; COOPER, J.F.; COSTE, C.M.; MULLER, M. A. Behavior of Fipronil in Soil under Sahelian Plain Field Conditions. **Pestic Sci.**, v.52, p.275-281, 1998a.

BOBÉ, A.; COSTE C. M.; COOPER, J. Factors Influencing the Adsorption of Fipronil on Soils. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, p.4861-4865, 1997.

BOBÉ, A.; MEALLIER P.; COOPER J.; COSTE C.M. Kinetics and Mechanisms of Abiotic Degradation of Fipronil. **J Agric. Food Chem.**, v.46, n.7, p.2834-2839, 1998b.

BOOCK, M.V; MACHADO-NETO, J.G. Estudos toxicológicos do oxicloreto de cobre para tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.). **Arq. Inst. Biol.**, v.67, p.215-221, 2000.

BRADY, N.C. **Natureza e propriedades dos solos**. 7 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1989.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. **Limnologia fluvial**: um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: Rima, 2003. 255p.

BURNS, L. **Probabilistic aquatic exposure assessment for pesticides**. Athens, Environmental Protection Agency. EPA/600/R-01/071. 2001, 43p.

BURR, C. M. [14c]-M&B 15950: **Adsorption/desorption to and from four soils and one sediment**. Data Package ID n. 169043. DPR n. 5202-241, 1997.

BUSER, H. R. Atrazine and others s-triazine herbicides in lakes and in rains in Switzerland. **Environ. Sci. Technol.**, v.24, p.1049-1058, 1990.

CAIRNS, JR, J.; NIEDERLEHNER, B., BIDWELL, J. R. Ecological toxicity testing. In: MEYERS, R. A. (Ed.). **Encyclopedia of environmental analysis and remediation.**, New York: John Wiley & Sons, 1998. 455p.

CALOW, P. **Handbook of ecotoxicology**. Oxford: Blackwell Sciences. 1993, v.1, p.478.

CARVALHO, R.F. DE; RIGITANO, R.L. DE O.; LIMA, J.L. DE. Sorção e degradação do fungicida triadimenol em solos representativos do município de Lavras – M.G. **Ciênc. Agrotec.** V.26, p.332-341, 2002.

CASTAGNOLLI, N. **Aquicultura para o ano 2000**, São Carlos, MCT-CNPq. 1996.

CHANDLER, G. T.; CARY L. T.; VOLZ C. D.; WALSE S. S.; FERRY I. J.; KLOSTERHAUS I.S. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format. **Enviro. Toxicol. Chem.**, v.23, n.1, p.117–124, 2004.

COLLIOT, F.; KUKOROWSKI, K.A.; HAWKINS, D.W.; ROBERTS, D.A. **Fipronil: a new soil and foliar broad spectrum insecticide**. Proceedings of Brighton crop protection conference pests and diseases. v.11, p.29–34, 1992.

CONNELLY, P. **Environmental fate of fipronil**: California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation. 2001. Disponível em: <<http://la.water.usgs.gov/pdfs/NAWQA-fipronil.pdf>>. Acesso em: maio 2007.

DEMCHECK, D. K.; SKROBIALOWSKI, S. C. **Fipronil and degradation products in the rice-producing areas of the Mermentau River Basin, Louisiana, february-september 2000**. United States Geological Survey National Water-Quality Assessment Program. USGS. Estados Unidos, 2003. Disponível em: <<http://water.usgs.gov/nawqa>>. Acesso em: jun. 2008.

DPR. Department of Pesticide Regulation. **Pesticide chemistry database**. Department of Pesticide Regulation, Sacramento-California. Dissipation. Rhône - Poulenc Agricultural Limited. Data Package ID No. 169043-45 DPR Document No. 52062-240 Pt.1, 2001.

EDWARDS, C.A. **Persistent pesticides in the environment**. 2th. ed. U.S.A: CRC. Press, 1973. 170p.

EMBRAPA. **Normas gerais sobre o uso de agrotóxicos**. Sistema de produção 4. jul. 2003. Disponível em: <[http:// 74.125.47.132/search?q =cache: GqMax ruG vwQJ :sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/agrotoxi.htm+per%C3%ADodo+de+seguran%C3%A7a+de+um+agrotoxico&hl=pt-BR&ct=clnk&cd=1&gl=BR](http://74.125.47.132/search?q=cache:GqMax ruG vwQJ:sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/agrotoxi.htm+per%C3%ADodo+de+seguran%C3%A7a+de+um+agrotoxico&hl=pt-BR&ct=clnk&cd=1&gl=BR)>. Acesso em: fev.2009.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J., ESPÍNDOLA, E. L. G. **Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos: Rima, 2003. p.129–148.

FAO. Food and Agriculture Organization. (Itália, Roma). **The state of world fisheries and aquaculture: 1998**. Rome: FAO, 1999. 112p.

FENET, H.; BELTRAN, E.; GADJI, B.; COOPER, J.F.; COSTE, C.M. Fate of a phenilpyrazole in vegetation and soil under tropical field conditions. **J. Agric. Food Chem.**, v 49, p.1293-1297, 2001.

FEUNG, C. S.; YENNE S. P. Fipronil: **Aerobic Aquatic Metabolism**. Rhône-Poulenc Agricultural Limited. Data Package ID No. 169043. DPR Document No. 52062-180. 1997.

GRAZIANO, S.J.; VILARINHO, C.; DALE. P.J; FROEHLICH, J.; RIEDL, M. Santa Maria (org). **Turismo rural e desenvolvimento sustentável**. 1997, p.11-48.

GUNASEKARA, A. M.; TRUONG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **J. Pestic. Sci.**, v.32, n.3, p.189-199, 2007.

HADJMOHAMMADI, M. R.; NIKOU, S. M.; KAMEL, K. Determination of fipronil residue in soil and water in the rice fields in north of Iran by RP – HPLC method. **Acta. Chim. Slov.**, v.53, p.517-520, 2006.

HAINZL, D.; CASIDA, J.E. Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.93, p.12764 –12767, 1996.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. Trimmed Spearman – Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Techno.**, v.7, p.714 – 719, 1977.

HARRYS, HARRIS, D.C. **Quantitative chemical analysis**. 4.ed., New York: W.H. Freeman, 1995.

HELFRICH, L.A.; WEIGMANN, D.L.; HIPKINS, P.; STINSON, E.R. **Pesticides and aquatic animals**: a guide to reducing impacts on aquatic systems, Virginia, 1996. 24p. Disponível em: <http://www.ext.vt.edu/pubs/water_quality/420-013/420-013.pdf>. Acesso em: ab. 2008.

HERRICKS, E. Princípios gerais de toxicologia. In: MATSUI, S.; BARRETT, B. F. D.; BANERJEE, J. **Gerenciamento de substâncias tóxicas em lagos e reservatórios**. (Série Diretrizes para o gerenciamento de lagos). São Carlos: ILEC - IIE. v.4, p.9 – 30, 2002.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação da toxicidade aguda para peixes. In: **MANUAL de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos**. Brasília, 1987. p.20-32.

JURY, W. A.; WINER, A. M.; SPENCER, W. F.; FOCHT, D. D. Transport and transformation of organic chemicals in the soil-air-water ecosystem. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v.99, p.119, 1987.

KENNY, J.S. Views from the bridge: **a memoir on the freshwater fishes of Trinidad**. St. Joseph. 1995. 98p. Disponível em :<<http://filaman.ifm-geomar.de/References/ReferencesList.cfm?Author=&Year=&Title=&Source=&RefNo=11225&database=FB>>. Acesso em: jun. 2008.

KIDD, H; JAMES, D. **The agrochemicals handbook**. Cambridge, 3th ed. Royal Society of Chemistry Information Services. 1991.

KOKTA, C.; ROTHERT, H. A. **Hazard and risk assessment scheme for evaluating effects on earthworms**: the approach in the Federal Republic of Germany. In: GREIG-SMITH, P. W.; BECKER, H.; EDWARDS, P. J.; HEIMBACH, F. (Eds.) *Ecotoxicology of earthworm*, 1992. p.169 – 176.

LANÇAS, F.M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMA, 2004. 62p.

LIMA, M.A.; RIGITANO, de O, L. Influencia do tempo sobre a sorção de pesticidas não-iônicos em um argissolo. **Pest. Ver. Ecotox. Meio Amb.** v.18, p.95-106, 2008.

LOPES, R. B.; CARVALHO, L.L.F. Caracterização Sumária das operações do Pesque e Pague ao noroeste do Estado de São Paulo. **Environment.**, v.1. n1. 39-43, 2001.

LYONS, G. Mixed messages: pesticides that confuse hormones. **Pestic Action New UK**, p.1–6, 2000.

MARKAVERICH, B.; MANI S.; ALEJANDRO M. A.; MITCHELL A.; MARKEVERICH D.; BROWN T. A novel endocrine-disrupting agent in corn with mitogenic activity in human breast and prostatic cancer cells. **Environ Health Perspec.** v.110, p.169 – 177, 2002.

MASUTTI, C. S. M.; MERMUT, A. R. Degradation of fipronil under laboratory conditions in a tropical soil from Sirinhaém, Pernambuco, Brazil. **J. Environ. Sci. Health Part B**, v.42, p.33-43, 2007.

MASUTTI, C. S. M.; MERMUT, A. R. Sorption of fipronil and its sulfide derivative by soils and goethite. **Geoderma.** v.140, p.1-7, 2007.

MATSUI, S. Introdução. In: MATSUI, S.; BARRETT, B. F. D.; BANERJEE, J. **Gerenciamento de substâncias tóxicas em lagos e reservatórios.** São Carlos: ILEC – IIE. 2002. v.4, p.1– 8. (Série diretrizes para o gerenciamento de lagos).

MEDE, K; RHÔNE-POULENC AGRICULTURAL LIMITED. **Fipronil: Aquatic Field Dissipation.** Rhône-Poulenc Agricultural Limited. 1997. Data Package ID No. 169043-45 DPR Document No. 52062-240 Pt.1.

MOHLER, H.; FRITSCHY J.M.; CRESTANI F.; HENSCH T.; RUDOLPH U. Specific GABA(A) circuits in brain development and therapy. **Biochem. Pharmacol.**, v.15, n.8, p.1685-1690, 2004.

NAKAGOME, F. K.; NOLDIN, J.A.; RESGALLA Jr. C. Toxicidade aguda e análise de risco de herbicidas e inseticidas utilizados na lavoura do arroz irrigado sobre o cladóceros *Daphnia magna*. Pesticidas: **Rev. Ecotox. Meio Amb.**, v.16, p.93–100, 2007.

NGIM, K.K.; CROSBY, D.G. abiotic processes influencing fipronil and desthiofipronil dissipation in California, USA, rice fields. **Environ. Tox. Chem.**, vol. 20, n. 5, p. 972–977, 2001.

NIMMO, D.R. Pesticides. Pesticides. In: RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R., (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. New York: Hemisphere, 1985. p.335-373.

PIASAROLO, L.; DE OLIVEIRA, R.R.L.; GUERREIRO, M.C. Influência da polaridade de pesticidas não-iônicos sobre sua sorção em um latossolo. **Ciênc. Agrotec.**, v.32, n.6 p.1802-1809, 2008.

RAND, G. M; PETROCELLI, S.R. Introduction. In: RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R., (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. New York: Hemisphere, 1985. p.1-28.

RAVETON, M.; AAJOUR, A.; WILLISON, J.; CHERIFI, M.; TISSUT, M.; RAVANEL, P. Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. **Chemosphere**. v.69, n.7, p.1124-9, 2007.

RIEHL, R; BAENSCH, H.A. Aquarien Atlas. Band. 1. Melle: **Mergus, Verlag für Natur- und Heimtierkunde, Germany**. 1991. 992p. Disponível em: <://filaman.ifm-geomar.de/ReferencesList.cfm?Author=&Title=&Source=&RefNo=1672&database=F B>. Acesso em: maio 2008.

SCOTT, V. M.; STEPHEN, D. P.; DENNIS, K. D. Influence of fipronil compounds and rice-cultivation land-use intensity on macroinvertebrate communities in streams of southwestern Louisiana, USA. **Environ. Poll.**, v.152, p.497-503, 2008.

SILVA, L. D.; NASCIMENTO, D.; SANTOS, S.C.; MORAIS, J.O.R.; SABOIA-MORAIS, S.M.T. Análise morfométrica das células do cloro de *Poecilia vivipara* expostas a frações da folha e casca do caule de *Caryocar brasiliensis*. **Acta Sci.: Biol. Sci.**, v.25, n.1, p.195-201, 2003.

SINDAG. Sindicato da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. **Vendas de defensivos agrícolas por cultura de destinação e classes**. SINDAG. 2006. p1.

SKELTON, P. H. **A complete guide to the freshwater fishes of southern Africa**. Southern book publishers. 1993. 388p.

SOLOMON, K. R. **Avaliação de riscos ecotoxicológicos dos produtos fitossanitários**. Relatório técnico. Centro de Toxicologia. Universidade de Guelph, Canadá. 1996. 52p.

SOLOMON, K. R.; BAKER, D. B.; RICHARDS, R. P.; KENNETH, R. D.; KLAINÉ, S. J.; LAPOINT, T. W.; KENDALL, R.J.; WEISSKOPF, C. P.; GIDDINGS, J. M.; GIESY, J. P.; HALL JR, L. W.; WILLIAMS, W. M. Ecological risk assessment of atrazine in North America surface Waters. **Environ. Toxicol. Chem.** v.15, p.31-76, 1996.

STARK, D. J.; VARGAS I. R. Toxicity and hazard assessment of fipronil to *Daphnia pulex*. **Ecoto. Environ. Safety**. v.62, p.11–16, 2005.

STEHR, C. M.; LIMBO, T.; INCARDONA, J. P.; SCHOLZ, N. L. The developmental neurotoxicity of fipronil: notochord degeneration and locomotor defects in zebrafish embryos and larvae. **Toxi. Sci.**, v. 92, n.1, p.270-278, 2006.

STEVENS, M.M.; HELLIWELL S.S.; WARREN, G. N. Fipronil seed treatments for the control of chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in aerially-sown rice crops. **Field Crops Res.**, v.57, p.195–207, 1998.

TAVARES, L. H. S. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Edi. Afiliada. 1994. 71p.

URBAN, D.J; COOK, N.J. **Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure Ecological risk assessment**. Washington. 1986. 96p. (USEPA Publication EPA/540/09-88-035).

USEPA. Environmental Protection Agency. **ECOFRAM aquatic report**. 1999. Disponível em: <<http://www.epa.gov>> . Acesso em: abr., 2007.

USEPA. Environmental Protection Agency. New Pesticide Fact Sheet. PB96-181516.EPA737-F-96-005. U.S. EPA Office of Prevention, **Pesticides and Toxic Substances**, p1-10, 1996.

USEPA. **Proposed guidelines for ecological risk assessment**. Washington, DC, 1996. Risk Assessment Forum (EPA 630-R95-002B).

VALENTI, W. C.; POLI. C. R.; PEREIRA. J. A; BORGHETTI. J. R. **Aqüicultura no Brasil**: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq, 2000. 399p.

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

ZHAO, J.Z.; WU S.C.; ZHU, G. R. Bioassays with recommended field concentrations of several insecticides for resistance monitoring in *Plutella Xylostella*. **Res. Pest. Manag.**, v.7, n.1, p.13–14, 1995.

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

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)