UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

INTERAÇÃO DA RIZIPISCICULTURA COM AGROQUÍMICOS E EFEITOS SOBRE A COMUNIDADE ZOOPLANCTÔNICA

TESE DE DOUTORADO

Jaqueline Ineu Golombieski

Santa Maria, RS, Brasil
2006

INTERAÇÃO DA RIZIPISCICULTURA COM AGROQUÍMICOS E EFEITOS SOBRE A COMUNIDADE ZOOPLANCTÔNICA

por

Jaqueline Ineu Golombieski

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

Orientador: Prof. Dr. Enio Marchezan

Santa Maria, RS, Brasil
2006

2005
Todos os direitos autorais reservados a Jaqueline Ineu Golombieski. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.
Endereço: RS 509, Km 9, n. 6987, Apt° 102 A, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97110-620
Fone: (0xx) 55 9989 1616; End Eletr: golombieski@smail.ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

INTERAÇÃO DA RIZIPISCICULTURA COM AGROQUÍMICOS E EFEITOS SOBRE A COMUNIDADE ZOOPLANCTÔNICA

elaborada por
Jaqueline Ineu Golombieski

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Enio Marchezan, Dr.
(Presidente/Orientador)

Charrid Resgalla Jr., Dr. (UNIVALI)

Bernardo Baldisserotto, Dr. (UFSM)

Renato Zanella, Dr. (UFSM)

Lindolfo Storck, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 6 de Março de 2006.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu esposo Ronaldo pelo amor, dedicação e compreensão em todos os momentos de entusiasmo, ausência, alegria, angústia, força e superação.

Dedico também a meus pais Nelson e Salete pelo amor, anos de dedicação prestados e por me oportunizarem a maior de todas as heranças **"O CONHECIMENTO"**.

Meus amados pais e marido: esta conquista não se sustenta sem a sua presença!!!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador professor Dr. Enio Marchezan pela oportunidade concedida de aprimorar meus conhecimentos, bem como pela excelente orientação, amizade e dedicação prestadas durante este período. Obrigada professor pelos estímulos em nossas reuniões semanais e "puxões de orelha", quando necessário, pois para mim o senhor é um exemplo de profissional a ser seguido.

Ao Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais (CCR) e à Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pela acolhida e pela oportunidade.

Agradeço a todos os colegas do curso de Pós-Graduação, e em especial às colegas Edileuza Kersting e Anelise Kuss e aos colegas Victor Marzari e Eduardo Suzuki pela amizade, coleguismo e companheirismo.

A todos os professores do curso de Pós-Graduação em Agronomia da UFSM, ao Coordenador professor Dr. Alessandro Dal'Col Lucio e especialmente ao professor Lindolfo Storck pela co-orientação e amizade prestadas em todas as horas, bem como pelo auxílio na parte estatística para o cumprimento deste trabalho. Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia, Tarcisio Ubertt e Adriana Camponogara Aires da Silva pelo auxílio prestado.

Aos funcionários, estagiários e bolsistas do Departamento de Fitotecnia, Setor de Agricultura da UFSM, representantes do Grupo de Pesquisa Arroz e Uso Alternativo de Várzeas pela ajuda concedida, principalmente na parte prática de realização do experimento: Victor Marzari, Silvio Carlos Villa, Simone Michelon, Fernando dos Santos, Edinalvo Rabaioli Camargo, Carlise Pereira, Gustavo Mack Teló, Gabriel

Adolfo Garcia, Paulo Fabrício Massoni, Diego Rost Arosemena, Alex Giuliani, Geovane Boschmann Reimche e Joele Schmitt Baumart. Obrigada pela amizade destes anos, convivência e por toda a troca de experiências, que serão fundamentais na minha carreira. A este grupo, permanecem meus agradecimentos e minha eterna admiração.

Ao professor Dr. Bernardo Baldisserotto do Departamento de Fisiologia da UFSM, meu "pai científico", pela amizade, paciência e participação em grande parte dos momentos da minha formação, além da dedicação prestada e facilidades concedidas para a realização deste trabalho no Laboratório de Fisiologia de Peixes. Também aos Doutorandos e amigos Neiva Braun e Ronaldo de Lima e os funcionários deste Departamento Sr. Francisco J. Quatrin e Sra. Rozane T. Rossatto.

Ao professor Dr. Renato Zanella e seu grupo de pesquisa e, em especial, aos seus alunos de Pós-Graduação Fábio Ferreira Gonçalves, Márcia H. Scherer Kurz e Rafael Roehrs do Departamento de Química da UFSM, Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) pela realização das análises dos agroquímicos na água, não medindo esforços para auxiliar nas pesquisas.

A professora Dra. Vânia Lucia Pimentel Vieira e a mestre e colega Joseânia Salbego do Departamento de Química da UFSM, Laboratório de Bioquímica Adaptativa, por disponibilizar a estrutura para a realização das técnicas e a orientação prestada.

Ao professor Dr. Charrid Resgalla Júnior da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI/SC), amiga Ludmilla Veado e sua equipe de pesquisa pelo auxílio nas metodologias de coleta e análise do material zooplanctônico.

Ao professor Dr. Sandro Santos do Departamento de Biologia da UFSM pelo

empréstimo de materiais, cedência de bolsista de Iniciação Científica, auxílio na análise zooplanctônica e amizade proporcionada desde a época de minha colação de grau em 1997.

Ao professor Dr. Sérgio L. de Oliveira Machado pela amizade, conselhos, excelente convívio, cedência de bolsista de Iniciação Científica e de trocas de experiência contribuindo muito para a realização deste trabalho.

A professora Dra. Tatiana Emmanuelli e sua equipe de pesquisa pela realização das técnicas laboratoriais dos peixes no Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL) da UFSM.

Às amigas de todas as horas e colegas Biólogas Lenise V. Flores da Silva e Neiva Braun, Engenheiras Agrônomas Patrícia Medianeira Londero, Carlise Pereira e Zootecnista Liziane Muller Medeiros. Obrigada pela amizade, ajuda, palavras sábias nas horas difíceis e momentos de alegria no convívio diário. À licenciada em Letras, Katia Luiza Seckler, amiga e colega de apartamento por me compreender e ouvir durante esta trajetória.

À Empresa Dupont do Brasil, representada pelo Sr. Fernando Bizzi por conceder todos os agroquímicos (herbicidas Ally e Gulliver) para a realização dos testes em laboratório e a campo.

Aos donos das pisciculturas Schneider (Passo do Sobrado/RS) Srs. Eldo e Elton Schneider e, Bela Vista (São João do Polêsine/RS), Sr. Sérgio Dalpiva, pelo ótimo relacionamento durante a aquisição de alevinos para os experimentos.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico) pela bolsa de estudo concedida, sem a qual seria impossível a realização deste trabalho.

A todas aquelas pessoas (familiares, amigos, colegas, professores, alunos de pré-vestibular, alunos de graduação da UFSM e conhecidos) que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e que não foram aqui nominadas.

Agradeço à Deus por ter vencido mais esta etapa que hoje é a mais importante para minha vida!

“Todos nós estamos frente a uma série

De oportunidades brilhantes

Disfarçadas de situações impossíveis”

(Charles Swindoll)

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

INTERAÇÃO DA RIZIPISCICULTURA COM AGROQUÍMICOS E EFEITOS SOBRE A COMUNIDADE ZOOPLANCTÔNICA

Autora: Jaqueline Ineu Golombieski
Orientador: Dr. Enio Marchezan
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 6 de Março de 2006.

Este trabalho tem por objetivos determinar a concentração letal mediana (CL_{50};96h) dos herbicidas azimsulfuron (A) e metsulfuron-metílico (M) e do inseticida carbofuran (C) para alevinos de carpa húngara (*Cyprinus carpio*), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella)* e carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*), bem como o efeito destes sobre as respostas colinérgicas dos peixes; quantificar a sobrevivência e o crescimento de alevinos de carpas húngara, capim e cabeça grande na lavoura de arroz, expostos aos agroquímicos, avaliar o efeito dos agroquímicos na comunidade zooplanctônica presente em água de irrigação do arroz e quantificar a produção de arroz em rizipiscicultura.

Os experimentos foram divididos em experimento 1 (determinação da CL_{50};96h para peixes), realizado em laboratório, e experimento 2 (exposição das carpas e zooplâncton na lavoura arrozeira), conduzido em área de várzea do Departamento de Fitotecnia da UFSM. No experimento 1, as carpas (10 alevinos/repetição) foram expostas aos agroquímicos por 96 h, em delineamento experimental inteiramente casualizado (três repetições), avaliando-se a sobrevivência e comportamento natatório dos peixes. Os peixes sobreviventes foram congelados e após foram retirados cérebro e músculo para realização de análise da enzima acetilcolinesterase (AChE). O experimento 2, realizado nas safras agrícolas 2003/04 e 2004/05, em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições (unidades experimentais que possuíam 48 m^2 - 8m x 6m), iniciou com a semeadura do arroz no sistema pré-germinado, e posterior aplicação dos agroquímicos, com oito tratamentos: T1- A+peixe;

T2- M+peixe; T3- C+peixe; T4- A+M+C+peixe; T5- A+M+C (sem peixe); T6- A+M+peixe; T7- controle 1 (somente arroz); T8- controle 2 (arroz+peixe). Oito dias após a aplicação dos agroquímicos foram colocados os peixes na área do refúgio, onde permaneceram durante toda a cultura do arroz até outubro seguinte. Nesse período, foi realizada a coleta de zooplâncton, 17 dias antes da aplicação dos agroquímicos, seguindo até o 75° dia após aplicação destes.

Com os resultados obtidos pode-se concluir que a CL_{50};96h do carbofuran foi: carpa húngara: 1,81 mg/L, carpa capim: 2,71 mg/L e carpa cabeça grande: 2,37 mg/L. Este estudo demonstrou que doses de carbofuran próximas à aplicada para a cultura do arroz (0,75 mg/L) provocam mortalidade e afetam o comportamento e a atividade da acetilcolinesterase nas espécies de peixes estudadas (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella* e *Aristichthys nobilis*), indicando que a utilização deste inseticida não é recomendada para o sistema de rizipiscicultura.

Para o experimento 2, a aplicação dos agroquímicos (carbofuran, azimsulfuron e metsulfuron-metílico) na lavoura arrozeira não afetou a sobrevivência de carpas húngara, capim e cabeça grande, quando os alevinos são colocados oito dias após sua aplicação e as concentrações de carbofuran na água eram de 0,025 e 0,144 mg/L, nos anos experimentais 1 e 2, respectivamente, já com níveis que podem ser considerados pouco tóxicos para os peixes.

Já, a produtividade do arroz não foi influenciada pelos agroquímicos, quando utiliza-se o manejo adequado de lâmina contínua a partir da semeadura pré-germinada do arroz. A produtividade média do arroz irrigado no ano 1 foi de 4151 kg ha^{-1} e no ano 2 de 5643 kg ha^{-1}.

A aplicação do agroquímico carbofuran provocou efeitos negativos na comunidade zooplanctônica da rizipiscicultura, para o grupo Cladocera. Copepoda (adultos e nauplios) e Rotifera foram pouco afetados pela aplicação do carbofuran. Copepoda adultos foram afetados pela entrada de peixes na área.

Palavras-chaves: arroz, sistema pré-germinado, peixes, zooplâncton, agroquímicos

ABSTRACT

Doctor thesis
Post-Graduate Course in Agronomy
Universidade Federal de Santa Maria

INTERACTION OF RICE-FISH CULTURE WITH PESTICIDES AND EFFECT ON ZOOPLANKTON COMMUNITY

Author: Jaqueline Ineu Golombieski
Adviser: Dr. Enio Marchezan
Date and Place of Presentation: Santa Maria March 6th , 2006

The objective of this experiment was to determine the lethal concentration (LC_{50};96h) of azimsulfuron (A) and metsulfuron-methyl (M) herbicides and carbofuran (C) insecticide for common (*Cyprinus carpio*), grass (*Ctenopharyngodon idella)*and big head (*Aristichthys nobilis*) carps fingerlings, and the effect of these pesticides on the cholinergics response in fish; to quantify the survival and growth of common, grass and bighead carps fingerlings in rice fields, that were subjected to pesticides; to estimate the effect of the pesticides in the zooplankton community present in the water of irrigation rice and quantify the rice farming production in rice-fish culture.

The experiments were divided in experiment 1 (LC_{50};96h determination for fish), fulfilled in laboratory and experiment 2 (exposure of carps and zooplankton in rice fields), carried in lowland area of Departament of Fitotecnia (UFSM). In experiment 1 the carps (10 fingerlings/replicate) were exposed to the pesticides for 96 h in a entirely randomized experiment (three replicates), evaluating the survival and swimming behaviors of the fishes. Surviving fishes were frozen and brain and muscle removed for acetilcholinesterase enzyme analysis (AChE). The experiment 2, carried in growing seasons 2003/04 and 2004/05 in a randomized complete block experiment with four replicates (experimental units 48 m^2- 8mx6m), started with rice seeding in pre-germinate system, and pesticides application with eight treatments: T1- A+fish; T2- M+ fish; T3- C+ fish; T4- A+M+C+ fish; T5- A+M+C (without fish); T6- A+M+ fish; T7- control 1 (only rice); T8- control 2 (rice+ fish). After eight days of the pesticides application, fish were placed in refuge area, where remained during the whole rice culture until October. In this period, the zooplankton collection was fulfilled 17 days before pesticides application up to 75th days after this application. Results allon to

conclude that LC_{50};96h carbofuran was 1.81 mg/L for common carp, 2.71 mg/L for grass carp and 2.37 mg/L for bighead carp. This study showed that doses of carbofuran near that applied in rice culture (0.75 mg/L) provoked mortality and affected behavior and AChE activity in the studied species (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella,* and *Aristichthys nobilis*), indicating that the use of this insecticide is not recommended for rice-fish culture system.

For experiment 2, the application of pesticides (carbofuran, azimsulfuron and metsulfuron-methyl) in rice farming did not affect survival of common, grass and bighead carps when fingerlings are put eight days after pesticides application. At this moment, waterborne carbofuran concentrations were 0.025 and 0.144 mg/L (years 1 and 2 respectively), and these levels can be considered of low toxicity for fish.

Rice productivity was not influenced by these pesticides when the continuous flooding management was used after pre-germinated rice sow. The rice productivity in year 1 was 4151 kg ha^{-1}, and in year 2, 5643 kg ha^{-1}.

Carbofuran application provoked negative effects in zooplankton community of the rice-fish culture, for Cladocers group. Copepods (adults and nauplius), and Rotifers were slighly affected by carbofuran application. Adults Copepods were affected by the presence of fish in the treatments.

Key words: rice, pre-germinate system, fish, zooplankton, pesticides

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Produtividade, estande inicial, estatura de plantas, grãos por panícula, massa de mil grãos (MMG) e esterilidade de espiguetas da cultura do arroz irrigado em função dos tratamentos propostos em área de rizipiscicultura. Santa Maria, RS. 2006.....71

TABELA 2 - Parâmetros físico-químicos da água monitorados durante o experimento (2003/2004) em função dos tratamentos propostos em área de rizipiscicultura. Santa Maria, RS. 2006.....72

TABELA 3 – Tabela 3. Parâmetros físico-químicos da água monitorados entre dezembro de 2004 e julho de 2005 em função dos tratamentos em área de rizipiscicultura. Santa Maria, RS. 2006.....73

TABELA 4 - Média, desvio padrão e correlações canônicas entre o parâmetros físico químicos água (grupo 1) e os organismos zooplanctônicos (grupo 2). Santa Maria, RS. 2006.....89

TABELA 5 - Análise da variância (ANOVA) dos fatores A (tratamentos) e D (dias). Santa Maria, RS. 2006.....90

TABELA 6 - Densidade populacional (organismos/L) de Cladocera e Rotifera entre novembro/04 e fevereiro/05. Santa Maria, RS, 2006.....91

TABELA 7 - Densidade populacional (organismos/L) de Copepoda Adulto e Nauplio entre novembro/04 e fevereiro/05. Santa Maria, RS, 2006.....92

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Efeito da atividade da AChE em cérebro e músculo de (A) carpa húngara (*Cyprinus carpio*), (B) carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e (C) carpa cabeça grande *(Aristichthys nobilis*) (µmol/AcSCh min g proteina) expressa em média ± erro padrão *(n = 3)*. Letras diferentes indicam diferença significativa na atividade da AChE através das concentrações de carbofuran nos tecidos (P<0,05).....52

FIGURA 2 - Atividade da AChE em cérebro (A) e músculo (B) de carpas (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella* e *Aristichthys nobilis*) após 96 h de exposição a diferentes concentrações de carbofuran. A atividade da AChE (µmol/AcSCh min g protein) é expressa em média ± erro padrão *(n = 3)*. Letras diferentes indicam diferença significativa na atividade da AChE através através das espécies em algumas concentrações de carbofuran (P<0,05).....53

FIGURA 3 - Parâmetros físico-químicos da água: (A) oxigênio dissolvido; (B) temperatura; (C) pH; (D) dureza total; (E) alcalinidade total; (F) transparência. (Valores médios de todos os tratamentos em cada dia de coleta).....88

FIGURA 4 - Monitoramento do carbofuran na água da lavoura arrozeira durante a safra agrícola
2002/05.....90

FIGURA 5 – Área experimental localizada no Departamento de Fitotecnia da UFSM, demonstrando as parcelas experimentais (com área do refúgio) e os canais de abastecimento da água (canal individual de entrada e de saída de cada parcela).....110

SUMÁRIO

RESUMO.....11

ABSTRACT.....13

LISTA DE TABELAS.....15

LISTA DE FIGURAS.....16

1.INTRODUÇÃO.....20

2.OBJETIVOS GERAIS.....24

2.1.Hipóteses.....25

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....25

3.1.Agroquímicos.....25

3.2.Rizipiscicultura.....28

3.3.Peixes.....13

3.4.Enzima Acetilcolinesterase.....37

3.5.Organismos Zooplanctônicos.....39

4. Capítulo I – Atividade da enzima acetilcolinesterase em cérebro e músculo de carpas após exposição aguda ao

carbofuran.....42

Resumo.....42

Abstract.....43

Introducão.....43

Material e métodos.....45

Resultados.....47

Discussão.....49

Conclusão.....51

Referências Bibliográficas.....54

5. CAPÍTULO II – Exposição de carpas a carbofuran, metsulfuron-metílico e azimsulfuron em área de arroz irrigado.....58

Resumo.....58

Abstract.....59

Introdução.....59

Material e Métodos.....61

Resultados e Discussão.....65

Conclusões.....70

Referências Bibliográficas.....74

6. CAPÍTULO III – Efeito dos herbicidas metsulfuron-metílico e azimsulfuron e do inseticida carbofuran em Cladocera, Copepoda e Rotifera em rizipiscicultura 76

Resumo.....76

Abstract.....76

Introdução.....77

Material e Métodos.....79

Resultados.....81

Discussão.....83

Conclusões.....86

Referências Bibliográficas.....93

7. REFERÊNCIASBIBLIOGRÁFICAS.....96

8. APÊNDICES.....110

1. INTRODUÇÃO

O aumento na demanda de água nos diversos setores como abastecimento urbano e industrial, produção de energia e irrigação tem tornado imperativo o uso racional deste recurso. Centenas de agroquímicos com diferentes estruturas químicas são usados mundialmente na agricultura e, embora esses agroquímicos sejam considerados como essenciais para o desenvolvimento da agricultura, alguns deles podem causar sérias contaminações ambientais, principalmente na água (Das e Mukherjee, 2003). Como conseqüência, ter-se-á água de má qualidade, tanto para consumo humano como para a irrigação, afetando ainda o ambiente.

A persistência dos resíduos de agroquímicos no solo e seu movimento no sistema água-solo são aspectos chaves no seu comportamento ambiental. A soma do material perdido a campo e transportado para a superfície das águas depende de vários fatores, incluindo características do solo, topografia, tempo (clima), práticas agriculturais e, propriedades químicas e ambientais individuais dos agroquímicos (Zalidis et al., 2002).

Os herbicidas são amplamente utilizados em áreas de cultivo do arroz no Rio Grande do Sul, onde predomina o sistema de cultivo convencional, que nas condições de cultivo locais, apresenta alguns problemas, como alta infestação da lavoura por insetos e plantas daninhas. Muitas áreas que adotaram esse sistema por vários anos consecutivos acabaram sendo abandonadas por tornarem-se impróprias para o cultivo, ou por exigirem grandes investimentos na sua recuperação. Para o controle efetivo das plantas daninhas nestas áreas, faz-se necessário aumentar a quantidade de herbicidas aplicados, aumentando a probabilidade de ocorrer contaminação dos mananciais hídricos próximos

às lavouras e afetando inclusive a produtividade do arroz.

A cultura do arroz irrigado, no Rio Grande do Sul, destaca-se com área superior à 900.000 ha^{-1} cultivados anualmente. Esta lavoura se caracteriza pela necessidade da utilização de água para irrigação (mais ou menos 15.000 m^3 ha^{-1} por safra), agroquímicos e fertilizantes para a obtenção de rendimentos economicamente compensadores. Normalmente os herbicidas são aplicados diretamente no solo e a entrada da lâmina de água ocorre após alguns dias de aplicação. A lavoura de arroz, além de utilizar as águas dos mananciais, também pode encaminhar ao ambiente substâncias que eventualmente podem ser prejudiciais a este. As mais prováveis contaminações desta lavoura são os resíduos de herbicidas e fertilizantes (Marchezan et al., 2001).

Na maioria das lavouras de arroz irrigado, as aplicações dos agroquímicos são seguidas pela inundação ou em muitos casos, especialmente alguns herbicidas e inseticidas, são aplicados diretamente na água. No sistema pré-germinado de cultivo de arroz irrigado, há uma modalidade de aplicação que se faz por derramamento direto do herbicida na lâmina de água, processo conhecido como “benzedura”. Dependendo do manejo adotado e da precipitação pluvial após a aplicação, existe o risco dos agroquímicos serem carreados para fora da lavoura contaminando os mananciais hídricos à jusante desta. Apesar da grande contribuição destes produtos para a produção de arroz, até o momento, poucas pesquisas foram realizadas visando monitorar os resíduos de herbicidas na água e nos peixes.

Devido ao fato de que a orizicultura vem apresentando menor lucratividade ano após ano, faz-se necessária a busca de alternativas capazes de reduzir os custos de produção, bem como são necessárias novas formas de diversificação na exploração das

áreas de várzeas. Assim, em áreas onde se cultiva o arroz irrigado no sistema pré-germinado, a rizipiscicultura surge como uma alternativa para aumentar a lucratividade dos produtores rurais, seja pelos seus efeitos indiretos na lavoura, seja pelo aumento da receita devido à implantação da piscicultura em consórcio.

A rizipiscultura é uma atividade milenar iniciada pelos asiáticos e consiste na criação de peixes em lavouras de arroz irrigado. Segundo Cotrim et al. (2002) a rizipiscicultura é um sistema sustentável caracterizado pelo cultivo consorciado de arroz irrigado e a criação de peixes, sem o uso de agroquímicos, sem o uso de adubo mineral solúvel e reduzindo o uso de máquinas. Embora existam várias formas de conduzi-la, a criação de peixes concomitantemente com o arroz demonstra maior potencial de sustentabilidade, pois a partir do momento em que os alevinos são colocados na área, a lavoura de arroz e os peixes começam a interagir, de maneira que um beneficia o outro.

Os hábitos alimentares das espécies de peixes utilizadas em consórcio com arroz irrigado são, talvez, os principais responsáveis pelo sucesso desta associação. Os peixes diminuem a população de plantas daninhas na cultura do arroz, por comerem as sementes que estão no solo, e plantas que já estão emergidas. Além disso, ao revolverem o solo em busca de sementes e insetos, os peixes fazem o seu preparo para a semeadura do arroz, reduzindo desta forma o uso de herbicidas, inseticidas e de outros produtos químicos (Sato, 2002).

Os herbicidas metsulfuron-metílico (metil 2-[[[[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazina-2-il)amino]carbonil]amino] sulfonil]benzoato- sulfoniluréia) e azimsulfuron [1-(4,6-dimetoxipirimidina-2)-3-(1-metil-4-(2-metil-2H-tetrazol-5)pirazol-5-sulfuniluréia] são

amplamente utilizados na cultura do arroz irrigado, sendo azimsulfuron utilizado no controle de *Sagittaria* sp. (chapéu-de-couro), *Cyperus* sp. (junquinho) e *Fimbristylis* sp. (cuminho), e o metsulfuron-metílico utilizado para o controle de *Aeschynomene* sp. (angiquinho) e *Heteranthera* sp. (agrião-do-brejo) (SOSBAI, 2005). Estes herbicidas são altamente solúveis em água, pode ocorrer contaminação com conseqüente impacto na fauna e flora aquática (Vencill et al., 2002).

O agroquímico carbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil-N-metilcarbamato) é largamente empregado em todo o mundo como inseticida, nematicida e acaricida. Este agroquímico é bastante difundido e seus resíduos foram detectados em solo, superfície e águas da chuva (Matthiessen et al., 1995, Adhikari et al., 2004). Como os insetos anualmente ocorrem em 25% da área orizícola do Rio Grande do Sul, reduzindo em 15% a produtividade da cultura, onde assume maior importância econômica o gorgulho aquático (*Oryzophagus oryzae*, Coleoptera), faz-se necessária a aplicação deste inseticida granulado, altamente tóxico, em cobertura na água de irrigação e indutor de riscos de poluição ambiental (Link, 2003).

Existem poucos trabalhos relacionados com a toxicidade de herbicidas utilizados em cultura de arroz irrigado para peixes e comunidade planctônica, bem como pouca atenção tem sido dada para a exposição em concentrações subletais de herbicidas em peixes com potencial para a rizipiscicultura.

Visando um melhor conhecimento sobre aspectos relacionados aos efeitos dos herbicidas azimsulfuron e metsulfuron-metílico, e o inseticida carbofuran, sobre espécies aquáticas**,** salienta-se a necessidade de avaliar qual a toxicidade dos mesmos, e se as concentrações utilizadas nas lavouras de arroz prejudicam a comunidade ictiológica. A

relação existente entre o estudo da concentração letal mediana em laboratório (CL_{50}) e as dosagens aplicadas à campo, está em que possivelmente a dosagem aplicada na lavoura não seja aquela considerada letal para os peixes, por ser normalmente muitas vezes menor que aquela utilizada em nível de laboratório para a obtenção da CL_{50}. E, no caso de uma super-dosagem utilizada em laboratório, mesmo não ocorrendo a morte dos peixes expostos a estes produtos, é importante analisar-se quais seriam as reais condições de toxicidade para os peixes.

Assim, é de fundamental importância a avaliação da toxicidade dos agroquímicos sobre organismos não alvo, utilizando para tanto espécies bioindicadoras como peixes e comunidade zooplanctônica. Estes testes permitirão a identificação daqueles produtos químicos com menor toxicidade e riscos de impacto ambiental, além de identificar aqueles que poderiam ser utilizados nas lavouras de arroz consorciados com peixes (rizipiscicultura).

No contexto atual em que atravessa a economia mundial, particularmente no Brasil, onde busca-se cada vez mais a diversificação como forma de produção sustentável, para o produtor através do retorno econômico da atividade, para o consumidor por meio de produtos saudáveis e para o ambiente, utilizando manejo conservacionista e preservando a biodiversidade, propõe-se a realização deste trabalho.

2. OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo tem como objetivos:

- Determinar a concentração letal mediana (CL_{50};96h) dos herbicidas

azimsulfuron e metsulfuron-metílico e do inseticida carbofuran para alevinos de carpa húngara (*Cyprinus carpio*), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella)* e carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*), bem como o efeito destes sobre as respostas colinérgicas dos peixes.

- Quantificar a sobrevivência e o crescimento de alevinos de carpa húngara, carpa capim e carpa cabeça grande na lavoura de arroz, expostos aos agroquímicos.

- Avaliar o efeito dos agroquímicos na comunidade zooplanctônica presente em água de irrigação do arroz;

- Quantificar a produção de arroz em sistema rizipiscicultura.

2.1. Hipóteses

- Os agroquímicos afetam a atividade da enzima acetilcolinesterase nos peixes.

- A comunidade zooplanctônica é afetada pelos agroquímicos.

- O consórcio de peixes com arroz não afeta a produção do arroz.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Agroquímicos

O crescimento na demanda por alimentos devido ao aumento da população humana têm levado a um substancial aumento na produção e utilização de agroquímicos e fertilizantes, induzindo a preocupações quanto ao potencial de contaminação ambiental e

aos efeitos na saúde humana e vida selvagem (Elezovic et al., 1994; Tsuda et al., 1997; Delistraty et al., 1998; Sancho et al., 1998; Albrechtsen et al., 2001; Archer e Shogren, 2001; Llasera e Bernal-Gonzales, 2001; Berg, 2002; Das et al., 2002; Finizio e Villa , 2002; Sarikaya e Yilmaz, 2003; Yamaguchi et al., 2003; Ulloa et al., 2004).

O monitoramento dos efeitos da poluição global em organismos requer o conhecimento das principais substâncias tóxicas envolvidas e, problemas sérios são causados pela toxicidade de agroquímicos e sua persistência no ambiente. Agroquímicos contaminam rios, lagos e reservatórios, após pulverização ou através da água das chuvas, podendo afetar a água, sedimentos e organismos não-alvo, modificando a teia alimentar ou causando um desbalanço no ecossistema (Tejada e Magallona, 1985; Cerejeira et al., 1998; Forget et al. ,1998; Gruber e Munn, 1998; Asare et al., 2000; Magni et al., 2001; Das et al., 2002, Duchnowicsz et al. 2002; Langhof et al., 2002; Zalidis et al. 2002; Zeren et al., 2002; Kreutzweiser et al., 2004).

Estudos em laboratório podem ser utilizados para determinar a toxicidade de agroquímicos para peixes, indicando a possibilidade de ocorrer efeitos tóxicos no campo (Stephenson et al., 1984). Autores como Wendt-Rasch et al. (2003a) comentam que efeitos combinados à exposição de inseticidas e herbicidas nos níveis do ecossistema são raramente estudados e Wendt-Rasch et al. (2003b) que organismos expostos a químicos em seu ambiente natural podem ser mais (ou menos) sensíveis a tóxicos que organismos expostos em laboratório, devido aos seus efeitos, assim como a dependência na densidade e indução ao estresse pela competição e pouco alimento disponível. Ecotoxicologistas têm demonstrado preocupações em prever os impactos da poluição ambiental na dinâmica de populações expostas em ambiente natural (Lopes et al., 2005).

Segundo Sancho et al. (1998), efeitos letais dos agroquímicos são raros na natureza porque os organismos normalmente são expostos a baixas concentrações (subletais). Burdett et al. (2001) afirmam que a aplicação de inseticidas tem sido responsável por desorganizar a dinâmica populacional de grupos de invertebrados terrestres dentro de lavouras de arroz.

Wendt-Rasch et al. (2003a) mostraram através de suas pesquisas que a exposição ao herbicida metsulfuron-metílico pode ocorrer em corpos d'água adjacentes às terras da agricultura devido às práticas normais que podem induzir a alterações na ecologia do ecossistema aquático, particularmente em macrófitas dominantes na água.

Na literatura tem-se encontrado diversos estudos relacionados à toxicidade do carbofuran, que vão desde microorganismos (bactérias) até mamíferos. Dependendo das condições aquáticas ambientais há variações na persistência do carbofuran na água, controlada por processos químicos e biológicos como hidrólise, degradação microbiana, volatilização, fotodecomposição, dissipação na planta e em lagoas (Trotter et al., 1991).

Experimentos de Moreira et al. (2004) com monitoramento de carbofuran em águas de irrigação provenientes de áreas de cultivo de arroz até sua descarga no rio Paraíba do Sul (Taubaté, SP), concluíram que na região monitorada, não foi observada a presença de carbofuran na água deste rio. A ocorrência do inseticida foi limitada à área agrícola e foi transitória, pois o carbofuran não foi detectado na água proveniente das lavouras após 70 dias.

Entretanto, para os herbicidas da classe sulfuniluréias, como metsulfuron-metílico, que são largamente utilizados na agricultura devido a sua baixa dosagem de aplicação,

boa seletividade para a colheita e baixa toxicidade animal existem poucos trabalhos na literatura (Samanta et al, 1999; Zhu et al. 2002; Ye et al, 2003; Cedergreen et al., 2004; Caselli, 2005).

3.2. Rizipiscicultura

Na Índia, grande parte da agricultura é sustentada pela adoção de sistema de integração arroz-peixe (Rao & Singh, 1998). Experiências têm mostrado os aspectos positivos deste sistema combinando princípios de conservação da água e do solo, controle biológico e importante papel em uma produção mais sustentável. A cultura de peixes nos arrozais pode reciclar a disponibilidade de materiais e energia dentro da produção de peixes, acelerar a produtividade do arrozal e realçar o potencial produtivo de práticas nas fazendas tradicionais com aumento na rede de rendimentos (Harwart, 1998; Caguan et al., 2000).

Nas últimas décadas a criação de peixes em culturas de arroz têm entrado em uma nova fase de expansão, com o aumento na utilização desta integração com práticas na administração de pragas. Altas densidades de peixes aumentam o rendimento em sistemas de irrigação dos produtos agrícolas, minimizando a pressão de pragas terrestres e aquáticas, sendo as carpas espécies tradicionalmente preferidas para cultivo. Os peixes são o principal fator no controle de insetos vetores e moluscos, pragas para o cultivo do arroz que podem ser reduzidas pela ação dos peixes (Halwart et al., 1996; Fernando & Halwart, 2000). Em muitos estudos associados ao cultivo de peixes, constata-se um

aumento de produtividade de arroz de 5 a 30%, proporcionando ao agricultor uma segunda fonte de renda na propriedade mediante a venda dos peixes. Um importante fator no aumento das áreas com rizipiscicutlura na Ásia, está no lucro alcançado, devido à redução no uso de fertilizantes e agroquímicos (Mackay, 1995)

Nos últimos anos, com a preocupação crescente em relação à poluição ambiental causada pelos agroquímicos utilizados nas lavouras arrozeiras, a rizipiscicultura está sendo apontada como uma das alternativas viáveis para tentar diminuir esse impacto ambiental negativo. Nesse caso, o peixe entra como um agente biológico no controle de plantas daninhas e insetos, apresentando como alvo principal a larva da bicheira-da-raiz (*Oryzophagus oryzae*), além de contribuir para a redução no uso de agroquímicos (Sato, 2002). Segundo Marchezan (2003), a rizipiscicultura apresenta-se como um sistema capaz de aumentar a rentabilidade, especialmente das pequenas propriedades, devido ao ganho obtido com os peixes e a redução de custos de produção do arroz.

Trabalhos foram realizados por Mohanty et al. (2003) conduzidos em três anos sucessivos de experimentos com rizipiscicultura, na Índia, com larvas de carpas (*Catla catla, Labeo rohita, Cirrhinus mrigala* e *Cyprinus carpio*) colocados nos refúgios com densidades de povoamento de 15.000, 25.000 e 35.000 larvas ha^{-1}, para o primeiro, segundo e terceiro anos, respectivamente, por 120 dias. O rendimento de grãos de arroz (lâmina d'água de 15 cm) foi de 3629 kg ha^{-1} e a produtividade de peixes de 506, 1036 e 984 kg ha^{-1}, de acordo com as três densidades de povoamento de peixes utilizadas. Este estudo mostrou que a densidade de povoamento de peixes não precisa ultrapassar 25.000 larvas ha^{-1} e a porcentagem de aumento no rendimento do arroz sob a integração arroz-peixes foi de 7,9 a 8,6% em relação ao tratamento controle (arroz sem peixes).

De acordo com Rothuis et al. (1998a), efeitos positivos na integração de peixes com arroz na área semi-profunda do Mekong Delta (Vietnam) são provavelmente no campo da sustentabilidade ambiental e biodiversidade do sistema. Apesar dos baixos rendimentos dos peixes e outras contribuições um tanto insignificantes para o lucro total das fazendas, a inclusão de peixes é importante em termos de um decréscimo no uso de agroquímicos. Em outro trabalho estes autores citam que a associação de peixes e arroz oportuniza também uma redução nas taxas de semeadura do arroz (Rothuis et al., 1998b). Rothuis et al. (1999), usando 4000 peixes ha^{-1} testaram três diferentes densidades de semeadura do arroz: 100, 200 e 300 kg ha^{-1}, sendo a produtividade do arroz de 5550, 5150 e 4980 kg ha^{-1}, respectivamente, com diferenças entre a menor e a maior densidades de semeadura. Já a biomassa total de peixes despescados de acordo com as densidades de semeadura foi de 248,1; 221,4 e 209,4 kg ha^{-1}de peixe, respectivamente. Os autores concluem que baixas taxas de semeadura do arroz resultam em maiores rendimentos de arroz e peixes.

No Brasil, poucos trabalhos têm estudado o efeito da incorporação dos peixes na lavoura arrozeira, destacando-se Sato (2002) e Marchezan et al. (2005). Sato (2002) (SC) utilizando o policultivo de carpas: capim (*Ctenopharyngodon idella*) e húngara (C*yprinus carpio*), além de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) testou duas densidades de estocagem dos peixes (15000 e 30000 alevinos ha^{-1}). Neste trabalho, a produtividade média do arroz nos locais com peixes foi de 5166 kg ha^{-1}, e no tratamento sem peixe 4201 kg ha^{-1}. Na avaliação das plantas daninhas não houve infestação destas nas parcelas com peixes, enquanto que nas parcelas sem peixes foram identificadas dez espécies de plantas: grama boiadeira (*Luziola peruviana*), capim arroz (*Echinocloa colonum*),

chapéu-de-couro (*Sagittaria montevidensis*), cuminho (*Fibristylus miliacea*), aguapé (*Heteranthera reniformes*), erva-jacaré (*Alternanthera phyloxeroides*), junquinho ou barba de bode (*Eleocharis* sp), aguapezinho (*Sagittaria guyanensis*) e capim branco (*Brachiaria multica*). Assim, este autor conclui que a introdução de peixes nos arrozais aumenta a produtividade do arroz, embora o peixe não controle satisfatoriamente a bicheira-da-raiz, mas controla plantas daninhas, e a densidade de 30.000 alevinos ha^{-1} demonstrou ser a melhor.

Já Marchezan et al. (2006) (Santa Maria, RS) realizaram trabalhos com rizipiscicultura com o objetivo de determinar a densidade de povoamento de peixes (6000 e 3000 alevinos ha^{-1}) e a época de colocação dos alevinos na área da lavoura arrozeira (na semeadura, 20 dias após a semeadura do arroz e após a colheita) que proporcionassem as melhores produções no consórcio arroz irrigado e peixes, utilizando o policultivo de carpas e jundiá (*Rhamdia quelen*). Concluíram que a produção média de grãos de arroz do experimento foi de 6372 kg ha^{-1}, não sendo afetada pela presença de peixes. No entanto, a produção de peixes não foi influenciada pelas densidades e nem pelas épocas de colocação dos alevinos na lavoura, com uma produção média de 404 kg ha^{-1} de peixes, verificando-se maior taxa de sobrevivência quando os peixes foram colocados após a colheita do arroz na taxa de 60% carpa húngara, 20% carpa capim, 10% jundiá, 5% carpa cabeça grande e 5% carpa prateada.

3.3. Peixes

Agroquímicos podem afetar os peixes causando efeitos tóxicos em outros animais

que se alimentam deste (Sarikaya e Yilmaz, 2003). Mesmo estando em baixas concentrações na água, eles podem se acumular em concentrações muito altas na gordura corporal, especialmente quando a eliminação é pequena (van Eck et al., 1997; Bressa et al., 1997; Shailaja e Nair, 1997). Como resultado, aumentou o interesse em se estudar a extensão de exposições subletais que proporcionem efeitos fisiológicos e bioquímicos na população de peixes e de outros organismos expostos a contaminantes (Health et al., 1997).

Concordando com essa informação, Saglio e Trijasse (1998) e Saglio et al. (2001) reportam que a mortalidade de organismos aquáticos, como peixes, resulta na maioria das vezes de situações acidentais ou da pulverização direta sobre corpos d'água. Entretanto, os organismos aquáticos estão sujeitos ao estresse provocado por concentrações subletais dos agroquímicos em exposição prolongada, afetando seu comportamento, hábitos alimentares, reprodução e provocando alterações de ordem morfológica, fisiológica e bioquímica.

O interesse na investigação de poluentes da água aumentou consideravelmente nas últimas décadas, uma vez que muitos destes compostos são tão difíceis que podem matar organismos quando espalhados através das águas naturais (Cruz, 2002). Mas apesar disto, estudos de ecotoxicologia de herbicidas em peixes, ainda são escassos, principalmente pesquisas envolvendo respostas comportamentais. Até o momento, os resultados indicam que para a maioria das substâncias testadas, há respostas significativas para períodos de curta exposição e de concentrações subletais (Bretaud et al., 2000) pois a via principal de entrada de substâncias tóxicas nos peixes ocorre diretamente pela água, através das brânquias, superfície do corpo e alimentos contaminados (Baser et al., 2003).

O estudo da concentração de agroquímicos em tecidos de peixes é um ponto importante na visão humana de consumo de carne, associado também aos compostos que podem produzir efeitos crônicos através de respostas tóxicas, dependendo do tempo de exposição e da concentração utilizada (Favari et al., 2002).

Os efeitos agudos, isto é, os que acontecem em altas concentrações num período relativamente curto de exposição, são quase sempre avaliados pela CL_{50} (concentração letal mediana) e são dependentes de fatores bióticos e abióticos. Hermes (1997) adverte que os valores de CL_{50} para diferentes organismos na comunidade de qualquer sistema pode servir como uma medida preliminar na análise de risco de efeitos tóxicos de produtos em doses recomendadas. Entretanto, não indica se doses subletais afetam o crescimento ou manutenção da comunidade em questão.

Kaur e Dhawan (1993) realizaram experimentos de toxicidade aguda (CL_{50};96h) com carpa húngara, com o objetivo de avaliar a toxicidade de agroquímicos, entre eles o carbofuran (Furadan 3 G), para ovos, larvas e alevinos desta espécie, bem como comparar a sensibilidade desses estágios. Os resultados demonstraram que nas concentrações de 0,01 e 0,1 mg/L de carbofuran, os ovos apresentam viabilidade de 100%, sem a presença de larvas anormais. Entretanto, aumentando-se a concentração para 0,5 e 1 mg/L a viabilidade dos ovos diminuiu para 80 e 76%, respectivamente, e mortes e anormalidades ocorrem nas larvas. Testes com 2,0; 3,0 e 4,0 mg/L mostraram 50% de mortalidade dos ovos, indicando grande sensibilidade de estágios embrionários jovens à carbofuran. Para larvas, o carbofuran afetou a sobrevivência com 0,5 mg/L e estas exibiram anormalidades na coluna vertebral. Larvas e alevinos mostraram alterações no comportamento natatório com nado errático próximo à superfície da água e diminuição no equilíbrio em altas

concentrações testadas, além de rápidos movimentos operculares e respiratórios. A CL_{50} para ovos, larvas e alevinos foi de 1,09 (0,24-2,2); 1,29 (1,02-1,7) e 1,55 (1,38-1,75) mg/L, respectivamente, sendo a sensibilidade diferente nos três estágios.

Trotter (1991) afirma que peixes podem apresentar efeitos adversos quando expostos a carbofuran em baixas concentrações (0,08 mg/L) por curtos períodos. Este autor evidenciou sintomas como hiperatividade, paralisias corporais, curvaturas na coluna vertebral, queda no equilíbrio e paralisias opercular e bucal.

Outro estudo com carbofuran conduzido por Charttejee et al. (2001) no catfish indiano (*Heteropneustes fossilis*) verificou que a exposição aconcentrações sub-letais (0,5; 1 e 2 mg/L) por 30 dias reduziu os níveis de vitelogênese ovariana na fase de pré-desova e é possível que esse agroquímico afete a liberação de gonadotrofinas (GnRH) do hipotálamo, sugerindo uma disrupção no eixo hipofiseal gonadal deste peixe. Sukumar e Karpagaganapathy (1992) reportam também que carbofuran afeta significativamente o processo de maturidade dos folículos ovarianos do catfish indiano por reter o desenvolvimento do estágio I dos oócitos reduzindo a taxa de fertilização dos ovos "*in vitro*" e induzindo a anormalidades durante o desenvolvimento.

Também Kale et al. (1996) expuseram o peixe catfish indiano (10 – 15 cm) a carbofuran (0,5 mg/L) marcado com ^{14}C, retirando amostras de tecidos (brânquias, fígado, cérebro, gônadas, baço, vísceras e músculo) em 6, 10, 24, 36, 48 e 60 horas após exposição. Como resultados, o baço mostrou o máximo de resíduos nas últimas 60 h, pois este é um sítio de fagocitose e não se conhece nenhum mecanismo de detoxificação, contrariamente ao fígado que possui este mecanismo. Vísceras não mostraram resíduos até 36 h, aumentando em 48 h. Músculo mostrou um aumento de resíduos até 48 h..

Cérebro, brânquias e gônadas não mostraram registros de acumulação de resíduos de ^{14}C.

Experimentos de Singh e Sharma (1998) estudaram o efeito do carbofuran em parâmetros bioquímicos do peixe *Clarias batrachus* em exposição a concentrações sub-letais (0,01 e 0,02 mg/L) por dois diferentes períodos de incubação, 96 h e 15 dias, nos seguintes tecidos: fígado, brânquias, músculo, cérebro, coração e rim. Os autores concluíram que carbofuran exerceu efeitos deletérios em *C. batrachus* já em baixas concentrações causando significativas mudanças na atividade enzimática de lactato desidrogenase (LDH), bem como no conteúdo de proteína nos diferentes tecidos do peixe. A inibição na atividade da enzima foi mais proeminente em brânquias, músculo, cérebro e fígado do que em rim e coração.

Estudos em alguns parâmetros hematológicos de carpa (*Labeo rohita*) expostos a concentrações subletais de carbofuran de 0,06; 0,15 e 0,30 mg/L por 28 dias (CL_{50} carbofuran: 0,60 mg/L) foram realizados por Adhikari et al. (2004). O estresse causado pelo agroquímico neste estudo provocou uma anemia macrocítica no peixe, possivelmente pela destruição de eritrócitos maduros, concluindo os autores que peixes expostos a níveis sub-letais de carbofuran sofrem um significante decréscimo na contagem de eritrócitos, conteúdo de hemoglobina e valores de hematócritos e, aumenta o conteúdo total de leucócitos e volume corpuscular médio, com dose-tempo dependente.

Resgalla et al. (2002) avaliou a toxicidade aguda de alguns agroquímicos utilizados na lavoura de arroz irrigado sobre juvenis de carpa húngara (6-8 cm), buscando estabelecer limites de concentrações de risco dos produtos avaliados. Para o inseticida carbofuran (Furadan 50 G), o valor de CL_{50};96h para a carpa foi de 12,25 mg/L, sendo as concentrações testadas de 0,75 a 30 mg/L. Como dados entre a CL_{50} e a concentração

recomendada pelo fabricante estão próximas, isto indica maior potencial de risco no uso deste produto. Já para o herbicida metsulfuron-metílico (Ally 600 GD), a CL_{50};96h foi de 26 mg/L (concentrações testadas de 1 a 64 mg/L). Assim, tais resultados alertam para cuidados que devem envolver a utilização do mesmo na cultura do arroz, especialmente com relação à circulação de água na lavoura após a aplicação.

Em testes com a mesma espécie de carpa (*Cyprinus carpio*), Ishida et al. (1995) usando o herbicida benthiocarb, o fungicida isoprothiolane e o inseticida fenitrothion encontraram valores de CL_{50};48h de 1,7 ; 6,7 e 4,9 mg/L, respectivamente.

Sancho et al. (1998) realizaram exposição de enguia (*Anguilla anguilla)* em laboratório, ao inseticida fenitrothion (0,02 e 0,04 mg/L) por 72 h e observaram sinais óbvios de intoxicação como: intranqüilidade, nado errático, convulsões e perda de balanço. Alguns peixes também exibiram atividade motora e sensorial reduzida, mas, todos sobrevivendo a exposição no período estipulado.

Trabalho realizado por Cruz (2002) com lambari (*Astyanax altiparanae*), um peixe natural da ictiofauna brasileira e, tilápia do Nilo, frente ao inseticida monocrotophos, evidenciaram a CL_{50};96h para a primeira espécie de 4,9 mg/L e CL_{50};48h para a segunda de 13,8 mg/L. Observou-se uma conseqüência ecológica importante que foi o comportamento agressivo nas duas espécies, que deve ser considerado como uma pequena mudança em sua estrutura populacional que pode afetar a sobrevivência destas.

Experimentos realizados por Miron et al. (2004) com o herbicida metsulfuron-metílico mostraram que a CL_{50};96h para alevinos de jundiá está acima de 1200 mg/L. Também Machado et al. (2001) avaliaram o desenvolvimento inicial de alevinos de

jundiá em água proveniente de lavoura de arroz irrigado tratada com este herbicida e aplicado na dose normalmente utilizada na lavoura (0,002 mg/L). Os autores relatam que os alevinos de jundiá não demonstraram sinais aparentes de intoxicação que refletisse negativamente no ganho de peso e desenvolvimento inicial da espécie, com sobrevivência dos alevinos de praticamente 100% em 45 dias experimentais.

3.4. Enzima Acetilcolinesterase

Agroquímicos são produzidos e utilizados em grandes quantidades no ambiente e a possibilidade de risco da acetilcolinesterase (AChE) ser inibida por eles em ambientes aquáticos não é ignorada (Begum e Vijayaraghavan, 1999).

Inseticidas como organofosforados e carbamatos são conhecidos como disruptores de transmissão no sistema nervoso central e periférico em vertebrados, através da inibição da atividade da enzima AChE, enzima que degrada o neurotransmissor acetilcolina em sinapses colinérgicas. A inibição provoca um acúmulo de acetilcolina em sinapses, com disrupção da função nervosa que pode finalmente matar os organismos (Loewenstein et al., 1993; Carr e Chambers, 1996; Gruber e Munn, 1998; Dembélé et al., 2000; Fernandez-Vega et al., 2002; Zeren et al., 2002; Yerushalmi e Cohen, 2002; Varó et al., 2003; Aguiar et al., 2004). Organismos aquáticos exibem uma ampla taxa de respostas inibitórias para os carbamados, dependendo do composto, tempo de exposição, condições da água e espécies (Coppeage e Mathews, 1974; Tejada e Magallona, 1985). Distúrbios na atividade da AChE podem também afetar a locomoção e o equilíbrio de organismos expostos e podem prejudicar a alimentação (Miron et al. 2005).

Considerando o número de compostos organofosforados e carbamatos e a dificuldade em detectar seus análogos altamente tóxicos, a atividade da AChE é provavelmente o melhor indicador geral de sérias poluições causadas por estes agroquímicos (Bretaud et al., 2000; Dembélé et al., 2000; Roex et al. 2003). A determinação da atividade da AChE é amplamente utilizada na diagnose de carbamatos tóxicos (Hart, 1993). Esta atividade pode ser reduzida para menos que 50% do nível normal, quando expostos a carbamatos, sendo considerado como um bom indicador de toxicidade (Westlake et al., 1981). Para Chaudhry et al. (2002) carbofuran é um potente inibidor da acetilcolinesterase, enzima vital para o funcionamento do sistema nervoso central.

Entretanto, poucos estudos da atividade das enzimas colinesterases têm incluido os Cipriniformes, principalmente em laboratório (Flammarion et al., 2002) visto que tais estudos são muito importantes por ajudarem na identificação e na diferenciação entre a contaminação de peixes que são expostos à campo (Rodrigues-Fuentes & Gold-Bouchot, 2000).

A utilização de carbofuran (0,001 mg/L) e diazinon (0,0015 mg/L) matou todas as carpas húngaras (6-10 cm) depois de 4 h, e isto ocorreu sem um decréscimo significativo na atividade da AChE. Testes "*in vitro*" com carbofuran (99% de pureza) utilizando carpa húngara por 96 h, mostraram que a concentração de 0,001 mg/L e a 0,002 mg/L induziu a 100% de mortalidade dos peixes em 24 h. O inseticida carbofuran apareceu como sendo o mais eficiente inibidor comparado a outros agroquímicos como clorpirifós e diazinon (Dembélé et al., 2000).

3.5. Organismos Zooplanctônicos

De acordo com Planque e Taylor (1998), análises detalhadas da conexão entre o ambiente e as respostas do plâncton dependem de vários mecanismos, como por exemplo, a intensidade do "bloom" de fitoplâncton na primavera, resultado de mudanças nos níveis de estratificação, níveis de temperatura, e dos organismos zooplanctônicos, como os copépodos. Predições futuras sobre mudanças nos ecossistemas aquáticos com base no cenário climático poderá requerer importante esforço em modelos físico-químicos e em larga escala a ecologia das populações de plâncton, principalmente devido às perturbações induzidas por humanos. Portanto, o monitoramento contínuo destas comunidades é extremamente necessário para a avaliação da integridade do plâncton (Mills et al., 1998).

Estudos realizados por Forget et al. (1998) em zooplâncton marinhos (Copepoda) expostos a carbofuran, dicholorvos, atrazina e malation sugerem que estes organismos são bons indicadores de concentração letal mínima de químicos para muitos crustáceos estuarinos. Estes organismos são importantes em testes devido sua ampla distribuição e posição ocupada na base da cadeia alimentar, além de apresentarem um curto ciclo de vida.

Trabalhos com o agroquímico clorpirifós (0,1 μg/L) e atrazina (5 μg/L) constataram efeitos para Copepoda (*Daphnia galeata)*, sendo reduzidos na primeira semana de exposição a clorpirifós e, não foram detectados efeitos na composição das espécies com atrazina (van den Brink et al., 1995). Em outro trabalho, com o fungicida carbendazim, van den Brink et al. (2000) concluiram que este agroquímico causa efeitos

diretos em zooplâncton (Cladocera, Copepoda e Rotifera), através do declínio das comunidades e eliminação de muitos grupos.

Cerejeira et al. (1998) estudaram a toxicidade do agroquímico molinate (0,131 mg/L) utilizado em lavouras de arroz, em Copepoda (*Daphnia magna* -neonatas) (48 h) obtendo imobilidade de 20% dos exemplares após sua aplicação e 70% no segundo dia experimental. Enserink et al. (1990) comentam que fases juvenis de *Daphnia magna* são afetadas por vários fatores que podem ser controlados em condições de laboratório. Esses incluem condições alimentares, concentração de oxigênio e concentração dos agroquímicos.

Em monitoramento de inseticidas organofosforados (metil paration e malation) e organoclorados (dieldrin, endrin e aldrin) no Reservatório Ignácio Ramirez no México, Favari et al. (2002) encontraram como zooplâncton os grupos Cladocera e Copepoda. Zooplâncton expostos a estes compostos exibem vários tipos de respostas comportamentais, como irritabilidade, movimentos violentos, baixa no equilíbrio e inabilidade de nado. Em adição, inseticidas organofosforados causam mudanças na abundância e diversidade do plâncton.

Trabalhos desenvolvidos por Perschbacher et al. (2002) (EUA) em testes realizados em laboratório com herbicidas utilizados em lavouras de arroz (clomazone, quinclorac, propanil), mostram que estes herbicidas não afetam a produtividade e biomassa de fitoplâncton, a comunidade zooplanctônica (Rotifera, Copepoda e Cladocera) e a qualidade da água. Em outro estudo, Perschbacher et al. (2004) também constataram que herbicidas desfoliantes utilizados na cultura do algodão não produziram impactos no plâncton de lagoas nem na qualidade da água.

As comunidades zooplanctônicas que habitam os ecossistemas de arroz irrigado são importantes para a ciclagem de nutrientes no solo. A funcionalidade desta comunidade aquática depende da densidade populacional de vários grupos e suas taxas de atividade (Jost et al., 2003). O uso de agroquímicos para o controle de pragas no arroz tem aumentado a produtividade de grãos. Contudo, como os agroquímicos freqüentemente não são seletivos, o potencial para modificar a comunidade da fauna aquática é elevado (Pingali e Roger, 1995).

Poucos trabalhos da comunidade zooplanctônica tem sido realizados no Brasil. Citam-se entre eles: Starling (2000) (Lagoa Bonita e Formosa e Reservatórios Santa Maria, Descoberto e Paranoá no Distrito Federal), Keepeler (2003) (Lago Amapá e Lago Pirapora no estado do Amazonas), Neves et al. (2003) (Lagoas marginais de Cuiabá, Mato Grosso) e Cavalcanti e Larrázaval (2004) (plataforma oceânica nordestina).

4. CAPÍTULO I - ATIVIDADE DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE EM CÉREBRO E MÚSCULO DE CARPAS APÓS EXPOSIÇÃO AGUDA AO CARBOFURAN

RESUMO

Alevinos de carpa húngara (*Cyprinus carpio*), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e carpa cabeça grande *(Aristichthys nobilis*) foram expostos ao carbofuran, um inseticida utilizado na cultura do arroz no sul do Brasil. A concentração letal mediana (CL_{50}) foi determinada com peixes expostos a diferentes concentrações de carbofuran em 96 h (carpa húngara: controle; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mg/L; carpa capim: controle; 1,0; 2,0; 3,0 e 3,5 mg/L; carpa cabeça grande: controle; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 e 4,0 mg/L). Valores de CL_{50} (concentrações nominais) foram de 1,81 mg/L para carpa húngara, 2,71 mg/L para carpa capim e 2,37 mg/L para carpa cabeça grande. A atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi avaliada em cérebro e músculo dos peixes. Carbofuran induziu a significativo efeito inibitório na atividade da AChE em cérebro e músculo de todas as espécies estudadas. A inibição máxima chegou a 84,62% em cérebro e 77,21% em músculo de carpa húngara. Este estudo demonstrou que doses de carbofuran próximas à aplicada para a cultura do arroz (0,75 mg/L) provocam mortalidade e afetam o comportamento a atividade da acetilcolinesterase nas espécies de peixes estudadas (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella,* and *Aristichthys nobilis*), indicando que a utilização deste inseticida não é recomendada para o sistema de rizipiscicultura.

Palavras-chave: carbofuran, acetilcolinesterase, cérebro, músculo, *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*

ABSTRACT

Common carp (*Cyprinus carpio*), grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), and bighead carp *(Aristichthys nobilis)* fingerlings were exposed to carbofuran, an insecticide used in rice culture in Southern Brazil. Lethal concentration (LC_{50}) was determined with fish exposed to different carbofuran concentrations for 96 h (common carp: control, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0 mg/L; grass carp: control, 1.0, 2.0, 3.0 and 3.5 mg/L; bighead carp: control, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 and 4.0 mg/L). LC_{50} values (nominal concentrations) were 1.81 mg/L for common carp, 2.71 mg/L for grass carp and 2.37 mg/L for bighead carp. The acetylcholinesterase enzyme activity (AChE) was evaluated in brain and muscle of fish. Carbofuran induced significant inhibitory effects on acetilcholinesterase activity in brain and muscle of all studied species. Maximum inhibition reached was 84.62% in brain and 77.21% in muscle tissue of common carp. This study showed that doses of carbofuran near that applied in rice culture (0.75 mg/L) provoked mortality and affected behavior and AChE activity in the studied species fish (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella,* and *Aristichthys nobilis*), indicating that the use of this insecticide is not recommended for rice-fish culture system.

Key words: carbofuran, acetylcholinesterase, brain, muscle, *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*

INTRODUÇÃO

Inseticidas são usados extensivamente na agricultura, mas seus níveis na superfície da

água geralmente encontram-se abaixo das concentrações letais para organismos aquáticos. Entretanto, efeitos subletais adversos podem resultar da exposição a inseticidas em concentrações ambientais relevantes (Das e Mukherjee, 2003, Saglio et al., 1996). Carbofuran (carbamato) pode ser usado em lavouras de arroz para o controle de pragas. A contaminação de corpos d'água adjacentes de lavouras de arroz pelo carbofuran, principalmente através da fuga, é totalmente possível (Adhikari et al., 2004). Agroquímicos utilizados em programas de controle de pragas podem produzir muitas mudanças fisiológicas e bioquímicas em organismos de água doce por influenciar nas atividades de várias enzimas (Sancho et al., 1998).

A atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) é rotineiramente utilizada como um bioindicador de exposição para certos grupos de contaminantes, assim como os inseticidas organofosforados e carbamatos (Grue et al., 1997). Baixas concentrações destes compostos podem inibir a AChE, que leva a uma acumulação de acetilcolina nas sinapses colinérgicas centrais e junções neuromuscular (Sancho et al., 1997, Varó et al., 2003). A inibição da acetilcolinesterase por agroquímicos pode afetar a locomoção e o equilíbrio em organismos expostos (Saglio e Trijasse, 1998; Bretaud et al., 2000). Em peixes, estudos realizados com carbofuran têm focalizado os efeitos de altas concentrações na inibição da atividade da AChE (Health et al., 1997; Bretaud et al., 2000).

Poucos estudos têm demonstrado a atividade da AChE em Cipriniformes e como a aquacultura de água doce constitui um terço da produção total de peixes no sul do Brasil, com carpas sendo as espécies dominantes. Assim, o objetivo desde estudo foi investigar a concentração letal mediana (CL_{50};96h) do carbofuran e a atividade da enzima AChE em

tecidos de cérebro e músculo de carpa húngara (*Cyprinus carpio*), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*) como um possível indicador da toxicidade deste inseticida.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Acetilcolina (AChE, EC 3.1.1.7), DTNB (5,5'dithio-bis 2 ácido nitrobenzóico), soro de albumina bovina foram compradas da Sigma®. Todos os outros reagentes utilizados no experimento foram adquiridos da Aldrich. Carbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil-N-metilcarbamato) foi obtido comercialmente como Diafuran (50% de pureza) FMC (EUA).

Exposição dos peixes

Alevinos de carpa húngara (*Cyprinus carpio*) (5,5 ± 0,5 g e 7,7 ± 2,2 cm), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) (11,7 ± 3,3 g e 10,4 ± 3,1 cm) e carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*) (11,3 ± 3,4 g e 10,2 ± 3,0 cm), foram obtidos em piscicultura comercial próxima a Santa Maria, RS, Brasil, e transportados para o Laboratório de Fisiologia de Peixes da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. Os peixes foram aclimatados em condições laboratoriais por sete dias. Estes foram colocados em tanques (250 L) e a água foi constantemente aerada em um sistema estático. Após um período de aclimatação de uma semana, os alevinos foram transferidos para caixas fechadas (40 L) e mantidas em salas com aeração e temperatura controlada por um ar

condicionado. Grupos de 10 peixes/caixa (três repetições) (n= 3) foram expostos por 96 h em diferentes concentrações de carbofuran (mg/L): carpa húngara (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0), carpa capim (1,0; 2,0; 3,0 e 3,5) e carpa cabeça grande (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 e 4,0). Os peixes do tratamento controle foram mantidos nas mesmas condições, mas em água sem o inseticida e amostrados a cada tempo. Carbofuran foi adicionado na água unicamente no início do experimento. Fezes foram removidas diariamente através de sifonagem. O pH da água foi medido eletronicamente, temperatura da água e oxigênio dissolvido com Oxímetro (YSIR, Y5512) e dureza da água pelo método titulométrico. Amônia total, alcalinidade total e nitrito foram determinados através de kits (Alfatecnoquímica, SC, Brazil). Os parâmetros físico-químicos da água foram os seguintes: pH: 8,3 ± 0,02, oxigênio dissolvido: 4,9 ± 0,17 mg/L, temperatura: 20,5 ± 0,63 °C, alcalinidade total: 156,5 ± 7,93 mg/L $CaCO_3$,dureza total: 41,4 ± 3,91 mg/L $CaCO_3$, amônia total: 0,9 ± 0,12 mg/L e nitrito: 0,01 ± 0,004 mg/L.

A mortalidade do peixes para cada concentração do inseticida foi registrada a cada 12 h para estimar a CL_{50};96h. Durante a realização do experimento foi observada a atividade natatória dos peixes nas caixas (nado normal, errático, letárgico e imóveis), sendo comparada com o tratamento controle.

Amostragens e análise enzimática:

Ao final do período de exposição (96 h), os peixes sobreviventes, oito de cada caixa, foram mortos com uma batida na cabeça e os tecidos (cérebro e músculo) foram removidos em gelo, colocados em nitrogênio líquido e estocados a -20 °C até a análise da AChE. Para a determinação da atividade da enzima no tratamento controle e nas

concentrações próximas a CL_{50};96h foram utilizadas: carpa húngara (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg/L), carpa capim (1,0; 2,0 e 3,0 mg/L) e carpa cabeça grande (1,0; 1,5; 2,0 e 3,0 mg/L).

Todos os testes enzimáticos foram realizados em triplicata (n = 3). A atividade da AChE (EC 3.1.1.7) foi verificada conforme Ellmann et al (1961) e modificado por Villescas et al (1981) utilizando-se acetilcolina (0,8 mM) como substrato e 5,5'dithio-bis 2 ácido nitrobenzóico (DTNB) como cromogen. A medida da absorbância foi medida em 2 mL de reação contendo 0,1 M tampão fosfato de potássio, pH 7,5; 1 mM DTNB, através da hidrólise da acetilcolina a 25 C e 412 nm usando um espectrofotômetro HITACHI, com 50 e 100 μL de tecido homogeneizado para cérebro e músculo, respectivamente. Proteina foi medida de acordo com Bradford (1976) usando soro de albumina bovina como padrão. A atividade da AChE foi expressa em μmol de acetilcolina (AcSCh) hidrolizada por minuto por grama de proteina.

Análise estatística

As médias da $CL_{50;}$96h foram calculadas utilizando-se o Método dos Probitos como descrito por Finney (1971). A atividade da AChE activity foi analizada usando análise de variância seguida de teste de Tukey-Kramer e as médias expressas em média ± erro padrâo($n = 3$). As diferenças foram consideradas significativas com $P < 0,05$ entre os tratamentos com carbofuran e os controles.

RESULTADOS

A atividade natatória dos peixes foi normal unicamente nos peixes do tratamento controle. Nas baixas concentrações de carbofuran testadas os peixes apresentaram comportamento letárgico (0,5 mg/L para carpa húngara; 1,0 e 2,0 mg/L para carpa capim e 0,5 e 1,0 mg/L para carpa cabeça grande). Nas altas concentrações testadas, os peixes permaneceram parados nas caixas (1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg/L para carpa húngara; 3,0 mg/L para carpa capim e 1,5; 2,0 e 3,0 mg/L carpa cabeça grande). As CL_{50};96h do carbofuran foram (mg/L): carpa húngara: 1,81 (intervalo de confiança: 1,67 – 1,96), carpa capim: 2,71 (intervalo de confiança: 2,50 – 2,89) e carpa cabeça grande: 2,37 (intervalo de confiança: 2,07 – 2,76).

A atividade da AChE em cérebro e músculo foi fortemente inibida após 96 h para as espécies estudadas em todas as concentrações de carbofuran testadas (Figura 1). A inibição máxima da atividade da AChE em peixes expostos ao carbofuran em cérebro e músculo foi de : 84,6 e 77,21% em carpa húngara, 76,38 e 47,97% em carpa capim e 62,29 e 56,30% em carpa cabeça grande.

Em cérebro, a atividade da AChE nos peixes controles foi alta em carpa húngara e em exposições a 1 mg/L de carbofuran a atividade da AChE foi mais alta em carpa cabeça grande do que carpa capim. Em adição, em peixes expostos a 2 mg/L de carbofuran foi observada alta atividade da AChE em cérebro de carpa cabeça grande. Em músculo, a baixa atividade da AChE dos peixes controles foi observada em carpa capim e nas exposiçãoes à altas concentrações de carbofuran (1 e 2 mg/L) foi observado maior atividade em carpa cabeça grande (Figura 2).

DISCUSSÃO

No sul do Brasil, o carbofuran é aplicado em lavouras de arroz com concentração final de 0,75 mg/L (SOSBAI, 2003). Carbofuran é muito tóxico para peixes e usualmente os valores de CL_{50} para peixes estão abaixo de 1 mg/L (Trotter et al., 1991). Os valores de CL_{50} do carbofuran obtidos no presente experimento foram mais altos do que aqueles encontrados para alevinos de carpa húngara (2-8 cm): 0,5 mg/L (British Crop Protection Council, 1991) e 0,612 mg/L (96 h) (Furadan 50G – 5% de substância ativa) (Resgalla et al., 2002). Provavelmente a utilização de sistema de aeração nas caixas de água, em ensaio estático (sem renovação da solução), associado ao tamanho dos alevinos expostos (maior peso) sejam os fatores diferenciais nos valores de CL_{50};96h mais altos do que os obtidos por outros autores.

O presente estudo demonstrou que todas as concentrações de carbofuran inibiram a atividade da AChE em cérebro e músculo para todas as espécies testadas. Carpas húngaras expostas por 48 h a 0,05 mg/L de carbofuran (Curater 200®) demonstraram 80% de inibição na atividade da AChE em cérebro e 26,6% de mortalidade (Bertrand et al., 1998). Exposição de 0,05 mg/L de carbofuran por 48 h inibiu em 23% a atividade muscular de goldfish (Bretaud et al., 2000). A inibição da AChE cerebral foi também observada em enguia européia (*Anguilla anguilla*) expostas a diazinon (0,042 mg/L – inibição maior do que 75%) (Céron et al., 1996) e *Lepomis macrochirus* expostos a endosulfan (0,001 mg/L por 96 h, inibição de 16%) (Dutta e Arends, 2003). Entretanto, carbamatos (Fernández-Vega et al., 2002), herbicidas sulfuniluréias (Bretaud et al., 2000) e organofosforados diminuem a atividade da AChE cerebral(Sancho et al., 1997). A

atividade da AChE cerebral foi fortemente inibida (87%) após 96 h de exposição ao agroquímico Folidol 600 (organofosforado) (Aguiar et al., 2004). No mesmo caminho, a atividade da AChE em músculo de enguia européia exposta a 0,22 mg/L do herbicida tiobencarb foi diminuída em 35% em teste de 96 h e as enguias mostraram tremores, letargia e nado errático (Fernández-Vega et al., 2002).

As mudanças observadas na atividade cerebral e muscular da AChE em carpas foram provavelmente refletidas em distúrbios natatórios. Nado errático e convulsões foram observados por Sancho et al. (1997) em enguia européia após exposição a fenitrotion e alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) expostos a 10 mg/L de herbicida clomazone por 96 h (Miron et al., 2005). A inibição das colinesterases em cérebro e músculo produzem efeitos adversos nos movimentos dos peixes porque a AChE participa na transmissão neural e neuromuscular (Fernández-Vega et al., 2002; Miron et al., 2005). Mudanças na atividade da AchE observadas neste estudo podem ajudar na compreensão das alterações comportamentais como nado errático e letárgico induzidos por inseticidas. Carbofuran induz a intoxicação aguda em virtude da inibição reversível da AChE (carbamilação), com hidrólises do neurotransmissor acetilcolina (ACh). A inibição da AChE conseqüentemente leva a uma excessiva acumulção da ACh nas sinapses e junções neuromuscular, resultando em alta estimulação de receptores da ACh, podendo levar à morte pela falência respiratória (Gupta, 1994).

CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que concentrações de carbofuran próximas à aplicada na cultura do arroz (0,75 mg/L) provocam mortalidade e afetam o comportamento e a atividade da enzima acetilcolinesterase nas espécies de peixes estudadas (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella* e A*risthichtys nobilis*), indicando que a utilização deste inseticida não é recomendada para o sistema de rizipiscicultura.

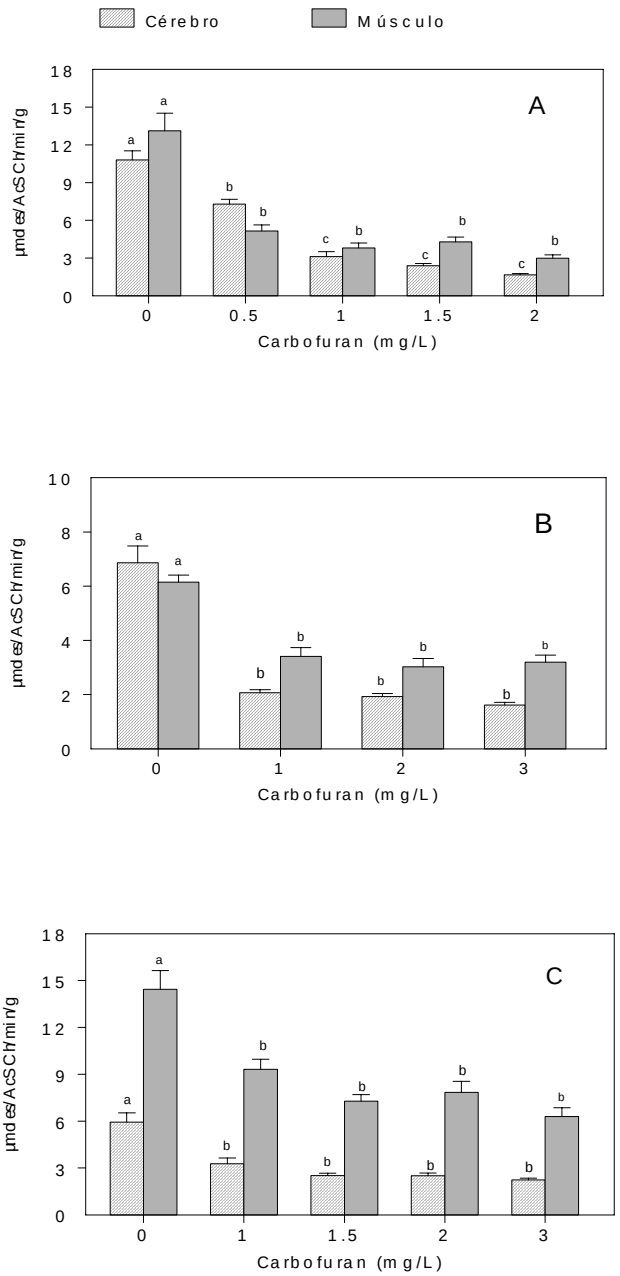

Figura 1 – Efeito da atividade da AChE em cérebro e músculo de (A) carpa húngara (*Cyprinus carpio*), (B) carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e (C) carpa cabeça grande *(Aristichthys nobilis*) (µmol/AcSCh min g proteina) expressa em média ± erro padrão *(n = 3)*. Letras diferentes indicam diferença significativa na atividade da AChE através das concentrações de carbofuran nos tecidos (P<0,05).

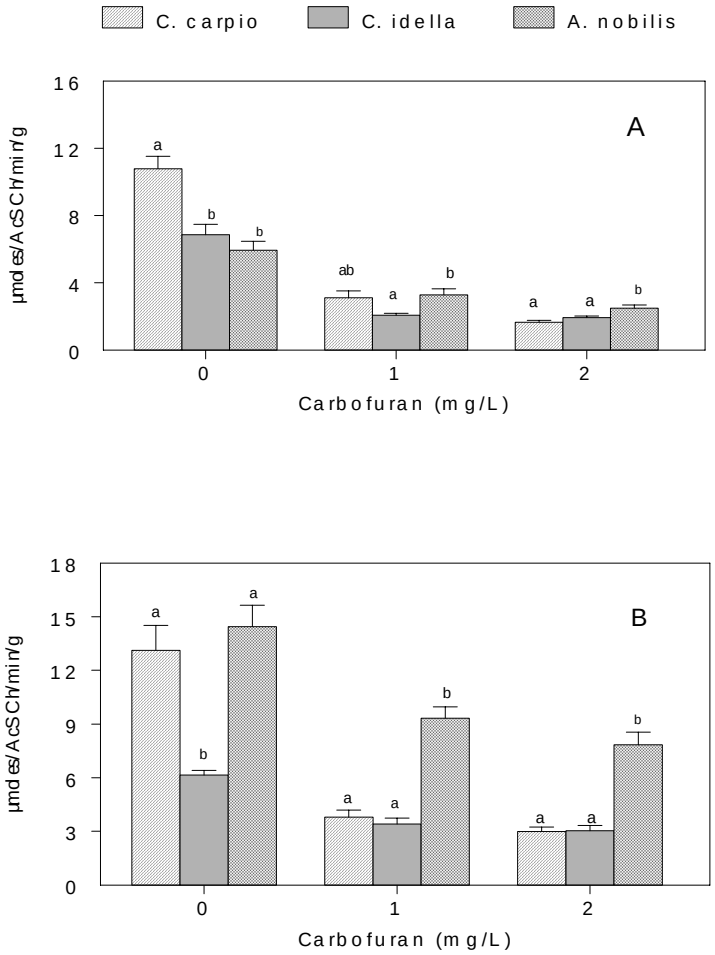

Figura 2 – Atividade da AChE em cérebro (A) e músculo (B) de carpas (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella* e *Aristichthys nobilis*) após 96 h de exposição a diferentes concentrações de carbofuran. A atividade da AChE (µmol/AcSCh min g protein) é expressa em média ± erro padrão *(n = 3)*. Letras diferentes indicam diferença significativa na atividade da AChE através através das espécies em algumas concentrações de carbofuran (P<0,05).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adhikari, S. et al. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parametres and prediction of their recovery in a freshwater teleost *Labeo rohita* (Hamilton). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 58, p. 220-226. 2004.

Aguiar, L.H. et al. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus.* **Environ. Res**., v. 95, p. 224-230, 2004.

Bradford, M.M.A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem**., v. 72, p. 248-254, 1976.

British Crop Protection Council.**The pesticide manual.** 9 ed., Surey, 1991. pp. 126-127.

Bertrand, C. et al. L' acétylcholinestérase des poissons, cible des organophosphorés et des carbamates. Caractérisation du gene et des formes moléculaires de l'enzime chez *Danio rerio.* Effets dês anticholinestésrasiques. **Bull. FR. Pêche Piscic.**, v. 350, 351, p. 535-546, 1998.

Bretaud, S.,Effects of carbofuran, diuron, and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish *(Carassius auratus)*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 47, p. 117-124,

2000.

Cerón, J.J. et al. Effects of diazinon exposure on cholinesterase activity in different tissues of European eel (*Anguilla anguilla*). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 35, p. 222-225, 1996.

Das, B.K., Mukherjee, S.C. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. **Comp. Biochem. Physiol.**, Part C, v. 134, p. 109-121, 2003.

Dutta, H.M., Arends, D.A. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. **Environ. Res.**, v. 91, p. 157-162, 2003.

Ellman, G.L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem. Pharmacol.**, v. 7, 88 pp. 1961.

Fernández-Vega, C. et al. Thiobencarb-induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish *Anguilla anguilla.* **Pest. Biochem. Physiol.**, v. 72, p. 55-63, 2002.

Finney, D.J. **Probit Analysis.** Cambridge, Cambridge University Press. 1971.

Grue, C.E. et al. Neurophysiological and behavioral changes in non-target wildlife exposed to organophosphate and carbamate pesticide: thermoregulation, food

consumption and reproduction. **Am. Zool.,** v. 37, p. 369-388, 1997.

Gupta, R.C. Carbofuran toxicity: Invited Review. **J. Toxicol. Environ. Health.**, v. 43, p. 383-418, 1994.

Health, A.G. et al. Physiological responses of fathead minnow larvae to rice pesticides. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 37, p. 280-288, 1997.

Miron, D.S. et al. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 61, p. 98-403, 2005.

Resgalla Jr. et al. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticidas utilizados na cultura do arroz irrigado sobre juvenis de carpa (*Cyprinus carpio*). **Pest: Rev. Ecotoxicol. Meio Ambiente**., v. 12, p. 59-68, 2002.

Saglio, P. et al. Behavioral effects of waterborne carbofuran in goldfish. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 31, p. 232-238, 1996.

Saglio, P., Trijasse, S. Behavioural responses to atrazine and diuron in goldfish. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 35, p. 484-491, 1998.

Sancho, E. et al. Response and recovery of brain acetylcholinesterase in the European eel, *Anguilla anguilla*, exposed to feniltrothion. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 38, p. 205-209,

1997.

Sancho, E. et al. Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to feniltrothion. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 41, p. 168-175, 1998.

Sociedade Sul-Brasileira De Arroz Irrigado (SOSBAI). **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil.** Itajaí, SC: SOSBAI, 2003. 126 p.

Trotter, D. M. et al. Aquatic fate and effect of carbofuran. **Crit. Rev. Environ. Contr.**, v. 21, p. 137-176, 1991.

Varó, I. et al. Effect of dicholorvos on cholinesterase activity of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Pest. Biochem. Physiol.**, v. 75, p. 61-72, 2003.

Villescas, R. et al. Effects of neonatal undernutrition and cold stress on behavior and biochemical brain parameters in rats. **J. Nutr.**, v. 111, p. 1103-1110, 1981.

5. CAPÍTULO II - EXPOSIÇÃO DE CARPAS A CARBOFURAN, METSULFURON-METÍLICO E AZIMSULFURON EM ÁREA DE ARROZ IRRIGADO

RESUMO

Este trabalho avaliou a sobrevivência e o crescimento de alevinos de carpas húngara, capim e cabeça grande expostos a carbofuran, metsulfuron-metílico e azimsulfuron em área de rizipiscicultura, bem como o desenvolvimento da cultura do arroz irrigado sob diferentes agroquímicos. Foi utilizada área de várzea, com sistema pré-germinado de cultivo de arroz associado ao cultivo de carpas nos anos agrícolas de 2003/04 e 2004/05. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições, com oito tratamentos alternados entre a presença ou ausência de peixes e aplicação ou não de agroquímicos. As espécies de peixes foram utilizadas nas seguintes proporções: 60% de carpa húngara, 20% de capim e 20% de cabeça grande. Foram semeadas as cultivares de arroz IRGA 419 e 420 com 120 kg ha^{-1} de sementes. A aplicação dos agroquímicos na lavoura arrozeira não afeta a sobrevivência das três espécies de peixes quando os alevinos são colocados oito dias após sua aplicação. A produtividade do arroz não é influenciada pelos agroquímicos quando utiliza-se o manejo adequado de lâmina de água contínua a partir da semeadura pré-germinada do arroz.

Palavras chave: *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*, rizipiscicultura, agrotóxicos

ABSTRACT

This study evaluated survival and growth of common, grass and bighead carps fingerlings exposed to carbofuran, metsulfuron-methyl and azimsulfuron, and development of rice irrigate culture on different pesticides. The experiment was carried in lownland area, with rice in pre-germinate system and carps cultivation on growing seasons 2003/04 and 2004/05. The randomized complete block design with four replications with eigth treatments alternate between the presence and absence of the fish and application or not of pesticides. The fish species was utilized in rates: 60% common carp, 20% grass carp, and 20% big head carp. It was utilized IRGA 419 and 420 cultivars, with the quantity of 120 kg ha^{-1} of seeds. The pesticides application in rice farming not affect the survival of fish when the fingerlings are put eight days after application. The rice productivity is not influenced by pesticides, when utilized the continuous flooding manegement after sow the rice pre-germinated.

Key words: *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*, rice-fish culture, pesticides

INTRODUÇÃO

O sistema pré-germinado de cultivo do arroz é utilizado, principalmente em pequenas propriedades. A rizipiscicultura é uma alternativa para se obter produção intensiva e sustentável da área. Este sistema é caracterizado pelo cultivo consorciado de arroz irrigado e a criação de peixes, reduzindo o uso de máquinas na lavoura (Cotrim et

al., 2002). As espécies de peixes mais utilizadas na rizipiscicultura são as carpas: húngara (*Cyprinus carpio)*, espécie de hábito alimentar omnívoro (ingerindo sementes, minhocas, insetos, pequenos moluscos) que remove o solo à procura de alimentos; capim (*Ctenopharyngodon idella)*, espécie de hábito alimentar herbívoro; cabeça grande (*Aristichthys nobilis*) de hábito alimentar zooplanctófaga, e prateada (*Hypophthalmicthys molitrix*), hábito alimentar fitoplanctófaga, que por apresentarem diferentes hábitos alimentares, realizam um melhor aproveitamento dos recursos. As carpas diminuem a população de plantas daninhas na cultura do arroz, por se alimentarem de sementes e plantas, revolvendo o solo após a colheita do arroz e promovendo correções do microrelevo, preparando-o para a semeadura subseqüente (Marchezan et al., 2005).

O manejo da irrigação, através da manutenção contínua da lâmina de água, é decisivo para o controle de gramíneas, espécies que representam o maior custo para o controle químico.

Entretanto, certas espécies não são controladas na área, através da lâmina de água, como é o caso de espécies de folhas largas e, em certas situações, espécies de ciperáceas, sendo necessária à aplicação de herbicidas. O herbicida azimsulfuron é utilizado no controle de *Sagittaria* sp. (chapéu-de-couro), *Cyperus* sp. (junquinho) e *Fimbristylis* sp. (cuminho), e o metsulfuron-metílico utilizado para o controle de *Aeschynomene* sp. (angiquinho) e *Heteranthera* sp. (agrião-do-brejo) (SOSBAI, 2005). Já, para o controle de insetos como por exemplo, de larvas do gorgulho aquático *Oryzophagus oryzae* (bicheira-da-raiz) pode ser utilizado o inseticida carbofuran, sendo esta a principal praga na condição de cultivo pré-germinado, podendo reduzir a produtividade da cultura do arroz em até 10 % (Martins et al., 2004).

É importante saber se os agroquímicos aplicados afetam a população de peixes, bem como se a produtividade da cultura do arroz é influenciada pela presença de peixes na área. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a sobrevivência e o crescimento de alevinos de carpas húngara, capim e cabeça grande expostos a carbofuran, metsulfuron-metílico e azimsulfuron em área de rizipiscicultura, bem como o desenvolvimento da cultura do arroz irrigado sob diferentes agroquímicos no sistema produtivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante os anos agrícolas de 2003/04 e 2004/05 em área de várzea sistematizada do campo experimental do Departamento de Fitotecnia, localizado na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em solo classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico arênico. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições com os seguintes tratamentos: [T1] azimsulfuron (A) em rizipiscicultura; [T2] metsulfuron-metílico (M) em rizipiscicultura; [T3] carbofuran (C) em rizipiscicultura; [T4] A+M+C em rizipiscicultura; [T5] A+M+C em área somente com arroz; [T6] A+M em rizipiscicultura; [T7] testemunha 1 (somente arroz sem agroquímicos) e [T8] testemunha 2 (rizipiscicultura sem agroquímicos).

O período transcorrido entre a semeadura e a despesca foi considerado como ano experimental, sendo o primeiro ano (ano 1) de novembro/03 à outubro/04 e o segundo (ano 2) de novembro/04 à julho/05. No ano 1, o preparo da área foi realizado com gradagens e aplainamento superficial, sendo posteriormente construídas as taipas e

refúgios (vala lateral para abrigar os peixes, com dimensão de 5,3 m de comprimento x 0,7 m de largura x 0,7 m de profundidade), representando aproximadamente 8% da área total das unidades experimentais que possuíam 48 m^2 (8m x 6m). Após a despesca dos peixes alocados na área no ano 1, executou-se a aplicação de herbicida de ação total (glifosato – 6 L ha^{-1}) buscando eliminar as plantas daninhas remanescentes na área experimental, seguindo-se a roçada e retirada da vegetação nas parcelas, procedendo-se a semeadura do arroz sem o revolvimento do solo. Nos dois anos experimentais foi realizada a calagem nas parcelas, a fim de se obter níveis adequados de dureza total da água (acima de 20 mg/L) e pH (próximo a faixa neutra – 7,0) para os peixes. A condução da água para as parcelas foi realizada por um canal de superfície, abastecendo cada parcela individualmente. Foram construídos canais de drenagem, a fim de escoar a água das chuvas, evitando a contaminação entre as parcelas. A área foi cercada com telas de malha 4,9 x 4,9 cm e 0,5 m de altura para minimizar a entrada de animais predadores.

O arroz foi semeado no sistema pré-germinado, utilizando-se 120 kg ha^{-1} de sementes da cultivar IRGA 419 no ano 1 (18/10/03) e IRGA 420 no ano 2 (22/10/04). A área foi inundada cerca de 20 dias antes da semeadura, mantendo a lâmina com cerca de 0,10 m de altura durante todo o ciclo da cultura, exceto aos 15 dias após a semeadura que foi de 0,05 m. Os agroquímicos foram aplicados em conformidade com os tratamentos, aos 26 dias após a semeadura do arroz (DApS) no ano 1 e 30 DApS no ano 2, utilizando-se os herbicidas azimsulfuron (5 g. i.a. ha^{-1} ou 0,005 mg/L) e metsulfuron-metílico (2 g. i.a. ha^{-1} ou 0,002 mg/L) aplicados pelo método de benzedura e o inseticida carbofuran (750 g. i.a. ha^{-1} ou 0,75 mg/L) distribuído à lanço. A adubação foi realizada de acordo com as recomendações técnicas da cultura (SOSBAI, 2003).

As proporções de peixes utilizadas foram: 60% de carpa húngara (*C. carpio*); 20% de carpa capim (*C. idella*) e 20% de carpa cabeça grande (*A. nobilis*), na densidade de povoamento de 20.000 alevinos ha^{-1}. Na área do refúgio, em cada repetição dos tratamentos com rizipiscicultura foi colocado um pequeno tanque-rede no dia da aplicação dos agroquímicos, sendo povoado com seis alevinos de cada espécie e observada a mortalidade dos peixes pela ação desses, por um período 96 h. Os alevinos colocados para permanecer nas parcelas durante todo o ano experimental entraram aos oito dias após a aplicação dos tratamentos com a seguinte biometria: carpa húngara (8,7 ± 0,82 g e 8,4 ± 0,20 cm), carpa capim (13,2 ± 2,72 g e 11,1 ± 0,49 cm) e carpa cabeça grande (16,4 ± 0,25 g e 11,2 ± 0,47cm). Em cada ano experimental foi avaliado também, diariamente, através de observações visuais, a presença de predadores na área (aves, mamíferos, répteis) nos seguintes períodos: ao amanhecer, meio dia e ao entardecer. Como foi realizado experimento complementar com os três agroquímicos para se obter a concentração letal mediana ($CL_{50;}$96h) para as carpas foram calculados os índices de segurança (risco de impacto ambiental) para as três espécies, dividindo-se o valor da $CL_{50;}$96h pela concentração do agroquímico aplicado na lavoura, de acordo com Solomon (1997).

Durante a realização do experimento foram coletadas amostras de um litro de água de cada parcela, colocada em frascos de vidro de cor âmbar e enviadas para o Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), Departamento de Química da UFSM. No ano 1, as coletas foram realizadas antes da aplicação dos agroquímicos e entre os dias 1° a 36°, e no ano 2, de 1° a 56º dia, a cada dois dias, sendo analisadas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção no ultravioleta (HPLC-UV),

segundo Zanella et al. (2000). Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados quinzenalmente com as seguintes medidas da qualidade da água: pH (pHmetro Hanna - HI8424), dureza total (APHA, 1992), temperatura e oxigênio dissolvido (oxímetro YSI – modelo Y5512) e determinação da transparência da água (Disco de Secchi), sendo todas realizadas na área do refúgio.

A avaliação da infestação e do controle de bicheira-da-raiz (*O. oryzae*) foi realizada nos tratamentos T1, T2, T3, T6 e T8, através da coleta de três amostras de solo e raízes por parcela, após a aplicação do inseticida, com um cilíndro de 10 cm de diâmetro e 15 cm de altura, colocado ao redor da base da planta e aprofundando 8,5 cm no solo. As amostras foram agitadas em água, dentro de peneira com fundo de tela de náilon com malha de $1mm^2$, para separar as larvas da raiz e do solo, segundo metodologia descrita por TUGWELL & STEPHEN (1981), sendo coletadas, nos dois anos, aos 30 dias após aplicação dos tratamentos.

A contagem da população inicial de planta de arroz foi realizada aos 16 DApS juntamente com a avaliação de plantas daninhas. Por ocasião da colheita foram avaliadas aleatoriamente 10 plantas para determinar a estatura de plantas e coletadas as panículas para determinar o número de grãos por panícula, a esterilidade de espiguetas e a massa de mil grãos. A produtividade de grãos do arroz foi obtida através da extrapolação da massa de grãos proveniente da colheita em uma área de 6 m^2. Ressalta-se que a construção de refúgios no sistema de produção de arroz com peixe, promove uma redução da área útil de produção de arroz da propriedade, que na situação do presente estudo corresponde a 8% nos tratamentos com peixes. Após a colheita do arroz foi mantida a altura de lâmina de água de 20-25 cm nas parcelas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro. Os resultados expressos em percentagem foram transformados para arcoseno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produtividade média do arroz irrigado no ano 1 foi de 4151 kg ha^{-1} (tabela 1), sendo influenciada pelos tratamentos utilizados, especialmente pela competição com as plantas daninhas, apesar dos valores serem estatisticamente semelhantes à aplicação isolada de cada produto. Os tratamentos T3, T7 e T8 que não receberam herbicida obtiveram as menores produtividades de arroz. No sistema pré-germinado de cultivo de arroz, com lâmina contínua de água, é fundamental que se tenha o controle da altura da lâmina como forma de minimizar a população de plantas daninhas, especialmente gramíneas. O levantamento da população inicial de plantas daninhas neste ano demonstrou a presença de 371 plantas m^2, com 39% de *Sagittaria* sp. (sagitária), 23% de *Heteranthera* sp. (agrião-do-brejo), 16% de *Cyperus* sp. (junquinho), 12% de *Ludwigia* sp. (cruz-de-malta) e 10% de *Fimbristylis* sp. (cuminho), evidenciando a necessidade de controle, que pode ser observado nos resultados de produtividade obtidos.

Para os resultados obtidos no ano 1, constata-se na comparação entre a aplicação de azimsulfuron, metsulfuron-metílico, carbofuran e ainda a colocação de peixes (T4) com o mesmo tratamento excluindo o uso de carbofuran (T6), que não se obteve efeito adicional do inseticida para os níveis produtivos obtidos, apesar do levantamento da bicheira-da-raiz quantificar 7 larvas e 2 pupas em cada amostra (cilindro 10 x 15 cm) na média dos tratamentos sem utilização de carbofuran. Nos tratamentos com a utilização do

carbofuran o controle da bicheira-da-raiz foi de 100%. Segundo as recomendações técnicas da cultura do arroz para o Sul do Brasil (SOSBAI, 2005), acima de um determinado nível populacional (cerca de 5 larvas), e dependendo da cultivar, a cada larva a mais, em média/amostra, é esperada uma redução de 1,1 a 1,5% na produção de grãos de cultivares de ciclo médio e precoce, respectivamente.

A população inicial de plantas de arroz foi de 276 plantas m^2, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. A estatura média de plantas no ano 1 foi de 65 cm, sendo que nos tratamentos onde não houve utilização de nenhum agroquímico foi obtida menor estatura. Nestes tratamentos obteve-se também um menor número de grãos por panícula, o que está coerente com a produtividade advinda dos mesmos.

Já no ano 2, constata-se que a produtividade média do arroz irrigado foi de 5643 kg ha^{-1} (tabela 1) não havendo diferença significativa entre os tratamentos, bem como entre os demais parâmetros avaliados da cultura. O levantamento da população de plantas daninhas demonstrou a presença de 41 plantas m^2, com 82% de sagitária, 9% de agrião-do-brejo, 7% de capim-arroz e 2% de cruz-de-malta. Esta redução pode ser devido a aplicações de herbicida de ação total em todos os tratamentos antes da semeadura do arroz no ano 2, e a lâmina de água que se manteve em melhor nível em todas as parcelas. No levantamento da bicheira-da-raiz, foram encontradas 2 larvas e 4 pupas por amostragem na média dos tratamentos sem carbofuran.

Os resultados de produção de arroz em área de rizipiscicultura são bastante variáveis, conforme relatos de Rothuis et al. (1998 a) que realizaram experimentos na China em rizipiscicultura, com carpas (*Puntius gonionotus* e *C. carpio)* e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus)* e encontraram a produtividade média do arroz de 2817 kg ha^{-1},

não existindo diferença entre os tratamentos com e sem peixes. Em outro trabalho, com as mesmas espécies de peixes, Rothuis et al. (1998 b) obtiveram maior produtividade média do arroz, 5550 kg ha^{-1}. Sato (2002) utilizando carpas (*C. idella* e *C. carpio*) e tilápia do Nilo (*O. niloticus*) em SC (Brasil), encontrou produtividade média do arroz nos locais com peixes de 5166 kg ha^{-1} e no testemunha de 4201 kg ha^{-1}. Marchezan et al. (2005) trabalharam com policultivo de carpas (*C. carpio*, *C. idella*, *A. nobilis* e *H. molitrix*) e jundiá (*Rhamdia quelen*) em rizipiscicultura no RS (Brasil), relataram produtividade de 6372 kg ha^{-1} de arroz, utilizando adequada manutenção da lâmina d'água para a supressão do desenvolvimento de plantas daninhas de folhas estreitas, além dos herbicidas azimsulfuron e metsulfuron-metílico para o controle de plantas aquáticas e ciperáceas.

Com relação à presença de peixes na área de arroz, os resultados demonstram baixas taxas de sobrevivência das carpas ao final de cada ano experimental, sendo que no ano 1 foi encontrado 10% de sobrevivência dos peixes (7% carpa capim e 3% carpa cabeça grande) não sendo despescada nenhuma representante de carpa húngara. No ano 2, a percentagem foi ainda menor, com apenas 1% de sobrevivência, representada apenas pela carpa capim. Entretanto, SATO (2002) verificou sobrevivência média dos peixes em rizipiscicultura de 65%, Marchezan et al. (2005) de 41% e Rothuis et al. (1999) de 79%. Acredita-se que a baixa sobrevivência das espécies tenha sido fortemente influenciada pela ocorrência de predadores na área experimental, representado por aves (garças – *Casmerodius* sp.), répteis (jacarés – *Caiman* sp.) e mamíferos (lontras – *Lutra* sp.), sendo este último o principal predador noturno de peixes. Como foram colocados pequenos tanques-rede nos refúgio das parcelas (avaliados durante as primeiras 96 h após a

colocação dos peixes) verificou-se que os agroquímicos não afetaram a sobrevivência dos peixes, pois a mortalidade foi nula nos tanques-rede pela ação destes. Entretanto, foi observada mortalidade das carpas nestas estruturas devido a predação por aves (garças). Desta forma é importante conhecer-se o local onde será instalada a rizipiscicultura, pois os predadores são um fator limitante para se obter resultados satisfatórios na produção final dos peixes.

Com relação à aplicação de azimsulfuron e metsulfuron-metílico, já na primeira coleta de água, realizada aproximadamente 12 horas após a aplicação dos tratamentos, não foi detectada a presença destes herbicidas nos dois anos (limite de detecção – LOD = 0,001 mg/L). Experimentos realizados concomitantemente em laboratório (Golombieski et al., 2005, *dados não-publicados*) demonstraram que estes herbicidas não afetam a sobrevivência das carpas, pois resultados comprovam que mesmo em testes para a obtenção da CL_{50};96h, concentrações de até 200 mg/L não provocam mortalidade nem alteram a alimentação e a natação das carpas. Nesse caso, os índices de segurança são acima de 40.000 para azimsulfuron (200/0,005) e 100.000 para metsulfuron-metílico (200/0,002). Já para o carbofuran, o produto foi detectado na lavoura de arroz até o 16° dia após sua aplicação no ano 1 e 17° dia no ano 2, com valores de 0,022 e 0,013 mg/L, respectivamente. Experimentos realizados em laboratório com carbofuran (Golombieski et al., 2005a – capítulo I), encontraram CL_{50};96h de: 1,81; 2,71 e 2,37 mg/L, para carpa húngara, capim e cabeça grande, com índices de segurança de 2,41 (1,81/0,75); 3,61 (2,71/0,75) e 3,16 (2,37/0,75), respectivamente. Segundo Solomon (1997) índices de segurança inferiores a 20 demonstram produtos de maior risco de impacto ambiental, e isto foi confirmado através de alterações natatórias das carpas, bem como mudanças na

atividade enzimática, com hábitos letárgicos já em baixas concentrações de carbofuran testadas (0,5 mg/L para carpas húngara e cabeça grande). Assim, este inseticida apresenta um maior potencial de risco de seu uso, alertando-se para os cuidados que devem envolver sua utilização na lavoura com rizipiscicultura. No presente trabalho, os peixes entraram nas parcelas oito dias após a aplicação dos tratamentos quando as concentrações de carbofuran na água eram de 0,025 e 0,144 mg/L, nos anos experimentais 1 e 2, respectivamente, já com níveis que podem ser considerados pouco tóxicos para esses.

Os resultados dos parâmetros físico-químicos da água (tabela 2) demonstram que, para o ano 1 houve diferença significativa entre os tratamentos nos níveis de oxigênio dissolvido, pH e transparência da água no primeiro período avaliado. A concentração de oxigênio dissolvido na testemunha 1 (T7) apresentou-se mais elevada devido ao menor consumo deste gás, já que não havia a presença de peixes. Contudo, estes valores mantiveram-se baixos neste período, possivelmente estando associados às altas temperaturas da água. A transparência da água foi maior nos tratamentos sem peixes (T5 e T7), pois nos demais os valores mantiveram-se mais baixos, devido a presença principalmente da espécie carpa húngara, que remove o solo à procura de alimentos, deixando a água turva, com maior quantidade de materiais sólidos em suspensão. No segundo período do ano 1, não houve diferença significativa nos parâmetros avaliados entre os tratamentos até o final do experimento, possivelmente devido a baixa densidade de peixes na área causada pela predação.

Já no ano 2, houve diferença significativa para os níveis de oxigênio dissolvido e transparência da água no primeiro período (novembro a março), sendo estes valores mais altos no tratamento T5 (tabela 3). Entretanto, no segundo período não se obteve diferença

significativa entre os tratamentos. Golombieski et al. (2005b) demonstraram que as características físico-químicas da água não afetam o crescimento e o desenvolvimento dos peixes no consórcio com arroz irrigado para as espécies cultivadas (60% de carpa húngara, 20% de carpa capim, 10% de jundiá, 5% de carpa prateada e 5% de carpa cabeça grande).

Neste experimento ao parâmetros físico-químicos da água estiveram dentro dos limites aceitáveis para a criação de peixes em rizipiscicultura com exceção dos níveis de oxigênio dissolvido que mantiveram-se baixos no primeiro período avaliado.

CONCLUSÕES

A aplicação dos agroquímicos (carbofuran, azimsulfuron e metsulfuron-metílico) na lavoura arrozeira não afeta a sobrevivência de carpas húngara, capim e cabeça grande, quando os alevinos são colocados oito dias após sua aplicação. A produtividade do arroz não é influenciada pelos agroquímicos, quando utiliza-se o manejo adequado de lâmina de água contínua a partir da semeadura pré-germinada do arroz.

Tabela 1. Produtividade, estande inicial, estatura de plantas, grãos por panícula, massa de mil grãos (MMG) e esterilidade de espiguetas da cultura do arroz irrigado em função dos tratamentos propostos em área de rizipiscicultura. Santa Maria, RS. 2006.

Tratamento	Produt. (kg ha^{-1})	Estande (pl m^{-2})	Estatura (cm)	Grãos/Pan.	MMG (g)	Esteril. (%)
				2003/2004		
T1 (A+R)	4240 ab	252 ^{ns}	65 ab	74,2 ab	25,8 ^{ns}	12,8 ^{ns}
T2 (M+R)	4543 a	320	65 ab	71,0 ab	25,7	11,7
T3 (C+R)	3602 abc	272	65 ab	73,6 ab	26,1	14,5
T4 (A+M+C+R)	5424 a	300	68 ab	77,4 a	26,2	23,9
T5 (A+M+C+Ar)	+5515 a	240	69 a	75,1 ab	26,2	13,3
T6 (A+M+R)	5663 a	268	68 ab	77,3 a	25,9	11,9
T7 (Ar)	+2114 bc	308	59 b	58,3 ab	24,8	15,1
T8 (R)	2104 c	247	58 b	52,6 b	25,0	12,7
Média	4151	276	65	69,9	25,7	14,5
CV (%)	21,6	15,1	6,6	14,0	3,3	17,1
				2004/2005		
T1 (A+R)	5121 ^{ns}	265 ^{ns}	66 ^{ns}	86,9 ^{ns}	24,9 ^{ns}	18,6 ^{ns}
T2 (M+R)	5347	235	67	85,8	25,0	14,9
T3 (C+R)	6101	255	67	88,4	25,8	16,8
T4 (A+M+C+R)	6167	340	65	85,6	25,4	20,0
T5 (A+M+C+Ar)	+5961	290	67	80,7	25,7	17,9
T6 (A+M+R)	5620	370	65	71,7	25,4	15,6
T7 (Ar)	+5194	300	64	74,0	24,9	16,7
T8 (R)	5632	325	67	88,2	25,3	17,1
Média	5643	297	66	82,6	25,3	17,2
CV (%)	15,9	38,6	4,1	13,0	1,7	14,3

^{ns} Tratamentos não diferem pelo Teste F

* Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro;

(A) Azimsulfuron; (M) Metsulfuron-metílico; (C) Carbofuran; (R) rizipiscicultura; (Ar) Arroz; (pl m^{-2}) plantas m^{-2}

\+ acréscimo de 8% no rendimento do arroz devido a área do refúgio

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos da água monitorados durante o experimento (2003/2004) em função dos tratamentos propostos em área de rizipiscicultura. Santa Maria, RS. 2006.

Tratamento	Oxigênio (mg L^{-1})	Temperatura (C°)	pH (unidades)	Transparência (cm)	Dureza total (mg $L^{-1}CaCO_3$)
			Novembro/03 a março/04		
T1 (A+R)	2,3±0,37 bc	25,6±0,17 ns	6,4±0,02 ab	25±2,79 b	44±3,12 ns
T2 (M+R)	2,1±0,14 bc	25,6±0,11	6,4±0,05 ab	22±3,42 b	46±0,97
T3 (C+R)	2,0±0,07 bc	25,5±0,07	6,5±0,02 ab	31±1,89 b	40±1,74
T4 (A+M+C+R)	2,2±0,28 bc	25,4±0,08	6,4±0,05 ab	27±5,25 b	42±1,79
T5 (A+M+C+Ar)	2,9±0,36 b	25,5±0,06	6,6±0,08 ab	50±1,93 a	44±1,45
T6 (A+M+R)	1,5±0,12 c	25,6±0,30	6,3±0,10 b	22±4,71 b	44±2,62
T7 (Ar)	4,0±0,41 a	26,1±0,71	6,6±0,10 a	59±5,59 a	39±2,07
T8 (R)	2,3±0,07 bc	26,1±0,38	6,5±0,02 ab	19±2,57 b	41±2,89
Média	2,4	25,7	6,5	32	42
CV (%)	17,4	1,8	1,5	19,1	9,4
			Abril a setembro/04		
T1 (A+R)	4,6±0,20 ns	19,0±0,23 ns	6,7±0,04 ns	39±1,89 ns	29±1,25 ns
T2 (M+R)	4,9±0,47	18,8±0,15	6,7±0,03	43±1,56	28±1,51
T3 (C+R)	4,6±0,14	18,9±0,13	6,7±0,06	39±3,29	28±1,39
T4 (A+M+C+R)	4,6±0,57	18,8±0,21	6,7±0,06	39±5,96	29±0,82
T5 (A+M+C+Ar)	5,4±0,40	19,0±0,33	6,7±0,03	49±2,84	30±0,97
T6 (A+M+R)	4,7±0,17	19,0±0,25	6,7±0,03	39±5,32	29±1,47
T7 (Ar)	5,6±0,52	19,1±0,48	6,6±0,04	38±5,72	27±1,89
T8 (R)	5,0±0,27	19,1±0,42	6,6±0,04	34±3,43	29±0,83
Média	4,9	18,9	6,7	40	29
CV (%)	11,6	1,5	1,4	19,4	7,0

ns Tratamentos não diferem pelo Teste F
* Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro;
(A) Azimsulfuron; (M) Metsulfuron-metílico; (C) Carbofuran; (P) peixe; (Ar) Arroz;

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos da água monitorados entre dezembro de 2004 e julho de 2005 em função dos tratamentos em área de rizipiscicultura. Santa Maria, RS. 2006.

Tratamentos	Oxigênio (mg L^{-1})	Temperatura (C°)	pH (unidades)	Transparência (cm)	Dureza total (mg $L^{-1}CaCO_3$)
			Dezembro/04 a março/05		
T1 (A+P)	3,7±0,09 e	27,3±0,20 ns	7,0±0,10 ns	28±1,19 b	30±2,43 ns
T2 (M+P)	4,9±0,06 c	27,3±0,23	6,9±0,09	23±1,49 b	25±1,85
T3 (C+P)	4,1±0,08 d	27,2±0,25	7,0±0,09	28±1,14 b	27±2,59
T4 (A+M+C+P)	3,9±0,08 d	27,4±0,19	6,9±0,07	29±2,08 b	27±1,26
T5 (A+M+C)	5,9±0,05 a	27,4±0,22	7,1±0,11	54±2,56 a	34±2,69
T6 (A+M+P)	4,0±0,05 d	27,4±0,24	7,0±0,17	26±5,62 b	30±4,07
T7 (arroz)	5,1±0,12 b	27,2±0,21	7,0±0,13	38±5,44 ab	27±1,63
T8 (arroz+P)	3,9±0,05 d	27,3±0,23	7,0±0,14	25±1,65 b	25±1,58
Média	4,4	27,3	6,9	31	28
CV (%)	1,9	0,5	1,5	20,7	15,1
			Abril a julho/05		
T1 (A+P)	5,2±0,46 ns	22,2±0,57 ns	7,5±0,12 ns	49±3,84 ab	25±2,16 ns
T2 (M+P)	5,4±0,27	22,1±0,58	7,4±0,13	46±2,46 ab	22±2,56
T3 (C+P)	5,2±0,39	22,2±0,60	7,6±0,18	49±1,55 ab	24±3,77
T4 (A+M+C+P)	5,2±0,51	22,0±0,59	7,4±0,10	50±2,39 ab	27±2,94
T5 (A+M+C)	5,3±0,28	22,8±0,64	7,6±0,19	62±4,25 a	30±4,39
T6 (A+M+P)	5,2±0,34	22,9±0,67	7,5±0,17	51±4,87 ab	27±4,05
T7 (arroz)	5,5±0,62	23,0±0,59	7,4±0,09	56±6,68 ab	26±1,22
T8 (arroz+P)	4,9±0,55	22,8±0,57	7,5±0,10	42±3,61 b	28±2,63
Média	5,2	22,5	7,5	52	26
CV (%)	11,7	2,8	2,4	14,9	14,3

ns Tratamentos não diferem pelo Teste F

* Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro;

(A) Azimsulfuron; (M) Metsulfuron-metílico; (C) Carbofuran; (P) Peixe; (Ar) arroz;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA – American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater.** 18. ed. Bru-El Graphic Inc. Sprinfield, Virgínia, 1992, 1155p.

Cotrim, D.S. et al. **Rizipiscicultura: um sistema agroecológico de produção**. *In*: Congresso da Cadeia Produtiva do Arroz. VII Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz. *Anais.* Florianópolis. p. 690-693. 2002.

Golombieski, J.I. et al. Acetylcholinesterase activity in the brain and muscle of *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, and *Aristichthys nobilis* after acute exposure to carbofuran. Scientia Agricola, 2006 (a) (submetido)**.**

Golombieski, J.I. et al. Qualidade da água no consórcio de peixes com arroz irrigado. **Ciência Rural,** v. 6, n. 35, p. 1263-1268, 2005 (b).

Martins, J.F.S. et al. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irigado. In Gomes, A.S., Júnior, A.M.M. **Arroz Irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2004. Cap. 19. p. 635-675.

Marchezan, E. et al. Produção integrada de arroz e peixes. **Ciência Rural**, v. 36 , n.2, 2006 (no prelo).

Rothuis, A.J. et al. Polyculture of silver barb, *Puntius gonionotus* (Bleeker), Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and common carp, *Cyprinus carpio* L., in Vietnamese ricefields: feeding ecology and impact on rice and ricefields environment. **Aquaculture Research**. v. 29, p. 649-660, 1998 (a).

Rothuis, A.J. et al. Rice with fish culture in the semideep waters of the Mekong Delta, Vietnam: interaction of rice culture and fish husbandry management on fish production. **Aquaculture Research.** v. 29, p. 59-66, 1998 (b).

Rothuis, A.J. et al. The effect of rice seeding rate on rice and fish production, and weed abundance in direct-seeded rice-fish culture. **Aquaculture,** v. 172, p. 255-274, 1999.

Sato, G. Rizipiscicultura: uma alternativa rentável para o produtor de arroz irrigado. **Agropecuária Catarinense.** v. 15, n. 3, p. 47-50, 2002.

Solomon, K.R. **Advances in the evaluation of the toxicological risks of herbicides to the environment.** In: XXI Congresso brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. Caxambu. *Anais.* Caxambu, MG. p. 163-172, 1997.

SOSBAI (Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado). **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para ao sul do Brasil.** Balneário Camboriú, SC: SOSBAI, 2003. 126 p. il.

SOSBAI (Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado). **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para ao sul do Brasil.** Santa Maria, RS: SOSBAI, 2005. 159 p. il.

Tugwell, N.P., Stephen, F.M. **Rice water weevil seasonal abundance, economic levels, and sequencial sampling plans.** Fayeltville: Agricultural Experiment Station, 1981. 16p. (Bulletin n. 849).

Zanella, R. et al. Development and validation of a high-performace liquid chromatographic procedure for the determination of clomazone residues in surface water. **J. Chromatogr. A.** v. 904, p. 257-262, 2000.

6. CAPÍTULO III - EFEITO DOS HERBICIDAS METSULFURON-METÍLICO E AZIMSULFURON E DO INSETICIDA CARBOFURAN EM CLADOCERA, COPEPODA E ROTIFERA EM RIZIPISCICULTURA

RESUMO

O presente estudo foi determina o efeito de metsulfuron-metílico (M), azimsulfuron (A) e carbofuran (C) nas comunidades: Cladocera, Copepoda e Rotifera presentes em lavouras de arroz irrigado com o sistema de rizipiscicultura. O experimento foi conduzido durante a safra agrícola 2004/05 com os seguintes tratamentos: T1- A+peixe; T2- M+peixe; T3- C+peixe; T4- A+M+C+peixe; T5- A+M+C (sem peixe); T6- A+M+peixe; T7-controle 1 (somente arroz); T8- controle 2 (arroz+peixe). As espécies de peixes utilizadas foram: *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idell*a e *Aristichthys nobilis*, introduzidas 8 dias após a aplicação dos tratamentos. Amostras de água foram coletadas 17 dias antes e 1, 3, 10, 18, 31, 51 e 75 dias após a aplicação dos tratamentos para a identificação e avaliação de zooplâncton. Os resultados indicam que a aplicação do carbofuran provocou efeitos negativos em Cladocera. Copepoda e Rotifera foram pouco afetados pelo carbofuran. Copepoda Adultos foram afetados pela entrada de peixes na área.

Palavras chave: agroquímicos, comunidade zooplanctônica, cultura do arroz

ABSTRACT

This study determined the effects of metsulfuron-methyl (M), azimsulfuron (A)

and carbofuran (C) in communities: Cladocers, Copepods and Rotifers that are present in a rice-fish system. The field experiment was conducted in the 2004/05 growing season and the treatmens were: T1- A+fish; T2- M+fish; T3- C+fish; T4- A+M+C+fish; T5- A+M+C (no fish); T6- A+M+fish; T7-control without pesticides (rice only); T8- control without pesticides (rice+fish). The fish species were: *Cyprinus carpio, Ctenopharyngodon idella and Aristichthys nobilis,* introduced eight days after treatments were applied. Water samples were collected 17 days before and 1, 3, 10, 18, 31, 51, and 75 days after the pesticides were applied for identification and evaluation of the zooplankton. The results indicated that carbofuran application provoked negative effects in Cladocers. Copepoda and Rotifera were slightly by affected for carbofuran. Adults Copepods werw affected by the presence of fish in the treatments.

Key words: Pesticides, zooplankton communities, rice culture

INTRODUÇÃO

O zooplâncton desempenha um papel chave nos ecossistemas aquáticos por alimentar-se de microalgas e matéria orgânica particulada, sendo o principal alimento de larvas e juvenis de peixes. Alem disso, estes organismos são freqüentemente utilizados em testes ecotoxicológicos por serem um dos grupos mais sensíveis a efeitos de produtos químicos tóxicos, bem como por ocupar uma posição central na cadeia alimentar lêntica (Hanazato, 2001; Gagneten, 2002).

Como agroquímicos são utilizados extensivamente na agricultura, sua atividade

biocida aumenta a probabilidade de impactos negativos em organismos não-alvo, tais como a biota aquática (Tremolada et al., 2004). Entretanto, muitas das informações da toxicidade de compostos é relatada através de testes em condições laboratoriais, e o efeito combinado de agroquímicos raramente é estudado (Barry e Logan 1998; Wendt-Rash et al., 2003a).

No Estado do Rio Grande do Sul (RS), lavouras cultivadas com arroz irrigado são apontadas como grandes contaminantes ambientais, por utilizarem diversos agroquímicos que são, posteriormente, liberados no ambiente podendo chegar aos mananciais hídricos.

Um sistema que surge como alternativa para diminuir a aplicação de agroquímicos nas lavouras de arroz, no sistema de cultivo pré-germinado, é a rizipiscicultura, ou seja, o cultivo consorciado de arroz irrigado e criação de peixes, reduzindo também o uso de máquinas na lavoura. Neste sistema é utilizado o policultivo de carpas, por apresentarem diferentes hábitos alimentares, realizando um melhor preparo da lavoura. A carpa húngara, *Cyprinus carpio*, é uma espécie de hábito alimentar omnívoro, ingerindo sementes, minhocas, insetos, pequenos moluscos, entre outros, e que remove o solo à procura de alimentos. A carpa capim, *Ctenopharyngodon idella*, é uma espécie de hábito alimentar herbívoro e a cabeça grande, *Aristichthys nobilis*, é de hábito alimentar zooplanctófaga. Entretanto, em certas situações apenas a utilização do peixe na lavoura não é eficiente para se obter melhores níveis produtivos na cultura do arroz e então faz-se necessária a aplicação de inseticidas e herbicidas.

O inseticida carbofuran (grupo carbamatos) é utilizado no controle de insetos como larvas do gorgulho aquático, *Oryzophagus oryzae* (bicheira-da-raiz), que pode reduzir a produtividade da cultura do arroz em até 10% (Martins, 2004). O herbicida

azimsulfuron é utilizado no controle de *Sagittaria* sp. (chapéu-de-couro), *Cyperus* sp. (junquinho) e *Fimbristylis* sp. (cuminho), e o metsulfuron-metílico utilizado para o controle de *Aeschynomene* sp. (angiquinho) e *Heteranthera* sp. (agrião-do-brejo) (SOSBAI, 2005).

Como existem poucos trabalhos à campo focalizando o efeito dos agroquímicos na comunidade zooplanctônica, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito de metsulfuron-metílico, azimsulfuron e carbofuran na comunidade de: Cladocera, Copepoda (náuplio e adultos) e Rotifera presentes em lavouras de arroz irrigado com o sistema de rizipiscicultura.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Santa Maria (RS, Brasil) durante a safra agrícola 2004/05 da cultura do arroz irrigado. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em esquema bifatorial (tratamentos x dias), com quatro repetições. As unidades experimentais possuíam 48 m^2 (8m x 6m), com refúgio (vala lateral para abrigar os peixes, com dimensão de 5,3 m de comprimento x 0,7 m de largura x 0,7 m de profundidade), representando aproximadamente 8% da área total das unidades experimentais (parcelas).

O arroz foi semeado no sistema de cultivo pré-germinado em 22/10/04, mantendo-se a lâmina d'água com cerca de 0,10 m de altura durante todo o ciclo da cultura. As espécies de peixes utilizadas foram: 60% de carpa húngara (*Cyprinus carpio*) (8,7 ± 0,82 g e 8,4 ± 0,20 cm); 20% de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella)* (13,2 ± 2,72 g e 11,1

± 0,49 cm) e 20% de carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*) (16,4 ± 0,25 g e 11,2 ± 0,47 cm), introduzidas nas parcelas, na área do refúgio, aos oito dias após a aplicação dos tratamentos na densidade de povoamento de 20.000 alevinos ha^{-1}.

Os agroquímicos foram aplicados 30 dias após a semeadura do arroz nas seguintes concentrações: 0,75; 0,002 e 0,005 mg/L de inseticida carbofuran, herbicida metsulfuron-metílico e herbicida azimsulfuron, respectivamente. Os tratamentos utilizados foram: [T1] azimsulfuron em rizipiscicultura; [T2] metsulfuron-metílico em rizipiscicultura; [T3] carbofuran em rizipiscicultura; [T4] azimsulfuron, metsulfuron-metílico e carbofuran em rizipiscicultura; [T5] azimsulfuron, metsulfuron-metílico e carbofuran em área somente com arroz; [T6] azimsulfuron e metsulfuron-metílico em rizipiscicultura; [T7] controle 1 (somente arroz sem agroquímicos); [T8] controle 2 (rizipiscicultura sem agroquímicos).

Durante a realização do experimento foram coletadas amostras de 1 L de água de cada parcela e acondicionadas em frascos de vidro de cor âmbar e enviadas para o Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) da UFSM. As coletas foram realizadas antes da aplicação dos agroquímicos e entre os dias 1° e 56º. A análise dos produtos foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção no ultravioleta (HPLC-UV), seguindo-se a metodologia descrita por Zanella et al. (2000). Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados durante a realização do experimento, no momento das coletas de zooplâncton com a medição de pH (pHmetro Hanna - HI8424), dureza total (APHA, 1992), temperatura e oxigênio dissolvido (oxímetro YSI – modelo Y5512), alcalinidade total (Kits Alfa Tecnoquímica, SC, Brasil) e determinação da transparência da água (Disco de Secchi).

Amostras de água foram coletadas das parcelas, na área do refúgio, em oito períodos distintos: 17 dias antes da aplicação dos agroquímicos (17° DAA) e nos dias: 1°, 3°, 10°, 18°, 31°, 51° e 75° após a aplicação (DPA) (novembro/04 a fevereiro/05). As coletas foram realizadas (4:30-6:30 h da manhã) com rede coletora de plâncton (malha de 25 μm) quando as amostras foram fixadas a campo em formol 4%. Posteriormente, em laboratório, as amostras foram, concentradas em 60 mL, quando foram retiradas sub-amostras de 1 mL com pipeta volumétrica e separadas em placa do tipo Bogorov para análise quali-quantitativa dos grupos do zooplâncton, sob microscópio estereoscópio.

Os resultados da densidade zooplanctônica dos grupos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de dois fatores tratamentos e dias, avaliando-se a interação entre eles. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$) para determinar as diferenças entre os tratamentos.

Para verificar as associações existentes entre os parâmetros físico-químicos da água (grupo I) e a comunidade zooplanctônica (grupo II), procedeu-se a Análise de Correlação Canônica (Cruz e Regazzi, 1994).

RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos médios da água, ao longo do experimento estão demonstrados na Figura 3, com valores (mínimo e máximo) de: oxigênio dissolvido: 0,6-2,2 mg/L, temperatura: 17,6-25,7 °C, pH: 6,4-7,0, dureza total: 26-74 mg/L $CaCO_3$, alcalinidade total: 16-31 mg/L $CaCO_3$ e transparência da água: 20-50 cm.

A correlação canônica consiste em estimar a máxima correlação entre

combinações lineares de caracteres dos grupo I e II, bem como estimar os respectivos coeficientes de ponderação dos caracteres em cada combinação linear. Os pares canônicos foram significativos apenas para a primeira ordem (correlação canônica igual a 0,83) ($P < 0,01$) (tabela 4). Os grupos considerados (parâmetros físico-químicos da água e grupos zooplanctônicos) não são independentes e as associações inter-grupos estão estabelecidas da seguinte forma: quando a temperatura e a dureza total são mais altas e a transparência da água é menor é encontrado em maior densidade o grupo Copepoda (Adultos e Nauplios).

Com relação à aplicação de metsulfuron-metílico e azimsulfuron no experimento, na primeira coleta de água, realizada aproximadamente 12 horas após a aplicação dos tratamentos, não foi detectada a presença destes herbicidas (limite de detecção – LOD = 0,001 mg/L). Já para carbofuran, o produto foi detectado na lavoura de arroz até 17 dias após sua aplicação com um valor de 0,013 mg/L (4% da porcentagem inicial) (Figura 4).

Observou-se uma interação significativa entre os tratamentos aplicados na lavoura de arroz e os dias de amostragem. (tabela 5).

Para Cladocera no 17° DAA não havia diferença significativa entre os tratamentos. No 1° DPA, houve diferença entre os tratamentos T4 e T5 comparado ao tratamento controle 1 (T7). No tratamento T6, composto pelos dois herbicidas, obteve-se uma densidade de organismos/L significativamente maior do que o controle 1 (T7). Também, no 3° DPA, este padrão foi mantido para os tratamentos com a utilização de carbofuran (T3, T4 e T5) ocorrendo uma queda acentuada na densidade deste grupo. Já a partir do 10° DPA de amostragem não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos até o 75° DPA (tabela 6).

Em Rotifera no 1° DPA foi constatada uma diminuição significativa na densidade dos tratamentos T2 e T6 em relação ao tratamento controle 1 (T7) e T3. Já a partir do 3° DPA até o final das amostragens (75° DPA) não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos (tabela 6).

Para Copepoda Adultos não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos no 17° DAA e nos dias 1° e 3° DPA. No 10° DPA observou-se que houve diferença significativa do tratamento T4 com relação ao tratamento controle 1 (T7) e, no 18° DPA os tratamentos T2 e T6 obtiveram médias significativamente menores do que o controle 1 (T7). Para o 31° DPA, o controle 1 (T7) foi significativamente superior a T6 e T8. No 51° DPA os tratamentos T2, T3 e T8 diferiram do tratamento T5. Entretanto, no 75° DPA não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (tabela 7). Para os Nauplios não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para todos os dias amostrados (tabela 7).

DISCUSSÃO

Quanto aos parâmetros físico-químicos da água, observa-se que a medida em que ocorre aumento na temperatura da água, há uma redução nos níveis de oxigênio dissolvido. Com relação ao pH da água, este manteve-se com pequenas flutuações, permanecendo ao redor da faixa neutra. Entretanto, a transparência da água sofreu uma redução a partir do 10° DPA, devido a entrada de peixes na área experimental no 8° DPA e, principalmente a presença da espécie carpa húngara removedora de solo, proporcionando maior número de sólidos em suspensão.

Temperaturas da água e dureza total (concentração de íons cálcio e magnésio) mostraram apresentar estreita relação com o grupo Copepoda (Adultos e Nauplios), que são mais abundantes quando estes parâmetros encontram-se mais altos. A temperatura da água é um fator importante, pois influencia nas taxas fotossintéticas do fitoplâncton proporcionando alimentos disponíveis para o todo o zooplâncton. Moore e Folt (1993) comentam que temperaturas elevadas da água (≥25° C) aceleram as taxas de predação dos peixes e é sugerido ser responsável pela baixa abundância e rara ocorrência de *Daphnia* (Cladocera) em várzeas tropicais.

Neste trabalho o Cladocera foi mais sensível ao efeito do agroquímico carbofuran (T3, T4 e T5), comparado aos outros grupos zooplanctônicos, já que no 3° DPA ocorreu uma queda acentuada na densidade deste grupo. Embora T4 e T5 possuíssem também a mistura com os herbicidas, observa-se que os tratamentos com a aplicação isolada de metsulfuron-metílico ou azimsulfuron, ou mesmo sua associação não diferiram significativamente do tratamento controle 1 (T7).

Os resultados do presente experimento estão de acordo com Hanazato (1991) que utilizou inseticida carbaryl (grupo carbamato) em tanques experimentais no Japão e demonstrou que Cladocera foi mais sensível para este agroquímico que o Rotifera, que apresentou baixa sensibilidade.

Pratt e Barreiro (1998) também comentam que agroquímicos podem provocar um acentuado decréscimo na densidade do zooplâncton, especialmente de Crustáceos herbívoros (Cladocera e Copepoda Calanóides), porque determinam uma redução de local trófico e uma mudança na comunidade estrutural de algas.

Diversos estudos indicam que estressores naturais podem alterar a sensibilidade

da comunidade zooplanctônica a agroquímicos, possibilitando que estas espécies de zooplâncton em ambiente natural sejam mais sensíveis a agroquímicos do que se as mesmas forem cultivadas em condições controladas de laboratório. Neste caso, agroquímicos podem afetar as interações entre a comunidade zooplanctônica e causar efeitos secundários na estrutura e composição da comunidade biológica (Hanazato, 2001). Para Gagneten (2002) essa interação entre agroquímicos e fatores biológicos pode reduzir ou aumentar as conseqüências da contaminação ambiental aquática.

No grupo Rotifera, observa-se, de forma geral, que eles foram pouco afetados pelos tratamentos com agroquímicos, mantendo-se com baixa densidade ao longo do experimento. Esses dados concordam com Havens e Hanazato (1993) que comentam que Rotifera são o grupo de zooplâncton menos sensível em lagos acidificados e em presença de agroquímicos no ambiente, pois apresenta uma grande diversidade de espécies, além de ser um taxa que contêm alta tolerância. Neves et al. (2003) também afirmam que por apresentarem tamanho pequeno e curto ciclo de vida, Rotifera possui ampla tolerância à variabilidade de fatores ambientais

Com relação ao grupo Copepoda foi verificada pouca influência dos tratamentos com agroquímicos para Adultos e nenhuma influência para Nauplios. Autores como Neves et al. (2003) afirmam que a alta densidade de formas imaturas de Copepoda é resultado da contínua reprodução destes organismos, em regiões tropicais. Os hábitos alimentares dos Copepoda são diferentes de acordo com a fase de vida que se encontram, pois Copepoda adultos são encontrados como carnívoros (predadores), detritívoros e filtradores enquanto que Nauplios são filtradores, sendo freqüentemente herbívoros. É importante ressaltar que dentro da comunidade zooplanctônica ocorrem competições em

busca do alimento (bactérias, algas unicelulares, entre outros) e mesmo a predação intra e interespecífica.

Para Copepoda adultos e juvenis Kreutzweiser et al. (2002) observaram efeitos negativos já em baixas concentrações testadas do inseticida azadirachtin (0,035 mg/L). Entretanto, em Cladocera, a redução na densidade de organismos somente foi detectada a partir de 0,70 mg/L e, para Rotifera evidenciou-se redução significativa apenas em testes com altas concentrações (1,75 mg/L de azadirachtin). Desta forma, estes autores sugerem uma ordem decrescente de sensibilidade : Copepoda>Cladocera>Rotifera.

Um fator que pode determinar a proporção de formas jovens e de adultos é a intensa predação por invertebrados e vertebrados. No caso do presente trabalho a entrada de peixes nas parcelas oito dias após a aplicação dos tratamentos demonstra alterações na densidade de Copepoda Adultos, apesar de ser povoado apenas pela espécie carpa cabeça grande, de hábito alimentar zooplanctófaga, que encontrava-se em baixas densidades nas parcelas.

A ordem crescente de sensibilidade aos agroquímico carbofuran, foi: Copepoda Nauplio < Copepoda Adulto < Rotifera < Cladocera. Assim, este estudo demonstrou que ocorreram efeitos adversos na comunidade zooplanctônica que podem ocorrer em conseqüência da exposição dos organismos do ecossistema aquático à carbofuran.

CONCLUSÕES

A aplicação do agroquímico carbofuran provoca efeitos negativos na comunidade zooplanctônica da lavoura arrozeira, em sistema de rizipiscicultura, para o grupo

Cladocera. Copepoda (Adultos e Nauplios) e Rotifera são pouco afetados pela aplicação deste agroquímico. Copepoda Adultos são afetados pela entrada de peixes na área a partir do 10° DPA.

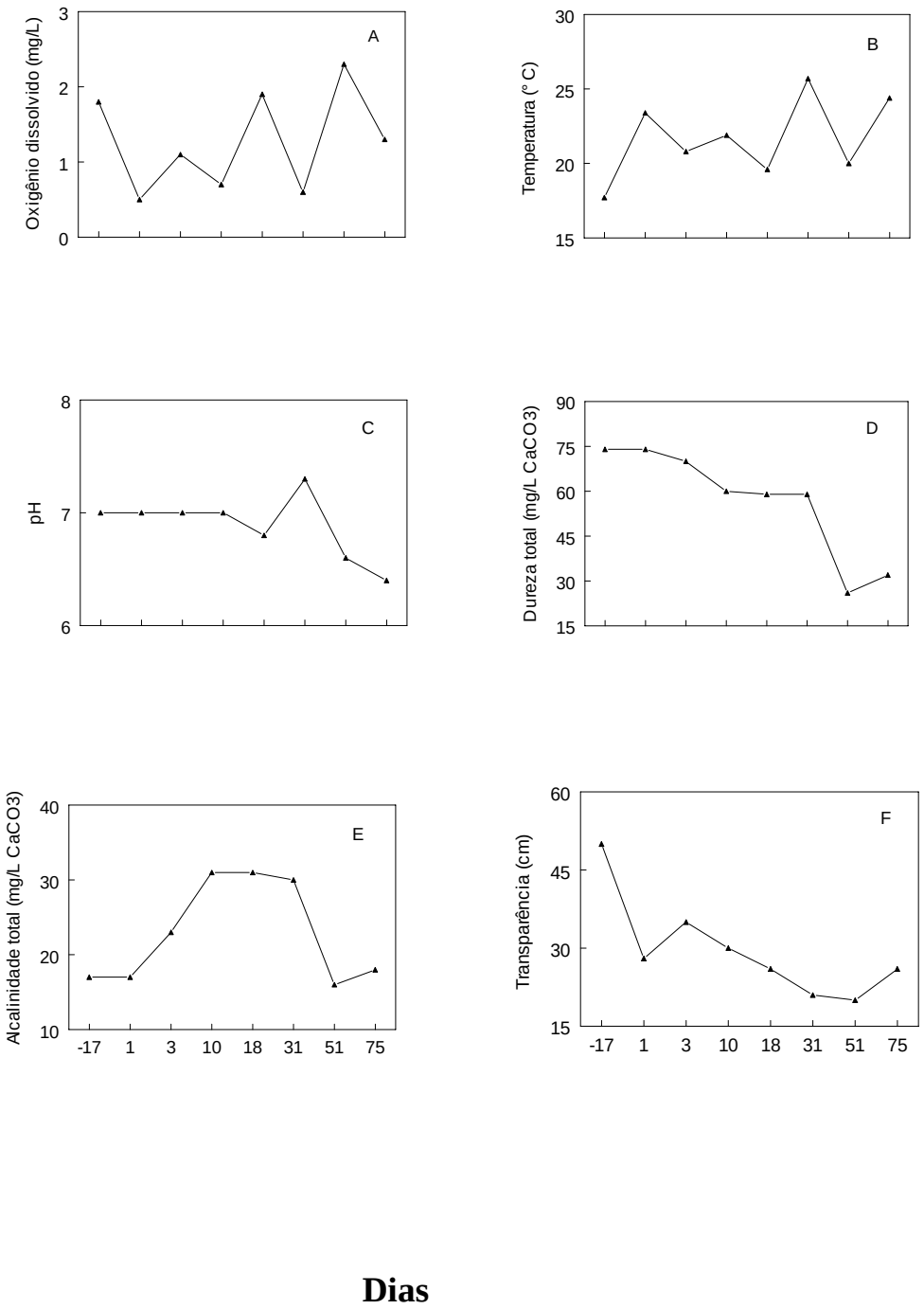

Figura 3. Parâmetros físico-químicos da água: (A) oxigênio dissolvido; (B) temperatura; (C) pH; (D) dureza total; (E) alcalinidade total; (F) transparência. (Valores médios de todos os tratamentos em cada dia de coleta).

Tabela 4. Média, desvio padrão e correlações canônicas entre o parâmetros físico químicos água (grupo 1) e os organismos zooplanctônicos (grupo 2). Santa Maria, RS.2006.

		Pares canônicos		
Grupos 1 e 2	X ± D.S	1°	2°	3º
Oxigênio[1]	1,26 ± 0,67	-0,9326	-0,5691	0,2427
Temperatura[2]	21,70 ± 2,54	-1,6429	-0,5114	-0,0219
pH[3]	6,91 ± 0,29	-0,1307	0,0264	-0,1675
Dureza[4]	40,21 ± 28,6	-1,1445	-0,3659	-0,4540
Alcalinidade[4]	16,28 ± 11,0	-0,0958	-0,4493	0,0620
Transparência[5]	29,56 ± 11,9	1,1776	-0,4222	0,1848
Cladocera[6]	7 ± 10,6	0,3703	0,2899	0,1122
Rotifera[6]	3 ± 4,2	0,1873	0,6795	0,2625
Copep Nauplio[6]	9 ± 9,6	0,6593	0,2180	-0,7380
Copep Adulto[6]	5 ± 4,9	0,6269	-0,6376	0,6114
r (ρ)	-	0,8388	0,4827	0,3218
Significância(α)	-	0,000	0,0913	0,5229
χ^2	-	93,79	22,65	7,13

X ± D.S = média ± desvio padrão; [1] mg/L; [2] °C; [3] unidades; [4] mg/L $CaCO_3$; [5] cm; [6] organismos/L;

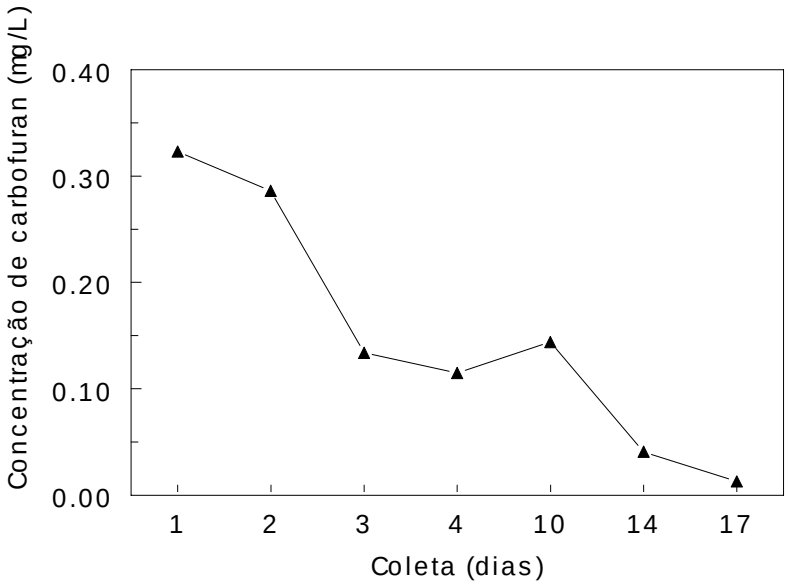

Figura 4 – Monitoramento do carbofuran na água da lavoura arrozeira durante a safra agrícola 2002/05.

Tabela 5. Análise da variância (ANOVA) dos fatores A (tratamentos) e D (dias). Santa Maria, RS. 2006.

		Quadrado médio (QM)			
Fontes de variação	GL	Cladocera	Rotifera	Cop. Adulto	Cop Nauplio
Blocos	3	* (0,018)	* (0,012)	ns (0,004)	ns (0,003)
Fator A	7	* (0,046)	* (0,013)	* (0,037)	* (0,025)
Fator D	7	* (0,185)	* (0,022)	* (0,079)	* (0,227)
A*D	49	* (0,017)	* (0,005)	* (0,004)	* (0,006)
Resíduo	189	-	-	-	-
Média	-	7	3	5	9
CV (%)	-	58,6	68,7	48,4	40,0

* P < 0,05; ns= interação não significativa; GL= graus de liberdade; Fator A= tratamentos; Fator D= dias;

Tabela 6. Densidade populacional (organismos/L) de Cladocera e Rotifera entre novembro/04 e fevereiro/05. Santa Maria, RS, 2006.

Dias	17DAA	1*	3*	10*	18*	31*	51*	75*
Tratamentos				Cladocera				
T1(A+R)	19 ns	25ab	12a	2 ns	1 ns	1 ns	3 ns	1 ns
T2(M+R)	23	15bc	17a	1	1	1	1	2
T3(C+R)	23	1 dc	0 b	0	0	1	2	1
T4(A+M+C+R)	22	0 d	0 b	0	0	0	2	4
T5(A+M+C)	14	0 d	0 b	0	0	7	3	2
T6(A+M+R)	36	56a	29a	2	1	1	2	2
T7(Ar)	12	18bc	15a	5	2	1	1	1
T8(R+Ar)	10	21ab	12ab	2	2	0	1	0
Média	20	17	11	2	1	1	2	2
				Rotifera				
T1(A+R)	1 ns	10ab	1 ns	1 ns	1 ns	2 ns	3 ns	2 ns
T2(M+R)	4	0 b	0	1	2	1	2	2
T3(C+R)	2	21a	14	2	3	1	5	3
T4(A+M+C+R)	2	8 ab	1	2	4	2	3	2
T5(A+M+C)	1	4 ab	4	2	2	2	3	1
T6(A+M+R)	2	1 b	1	1	3	0	4	0
T7(Ar)	3	21a	11	1	1	1	4	0
T8(R+Ar)	1	4 ab	1	0	2	2	3	1
Média	2	9	4	1	2	1	3	1

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
ns= Teste F não significativo
DAA = dias antes da aplicação dos agroquímicos
* 1 a 75 dias = dias após a aplicação dos agroquímicos
(A) Azimsulfuron; (M) Metsulfuron-metílico; (C) Carbofuran; (R) rizipiscicultura; (Ar) Arroz;

Tabela 7. Densidade populacional (organismos/L) de Copepoda Adulto e Copepoda Nauplio entre novembro/04 e fevereiro/05. Santa Maria, RS, 2006.

Dias	17DAA	1*	3*	10*	18*	31*	51*	75*
Tratamentos				Copepoda Adulto				
T1(A+R)	12 ns	11 ns	8 ns	2 b	1 ab	1 ab	1 ab	2 ns
T2(M+R)	13	3	5	1 ab	1 b	1 ab	1 b	2
T3(C+R)	17	3	1	1 ab	1 ab	1 ab	0 b	1
T4(A+M+C+R)	13	6	3	1 b	2 ab	1 ab	1 ab	4
T5(A+M+C)	11	12	3	4 ab	5 ab	7 ab	11a	3
T6(A+M+R)	14	6	5	1 ab	1 b	0 b	1 ab	1
T7(Ar)	19	10	7	13a	12a	12a	8 ab	5
T8(R+Ar)	13	8	7	1 ab	3 ab	0 b	0 b	2
Média	14	8	10	3	3	3	3	2
				Copepoda Nauplio				
T1(A+R)	31 ns	26 n^s	10 ns	6 ns	2 ns	2 ns	1 ns	2 ns
T2(M+R)	24	8	9	5	3	2	1	1
T3(C+R)	44	19	5	3	2	1	1	3
T4(A+M+C+R)	26	23	4	1	1	3	1	3
T5(A+M+C)	20	20	11	4	8	4	7	1
T6(A+M+R)	22	12	7	2	1	1	0	1
T7(Ar)	17	20	25	9	12	9	10	4
T8(R+Ar)	30	16	14	2	1	2	1	1
Média	27	18	11	4	4	3	3	2

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
ns= Teste F não significativo
DAA = dias antes da aplicação dos agroquímicos
* 1 a 75 dias = dias após a aplicação dos agroquímicos
(A) Azimsulfuron; (M) Metsulfuron-metílico; (C) Carbofuran; (R) rizipiscicultura; (Ar) Arroz;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA – American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater.** 18 ed. Bru-El Graphic Inc. Sprinfield, Virgínia, 1155p. 1992.

Barry, M. J., Logan, D. (1998), The use of temporary pond microcosma for aquatic toxicity testing: direct and indirect effects of endosulfan on community structure. **Aquatic Toxicology** v. 41, p. 01-124, 1998.

Cruz, C.D., Regazzi, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, Imprim. Univ. 390p.:il. 1994.

Gagneten, A.M. Efectos Del herbicida paraquat sobre el zooplancton. **Iheringia, Ser. Zool.**, Porto Alegre, v. 92, n. 3, p. 47-56, 2002.

Hanazato, T. Effects of repeated applicationof carbaryl on zooplankton communities in experimental ponds with or without the predator *Chaborus*. **Environmental Pollution,** v. 74, p. 309-324, 1991.

Hanazato, T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: a ecological perspective. **Environmental Pollution**, v. 112, p.1-10, 2001.

Havens, K.E., Hanazato, T. Zooplankton community responses to chemical stressors: a

comparison of results from acidification and pesticide contamination research. **Environmental Pollution**, v. 82, p. 277-288, 1993.

Kreutzweiser, D.P. et al. Community- level disruptions among zooplankton of pond mesocosms treated with a neem (azadirachtin) insecticide. **Aquatic Toxicology**, v. 56, p. 257-273, 2002.

Martins , J.F.S et al. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irigado. In: Gomes, A.S., Júnior, A.M.M. **Arroz Irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. Cap. 19. p 635-675, 2004.

Moore, M.; Folt, C. Zooplankton body size and community structure: effects of thermal and toxicant stress. **TREE**, v. 8, n. 6, p. 178-183, 1993.

Neves, I. F. et al. Zooplankton community structure of two marginal lakes of the river Cuiabá (Mato Grosso, Brazil) with analysis of rotifera and Cladocera diversity. **Braz. J. Biol.,** v. 63, n. 2, p. 329-343, 2003.

Pratt, J. R.; Barreiro, R. Influence of trophic status on the toxic effects of a herbicide: a microcosms study. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** New York, v. 35, p. 404-441, 1998.

Tremolada, P. et al. Quantitive inter-specific chemical activity relationships of pesticides

in the aquatic environmental. **Aquatic Toxicology**, v. 67, p. 87-103, 2004.

Zanella, R. et al. Development and validation of a high-performace liquid chromatographic procedure for the determination of clomazone residues in surface water. **J. Chromatogr. A.** v. 904, p. 257-262, 2000.

Zimba, P.V. et al. Pond age-water columm trophic realtionships in channel catfish *Ictalurus punctatus* production ponds. **Aquaculture**, v. 219, p. 291-301, 2003.

Wendt-Rash, L. et al. Effects of metsulfuron methyl and cypermethrin exposure on freshwater model ecosystems. **Aquatic Toxicology**, v. 63, p. 243-256, 2003.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, L. H. et al. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus*. **Environmental Reseach,** v. 95, p. 224-230, 2004.

Albrechtsen, H. J. et al. Degradation on herbicides in shallow Danish aquifers: an integrated laboratory and fied study. **Pest Manag Sci,** v. 57, p. 341-350, 2001.

Archer, D. W., Shogen, J. F. Risk-indexed herbicide taxes to reduce ground and surface water pollution: an integrated ecological economics evaluation. **Ecological Economics,** v. 38, p. 227-250, 2001.

Adhikari, S. et al. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.58, p. 220-226, 2004.

Asare, D. K. et al. Impact of irrigation scheduling practices on pesticide leaching at a regional level. **Agricultural Water Management**, v. 43, p. 311-325, 2000.

Baser, S. et al. Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata.* **Chemosphere,** v. 51, p. 469-474, 2003.

Begum, G., Vijayaraghavan, S. Effect of acute of the organophosphate insecticide Rogor on some biochemical aspects of *Clarias batrachus* (linnaeus). **Environmental Research**, Section A, v. 80, p 80-83, 1999.

Berg, H. Rice monoculture and integrated rice-fish farming in the Mekong Delta, Vietnam – economic and ecological considerations. **Ecological Economics,** v. 41, p. 95-

107, 2002.

Bressa, G. et al. PCBs and organochlorinated pesticides in eel (*Anguilla anguilla* L.) from the Po Delta. **Marine Chemistry,** v. 58, p. 261-266, 1997.

Bretaud, S., Toutant, J.P., Saglio, P. Effects of carbofuran, diuron, and nicosulfuron on acetylcholinesterase – activity in goldfish (*Carassius auratus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 47, p. 117-124, 2000.

Burdett, A. S. et al. Laboratory and fields studies on the effect of molinate, clomazone, and thiobencarb on nontarget aquatic invertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry,** v. 20, p. 2229-2236, 2001.

Carr, R. L., Chambers, J. E. Kinetic analysis of the *in Vitro* inhibition, aging, and reactivation of brain acetylcholinesterase from rat and channel catfish by paraoxon and chlorpyrifos-oxon. **Toxicology and Applied Pharmacology,** v. 139, p. 365-373. 1996.

Caguan et al, Integrating fish and azolla into rice-duck farming in Asia. Naga, **ICLARM Q**. v. 23, n. 1, p. 4-10, 2000.

Caselli, M. Light-induced degradation of metsulfuron-methyl in water. **Chemosphere,** v. 59, p. 1137-1143, 2005.

Cavalcanti, E. A. H., Larrazábal, M. E. L. Macrozooplâncton da zona econômica exclusiva do Nordeste do Brasil (segunda expedição oceanográfica – REVIZEE/NE II) com ênfase em Copepoda (Crustacea). **Revista Brasileira de Zoologia,** v. 21, n. 3, p. 467-475, 2004.

Cedergreen, N., Streibig, J. C., Spliid, N. H. Sensitivity of aquatic plants to the herbicide

metsulfuron-methyl. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 57, p. 153-161, 2004.

Cerejeira, M. J. et al. Use of new microbiotests with *Daphnia magna* and *Selenastrum capricornutum* immobilized forms. **Chemosphere,** v. 37, n. 14-15, p. 2949-2955, 1998.

Chartterje, S. et al. Disruption of pituitary-ovarian axis by carbofuran in catfish, *Heteropneustes fossilis* Bloch. **Comparative Biochemistry and Physiology** Part C, v. 129, p. 265-273, 2001.

Chaudhry, G. R. et al. Induction of carbofuran oxidation to 4-hydroxycarbofuran by *Pseudomonas* sp. 50432. **FEMS Microbiology Letters,** v. 214, p. 171-176, 2002.

Coppeage, D.L., Mathews, E. Shorten effect of organophosphate pesticides on cholinesterase of estuarine fishes and pink shrimp. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.,** v.11, p. 483-487, 1974.

Cotrim, D.S. et al. Rizipiscicultura: um sistema agroecológico de produção. In: CONGRESSO DA CADEIA PRODUTIVA DO ARROZ. VII REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ, 2002, **Anais...** Florianópolis. p. 690-693. 2002.

Cruz, A. L. Sub-lethal concentrations of monocrotophos affect aggressive behavior of the fishes *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) (Teleostei, Cichlidae). **Revista Brasileira de Zoologia,** v. 19, n. 4, p.1131-1138, 2002.

Das, B. et al. Organochlorine pesticide residues in catfish, *tachysurus thalassinus* (Ruppell, 1835), from the South Patches of the Bay of Bengal. **Environmental Pollution,** v. 120, p. 255-259, 2002.

Das, B. K., Mukherjee, S. C. Toxicity in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzimatic and haematological consequences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 134, p. 109-121, 2003.

Delistraty, D., Taylor, B., Anderson, R. Comparisons of acute toxixity of selected chemicals to rainbow trout and rats. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.39, p. 195-200, 1998.

Dembélé, K., Haubruge, E., Gaspar, C. Concentration effects of selected inseticides on brain acetylcholinesterase in the common carp (*Cyprinus carpio).* **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 45, p. 49-54, 2000.

Duchnowicz, P. et al. Damage of erythrocyte by phenoxyacetic herbicides and their metabolites. **Pesticide Biochemistry & Physiology,** v. 74, p. 1-7, 2002.

Elezovic, I. et al. Herbicides in water: subacute toxic effects on fish. In: Müller, R., Lloud, R. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. 1994. Fishing News Books. 371 p. USA. Cap. 3, p. 30-38.

Enserink, L. et al. Reproductive strategy of *Daphnia mangna* affects the sensitivy of its progeny in acute toxicity tests. **Aquatic Toxicology**, v.17, p. 15-26, 1990.

Favari, L. et al.. Effect of inseticides on plankton and fish of Ignacio Ramírez Reservoir (México): a biochemical and biomagnification study. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 51, p.177-186, 2002.

Fernandez-Vega, C. et al. Thiobencarb Induced Changes in Acetylcholinesterase Activity of the Fish *Anguilla anguilla.* **Pesticide Biochemistry and Physiology,** v. 72, p. 55–63, 2002.

Fernando, C.H., Halwart, M. Possibilities for the integration of fish farming into irrigation systems. **Fisheries Management and Ecology,** v. 7, p. 45-54, 2000.

Finizio, A., Villa, S. Environmental risk assessment for pesticides. A tool for decision making. **Environmental Impact Assessment Review,** v. 22, p. 235-248, 2002.

Flammarion, P. et al. The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*Leuciscus cephalus):* the fish activities should not be ignored. **Environmental Pollution,** v. 120, p. 325-330, 2002.

Forget, J. et al. Mortality and LC50 values for several stages of the marine copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) exposed to the metals arsenic and cadmium and the pesticides atrazine, carbofuran, dichlorvos and malathion. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 40, p. 239-244. 1998.

Gruber, S. J., Munn, M. D. Organophosphate and carbamete insecticides in agricultural waters and cholinesterase (ChE) inhibition in common carp *(Cyprinus carpio).* **Archives Environmental Contamination and Toxicology,** v. 35, p. 391-396, 1998.

Hart, A.D.M. Relationships between behavior and the inhibition of acetylcholinesterase in birds exposed to organophosphorus pesticides. **Environ. Toxicol. Chem.,** v. 12, p. 321-336, 1993.

Halwart, M. et al. Activity pattern of fish in rice fields. **Aquaculture,** v. 145, p. 159-170, 1996.

Harwart, M. Trends in rice-fish farming. FAO Aquacult. Newsl. v. 18, p. 3-11, 1998.

Hermes, L.C. Impacto ambiental de herbicidas em arroz irrigado. In REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 22., 1997, Balneário Camboriú. **Palestras...**Itajaí: Epagri, 1997. p. 68-72.

Health, A. G. et al. Physiological responses of fathead minnow larvae to rice pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 37, p. 280-288, 1997.

Ishida, Y., Kobayashi, H., Avoidance behavior of carp to pesticides and decrease of tha avoidance threshold by addition of sodium lauryl sulfate. **Fish. Sci.,** v. 61, p. 441-446, 1995.

Jost, G.F. et al. Impacto de agroquímicos sobre a comunidade zooplanctônica da água de irrigação em arroz irrigado. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO; XXV REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO. Balneário Camboriú, SC, 2003. **Anais...** Balneário Camboriú: Epagri, 2003, p. 720-722.

Kale, S. P., et al. Uptake and distribution of ^{14}C-Carbofuran and ^{14}C-HCH in cat fish. **Chemosphere.** v.33, n.3, p. 449-451, 1996.

Kaur, K., Dhawan, A. Variable sensitivity of *Cyprinus carpio* eggs, larvae, and fry to pesticides. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**., v. 50, p. 593-599, 1993.

Keepeler, E. C. Comparative study of the zooplankton composition of two lacustrine ecosystems in Southwestern Amazonia. **Acta Scientarium Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 467-477, 2003.

Kreutzweiser, D.P. et al. Community - level disruptions among zooplankton of pond mesocosms treated with a neem (azadirachtin) insecticide. **Aquatic Toxicology**, v. 56, p.

257-273, 2002.

Langhof, M. et al. Impact of insecticide drift on aphids and their parasitoids: residual toxicity, persistence and recolonisation. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 1963, p. 1-10, 2002.

Link, D. Avaliação da redução de doses do inseticida granulado Ralzer 50 GR para o controle da bicheira da raiz. In: III Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado; XXV Reunião da cultura do Arroz Irrigado. Balneário Camboriú, SC. **Anais...** 2003. Balneário Camboriú: Epagri, 2003, p. 345-347.

Llasera, M. P. G., Bernal-Gonzales, M. Presence of carbamates pesticides in environmental waters from the northwest Mexico: determination by liquid chromatografy. **Wat. Res.,** v. 35, n. 8, p. 1933-1940, 2001.

Loewenstein, Y. et al. Molecular dissection of cholinesterase domais responsible for carbamate toxicity. **Chem. Biol. Interactions,** v. 87, p. 209-216, 1993.

Lopes, C. et al. Ecotoxicology and population dynamics: using DEBtox models in a Leslie modeling approach. **Ecological Modelling,** v. 188, p. 30-40, 2005.

Margni, M. et al. Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment,** v. 1904, p. 1-14, 2001.

Machado, S. L. O. et al. Desenvolvimento inicial de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen,* Quoy & Gaimard, 1824; em água de lavoura de arroz irrigado tratada com herbicidas. In: 24 REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO E 2 CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, Porto Alegre, 2001. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p.818-820.

Mackay, K. T. **Rice-fish culture in China.** Ottawa: IDRC, 276 p., 1995.

Matthiessen, P. et al. Use of a *Gammarus pulex* bioassay to measure the effects of transient carbofuran runoff from farmland. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 30, p. 111-119, 1995.

Marchezan, E. et al. Dispersão de pesticidas e nutrientes nas águas da Bacia Hidrográfica do Rio Vacacaí e Vacacaí-Mirim durante o período de cultivo do arroz. In: 24 REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO E 2. CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p. 816-817.

Marchezan, E. et al. Desempenho de arroz e peixes na rizipiscicultura. 3rd International Temperature Rice Conference, Uruguay, 2003. (CD Room).

Marchezan, E., et al. Produção integrada de arroz e peixes. **Ciência Rural**, 2006 (no prelo).

Mills, D. K. et al. Updating the Continuous Plankton Recorder: an improved tool for integrated plankton monitoring. – ICES. **Journal of Marine Science,** v. 55, p. 814–817.1998.

Miron, D.S. et al. Lethal concentration of some herbicides clomazone, metsulfuron-methyl, and quinclorac for silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. **Ciência Rural,** v. 34, n. 5, p. 1465-1469, 2004.

Miron, D.S. et al. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*)

(Heptapteridae). **Ecotoxicol. Environ. Saf.,** v. 61, p. 398-403, 2005.

Mohanty, R.K. et al. Performace evaluation of rice-fish integration system in rainfed medium land ecosystem. **Aquaculture**, 2003

Moreira, M. R. S. et al. Monitoramento dos resíduos de carbofurano em área de produção de arroz irrigado – Taubaté, São Paulo. **Arq. Inst. Biol.**, v. 71, n. 2, p. 221-226, 2004.

Mukhopadhyay, P. K. et al. Certain biochemical rsponses in the air-breathing catfish *Clarias batrachus* exposed to sublethal carbofuran. **Toxicology,** v. 23, p. 337-345, 1982.

Neves, I. F. et al. Zooplankton community structure of two marginal lakes of the river Cuiabá (Mato Grosso, Brazil) with analysis of Rotifera and Cladocera diversity. **Braz. J. Biol.,** v. 63, n. 2, p. 329-343, 2003.

Perschbacher, P.W., Ludwig, G.M., Slaton, N. Effects of common aerially applied rice herbicides on the plankton communities of aquaculture ponds. **Aquaculture,** v. 214, p. 241-246, 2002.

Perschbacher, P.W., Ludwig, G.M. Effects of diuron and others aerially applied cotton herbicides and defoliants on the plankton communities of aquaculture ponds. **Aquaculture,** v. 233, p. 197-203, 2004.

Pingali, P.L., Roger, P.A., **Impact of pesticides on farmer health and rice environmental.** Philippines, Kluwer Academic Publishers, 1995. p.664.

Planque, B., and Taylor, A. H. Long-term changes in zooplankton and the climate of the North Atlantic – ICES **Journal of Marine Science,** v. 55, p. 644–654, 1998.

Rao, A.P., Singh, R. Rice –fish farming system. In: Ahmad, S.H. (Ed), Advances in Fisheries and Fish Production. Hindustan Publishing. New Delhi, India. 309 pp. 1998.

Resgalla Jr. et al. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticida utilizados na cultura do arroz irrigado sobre juvenis de carpa (*Cyprinus carpio*). **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente,** Curitiba, v. 12, p. 59-68, jan./dez. 2002.

Rodrigues-Fuentes, G., Gold-Bouchot, G. Environmental monitoring using acetylcholinesterase inhibition in vitro. A case study in two Mexican lagoons. **Marine Environmental Research,** v. 50, p. 357-360, 2000.

Roex, E.W.M., Keijzers, R., Gestel, C.A.M.. Acetylcholinesterase inhibition and increased food consumption rate in the zebrafish, *Danio rerio*, after chronic exposure to parathion. **Aquatic Toxicology,** v. 64, p. 451-460, 2003.

Rothuis, A.J. et al. Rice with fish culture in the semideep waters of the Mekong Delta,Vietnam : a socio-economical survey. **Aquaculture Research.,** v. 1, p. 47-57, 1998 (a).

Rothuis, A.J. et al. Rice with fish culture in the semideep waters of the Mekong Delta,Vietnam: interaction of rice culture and fish husbandry management on fish production. **Aquaculture Research.,** v. 29, p. 59-66, 1998 (b).

Rothuis, A.J. et al. The effect of rice seeding rate on rice and fish production, and weed abundance in direct-seeded rice-fish culture. **Aquaculture,** v. 172, p. 255-274, 1999.

Saglio, P., Olsen, K.H., Bretaud, S. Behavioral and olfactory responses to prochloraz, bentazone, and nicosulfuron contaminated flows in golfish. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v. 41, n. 2, p. 192-200, 2001.

Samanta, S., Kole, R. K., Chowdhury, A. Photodegradation of metsulfuron-methyl in aqueous solution. **Chemosphere,** v. 39, p. 873-879, 1999.

Sancho, E. et al. Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to feniltrothion. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 41, p. 168-175. 1998.

Sarikaya, R. Yilmaz, M. Investigation of acute toxicity and the effect of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) herbicide on the bahavior of the common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758ç pisces, Cyprinidae). **Chemosphere,** v. 52, p. 195-201, 2003.

Sato, G. Rizipiscicultura: uma alternativa rentável para o produtor de arroz irrigado. **Agropecuária Catarinense.** v. 15, n. 3, nov. 2002.

Schuytema, G. S., Nebeker, A. V. Comparative toxicity of diuron on survival and growth of Pacific Treefrog, Bullfrog, Red-Legged Frog, and African Clawed Frog embryos ans Tadpoles. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.,** v. 34, p. 370-376, 1998.

Shailaja, M. S., Nair, M. Seasonal differences in organochlorine pesticide concentrations of zooplankton and fish in the Arabian Sea. **Marine Environmental Research,** v. 44, n. 3, p. 263-274, 1997.

Singh, R. K., Sharma, B. Carbofuran – Induced biochemical changes in *Clarias batrachus*. **Pestic. Sci.**, v. 58, p. 285-290, 1998.

Starling, F. L. R. M. Comparative study of the zooplankton composition of six lacustrine ecosystems in central Brazil during the dry season. **Rev. Brasil. Biol.,** v. 60, n. 11, p. 101-111, 2000.

Stephenson, R. R., Choi, S. Y., Olmos-Jerez, A. Determining the toxicity and hazard to fish of a rice insecticide. **Crop Protection,** v. 3, p. 151-165, 1984.

Sukumar, A. Karpagaganapathy, P. R. Pesticide induced atresia in ovary of a freshwater fish, *Colisa lalia* (Hamilton-Buchanen). **Bull. Environ. Contam. Toxicol,** v. 48, p. 457-462, 1992.

Tejada, A. W., Magallona, E. D. Fate of carbosulfan in a rice paddy environment. **Phillipp. Ent.,** v. 6, n. 3, p. 255-273, 1985.

Trotter, D. M., Kent, R. A., Wong, P. Aquatic fate and effect of carbofuran. **Crit. Rev. Envriron. Contr.**, v. 21, p. 137-176, 1991.

Tsuda, T. et al. Acute toxicity, accumulation and excretion of organophosphorus insecticides and their oxidation products in killfish. **Chemosphere,** v. 35, n. 5, p. 939-949, 1997.

Ulloa, J. B. et al. Tropical agricultural residues and their potential uses in fish feeds: the Costa Rican situation. **Waste Management,** v. 24, p. 87-97, 2004.

van den Brink, P. J. et al. Effects of chronic low concentrations of the pesticides chlorpyrifos and atrazine in indoor freshwater microcosms. **Chemosphere,** v. 31, n. 5, p. 3181-3200, 1995.

van den Brink, P. J. et al. Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. **Aquatic Toxicology,** v. 48, p. 251-264, 2000.

van Eck, J. M. C., Koelmans, A. A., Deneer, J. W. Uptake and elimination of 1,2,4-trichlorobenzene in the guppy (*Poecilia reticulata)* at sublethal and lethal aqueous concentrations. **Chemosphere,** v. 34, n. 11, p. 2259-2270, 1997.

Varó J. C. et al. Effect of dichlorvos on cholinesteraseactivity of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax).* **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 75, p. 61–72, 2003.

Vencill, W.K. et al. **Herbicide Hanbook.** Lawrence: Weed Science Society of America, 8ª ed., 2002. 493p.

Zalidis, G. et al. Impacts of agricultural practices on soil and water quality in the Mediterranean region and proposed assessment methodology. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 88, p. 137-146, 2002.

Zeren, O., Dikmen, N., Taga, S. Measuring the exposure to organophosphorous insecticides of people involved in crop protection in Turkey. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 93, p. 447-448, 2002.

Zhu, Q. Z. et al. Molecularly imprinted polymer for metsulfuron-methyl and its binding characteristics for sulfonylurea herbicides. **Analytica Chimica Acta,** v. 468, p. 217-227, 2002.

Wendt-Rash, L. et al. Effects of metsulfuron methyl and cypermethrin exposure on freshwater model ecosystems. **Aquatic Toxicology,** v. 63, p. 243-256, 2003(a).

Wendt-Rash, L. et al. Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studies under field conditions. II. Direct and indirect effects on the species composition. **Aquatic Toxicology,** v. 63, p. 373-389, 2003(b).

Westlake, G.E. et al. Carbamate poisoning: Effects of selected carbamades pesticides on plasma enzymes brain esterase of Japanese quail (*Coturnix coturnix*). **J. Agric. Food. Chem.**, v. 29, p. 779-785, 1981.

Ye, Q., Sun, J., Wu, J. Causes of phytotoxicity of metsulfuron-methyl bound residues in soil. **Environmental Pollution,** v. 126, p. 417-423, 2003.

Yerushalmi, N., Cohen, E. Acetylcholinesterase of the California red scale *Aonidiella aurantii* Mask.: Catalysis, inhibition, and reactivation. **Pesticide Biochemistry and Physiology,** v. 72, p. 133–141, 200

Yamaguchi, N. et al. Concentrations and hazard assessment of PCBs, organochoride pesticides and mercury in fish species from the upper Thames: River pollution and its potential effects on top predators. **Chemosphere,** v. 50, p. 265-273, 2003.

Figura 5 – Área experimental localizada no Departamento de Fitotecnia da UFSM, mostrando as parcelas experimentais (com área do refúgio) e os canais de abastecimento da água (canal individual de entrada e de saída de cada parcela)