

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Tamiris Rosso Storck

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE UM RIO UTILIZADO PARA  
ABASTECIMENTO HUMANO POR MEIO DE BIOMARCADORES DE  
TOXICIDADE**

Santa Maria, RS  
2020

**Tamiris Rosso Storck**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE UM RIO UTILIZADO PARA  
ABASTECIMENTO HUMANO POR MEIO DE BIOMARCADORES DE  
TOXICIDADE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup>. Bárbara Estevão Clasen

Santa Maria, RS  
2020

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Storck, Tamiris Rosso

Avaliação da contaminação de um rio utilizado para abastecimento humano por meio de biomarcadores de toxicidade / Tamiris Rosso Storck.- 2020.

94 p.; 30 cm

Orientadora: Bárbara Estevão Clasen

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, RS, 2020

1. Agricultura 2. Agrotóxicos 3. Contaminação aquática  
4. Astyanax sp. 5. Bioindicador I. Clasen, Bárbara Estevão II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

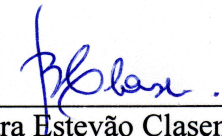
Declaro, TAMIRIS ROSSO STORCK, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

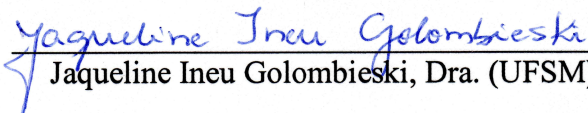
**Tamiris Rosso Storck**


**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE UM RIO UTILIZADO PARA  
ABASTECIMENTO HUMANO POR MEIO DE BIOMARCADORES DE  
TOXICIDADE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

**Aprovado em 28 de fevereiro de 2020:**

  
\_\_\_\_\_  
Bárbara Estevão Clasen, Dra. (UERGS/UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

  
\_\_\_\_\_  
Jaqueline Ineu Golombieski, Dra. (UFSM)

  
\_\_\_\_\_  
Roberta Cattaneo Horn, Dra. (UNICRUZ)

Santa Maria, RS  
2020

## DEDICATÓRIA

*À minha família, que amo incondicionalmente!*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as bênçãos recebidas.

Aos meus pais Clarice F. Rosso Storck e Volfe B. Storck, pelo incentivo aos estudos, pelo apoio e por toda dedicação com os filhos. Sei que esta conquista é uma realização para vocês! Obrigada pelo amor, confiança e compreensão.

Ao meu irmão William R. Storck, companheiro de sempre, obrigada por todo apoio. À minha sobrinha Isabella D. Storck, alegria da casa.

Ao meu namorado Margel Tischler, pela compreensão, apoio e por ouvir minhas reclamações e angústias.

A todos amigos e familiares que torceram por mim, que estiveram ao meu lado, me dando força e carinho. Também, pela compressão com a minha ausência!

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pelo ensino de qualidade, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEAmb) e a todos os professores que contribuíram para a minha formação.

À minha orientadora, professora Bárbara E. Clasen, pela confiança, pelas oportunidades, ensinamentos e por todo apoio e suporte para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

À professora Vania L. Loro e todos os colegas do Laboratório de Toxicologia Aquática (LabTAq), pelos ensinamentos, trabalhos desenvolvidos, rodas de chimarrão, conversas e risadas. Em especial, aos amigos Aline M. B. do Amaral e Taisson K. T. da Cruz, pelo auxílio nas coletas, pelo tempo e esforço dedicados à minha pesquisa, além dos momentos de lazer e descontração. Vocês foram fundamentais! Também, aos amigos Dionatan de Pellegrin e Jaíne Ames por todos momentos de trabalho e descontração compartilhados, e à Doti (Jossiele Leitemperger) pela recepção e acolhimento quando cheguei no laboratório, me apresentando ao mundo da bioquímica.

Um agradecimento especial a Aline M. B. do Amaral, por compartilhar a sua experiência com trabalhos de campo, pelos ensinamentos, pelas correções, ideias e sugestões, enfim, por toda ajuda recebida. Também, ao Renan Duarte, pelo auxílio com softwares.

Ao pescador, senhor Vilmar Souza, pela disponibilidade, auxílio e todo esforço durante as coletas dos peixes.

À querida família Kroth Thomé da Cruz, pelo acolhimento durante os períodos de coleta, pelo carinho, auxílio e suporte fornecido.

Ao professor Renato Zanella do Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP), e ao professor Sandro Giacomini do Laboratório de Biotransformações de Carbono e Nitrogênio (Labcen), da UFSM, pela cooperação e suporte.

À química Fernanda Volpatto da UFSM/FW, sempre prestativa, sanando as minhas dúvidas quando solicitada.

À Emater/RS – Ascar de Ijuí, pelas informações e esclarecimentos.

Aos colegas do PPGEAmb, em especial a Milene Priebe e Silva, companheira de mestrado, por dividir momentos de estudos, angústias, pelos mates e conversas.

Aos amigos Elzon Rippel pelo auxílio na etapa inicial da elaboração deste trabalho, Fernando Pasini pelo incentivo para participar da seleção de mestrado no PPGEAmb (“tem uma professora que trabalha com ecotoxicologia”) e Mateus Vanzan, pelas sugestões, mates, conversas e risadas.

A minha tia Roseli B. Storck e família, pelo acolhimento em Santa Maria, sempre me apoiando e ajudando no que fosse preciso.

Aos membros da banca de qualificação, professores Tales Tiecher (UFRGS) e William G. Matias (UFSC), pelas sugestões para a melhoria deste trabalho.

Aos membros da banca de defesa desta dissertação, professoras Jaqueline I. Golombieski (UFSM) e Roberta C. Horn (UNICRUZ), pela disponibilidade em avaliar este trabalho e pelas contribuições.

Às colegas de apartamento, Márcia Gabriel e, posteriormente, Liara J. Vernier e Caren A. da Rosa, pelos momentos compartilhados.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, e também nestes dois anos de mestrado, meu mais sincero muito obrigada!

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

(Carl Jung)



## RESUMO

### **AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE UM RIO UTILIZADO PARA ABASTECIMENTO HUMANO POR MEIO DE BIOMARCADORES DE TOXICIDADE**

AUTORA: Tamiris Rosso Storck  
ORIENTADORA: Bárbara Estevão Clasen

A contaminação dos recursos hídricos pelos agrotóxicos é um problema ambiental crescente que pode ocasionar efeitos adversos em organismos não-alvo e, por consequência, em todo ecossistema. Os agrotóxicos utilizados na agricultura podem contaminar os recursos hídricos, sobretudo, pelo escoamento superficial, lixiviação e processos erosivos. O Brasil é um dos maiores consumidores destes produtos químicos, e o destino majoritário da comercialização de agrotóxicos é para a cultura da soja. Dentre os estados brasileiros, o Rio Grande do Sul (RS) tem participação importante na produção agrícola do país, com destaque aos municípios da região norte-noroeste. Diante disso, o objetivo deste estudo foi verificar a presença de agrotóxicos no Rio Potiribu, no município de Ijuí, localizado no noroeste do RS, e avaliar os possíveis efeitos tóxicos destes em lambaris (*Astyanax* sp.) por meio de biomarcadores de toxicidade, em diferentes períodos de cultivos agrícolas. Foram realizadas coletas de água, sedimento e peixes, em três pontos do Rio Potiribu, no verão (fim do mês de janeiro), outono (início de junho) e inverno (início de setembro) de 2019. Em relação as variáveis físico-químicas da água, de maneira geral a pior qualidade foi registrada no verão e a melhor no inverno. Foram detectados na água os agrotóxicos clomazone, atrazina e imidacloprido no verão e inverno, e no outono clomazone e imidacloprido; já no sedimento, apenas foi detectado o agrotóxico fenpropimorfe no outono. Não foram detectados agrotóxicos no músculo de *Astyanax* sp. No verão foi observado os maiores níveis de proteínas carbonil nas brânquias, maiores níveis de tióis não proteicos no fígado e no músculo dos peixes, já nas brânquias, cérebro e intestino houve menores níveis de tióis não proteicos neste período. No outono, houve menor atividade da acetilcolinesterase no músculo, maiores atividades da catalase no fígado, e maiores níveis de proteínas carbonil em todos os tecidos. No inverno, observou-se níveis mais altos de peroxidação lipídica no músculo e cérebro dos peixes, assim como da atividade da glutathione S-transferase e níveis de tióis não proteicos nas brânquias, cérebro e intestino. As respostas obtidas pelos biomarcadores podem estar relacionadas tanto com os agrotóxicos detectados na água, quanto pela descarga de esgotos domésticos no Rio Potiribu, e revelaram a complexidade do biomonitoramento, tendo em vista a ampla mistura de compostos químicos presentes na água, aliada às variáveis abióticas.

Palavras-chave: Agricultura. Agrotóxicos. *Astyanax* sp. Bioindicador. Contaminação aquática.

## ABSTRACT

### ASSESSMENT OF CONTAMINATION OF A RIVER USED FOR HUMAN SUPPLY THROUGH TOXICITY BIOMARKERS

AUTHOR: Tamiris Rosso Storck  
ADVISOR: Bárbara Estevão Clasen

The contamination of water resources by pesticides is a growing environmental problem that can cause adverse effects on non-target organisms and, consequently, on the entire ecosystem. Pesticides used in agriculture can contaminate water resources, mainly through runoff, leaching and erosion processes. Brazil is one of the largest consumers of these chemicals, and the major destination for the sale of pesticides is for soybean crops. Among the Brazilian states, Rio Grande do Sul (RS) has an important participation in the country's agricultural production, with emphasis on the municipalities of the north-northwest region. Therefore, the aim of this study was to verify the presence of pesticides in the Potiribu River, in the municipality of Ijuí, located in the northwest of RS, and to evaluate the possible toxic effects of these on lambaris (*Astyanax* sp.) using toxicity biomarkers, in different periods of agricultural crops. Water, sediment and fish were sampled in three sites in the Potiribu River in the summer (end of January), autumn (beginning of June) and winter (beginning of September) of 2019. Regarding the physical-chemical variables of water, in general the worst quality was registered in summer and the best in winter. The pesticides clomazone, atrazine and imidacloprid were detected in the water in summer and winter, and clomazone and imidacloprid in autumn; only the pesticide fenpropimorph was detected in the autumn in the sediment. No pesticides were detected in the muscle of *Astyanax* sp. In the summer it was observed the highest levels of carbonyl proteins in the gills, higher levels of non-protein thiols in the liver and muscle of the fish, while in the gills, brain and intestine there were lower levels of non-protein thiols in this period. In the autumn, there was less activity of acetylcholinesterase in the muscle, greater activity of catalase in the liver, and higher levels of carbonyl proteins in all tissues. In winter, higher levels of lipid peroxidation were observed in the muscle and brain of fish, as well as glutathione S-transferase activity and non-protein thiol levels in the gills, brain and intestine. The responses obtained by biomarkers can be related both to the pesticides detected in the water and to the discharge of domestic sewage in the Potiribu River, and revealed the complexity of biomonitoring, considering the wide mixture of chemical compounds present in the water, combined with the abiotic variables.

Keywords: Agriculture. Pesticides. *Astyanax* sp. Bioindicator. Aquatic contamination.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa da Bacia do Rio Potiribu, localizada no noroeste do RS .....	33
Figura 2 – Locais de coleta de amostras de água, sedimento e peixes no Rio Potiribu em Ijuí/RS .....	34
Figura 3 – Locais de acesso e de coleta de água, sedimento e peixes, realizada no verão de 2019 no Rio Potiribu em Ijuí/RS .....	35
Figura 4 – Locais de acesso e de coleta de água, sedimento e peixes, realizada no outono de 2019 no Rio Potiribu em Ijuí/RS .....	36
Figura 5 – Locais de acesso e de coleta de água, sedimento e peixes, realizada no inverno de 2019 no Rio Potiribu em Ijuí/RS .....	37
Figura 6 – Exemplos de <i>Astyanax</i> sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS ao longo do período amostral .....	40
Figura 7 – Análises bioquímicas em cérebro de <i>Astyanax</i> sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019 .....	54
Figura 8 – Análises bioquímicas em músculo de <i>Astyanax</i> sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019 .....	55
Figura 9 – Análises bioquímicas em intestino de <i>Astyanax</i> sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019 .....	59
Figura 10 – Análises bioquímicas em brânquias de <i>Astyanax</i> sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019 .....	60
Figura 11 – Análises bioquímicas em fígado de <i>Astyanax</i> sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019 .....	62

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Ingredientes ativos dos agrotóxicos mais comercializados no Brasil.....	20
Quadro 2 – Vendas por classe de usos dos produtos formulados de agrotóxicos – 2018 .....	22
Quadro 3 – Biometria dos peixes coletados nos locais de amostragem ao longo do Rio Potiribu em Ijuí/RS.....	39
Quadro 4 – Variáveis de qualidade da água do Rio Potiribu/RS nos três pontos de coleta, no período de verão, outono e inverno de 2019 .....	44
Quadro 5 – Padrões de qualidade de águas doces superficiais segundo a Resolução CONAMA nº 357/2005.....	47
Quadro 6 – Variáveis de qualidade da água analisadas no Rio Potiribu/RS no ano de 2019, que estão contempladas na Resolução CONAMA nº 357/2005 .....	47
Quadro 7 – Ingredientes ativos detectados na água do Rio Potiribu/RS nos períodos de coleta .....	48
Quadro 8 – Agrotóxico detectado no sedimento do Rio Potiribu/RS no período de outono de 2019 .....	49
Quadro 9 – Caracterização dos ingredientes ativos detectados nos períodos de coleta .....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análises físico-químicas e microbiológicas da água e as metodologias utilizadas	41
Tabela 2 – Análises bioquímicas e metodologias utilizadas .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Art.	Artigo
CAT	Catalase
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GST	Glutathione S-transferase
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IRGA	Instituto Rio Grandense do Arroz
LOQ	<i>Limit of quantification</i>
P1	Ponto 1
P2	Ponto 2
P3	Ponto 3
pH	Potencial hidrogeniônico
PLAMSAB	Plano Municipal de Saneamento Básico do Município de Ijuí – RS
RS	Rio Grande do Sul
SEMA	Secretaria Estadual do Meio Ambiente/RS
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substances</i>
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1 OBJETIVOS .....	18
1.1.1 Objetivo geral .....	18
1.1.2 Objetivos específicos .....	18
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
2.1 PRODUÇÃO AGRÍCOLA .....	19
2.1.1 Agrotóxicos .....	19
2.1.2 Contaminação ambiental .....	22
2.2 ECOTOXICOLOGIA .....	26
2.2.1 Biomarcadores e bioindicadores .....	26
2.2.1.1 <i>Lambaris (Astyanax sp.) como bioindicadores</i> .....	28
2.2.1.2 <i>Biomarcadores de toxicidade</i> .....	28
2.2.2 Bioacumulação .....	31
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
3.1 ÁREA DE ESTUDO .....	32
3.2 LOCAIS DE COLETA .....	33
3.3 COLETA DAS AMOSTRAS .....	34
3.4 ANÁLISES DAS AMOSTRAS .....	40
3.4.1 Análises físico-químicas e microbiológicas .....	40
3.4.2 Análises bioquímicas .....	41
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	42
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
4.1 VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA .....	43
4.2 PRESENÇA DE AGROTÓXICOS NA ÁGUA, SEDIMENTO E MÚSCULO DOS PEIXES .....	48
4.3 BIOMARCADORES DE TOXICIDADE EM <i>Astyanax sp.</i> .....	53
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	67
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	69
<b>APÊNDICE A – VALORES DOS BIOMARCADORES DE TOXICIDADE AVALIADOS EM <i>Astyanax sp.</i> COLETADOS NO VERÃO, OUTONO E INVERNO DE 2019 NO RIO POTIRIBU EM IJUÍ/RS</b> .....	85
<b>APÊNDICE B – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NA ÁGUA DO RIO POTIRIBU NO VERÃO DE 2019</b> .....	86
<b>APÊNDICE C – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NOS SEDIMENTOS DO RIO POTIRIBU NO VERÃO DE 2019</b> .....	87
<b>APÊNDICE D – INGREDIENTES ATIVOS ANALISADOS DOS AGROTÓXICOS NO MÚSCULO DOS PEIXES NO VERÃO DE 2019</b> .....	88
<b>APÊNDICE E – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NA ÁGUA DO RIO POTIRIBU NO OUTONO DE 2019</b> .....	89
<b>APÊNDICE F – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NOS SEDIMENTOS DO RIO POTIRIBU NO OUTONO DE 2019</b> .....	90
<b>APÊNDICE G – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NO MÚSCULO DOS PEIXES NO OUTONO DE 2019</b> .....	91
<b>APÊNDICE H – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NA ÁGUA DO RIO POTIRIBU NO INVERNO DE 2019</b> .....	92
<b>APÊNDICE I – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NOS SEDIMENTOS DO RIO POTIRIBU NO INVERNO DE 2019</b> .....	93

<b>APÊNDICE J – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NO MÚSCULO DOS PEIXES NO INVERNO DE 2019.....</b>	<b>94</b>
--	-----------



## 1 INTRODUÇÃO

As atividades humanas são as principais contribuintes para a introdução de substâncias xenobióticas no meio ambiente (FINGLER et al., 2017). O aumento expressivo na liberação de poluentes no meio ambiente, está relacionado, dentre outros, ao aumento da produção agrícola (LASSERRE et al., 2009) e está gerando inúmeras preocupações relacionadas à saúde ambiental e populacional.

A agricultura é um dos setores mais importantes da economia brasileira, e juntamente com a expansão agrícola há o aumento da utilização de agrotóxicos. De acordo com o IBAMA (2019), através da consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme o Art. 41 do Decreto nº 4074/2002 (BRASIL, 2002), o consumo total de agrotóxicos no Brasil, no ano de 2000, foi de aproximadamente 163.000 toneladas, já no ano de 2018, o consumo de agrotóxicos aumentou para 550.000 toneladas. Diante do que foi exposto por Bombardi (2017), os dados apresentados pelo SINDIVEG – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal, revelam que a produção de soja ocupa o primeiro lugar como destino total de vendas de agrotóxicos no Brasil, o que em 2015 representou 52% das vendas totais de agrotóxicos no país.

Os agrotóxicos, que são utilizados na agricultura, podem contaminar os recursos hídricos, e por isso, os riscos à saúde e ao meio ambiente relacionados com estes compostos químicos, tornam-se fato preocupante e que resultam na necessidade de uma investigação contínua (TESFAMICHAEL; KALUARACHCHI, 2006). Quando há contaminação dos recursos hídricos, os seres humanos podem ter a sua saúde comprometida quando em contato com a água contaminada, bem como, os organismos aquáticos que são expostos aos mais diversos componentes químicos, que conferem diferentes mecanismos de ação tóxica e efeitos adversos (BARATA et al., 2005). Neste contexto, os peixes tornaram-se um dos modelos mais adequados para estimar os possíveis riscos no ambiente aquático, devido à sua capacidade de metabolizar e acumular eficientemente poluentes químicos (BOTELHO et al., 2015), e com isso, fornecer informações a respeito da qualidade do ambiente que está inserido. Além, da importância da utilização destes organismos para a alimentação humana.

Quando estes produtos xenobióticos são absorvidos pelos peixes, ocorrem mudanças no metabolismo dos mesmos, dentre elas, alterações ou produção de compostos indesejáveis, que são tóxicos ao organismo, como as espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs, quando produzidas desordenadamente, podem gerar uma situação de estresse oxidativo e/ou dano oxidativo, pela interferência em componentes celulares e tecidos, como as proteínas, os lipídios

e os ácidos nucleicos (LUSHCHAK, 2011; LUSHCHAK; BAGNYUKOVA, 2006). Para combater os efeitos das EROs, o sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático dos peixes atua para manter o bom funcionamento das células. Estes antioxidantes são utilizados como biomarcadores de estresse oxidativo, e podem ser representados pelas enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), e pelos tióis não proteicos que são antioxidantes não enzimáticos. Os danos oxidativos, podem ser mensurados por meio da peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas.

Biomarcadores de exposição à contaminantes como a acetilcolinesterase (AChE) e a glutathione S-transferase (GST) também são muito importantes. A AChE é uma enzima utilizada como biomarcador de neurotoxicidade, enquanto a GST é uma enzima responsável pela detoxificação de xenobióticos do organismo. Desta forma, quando o organismo é exposto a algum contaminante, é possível observar alterações na atividade destas enzimas. Amaral et al. (2018) salientam que a utilização de biomarcadores em ambientes aquáticos com intensa atividade agrícola, serve como parâmetro para avaliação e tomada de medidas necessárias para proteção e remediação destes locais antes que os efeitos nocivos da contaminação aquática se tornem irreversíveis afetando todo ecossistema.

Diante disso, os peixes do gênero *Astyanax*, popularmente conhecidos no Brasil como lambaris, é um dos gêneros dominantes na América do Sul (MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991), e são amplamente utilizados como biondicadores em estudos ecotoxicológicos *in situ* (LE MOS et al., 2008; SANTANA et al., 2015; SILVA; MARTINEZ, 2007). Em termos ecotoxicológicos, os testes *in situ* são benéficos para o monitoramento dos efeitos dos agrotóxicos no meio ambiente, especialmente porque combinam a importância ecológica e os testes de toxicidade sob análises direcionadas em condições naturais do campo (VIEIRA et al., 2014).

Neste contexto, o Rio Potiribu, que é o principal rio da Bacia do Rio Potiribu, se localiza no noroeste do RS e está sob influência de uma região essencialmente agrícola, com o plantio de diversas culturas, sendo predominante a soja. O Rio Potiribu é de extrema importância para o saneamento básico do município de Ijuí, pois nele é realizada a captação de água para o abastecimento da população municipal.

Portanto, a característica de intensa atividade agrícola da bacia em estudo, aliada ao cultivo de uma das culturas de destaque no cenário brasileiro e que mais utiliza agrotóxico, a importância de pesquisas ecotoxicológicas de agrotóxicos, *in situ*, sobretudo, a importância que o Rio Potiribu representa no saneamento básico de Ijuí, torna necessária e instigante a avaliação entre a interação: agrotóxico, recurso hídrico e organismo não-alvo (*Astyanax* sp.). Com isso,

pode-se prever os impactos que poderão ser gerados e que são passíveis de desencadear uma série de efeitos adversos em todo ecossistema.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Verificar a presença de agrotóxicos no Rio Potiribu em Ijuí – RS e os efeitos tóxicos utilizando *Astyanax* sp. como bioindicadores, em diferentes períodos do ano.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Monitorar as variáveis físico-químicas e microbiológicas da água do Rio Potiribu.
- b) Identificar se há agrotóxicos na água e sedimento do Rio Potiribu.
- c) Analisar se o fenômeno de bioacumulação de agrotóxicos ocorre no músculo dos peixes.
- d) Avaliar biomarcadores para verificar a ocorrência de estresse e dano oxidativo, bem como biomarcadores de exposição a contaminantes em *Astyanax* sp. que vivem no Rio Potiribu.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUÇÃO AGRÍCOLA

No Rio Grande do Sul (RS) a produção agrícola se caracteriza pelo predomínio das culturas de primavera/verão, que correspondem por 90% da produção total de grãos do estado (FONTANA et al., 2001). Atualmente, aproximadamente 9 milhões de hectares do estado são voltados para agricultura temporária e permanente, e cerca de 95% dessa área é destinada para produção de grãos, que é a principal atividade agrícola do RS (FEIX; LEUSIN JÚNIOR; AGRANONIK, 2016). Nos dados apresentados por Bombardi (2017), o consumo de agrotóxicos por cultura, demonstra que a soja lidera o ranking de maior consumidor, com mais da metade da comercialização de agrotóxicos somente para essa cultura, em seguida a cana e o milho com 10% do destino de vendas, algodão 7% e trigo 4%.

A soja (*Glycine max (L.) Merrill*), que tem como destino majoritário da aplicação de agrotóxicos, é a oleaginosa mais importante na agricultura brasileira, sendo a cultura mais cultivada e exportada no país (CATTELAN; DALL'AGNOL, 2018; HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014), e envolve um grande número de agrotóxicos que são aplicados com frequência (NORDBORG et al., 2017). No estudo realizado por Nordborg et al. (2017), foi verificado que entre as 10 substâncias químicas com maiores pontuações de impactos de ecotoxicidade em água doce, 7 delas são utilizadas no cultivo de soja no Brasil. Os agrotóxicos que mais contribuíram para o grande potencial de impacto são os inseticidas lambda-cialotrina e metomil e o fungicida epoxiconazol. Estes autores sugerem uma legislação brasileira fraca em termos de agrotóxicos.

#### 2.1.1 Agrotóxicos

De acordo com a Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989), no seu Art. 2º, inciso I, e decreto nº 4074/2002 (BRASIL, 2002) que regulamenta a referida Lei, define-se agrotóxicos como:

- a) os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos;

b) substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

O crescimento populacional e a conseqüente necessidade da produção de alimentos, é um fator que influencia o aumento do uso de agrotóxicos em todo o mundo (ELIBARIKI; MAGUTA, 2017), por meio do aumento das áreas cultivadas, bem como a intensificação do sistema de cultivo (MOTTES et al., 2017). Desta forma, o consumo de agrotóxicos aumenta a cada ano no Brasil. A taxa de crescimento de importação de princípios ativos a partir de 2008 foi de 400%, e a de produtos formulados 700% (CARNEIRO et al., 2015). No Quadro 1 estão dispostos os ingredientes ativos mais comercializados no Brasil e a sua respectiva quantidade. As estimativas da quantidade de agrotóxicos comercializados anualmente, podem ser calculadas de acordo com o Art. 41 do Decreto nº 4074 de 4 de janeiro de 2002 (BRASIL 2002), que dispõe:

As empresas importadoras, exportadoras, produtoras e formuladoras de agrotóxicos, seus componentes e afins, fornecerão aos órgãos federais e estaduais competentes, até 31 de janeiro e 31 de julho de cada ano, dados referentes às quantidades de agrotóxicos, seus componentes e afins importados, exportados, produzidos, formulados e comercializados de acordo com o modelo de relatório semestral do Anexo VII (BRASIL, 2002).

Quadro 1 – Ingredientes ativos dos agrotóxicos mais comercializados no Brasil

Ranking	2016		2017		2018	
	IA*	Ton**	IA	Ton	IA	Ton
1	Glifosato e sais	185.602	Glifosato e sais	173.151	Glifosato e sais	195.056
2	2,4-D	53.374	2,4-D	57.389	2,4-D	48.921
3	Mancozebe	33.232	Mancozebe	30.815	Mancozebe	40.549
4	Atrazina	28.615	Acefato	27.058	Atrazina	28.799
5	Óleo mineral	27.801	Óleo mineral	26.778	Acefato	24.656
6	Acefato	24.858	Atrazina	24.731	Dicloreto de paraquate	13.199
7	Óleo vegetal	17.259	Óleo vegetal	13.479	Enxofre	10.409
8	Dicloreto de paraquate	11.638	Dicloreto de paraquate	11.756	Imidacloprido	10.021
9	Imidacloprido	9.165	Imidacloprido	9.365	Óleo mineral	9.112
10	Clorpirifós	7.271	Oxicloreto de cobre	7.444	Oxicloreto de cobre	8.018

\* Ingrediente ativo; \*\*toneladas

Fonte: Adaptado do IBAMA (2018)/Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto nº 4.074/2002.

Os agrotóxicos são amplamente utilizados tanto em áreas agrícolas quanto em áreas urbanas para o controle de pragas (BACCHETTA et al., 2014; LI; JENNINGS, 2018) e são classificados em subgrupos conforme a finalidade pretendida. As principais classes de agrotóxicos são: inseticidas, herbicidas e fungicidas (LUSHCHAK, 2011). Os herbicidas são utilizados para o controle de ervas daninhas e gramíneas nas culturas. São substâncias, ou misturas de substâncias aplicadas em solos agrícolas, jardins e gramados e são reguladores do crescimento vegetal, dessecantes e desfolhantes (BUDDE, 2004). Os inseticidas são utilizados para o controle de pragas de insetos nas culturas, em áreas residenciais, nas casas e jardins (FERNANDES et al., 2016; HINTZEN; LYDY; BELDEN, 2009). Os fungicidas compreendem um grupo diverso de agrotóxicos e são utilizados para o controle de fungos nas culturas (MURILLO-ZAMORA et al., 2017). Também, realiza-se misturas de agrotóxicos para melhorar a eficácia e diminuir os custos com o tratamento das pragas nas culturas (BACCHETTA et al., 2014). As vendas relacionadas as classes dos produtos formulados para o ano de 2018 estão dispostas no Quadro 2.

Os agrotóxicos são classificados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, segundo a Resolução DC/ANVISA nº 294 de 29 de julho de 2019, de acordo com a sua classe toxicológica em: Categoria 1: Produto Extremamente Tóxico - faixa vermelha; Categoria 2: Produto Altamente Tóxico - faixa vermelha; Categoria 3: Produto Moderadamente Tóxico - faixa amarela; Categoria 4: Produto Pouco Tóxico - faixa azul; Categoria 5: Produto Improvável de Causar Dano Agudo - faixa azul; e Não Classificado - Produto Não Classificado - faixa verde (ANVISA, 2019b). Para tal classificação, a toxicidade dos agrotóxicos é avaliada através de testes de exposição com animais, que possibilitam a quantificação dos impactos na saúde (LI; JENNINGS, 2018). Também, por meio da portaria normativa nº 84 de 15 de outubro de 1996 (BRASIL, 1996) os agrotóxicos são classificados de acordo com o potencial de periculosidade ambiental:

Art. 3º - A classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental baseia-se nos parâmetros bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, teratogênico, carcinogênico, obedecendo a seguinte graduação:

Classe I - Produto Altamente Perigoso

Classe II - Produto Muito Perigoso

Classe III - Produto Perigoso

Classe IV - Produto Pouco Perigoso (BRASIL, 1996)

Quadro 2 – Vendas por classe de usos dos produtos formulados de agrotóxicos – 2018

Ranking	Classe de Uso	Quantidade*	Percentual
1	Herbicida	338.838,14	61,68%
2	Fungicida	73.315,13	13,35%
3	Inseticida	57.308,78	10,43%
4	Acaricida, Fungicida	34.906,17	6,35%
5	Inseticida, Acaricida	26.601,32	4,84%
6	Acaricida	6.779,09	1,23%
7	Inseticida, Acaricida, Fungicida	4.258,37	0,78%
8	Regulador de crescimento	2.709,18	0,49%
9	Inseticida, Fungicida	1.531,98	0,28%
10	Fungicida, Bactericida	1.150,02	0,21%
11	Inseticida, Cupinicida	691,00	0,13%
12	Inseticida, Nematicida	604,57	0,11%
13	Fungicida, Formicida, Herbicida, Inseticida, Nematicida	402,93	0,07%
14	Protetor de Sementes	122,07	0,02%
15	Formicida, Inseticida	25,14	0,005%
16	Formicida	20,65	0,004%
17	Inseticida, Formicida, Fungicida, Nematicida	15,88	0,003%
18	Moluscicida	0,03	5x10 <sup>-6</sup> %
	<b>Total</b>	549.280,44	100%

\* toneladas de ingredientes ativo (IA).

Fonte: Adaptado do IBAMA (2018)/Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto n° 4.074/2002.

As novas tecnologias desenvolvidas nas últimas décadas para as atividades agrícolas, visam a melhoria da qualidade dos alimentos e o aumento da produtividade para suprir as necessidades da população mundial. Por outro lado, essas novas tecnologias dependem fortemente do uso de agrotóxicos. O fato preocupante está relacionado com o uso contínuo destas substâncias químicas, que quando incorporadas ao meio ambiente estão sujeitas a diferentes comportamentos, destino final e podem ocasionar diversos efeitos adversos em organismos não-alvo (GERÓNIMO et al., 2014).

### 2.1.2 Contaminação ambiental

O alto potencial dos agrotóxicos para atingir organismos não-alvo, está relacionado com a sua aplicação amplamente em ambiente aberto (ASHAUER; BOXALL; BROWN, 2006). A contaminação de águas fluviais e lacustres por agrotóxicos de origem agrícola é um problema

e uma preocupação onerosa (CHOUDHARY et al., 2018), em larga escala e com ênfase mundial (MALAJ et al., 2014). Embora o uso destes produtos químicos tenha contribuído para o rendimento agrícola, a contaminação dos recursos hídricos ocasionada pela sua ampla utilização, gerou diversos problemas ambientais nas últimas décadas. O fato preocupante são os efeitos das baixas concentrações no meio ambiente a longo prazo, na saúde humana e em espécies não-alvo (SUDO; KUNIMATSU; OKUBO, 2002).

Os agrotóxicos podem contaminar todo o ecossistema: o solo, as águas superficiais e subterrâneas, a atmosfera, vegetações, além de ocasionar dano na saúde de humana e animal (CHOUDHARY et al., 2018; LI; JENNINGS, 2018). Nas áreas com intensa atividade agrícola, as águas superficiais e subterrâneas são mais vulneráveis à contaminação, e esse fato gera grande preocupação se a água for destinada para abastecimento humano (HERRERO-HERNÁNDEZ et al., 2013). Muitos agrotóxicos não são facilmente degradáveis e a sua alta persistência no meio ambiente pode acabar ocasionando a bioacumulação nas cadeias alimentares (CHOUDHARY et al., 2018).

A ampla utilização e eliminação de agrotóxicos, não somente pelos agricultores, como instituições e pessoas em geral, fornecem muitas fontes possíveis de contaminação ambiental (ELIBARIKI; MAGUTA, 2017). A entrada dos agrotóxicos nos sistemas fluviais pode ocorrer por meio de fontes pontuais ou difusas. As fontes pontuais destes produtos químicos representam certos locais de entrada ao longo do rio, como o descarte direto na água. Já as fontes difusas são as entradas ao longo de todo o percurso de água como escoamento, lixiviação, drenagem, deriva, deposição atmosférica e fluxo de água subterrânea (DABROWSKI; SHADUNG; WEPENER, 2014; HOLVOET; SEUNTJENS; VANROLLEGHEM, 2007). Desta forma, a poluição difusa é mais difícil de identificar e realizar medidas de controle do que as fontes pontuais (YONG, 2010). Richards e Baker (1993), relatam o aumento expressivo na concentração de agrotóxicos em corpos hídricos em eventos de chuva imediatamente após aplicação. Delgado-Moreno (2011), demonstram também, que a contaminação das águas superficiais por agrotóxicos foi maior durante o período chuvoso em comparação com o período de tempo seco.

O tamanho da bacia hidrográfica também reflete na concentração de agrotóxicos na água. Bacias com menores tamanhos tendem a apresentar maiores concentrações máximas e maior variabilidade nas concentrações de agrotóxicos individuais (herbicidas, fungicidas, inseticidas), quando comparadas com bacias maiores (RICHARDS; BAKER, 1993; SMILEY; KING; FAUSEY, 2014). Por isso, a limitação na compreensão dos impactos ocasionados pelos agrotóxicos nos ecossistemas menores, relaciona-se com o efeito individual da substância



química e não sobre a mistura de agrotóxicos nos organismos. Além disso, a sazonalidade reflete nas concentrações de agrotóxicos nos ecossistemas aquáticos, devido ao período da aplicação no cultivo agrícola (SMILEY; KING; FAUSEY, 2014).

A variabilidade na ocorrência e a contaminação dos recursos hídricos pelos agrotóxicos está relacionada com os fatores como às características do solo, clima, taxa e época de aplicação, sistema de drenagem (REICHENBERGER et al., 2007), proximidade dos campos de cultivo com a água, além das propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, que determinam o seu comportamento no meio ambiente (DABROWSKI; SHADUNG; WEPENER, 2014; LARSON; GILLIOM, 2001; RICHARDS; BAKER, 1993). A contaminação das águas superficiais está geralmente relacionada com a época de cultivo, enquanto a contaminação da água subterrânea pode apresentar uma persistência maior, e se usada para consumo humano, gerar efeitos toxicológicos contínuos (HERRERO-HERNÁNDEZ et al., 2013).

As concentrações de agrotóxicos na água podem variar ao longo do tempo, principalmente no período pós-aplicação. Alguns agrotóxicos podem ser encontrados em um período curto, como também podem estar presentes durante grande parte do ano (LARSON; GILLIOM, 2001). Os poluentes encontrados na água refletem a carga de contaminantes presentes no momento da coleta, ao contrário dos sedimentos, que refletem a contaminação acumulada durante um longo período de tempo (CETESB, 2011). A importância da avaliação dos sedimentos, se dá pelo fato de que os contaminantes e nutrientes podem ficar adsorvidos nos sedimentos e dependendo dos processos físico-químicos e biológicos da água, podem ser disponibilizados e, com isso, servir de fonte interna e contínua de poluentes (CETESB, 2011; MAMINDY-PAJANY et al., 2013).

A avaliação da qualidade da água e sedimentos são necessárias e complementares. Pois, vários contaminantes tóxicos encontrados em baixa quantidade na água acumulam-se nos sedimentos; a presença de xenobióticos nos sedimentos pode servir de fonte de contaminação para a coluna da água; os contaminantes presentes na água são mais variáveis, enquanto nos sedimentos a concentração destes é de um período de tempo maior; por fim, os sedimentos são parte do ambiente aquático, fornecendo alimentos, e servindo de habitat para muitos organismos. Desta forma, a avaliação dos sedimentos incluem informações necessária para o manejo a longo prazo da contaminação, incluindo a identificação de áreas problemáticas para medidas corretivas, estudos para determinar os efeitos dos produtos químicos encontrados, bem como para projetar programas de monitoramento (CHAPMAN, 1989).

O fator determinante para a transferência do agrotóxico do solo para o ambiente aquático, em um evento de chuva, está relacionado com a sua solubilidade em água (FIORESSI

et al., 2019). Porém, tanto em solução quanto sorvidos nas partículas de solo, os agrotóxicos podem ser transportados por escoamento (HOLVOET; SEUNTJENS; VANROLLEGHEM, 2007). Por isso, como medida para diminuir os riscos de contaminação da água, é importante evitar a aplicação em períodos chuvosos e até mesmo, se possível, reduzir da taxa de aplicação. A vegetação em torno dos recursos hídricos é de extrema importância para a redução da entrada de agrotóxicos nas águas superficiais (REICHENBERGER et al., 2007), além da implementação de práticas de controle de escoamento e erosão e medidas de redução de deriva (HOLVOET; SEUNTJENS; VANROLLEGHEM, 2007).

A presença de agrotóxicos nos recursos hídricos seria uma medida direta para caracterizar a exposição de organismos aquáticos ou a exposição humana por meio da presença destes compostos químicos na água potável. Porém, o alto custo de monitoramento e análise torna-se um fator limitante para avaliação rotineira (LARSON; GILLIOM, 2001). Mottes et al. (2017) expõem que não existe uma opção sustentável eficiente para mitigação da contaminação da água devido a sua persistente descarga contínua. Vieira et al. (2017), analisaram a água e sedimento do Córrego Uberaba – PR e encontraram vários agrotóxicos principalmente nos sedimentos. O herbicida atrazina foi encontrado tanto na água quanto nos sedimentos em todos locais de amostragem. Na Argentina, Silva-Barni et al. (2019) analisaram as águas da Bacia do Rio Quequén Grande e encontraram agrotóxicos, principalmente o endosulfan sulfato. Além de pesquisas, neste contexto, no Equador (DEKNOCK et al., 2019) e China (SUN et al., 2018).

Fioressi et al. (2019) salientam que há um número crescente de quantidade de agrotóxicos detectados na água, incluindo fontes de água potável. As legislações que regulamentam os limites máximos permitidos de agrotóxicos na água potável e superficial servem para limitar os riscos humanos e a poluição ambiental (GERÓNIMO et al., 2014). Porém, no Brasil, não existe monitoramento de xenobióticos nos corpos d'água, apenas as variáveis físico-químicas e microbiológicas são avaliadas. Por isso, esta situação relacionada aos agrotóxicos é preocupante, devido a potência agrícola mundial que o Brasil representa (MORESCO; MARGARIDO; DE OLIVEIRA, 2014). Embora a legislação atual estabelece valores máximos permissíveis, existem problemas como a superação destes padrões, principalmente em águas superficiais próximas de solos agrícolas (VILLAVARDE et al., 2018).

No Brasil, a Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005 (BRASIL, 2005) que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, relaciona as concentrações máximas permitidas de alguns agrotóxicos nas águas superficiais, de acordo com a qualidade da água pretendida para determinado uso. Na Portaria nº 2914 de 12

de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), estão dispostas as concentrações para a presença de limite máximo de agrotóxicos na água potável.

## 2.2 ECOTOXICOLOGIA

O termo ecotoxicologia vem sendo utilizado desde a década de 1970, para designar os estudos dos efeitos de substâncias tóxicas antropogênicas nos sistemas ecológicos (TRUHAUT, 1977). A exigência da sociedade moderna em busca do entendimento e do fornecimento de dados mais completos possível acerca dos efeitos potenciais dos poluentes, direta ou indiretamente, a nível individual, comunitário e ecossistema, torna a ecotoxicologia uma ciência cada vez mais requisitada (ARES, 2003).

A concentração de agrotóxicos no meio ambiente serve de informação para a necessária avaliação adequada e para as medidas de redução dos riscos. A contaminação dos recursos hídricos pode ocasionar efeitos ecotoxicológicos tanto para fauna aquática como para flora (GERÓNIMO et al., 2014). Então, os riscos provocados pelos agrotóxicos nos organismos requerem avaliações da exposição e dos possíveis efeitos adversos (LARSON; GILLIOM, 2001).

Um dos fatores limitantes em estudos toxicológicos, está relacionado ao fato de que os contaminantes podem influenciar no potencial de toxicidade um do outro. A barreira encontrada nos testes de toxicidade química está relacionada com a avaliação de substâncias individuais e não relacionadas a misturas. Através da imprevisão dos efeitos de mistura dos poluentes no meio ambiente, os seus efeitos adversos podem ser subestimados (BEYER et al., 2014).

Jager et al. (2011) salientam que o desafio na ecotoxicologia é a “comparação e extrapolação de efeitos tóxicos entre diferentes substâncias, espécies, condições de exposição, duração da exposição e níveis de organização biológica”. Estes autores afirmam que é necessária a quantificação dos efeitos tóxicos dos componentes químicos para avaliação ambiental, porém é impossível testar todas as combinações dos agrotóxicos experimentalmente.

### 2.2.1 Biomarcadores e bioindicadores

Um bioindicador é um organismo que fornece informações sobre as condições ambientais no meio em que está inserido, por meio de sua ausência ou comportamento, por exemplo (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Um organismo pode ser considerado como bioindicador quando as alterações no meio ambiente refletem em uma reação

que pode ser identificada. Muitas espécies não conseguem se adaptar ecologicamente ou geneticamente às condições ambientais após alguma modificação, então, as alterações ocorridas sugerem indicação de um problema. Diversos organismos são utilizados como bioindicadores como plantas vasculares, algas, líquens, fungos, animais vertebrados e invertebrados (LIJTEROFF; LIMA; PRIERI, 2009).

O uso de bioindicadores tem sido tradicional em estudos de biomonitoramento e avaliação de risco ambiental (CUNHA; PENA; FERNANDES, 2017; GHANNEM; TOUAYLIA; BOUMAIZA, 2018; SIVASANKAR et al., 2018). E os peixes, como organismos aquáticos, são amplamente utilizados para estudos ecotoxicológicos servindo como indicadores de qualidade ambiental, pois estão constantemente expostos a um grande número de substâncias químicas provenientes de várias fontes (BACCHETTA et al., 2014; BARATA et al., 2005; RASHED, 2001). A importância do biomonitoramento reflete nas ações de gestão ambiental eficazes, pois através do entendimento de como os sistemas naturais respondem a fatores de estresse pode ser compreendido todo sistema ecológico (FRIBERG et al., 2011).

A saúde de um ecossistema é avaliada por meio de biomarcadores, ou seja, de respostas bioquímicas que servem para quantificar os efeitos químicos dos contaminantes em organismos e populações (BARATA et al., 2005; HANSEN, 2008; MENÉNDEZ-HELMAN et al., 2015). Os objetivos de utilizar biomarcadores são para indicar que os organismos estão sendo expostos a substâncias químicas ou foram expostos e, também, verificar os possíveis danos atuais e futuros sob os organismos (FORBES; PALMQVIST; BACH, 2006). Os biomarcadores, no nível bioquímico, incluem estudos sobre a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs), pelo contato do organismo com produtos tóxicos, que podem levar a uma condição de estresse oxidativo (BARATA et al., 2005).

Quando um indivíduo saudável é exposto à algum poluente, ele sofrerá uma deterioração na saúde e que pode ser fatal. Os problemas na saúde que começam ocorrer, no geral não são aparentes como doença evidente, mas estão associadas com início de respostas bioquímicas, fisiológicas e comportamentais (DEPLEDGE; AAGAARD; GYORKOS, 1995). São considerados biomarcadores os fluídos corporais, células ou tecidos que indicam alterações bioquímicas ou celulares pela presença de contaminantes (LIVINGSTONE, 1993; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Por fim, a integração de dados químicos com respostas biológicas, os biomarcadores, são utilizados em programas de monitoramento ambiental e servem para a caracterização dos efeitos dos contaminantes nos organismos (BARATA et al., 2005; BARIŠIĆ et al., 2018).

O desenvolvimento e aplicação de biomarcadores para uso em ecotoxicologia e avaliação de risco ecológico, tem sido muito expressivo nas últimas duas décadas. Este fato, reporta o alerta precoce por meio de indicadores sobre as causas e os efeitos dos poluentes nos indivíduos e comunidade, antes que ocorram efeitos adversos em grande escala ou irreversíveis (FORBES; PALMQVIST; BACH, 2006).

#### 2.2.1.1 *Lambaris (Astyanax sp.) como bioindicadores*

O gênero *Astyanax* é um dos gêneros dominantes na América do Sul (MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991), e o mais diversificado da família Characidae em regiões neotropicais (ORSI; CARVALHO; FORESTI, 2004). As espécies deste gênero são normalmente pequenas, raramente excedendo 10 cm de comprimento, e são importantes componentes da cadeia alimentar, com participação expressiva na dieta de peixes grandes e alimentação humana (PRIOLI et al., 2002; RAMSDORF; VICARI; ARTONI, 2012; ROSSI et al., 2011). Estes peixes, possuem preferência por alguma área específica, não apresentando comportamento migratório a longa distância (COSTA et al., 2013; GHISI et al., 2014), portanto, são úteis para avaliar diferentes locais no mesmo ambiente aquático (PAULINO et al., 2014).

Os lambaris (*Astyanax sp.*) são organismos amplamente utilizados como bioindicadores em programas de monitoramento ambiental e estudos ecotoxicológicos devido a abundância, sensibilidade às variações da qualidade da água, facilidade de captura, tamanho pequeno e estilo de vida (BUENO-KRAWCZYK et al., 2015; GHISI et al., 2017; MARCON et al., 2017; ROSSI et al., 2011).

#### 2.2.1.2 *Biomarcadores de toxicidade*

Quando os recursos hídricos estão contaminados, os peixes são expostos aos poluentes através de brânquias, pele e também através de sua alimentação (BARATA et al., 2005; CLASEN et al., 2018). Após esta exposição às substâncias tóxicas, os mecanismos bioquímicos dos organismos são rapidamente induzidos, e essas respostas podem ser consideradas como sinais iniciais da alteração do estado de saúde destes (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Os contaminantes podem estimular a produção de EROs nos organismos, pois afetam diretamente as células e, com isso, podem gerar estresse e danos oxidativos, com modificações em lipídeos, proteínas e DNA ( LUSHCHAK; BAGNYUKOVA,

2006; BARZILAI; YAMAMOTO, 2004; LIVINGSTONE, 2001; LUSHCHAK; PATIL; DAVID, 2013; SAKURAGUI et al., 2013).

As EROs são subprodutos da respiração e constituem a principal classe de agentes tóxicos endógenos nos organismos aeróbicos (BARZILAI; YAMAMOTO, 2004). Estas incluem o superóxido ( $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $O_2 + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$ ) e a hidroxila ( $H_2O_2 + e^- \rightarrow OH^{\bullet} + OH^{\bullet}$ ) (BARATA et al., 2005; BARZILAI; YAMAMOTO, 2004). As EROs são constantemente geradas e eliminadas no organismo, porém quando há a presença de alguma substância xenobiótica no meio, a produção pode ser alterada. Essa perturbação no balanço entre a concentração de produção e eliminação de EROs é chamada de estresse oxidativo (LUSHCHAK, 2011). Em outras palavras, o estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a relação oxidante e antioxidante no sistema biológico, pela produção excessiva de EROs e/ou inadequação dos sistemas de defesa antioxidantes para neutralizá-los, provocando danos oxidativos em proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios (BARZILAI; YAMAMOTO, 2004; PATIL; DAVID, 2013; SIMONATO; FERNANDES; MARTINEZ, 2011).

A manutenção da homeostase celular está relacionado com sistema de defesa antioxidante dos organismos, para isso, utiliza-se biomarcadores bioquímicos no intuito de avaliar os efeitos da exposição de contaminantes em espécies de animais, como os peixes (SAKURAGUI et al., 2013). O papel fundamental do sistema antioxidante das células é eliminar as EROs através de enzimas e compostos (SIMONATO; FERNANDES; MARTINEZ, 2011).

Os mecanismos de defesa utilizados pelos organismos em resposta ao estresse químico incluem um vasto conjunto de enzimas, metabólitos e vias de transformação (COLIN et al., 2016). Assim como no sistema de defesa dos peixes, que inclui mecanismos enzimáticos e não enzimáticos para controlar os efeitos negativos das EROs (DAS et al., 2017). As enzimas antioxidantes mais reportadas são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) (BARATA et al., 2005; DAS et al., 2017; LUSHCHAK, 2011; SAKURAGUI et al., 2013). Além dos tióis não proteicos, que são antioxidantes não enzimáticos (MURUSSI et al., 2015).

A SOD, CAT e GPx são enzimas antioxidantes importantes na transformação de radicais livres em moléculas não reativas. O papel da SOD é catalisar a conversão de ânions superóxidos reativos ( $O_2^{\bullet-}$ ) para produção de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). A partir disso, o  $H_2O_2$  é transformado pelas enzimas CAT, que facilitam a sua remoção metabolizando-o em  $O_2$  e água,

e a GPx, que também catalisa o metabolismo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em água (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

A peroxidação lipídica e a formação de proteínas carbonil são duas perturbações bioquímicas que são utilizadas como indicadores de dano ou estresse oxidativo (ALMROTH et al., 2005; VINCENT; INNES; VINCENT, 2007). A estrutura ou função das proteínas são alteradas pelas EROs, deste modo, as proteínas carbonil podem ser utilizadas como marcadores para modificação oxidativa das proteínas (ALMROTH et al., 2005; STADTMAN; LEVINE, 2006). As proteínas danificadas oxidativamente, quando acumuladas no organismo, podem provocar à inativação de enzimas e perturbações no metabolismo (LUSHCHAK; BAGNYUKOVA, 2006). Já o processo de peroxidação lipídica, provocado pelas EROs, influencia a fluidez da membrana, bem como a integridade das biomoléculas associadas à membrana, como as proteínas ligadas à membrana ou colesterol (ALMROTH et al., 2005). A intensidade da peroxidação lipídica é avaliada como níveis de produtos primários e/ou produtos finais da peroxidação lipídica. O malondialdeído é um dos produtos finais da peroxidação lipídica, e pode ser analisado com ácido tiobarbitúrico e expresso como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (LUSHCHAK; BAGNYUKOVA, 2006).

Quando os organismos são expostos a algum contaminante, há alterações na atividade de algumas enzimas, como por exemplo a glutathione S-transferase (GST) e a acetilcolinesterase (AChE), por isso, estas enzimas podem ser utilizadas como biomarcadores de exposição a contaminantes (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). A GST desempenha um papel importante na excreção dos compostos tóxicos (BARATA et al., 2005; SIMONATO; FERNANDES; MARTINEZ, 2011). Ela é uma enzima que pertence à fase II da biotransformação xenobiótica, que torna as substâncias químicas mais hidrofílicas para serem mais facilmente eliminadas do organismo (AMARAL et al., 2018). A AChE é um biomarcador de neurotoxicidade e sua atividade pode sofrer alterações quando em contato com algum composto químico (BARILLET et al., 2007). A AChE é uma enzima que catalisa a hidrólise da acetilcolina em colina e acetato na fenda sináptica. Quando ocorre inibição da atividade da AChE, o neurotransmissor acetilcolina (ACh) não é hidrolisado nas sinapses nervosas e nas junções neuromusculares, causando uma quantidade anormal de ACh nesses locais, o que leva à superativação do tecido muscular e do cérebro, provocando efeitos comportamentais e também a morte (MORAES et al., 2011; ROEX; KEIJZERS; VAN GESTEL, 2003).

### 2.2.2 Bioacumulação

A bioacumulação de xenobióticos nos organismos vivos, acontece quando a concentração do composto químico presente neste organismo é maior do que a concentração presente em seus alimentos ou no ambiente em que vive (WALKER, 1990). As implicações ecotoxicológicas da bioacumulação de xenobióticos em peixes são muito importantes, pois elas podem sofrer biomagnificação ao longo da cadeia alimentar ou também porque os peixes são utilizados como fonte direta para a alimentação humana (CLASEN et al., 2018). Desta forma, estudos sobre a bioacumulação possuem relevância tanto para o ponto de vista ecológico, quanto para a saúde humana (BUAH-KWOFIE; HUMPHRIES; PILLAY, 2018).

Os organoclorados, como os agrotóxicos ou componentes industriais, são xenobióticos que possuem características de bioacumulação nos tecidos gordurosos dos organismos, devido a sua alta lipofilicidade e resistência a biodegradação (DEWAILLY et al., 1993). Por isso, o uso destes compostos é limitado e restrito globalmente, com base nas recomendações da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (ARISEKAR et al., 2019). E mesmo depois de anos do seu uso ser banido, ainda é possível detectar a presença destes compostos no meio ambiente (PAULINO et al., 2014; VIEIRA et al., 2017, 2019).

Não são apenas os organoclorados que possuem características de bioacumulação, existem diversos estudos que comprovam e/ou evidenciam a bioacumulação de metais, organofosforados e outros agrotóxicos, também, nos tecidos dos peixes (CLASEN et al., 2018; GUO et al., 2017; MALAKOOTIAN; MORTAZAVI; AHMADI, 2016; WANG et al., 2017).



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

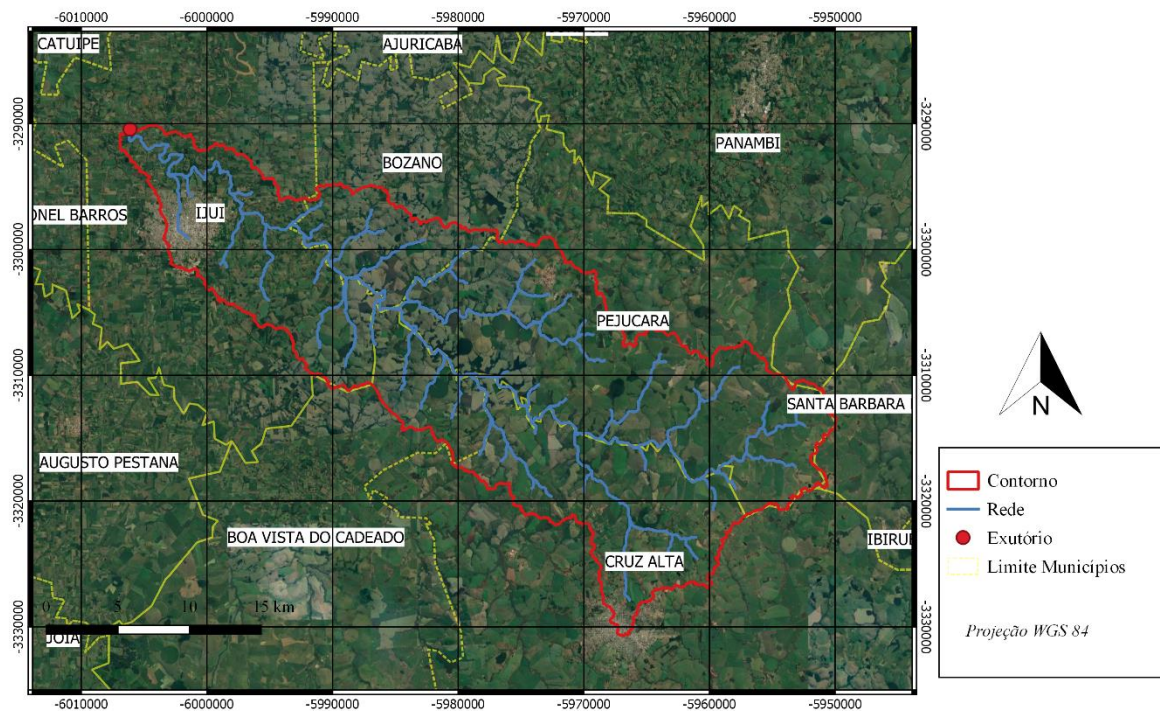
#### 3.1 ÁREA DE ESTUDO

O estado do RS abrange três regiões hidrográficas: a região do Rio Uruguai, do Guaíba e a região hidrográfica do Litoral. A Bacia Hidrográfica do Rio Uruguai possui uma importante sub-bacia denominada Bacia Hidrográfica do Rio Ijuí (U090), conforme a Secretaria Estadual do Meio Ambiente/RS. A Bacia do Rio Ijuí está localizada na região norte-noroeste do estado do Rio Grande do Sul, e o Rio Ijuí, que é o principal rio da bacia, possui suas nascentes no planalto meridional do RS, e é um importante afluente da margem esquerda do Rio Uruguai. Os principais tributários do Rio Ijuí são os Rios Potiribu, Conceição e Ijuzinho, contribuintes da margem esquerda.

A Bacia do Rio Ijuí é dividida em três regiões: Alto Ijuí (35,2% da área total), Médio Ijuí (38,9%) e Baixo Ijuí (25,9%) (SEMA, 2012). Na região do Alto Ijuí, está inserida a bacia do Rio Potiribu, que abrange parte dos municípios de Ijuí, Pejuçara, Bozano, Boa Vista do Cadeado e no seu limite extremo o município de Cruz Alta (Figura 1). De acordo com o mapa exploratório de solos do RS (IBGE, 2002), na Bacia do Rio Potiribu predomina basicamente os solos classificados em latossolos vermelhos. O Rio Potiribu, principal rio da bacia, possui relevância em termos de saneamento básico para a população urbana de Ijuí, devido a captação da água para o abastecimento público. Ao longo do percurso do rio existem áreas vulneráveis à entrada de contaminantes, tendo em vista a falta de vegetação nativa necessária ao seu entorno, bem como o plantio das cultivares até as proximidades das suas margens (Figuras 3, 4 e 5).

A Bacia do Rio Potiribu possui área total em torno de 600 km<sup>2</sup> e as principais atividades econômicas desta bacia estão associadas ao setor primário. O principal cultivo agrícola no município de Ijuí é a soja no período de verão, e em menores proporções, o milho; já no inverno em pequena escala há o cultivo de trigo, aveia, cevada, triticales, canola, entre outros. Alguns exemplos de ingredientes ativos dos agrotóxicos utilizados nas culturas do município são: 2,4-D, saflufenacil, glufosinato de amônio, paraquat, glifosato, atrazina, simazina, metsulfurom, mancozebe, imidacloprido, acefato, abamectina, clorantraniliprole, além de inseticidas piretroides e fungicidas a base de cobre. O município destina quase 71% da sua área para agricultura, sendo que as áreas reflorestadas correspondem a 21,35% e área urbana equivale a pouco mais de 3% (PLAMSAB, 2011).

Figura 1 – Mapa da Bacia do Rio Potiribu, localizada no noroeste do RS



Fonte: Autora (2019).

### 3.2 LOCAIS DE COLETA

Foram selecionados 3 pontos de amostragem ao longo do Rio Potiribu para coleta de água, sedimento e lambaris (*Astyanax* sp.), denominados P1, P2 e P3 (Figura 2), tendo como princípio de escolha a facilidade de acesso, e possíveis locais propícios para a coleta de *Astyanax* sp. que habitam no Rio Potiribu. O ponto 1 (P1), localiza-se a montante do município de Ijuí e recebe toda influência agrícola desde o início da bacia; o ponto 2 (P2) localiza-se nas proximidades da captação de água para o abastecimento local e o ponto 3 (P3) no exutório da Bacia do Rio Potiribu. A distância entre os pontos 1 e 2 é em torno de 7 km, e entre os pontos 2 e 3 a distância é de aproximadamente 27 km.

Figura 2 – Locais de coleta de amostras de água, sedimento e peixes no Rio Potiribu em Ijuí/RS



Fonte: Google Earth Pro, 2019.

### 3.3 COLETA DAS AMOSTRAS

O período produtivo das cultivares de primavera/verão no município de Ijuí/RS compreende os meses de setembro/outubro a abril; e as culturas de outono/inverno iniciam-se em maio e se estendem até agosto/setembro. Desta forma, as coletas de água, sedimento e peixes foram realizadas, no ano de 2019, no verão (fim do mês de janeiro) durante o período de cultivo da soja e milho; no outono (início do mês de junho) com o predomínio das cultivares de trigo e aveia; e no inverno (início do mês de setembro) período de transição entre o fim das culturas de outono/inverno e início das cultivares de primavera/verão (Figuras 3, 4, 5).

Figura 3 – Locais de acesso e de coleta de água, sedimento e peixes, realizada no verão de 2019 no Rio Potiribu em Ijuí/RS



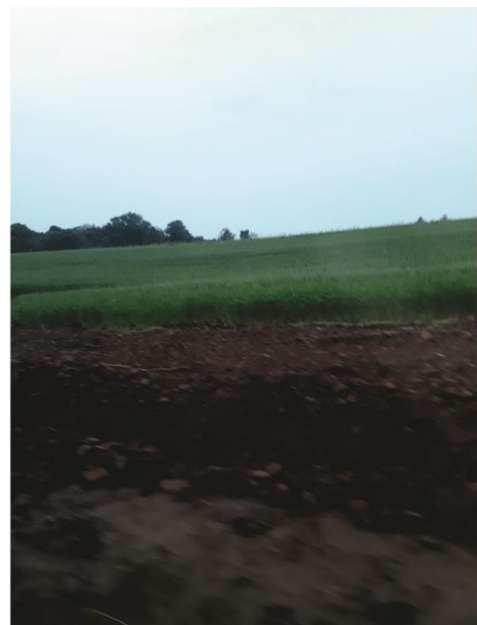
Fonte: Autora (2019)

Figura 4 – Locais de acesso e de coleta de água, sedimento e peixes, realizada no outono de 2019 no Rio Potiribu em Ijuí/RS



Fonte: Autora (2019)

Figura 5 – Locais de acesso e de coleta de água, sedimento e peixes, realizada no inverno de 2019 no Rio Potiribu em Ijuí/RS



Fonte: Autora (2019)

As amostras de água superficial coletadas para a análise de agrotóxicos foram acondicionadas em frascos de vidro de borossilicato âmbar, e para as análises físico-químicas e microbiológicas, em frascos plásticos conforme o Guia nacional de coleta e preservação de amostras da CETESB (2011). Os sedimentos foram coletados com auxílio de uma draga e embalados em recipientes plásticos. Após a coleta, os frascos foram mantidos em ambiente refrigerado até a realização das análises físico-químicas e microbiológicas (CETESB, 2011).

Os lambaris, de ambos os sexos, foram coletados com o auxílio de rede de pesca de malha 2mm. Optou-se por trabalhar com gênero *Astyanax* para aumentar o *n*, tendo em vista o tamanho pequeno desses peixes para as análises biológicas. Após a coleta, foi realizada a eutanásia através da secção de medula espinhal. Os tecidos foram retirados e armazenados em nitrogênio líquido, para posterior análises bioquímicas. A biometria dos peixes coletados, neste estudo, nos três locais ao longo do Rio Potiribu está disposta no Quadro 3, e alguns dos exemplares coletados podem ser observados na Figura 6. Este projeto foi aprovado pelo SISBIO, licença número 66994-1.

Quadro 3 – Biometria dos peixes coletados nos locais de amostragem ao longo do Rio Potiribu em Ijuí/RS

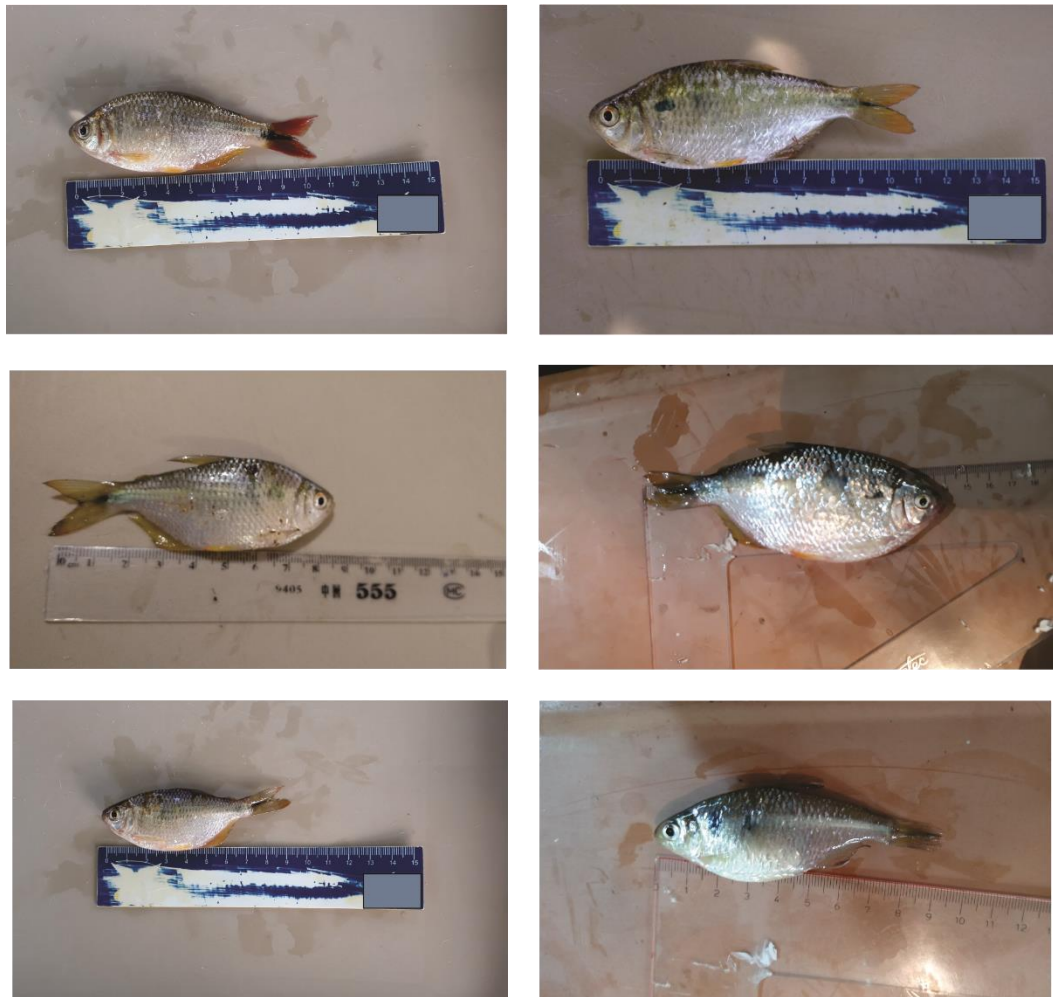
	Verão/2019			Outono/2019			Inverno/2019		
	Comp±DP	Massa±DP	<i>n</i>	Comp±DP	Massa±DP	<i>n</i>	Comp±DP	Massa±DP	<i>n</i>
P1	8,32±1,08 <sup>ab</sup>	9,09±4,44 <sup>cd</sup>	11	10,00±1,50 <sup>a</sup>	15,00±8,00 <sup>c</sup>	3	7,00±0,63 <sup>b</sup>	5,67±1,86 <sup>d</sup>	8
P2	8,86±0,85 <sup>a</sup>	9,86±3,08 <sup>c</sup>	7	8,08±0,66 <sup>a</sup>	6,67±1,97 <sup>c</sup>	6	8,92±0,66 <sup>a</sup>	9,83±1,94 <sup>c</sup>	6
P3	11,67±0,76 <sup>b</sup>	18,33±3,51 <sup>c</sup>	3	15,00±1,41 <sup>a</sup>	43,50±17,68 <sup>d</sup>	3	14,67±1,15 <sup>a</sup>	51,33±3,21 <sup>d</sup>	3

P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, Comp.: comprimento em cm, DP: desvio padrão, massa em g. Letras diferentes na linha (ab) indicam diferença significativa no comprimento dos lambaris entre períodos de coleta. Letras diferentes na linha (cd) indicam diferença significativa na massa dos lambaris entre períodos de coleta, com nível significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Autora (2019)



Figura 6 – Exemplos de *Astyanax* sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS ao longo do período amostral



Fonte: Autora (2019)

### 3.4 ANÁLISES DAS AMOSTRAS

#### 3.4.1 Análises físico-químicas e microbiológicas

As amostras de água e sedimento para detecção de agrotóxicos foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas – LARP na UFSM, e foram analisadas de acordo com a metodologia descrita por Sabin et al. (2009) e Martins et al. (2013). Neste mesmo laboratório, foi analisada a presença de agrotóxicos no músculo dos peixes, segundo a metodologia descrita por Munaretto et al. (2013). Na Tabela 1 estão dispostas as variáveis físico-químicas e microbiológicas da água e suas respectivas metodologias. As análises bioquímicas dos tecidos biológicos foram realizadas no Laboratório de Toxicologia Aquática,

já as análises de qualidade da água foram efetivadas no Laboratório de Engenharia do Meio Ambiente e Laboratório de Toxicologia Aquática – UFSM, exceto as análises de nitrogênio total e carbono total que foram realizadas no Laboratório de Biotransformações de Carbono e Nitrogênio – UFSM. A concentração de oxigênio dissolvido ao longo de todo Rio Potiribu é  $\geq 6 \text{ mg L}^{-1}$  (SEMA, 2012).

Tabela 1 – Análises físico-químicas e microbiológicas da água e as metodologias utilizadas

Variáveis	Método
Temperatura	Sonda Horiba® U-52
pH	Sonda Horiba® U-52
Condutividade elétrica	Sonda Horiba® U-52
Potencial de oxidação/redução	Sonda Horiba® U-52
Turbidez	Sonda Horiba® U-52
Sólidos dissolvidos totais	Sonda Horiba® U-52
Amônia total	Verdouw et al. (1978)
Nitrogênio total	APHA (2012)
Fósforo total	APHA (2012)
Ortofosfato	APHA (2012)
Dureza total	APHA (2012)
Carbono total	APHA (2012)
Coliformes totais*	APHA (2012)
<i>Escherichia coli</i> *	APHA (2012)

\*Presença ou ausência.

Fonte: Autora (2019)

### 3.4.2 Análises bioquímicas

As análises de tecidos biológicos foram realizadas em cérebro, brânquias, fígado, intestino e músculo dos peixes, homogeneizados com tampão Tris-HCl [50 mM] pH 7,5 e centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi utilizado para todas as análises. As análises bioquímicas realizadas estão apresentadas na Tabela 2, e todas foram modificadas para microplaca, exceto a catalase.

Tabela 2 – Análises bioquímicas e metodologias utilizadas

<b>Análise</b>	<b>Método</b>
Atividade da catalase (EC 1.11.1.6)	Aebi (1984)
Atividade da glutathiona S-transferase (EC 2.5.1.18)	Habig et al. (1974)
Níveis de tióis não proteicos	Ellman (1959)
Determinação da peroxidação lipídica	Draper e Hadley (1990)
Ensaio da proteína carbonil	Yan et al. (1995)
Atividade da acetilcolinesterase (AChE) (EC 3.1.1.7)	Ellman et al. (1961)
Determinação de proteína	Bradford (1976)

Fonte: Autora (2019)

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Uma análise de variância (ANOVA) de duas vias, expressa em média  $\pm$  desvio padrão, foi utilizada para verificar a influência do período do ano em relação às respostas bioquímicas, usando os períodos e os locais como fatores, com o pós-teste de Tukey. Os dados de qualidade da água foram submetidos a uma ANOVA de uma via, com pós-teste de Tukey, para verificar se houve diferença significativa entre os períodos de coleta. Para a biometria dos peixes, foi utilizada uma ANOVA de uma via para comparar as médias das massas e comprimentos dos peixes do mesmo ponto entre os períodos de coleta. Os resultados significativos foram considerados com  $p \leq 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA

A maioria das variáveis físico-químicas avaliadas neste estudo não apresentaram diferença significativa entre os períodos de coleta, como o pH, potencial de oxidação/redução, condutividade elétrica, sólidos dissolvidos totais, dureza total, nitrogênio total, amônia total e ortofosfato. Por outro lado, as variáveis físico-químicas relacionadas a temperatura da água, turbidez, carbono total e nitrogênio total apresentaram diferença significativa entre os períodos amostrais (Quadro 4).

A temperatura da água obteve valores médios significativamente mais elevados no período de verão, comparado aos outros períodos, devido a sazonalidade. De acordo com o IRGA (2019), a média das temperaturas mínimas no município de Ijuí no mês de janeiro/2019 foi 19,2 °C e a média das temperaturas máximas foi de 30,1 °C; já nos meses de maio e agosto/2019, que antecederam as coletas realizadas no início de junho e setembro, as médias mínimas e máximas foram, respectivamente, de 12,3 e 21,7 °C e 10,8 e 21,5 °C. Conforme a classificação de Köppen, quase todo território do Rio Grande do Sul possui clima Temperado do tipo Subtropical, classificado como Mesotérmico Úmido (Cfa). Desta forma, apresenta grande variação na temperatura em relação as estações do ano, com verões quentes e invernos mais frios. Às precipitações pluviométricas apresentam distribuição equilibrada ao longo de todo ano (RIO GRANDE DO SUL, 2002).

Já os valores de turbidez da água aumentaram significativamente no verão em relação ao inverno. Os valores mais altos de turbidez de janeiro e junho/2019, estão relacionados com a precipitação pluviométrica que antecedeu os dias de coleta, pelo carreamento de partículas para dentro do rio, provenientes das áreas ao seu entorno e pelos processos erosivos. Conforme a Estação Meteorológica Automática de Cruz Alta – RS: A853 (INMET, 2019), localizada no município vizinho de Ijuí, a precipitação mensal registrada em janeiro, maio e agosto/2019 foram 265, 304 e 45 mm, respectivamente.

Quadro 4 – Variáveis de qualidade da água do Rio Potiribu/RS nos três pontos de coleta, no período de verão, outono e inverno de 2019

	Verão				Outono				Inverno			
	P1	P2	P3	M	P1	P2	P3	M	P1	P2	P3	M
Temp.	22,1±0,01	23,1±0,01	23,5±0,01	22,9 <sup>a</sup>	15,8±0,01	15,9±0,01	17,4±0,25	16,37 <sup>b</sup>	14,8±0,01	15,3±0,06	15,6±0,07	15,23 <sup>b</sup>
pH	6,3±0,16	6,4±0,12	6,9±0,27	6,5 <sup>a</sup>	7,5±0,11	6,5±0,13	7,1±0,48	7,0 <sup>a</sup>	7,4±0,17	7,1±0,18	7,4±0,06	7,3 <sup>a</sup>
PR	305,5±17,68	359±7,07	287,5±24,75	317,3 <sup>a</sup>	264,5±33,23	307±8,49	237,5±28,99	269,7 <sup>a</sup>	318±4,24	308,5±7,78	283,5±3,54	303,3 <sup>a</sup>
CE	0,047±0,00	0,050±0,00	0,063±0,00	0,053 <sup>a</sup>	0,045±0,00	0,048±0,00	0,055±0,00	0,049 <sup>a</sup>	0,050±0,00	0,053±0,00	0,074±0,00	0,059 <sup>a</sup>
Turb.	70,1±0,71	71,3±0,99	108,3±0,63	83,23 <sup>a</sup>	65±0,28	63,8±0,57	91,3±2,05	73,37 <sup>ab</sup>	42,2±2,12	36±0,28	39,1±0,49	39,10 <sup>b</sup>
SDT	30±0,00	32±0,00	41±0,00	34 <sup>a</sup>	29±0,00	31±0,00	36±0,00	32 <sup>a</sup>	33±0,00	34±0,00	18±0,00	28 <sup>a</sup>
Dur.	20±1,41	25±0,71	27±1,41	24 <sup>a</sup>	26±5,56	24±2,12	26±1,41	25 <sup>a</sup>	26±1,41	30±2,83	32±1,41	29 <sup>a</sup>
NT	0,75±0,01	0,66±0,01	1,01±0,01	0,81 <sup>a</sup>	0,78±0,00	0,82±0,01	1,04±0,01	0,88 <sup>a</sup>	0,74±0,01	0,64±0,00	1,31±0,01	0,89 <sup>a</sup>
AT	0,19±0,001	0,17±0,001	0,26±0,000	0,21 <sup>a</sup>	0,12±0,003	0,15±0,000	0,06±0,001	0,11 <sup>a</sup>	0,18±0,007	0,30±0,008	0,22±0,003	0,23 <sup>a</sup>
CT	3,44±0,01	2,74±0,01	2,67±0,01	2,95 <sup>b</sup>	5,41±0,01	5,91±0,01	6,16±0,00	5,83 <sup>a</sup>	6,39±0,00	6,15±0,01	7,53±0,01	6,69 <sup>a</sup>
FT	0,125±0,281	0,054±0,002	0,085±0,006	0,088 <sup>a</sup>	0,025±0,000	0,034±0,022	0,025±0,002	0,028 <sup>b</sup>	0,035±0,03	0,041±0,000	0,062±0,065	0,046 <sup>ab</sup>
Ortof.	0,016±0,001	0,016±0,001	0,024±0,000	0,019 <sup>a</sup>	0,008±0,002	0,011±0,000	0,020±0,000	0,013 <sup>a</sup>	0,012±0,003	0,009±0,001	0,031±0,003	0,017 <sup>a</sup>
Colif.	+	+	+		+	+	+		+	+	+	
<i>E. coli</i>	+	+	+		+	+	+		+	+	+	

P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, M: média, Temp.: temperatura da água (°C), pH: potencial hidrogeniônico, PR: potencial de oxidação/redução (mV), CE: condutividade elétrica (mS cm<sup>-1</sup>), Turb.: turbidez (UNT), SDT: sólidos dissolvidos totais (mg L<sup>-1</sup>), Dur.: dureza total (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), NT: nitrogênio total (mg L<sup>-1</sup>), AT: amônia total (mg L<sup>-1</sup>), CT: carbono total (mg L<sup>-1</sup>), FT: fósforo total (mg L<sup>-1</sup>), Ortof.: ortofosfato (mg L<sup>-1</sup>), colif.: coliformes totais (+: presença) e *E. coli*: *Escherichia coli* (+: presença). Letras diferentes correspondem a diferença estatística entre médias na linha, com nível significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: Autora (2019)

A concentração de fósforo total no Rio Potiribu esteve significativamente mais alta no período de verão, e apresentou diferença significativa com a coleta de outono. Normalmente os solos das regiões agrícolas possuem concentrações mais altas de fósforo devido ao uso de fertilizantes, e durante eventos de chuva intensa, os recursos hídricos próximos as áreas cultivadas podem receber descargas deste provenientes do escoamento e processos erosivos (BENDER et al., 2018; TIECHER et al., 2017, 2019). As características do solo, como por exemplo o pH, estão diretamente relacionadas com a mobilidade do fósforo no sistema solo-água (TIECHER et al., 2019). Mainstone e Parr (2002) salientam que os principais contribuintes para os níveis de fósforo nos sedimentos dos rios provêm da agricultura, e que este elemento pode ser disponibilizado para a coluna de água por diversos processos físico-químicos. Diante disso, possivelmente a concentração mais alta de fósforo no Rio Potiribu está relacionada com a utilização de fertilizantes no cultivo de soja e milho, e que, devido a intensa precipitação pluviométrica acabou sendo transportado para o rio. A alta concentração de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, pode causar problemas de eutrofização nos recursos hídricos.

A concentração de carbono total apresentou aumento significativo nos períodos de outono e inverno em relação ao verão. O carbono total é a soma das frações de carbono orgânico e inorgânico presentes na matriz líquida (BISUTTI; HILKE; RAESSLER, 2004). Em se tratando da poluição das águas, geralmente é realizada a medição do carbono orgânico total, que apresenta importante relação com o oxigênio dissolvido, já que a matéria orgânica é responsável pelo consumo de oxigênio dissolvido na água, por meio de microrganismos decompositores. A origem do carbono orgânico nos recursos hídricos pode ser devido a decomposição da matéria orgânica vegetal e animal, tanto autóctone quanto alóctone, carreados pelo escoamento e lixiviação do solo, e também, devido aos despejos de efluentes (CORRELL; JORDAN; WELLER, 2001). Durante o período de verão a concentração de carbono total na água foi significativamente menor em relação aos demais períodos de coleta. Este fato pode estar relacionado com a cobertura do solo, que forma uma proteção à ação da chuva, pela menor área de exposição, como pode ser observado nas figuras 3, 4 e 5. Por outro lado, a concentração maior de carbono total foi verificada no inverno, que coincide com o período menos chuvoso, o que pode ser explicado pela menor diluição de compostos orgânicos presentes na água.

Nos pontos P1, P2 e P3 de todos os períodos de coleta pode-se verificar a presença de coliformes totais e *E. coli* (Quadro 4), o que sugere contaminação de origem fecal. Estas bactérias são indicadoras de contaminação fecal de origem humana e animal, e podem estar relacionadas com doenças de veiculação hídrica. A fonte de contaminação dos rios por *E. coli* pode ocorrer pelas descargas municipais de esgoto, lixiviação de fossas sépticas, atividades

agropecuárias e agrícolas, presença de animais silvestres, e estão correlacionados positivamente com a precipitação pluviométrica, devido ao aumento do escoamento (AN; KAMPBELL; BREIDENBACH, 2002).

O Brasil apresenta padrões de enquadramento de qualidade de água doce que são definidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005), dispostos no Quadro 5. De acordo com valores médios das variáveis de qualidade da água obtidas nos pontos P1, P2 e P3, em cada período de coleta (Quadro 6), pode-se classificar o Rio Potiribu da seguinte forma: no verão P1 foi enquadrado em classe 3, P2 em classe 2 e P3 em classe 4; no outono todos os pontos foram enquadrados em classe 2; já no inverno, P1 foi enquadrado em classe 2 e P2 e P3 em classe 1. Conforme esta Resolução, as águas doces classificadas como 1, 2, 3 e 4 podem ser destinadas para:

- Classe 1: a) abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;  
 b) à proteção das comunidades aquáticas;  
 c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000;  
 d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e  
 e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.
- Classe 2: a) abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;  
 b) à proteção das comunidades aquáticas;  
 c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000;  
 d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e  
 e) à aquicultura e à atividade de pesca.
- Classe 3: a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;  
 b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;  
 c) à pesca amadora;  
 d) à recreação de contato secundário; e  
 e) à dessedentação de animais.
- Classe 4: a) à navegação; e  
 b) à harmonia paisagística (BRASIL, 2005).

Quadro 5 – Padrões de qualidade de águas doces superficiais segundo a Resolução CONAMA nº 357/2005

Variáveis	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
SDT	≤ 500	≤ 500	≤ 500	-
Fósforo total	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,15	-
N-amoniaco total*	≤ 3,7	≤ 3,7	≤ 13,3	-
Turbidez	≤ 40	≤ 100	≤ 100	-
pH	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9

SDT: sólidos dissolvidos totais. \*para pH ≤ 7,5. SDT, fósforo total e nitrogênio amoniacal total em mg L<sup>-1</sup> e turbidez em Unidades Nefelométricas de Turbidez – UNT.

Fonte: Autora (2019)

Quadro 6 – Variáveis de qualidade da água analisadas no Rio Potiribu/RS no ano de 2019, que estão contempladas na Resolução CONAMA nº 357/2005

Variável/Coleta	Verão			Outono			Inverno		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
SDT	30	32	41	29	31	36	33	34	18
Fósforo total	0,125	0,054	0,085	0,025	0,034	0,025	0,035	0,041	0,062
N-amoniaco total	0,19	0,17	0,26	0,12	0,15	0,06	0,18	0,30	0,22
Turbidez	70,1	71,3	108,3	65	63,8	91,3	42,2	36	39,1
pH	6,3	6,4	6,9	7,5	6,5	7,1	7,4	7,1	7,4

SDT: sólidos dissolvidos totais, P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3. SDT, fósforo total e nitrogênio amoniacal total em mg L<sup>-1</sup> e turbidez em UNT.

Fonte: Autora (2019)

De acordo com os padrões de qualidade da água, estabelecidos pela legislação brasileira, pode-se verificar que no inverno a água do Rio Potiribu apresentou melhor qualidade, em contrapartida, no período de verão o ponto 3 enquadrou-se como classe 4, podendo ser destinada apenas a usos menos exigentes. Estes resultados corroboram com o enquadramento proposto no Processo de planejamento dos usos da água da Bacia Hidrográfica do Rio Ijuí (SEMA, 2012), que indica menor qualidade da água do Rio Potiribu no trecho a jusante do município, tendo em vista a interferência urbana, pelos despejos domésticos. Este relatório apresenta metas para a melhoria da qualidade da água do Rio Potiribu, com metas previstas para um horizonte de 20 anos, que classifica o curso de água a montante da cidade de Ijuí como classe 1 e a jusante como classe 2, e esta proposta de enquadramento foi aprovada pela Resolução nº 111/2012 (RIO GRANDE DO SUL, 2012). Embora as variáveis físico-químicas da água avaliados neste



estudo não contemplam todas que estão presentes na Resolução citada, já é possível avaliar de maneira geral a qualidade da água do Rio Potiribu nos períodos amostrais.

#### 4.2 PRESENÇA DE AGROTÓXICOS NA ÁGUA, SEDIMENTO E MÚSCULO DOS PEIXES

No Quadro 7, estão dispostos os agrotóxicos detectados na água do Rio Potiribu/RS nas coletas realizadas nesta pesquisa. Durante o período de verão/2019, foi detectada a presença dos agrotóxicos (ingredientes ativos) atrazina nos pontos 1 e 2, clomazone, em todos pontos de coleta, e imidacloprido no ponto 3. No outono/2019 foi possível observar a presença do agrotóxico fenpropimorfe no sedimento do ponto 2, porém abaixo do limite de quantificação do método (Quadro 8), clomazone na água em todos os pontos de coleta e imidacloprido nos pontos 1 e 3 abaixo do limite de quantificação do método. No período de coleta de inverno/2019, foram detectados, na água, os agrotóxicos atrazina e clomazone em todos pontos de coleta e imidacloprido no ponto 3, porém abaixo do limite de quantificação do método. Não foram detectados agrotóxicos nos sedimentos nos períodos de verão e inverno. A caracterização dos agrotóxicos detectados neste estudo está apresentada no Quadro 9, e o total de ingredientes ativos analisados na água e no sedimento em cada período e pontos de coleta estão dispostos nos Apêndices B, C, E, F, H e I.

Quadro 7 – Ingredientes ativos detectados na água do Rio Potiribu/RS nos períodos de coleta

Agrotóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )			Pontos de coleta		
Verão/2019	LOD	LOQ	P1	P2	P3
Atrazina	0,006	0,020	0,035	0,032	<LOQ
Clomazone	0,006	0,020	0,198	0,178	0,201
Imidacloprido	0,006	0,020	<LOQ	<LOQ	0,305
<b>Outono/2019</b>					
Clomazone	0,006	0,020	0,224	0,186	0,225
Imidacloprido	0,006	0,020	<LOQ	n.d.	<LOQ
<b>Inverno/2019</b>					
Atrazina	0,006	0,020	0,035	0,040	0,042
Clomazone	0,006	0,020	0,213	0,199	0,237
Imidacloprido	0,006	0,020	n.d.	n.d.	<LOQ

LOQ: Limite de quantificação do método. LOD: Limite de detecção do método. n.d.: não detectado. P1: ponto 1, P2: ponto 2 e P3: ponto 3. Fonte: A autora (2019)

Com relação a presença de ingredientes ativos de agrotóxicos no músculo dos lambaris, em todos os períodos de coleta (verão, outono e inverno) nos três pontos amostrados, não foi detectado nenhum composto químico (Apêndices D, G e J) neste tecido biológico.

Quadro 8 – Agrotóxico detectado no sedimento do Rio Potiribu/RS no período de outono de 2019

Agrotóxico (mg kg <sup>-1</sup> )			Pontos de coleta		
Outono/2019	LOD	LOQ	P1	P2	P3
Fenpropimorfe	0,003	0,008	n.d.	<LOQ	n.d.

LOQ: Limite de quantificação do método. LOD: Limite de detecção do método. n.d.: não detectado. P1: ponto 1, P2: ponto 2 e P3: ponto 3.

Fonte: A autora (2019)

Quadro 9 – Caracterização dos ingredientes ativos detectados nos períodos de coleta

Ingrediente Ativo	Grupo químico	Classe Agronômica	Classificação toxicológica
Atrazina	Triazina	Herbicida	III
Clomazone	Isoxazolidinona	Herbicida	III
Imidacloprido	Neonicotinóide	Inseticida	III
Fenpropimorfe	Morfolina	Fungicida	II

Fonte: ANVISA – Monografias autorizadas (2019a).

Dentre os agrotóxicos detectados na água do Rio Potiribu/RS nos períodos de amostragem, apenas a atrazina contém valor de limite máximo permitido nas águas superficiais, de acordo a Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005). O limite máximo estabelecido é de 2 µg L<sup>-1</sup>, desta forma, as concentrações determinadas neste estudo estão em conformidade com a concentração estabelecida pela legislação brasileira.

De acordo com a ANVISA, o uso agrícola da atrazina é a “aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de abacaxi, cana-de-açúcar, milho, milheto, pinus, seringueira, sisal e sorgo”. Já o clomazone é utilizado na “aplicação em pré-emergência das plantas infestantes nas culturas de algodão, arroz, batata, cana-de-açúcar, eucalipto, fumo, mandioca, melão, milho, pimentão e soja”. O fenpropimorfe é usado na “aplicação foliar nas culturas do algodão, banana, cevada, soja e trigo”. E por último, o imidacloprido, conforme abaixo:

- Aplicação foliar nas culturas de alface, algodão, alho, almeirão, amendoim, arroz, banana, batata, berinjela, café, cana-de-açúcar, cebola, cenoura, citros, couve, couve-flor, crisântemo, eucalipto, feijão, fumo, gérbera, goiaba, jiló, mamão, manga, maracujá, melancia, milho, palma forrageira, pastagens, pepino, pimentão, pinus, poinsétia, soja, tomate, trigo e uva.
- Aplicação foliar em mudas de abacaxi, abóbora, abobrinha, brócolis, chicória, couve-flor, eucalipto, melancia, melão, pepino, repolho.
- Aplicação no solo nas culturas de cana-de-açúcar, café, citros, eucalipto, fumo e pinus.
- Aplicação no tronco de café, citros, mamão, pêssego e uva.
- Aplicação em sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, cevada, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo e trigo.
- Aplicação no controle de cupins, conforme aprovação em rótulo e bula.

Aproximadamente 20% do total do uso mundial de agrotóxicos ocorre no Brasil, o que o caracteriza como o maior consumidor (ALBUQUERQUE et al., 2016). No Rio Grande do Sul, a região noroeste apresenta os maiores volumes de agrotóxicos utilizados por área, e esta região é caracterizada pelo cultivo de soja, milho e trigo (BARRETO; HERMAN; GARIBOTTI, 2012). Diversos agrotóxicos que são utilizados no Brasil, são proibidos em países europeus, como por exemplo, a atrazina (PIANCINI et al., 2015), que foi detectada na água avaliada neste estudo.

A atrazina (6-cloro-N<sup>2</sup>-etil-N<sup>4</sup>-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) é um herbicida que foi introduzido na década de 1950 (LASSERRE et al., 2009) e é, desde então, amplamente utilizado em todo o mundo, para o controle de certas plantas daninhas de folhas largas, principalmente em milho, sorgo e cana-de-açúcar (SOLOMON et al., 1996). Seu mecanismo de ação está relacionado com a inibição da fotossíntese nas plantas, e quando lançado no meio ambiente, a sua meia-vida está estimada em até 90 dias na água, podendo chegar até 740 dias dependendo das condições ambientais, de 15 a 35 dias nos sedimentos (SOLOMON et al., 1996), e persistência no solo de até 230 dias (PAULINO; SAKURAGUI; FERNANDES, 2012). A atrazina e seus metabólitos são bem dispersos e persistentes no ambiente, pois há relatos da persistência deste herbicida no solo 22 anos após sua aplicação (JABLONOWSKI; SCHÄFFER, 2011). Fatores abióticos como a temperatura, fonte de luz, tipo de sedimento podem influenciar na variação da meia-vida, além do pH da água, que quanto mais alto, maior a persistência do herbicida (SOLOMON et al., 1996, 2008). A solubilidade da atrazina em água é de 34 mg L<sup>-1</sup> (OTURAN; BRILLAS; OTURAN, 2012).

Na Alemanha, a atrazina foi muito utilizada principalmente no cultivo de milho, porém, desde 1991 seu uso é proibido, devido ao fato de que as concentrações detectadas na água subterrânea e potável excederam os limites permitidos na legislação local. Mesmo dez anos após a proibição da atrazina, concentrações consideráveis desta e de seu metabólito

desetilatrazina ainda foram registradas nas águas subterrâneas (TAPPE; GROENEWEG; JANTSCH, 2002). No Brasil, na região sul, Loro et al. (2015) coletaram amostras de água em ambiente lótico e lêntico no médio Rio Uruguai em períodos sazonais diferentes, e detectaram concentrações médias de atrazina no ambiente lótico de 4,15 e 2,6  $\mu\text{g L}^{-1}$  nos meses quentes e frios, respectivamente. Já no ambiente lêntico, no frio foi detectado a concentração média de 3,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  e no quente 5,4  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A atrazina detectada na água do Rio Potiribu/RS neste estudo, no período de verão/2019, provavelmente é de origem do cultivo de milho, que é uma cultura de primavera/verão. No inverno/2019, a atrazina possivelmente também estava relacionada com o milho, pois em algumas lavouras ele já estava sendo cultivado novamente.

Clomazone (2-(2-clorofenil) metil-4,4-dimetil-3 isoxazolidinona) é um herbicida amplamente utilizado na agricultura para o controle de plantas daninhas pré e pós-emergentes (PEREIRA; FERNANDES; MARTINEZ, 2013). No sul do Brasil o clomazone é utilizado principalmente em lavouras de arroz (JONSSON et al., 1998; MENEZES et al., 2014), mas também no cultivo de soja, algodão e outras culturas (LIU; SHOCKEN; ROSAZZA, 1996). Quando utilizado no cultivo da soja, a sua aplicação deve ser exclusivamente antes da germinação da soja. O seu mecanismo de ação está relacionado com a inibição da síntese de carotenoides (PEREIRA; FERNANDES; MARTINEZ, 2013). De acordo com as características físico-químicas deste herbicida, pode-se dizer que ele é altamente solúvel em água (em torno de 1000  $\text{mg L}^{-1}$ ), e sua meia-vida no solo está estimada em torno de 14 semanas (MERVOSH; SIMS; STOLLER, 1995; MURUSSI et al., 2015) e na água em 7,2 dias (QUAYLE; OLIVER; ZRNA, 2006), embora, os seus resíduos possam persistir até 130 dias em águas agrícolas (ZANELLA et al., 2002). No estudo realizado por Zanella et al. (2002) foi detectado clomazone em 90% nas amostras de água coletadas nos rios da região central do RS caracterizadas pelo cultivo de arroz irrigado.

Neste estudo, o clomazone foi detectado em todas as amostras de água coletadas no Rio Potiribu, em todos os períodos analisados. Este produto químico é recomendado para algumas culturas de primavera/verão presentes no município, porém, não é possível determinar com precisão a sua origem em todas as coletas, tendo em vista que no período de inverno ele também foi detectado. Embora tenha seu uso recomendado para o milho e a soja, este ingrediente ativo é utilizado no cultivo de arroz irrigado no estado do RS, e é totalmente desconhecido pelos funcionários de assistência agrícola municipal de Ijuí.

O inseticida imidacloprido (1-(6-cloro-3-piridilmetil)-N-nitroimidazolidin-2-ilideneamina) pertence à classe química dos neonicotinóides, sendo esta classe de inseticidas

uma das mais importante do mercado global. O imidacloprido foi o precursor para o sucesso dessa classe química, quando lançado pela Bayer em 1991, e, desde então, é o inseticida mais vendido no mundo (NAUEN; JESCHKE; COPPING, 2008). Os agrotóxicos desta classe estão registrados em mais de 120 países e são utilizados para o controle de insetos como pulgões, moscas-brancas, gafanhotos, besouros, dentre outros insetos sugadores e perfurantes (JESCHKE et al., 2011), e também são utilizados para o tratamento de sementes, solo e aplicações foliares (TIŠLER et al., 2009). Embora a proteção das culturas agrícolas seja o principal uso do imidacloprido, ele também é utilizado para o controle de pulgas em cães e gatos, e entomologia urbana, como por exemplo, moscas domésticas (NAUEN; JESCHKE; COPPING, 2008; TOMIZAWA; CASIDA, 2005). A solubilidade do imidacloprido em água é de  $500 \text{ mg L}^{-1}$  (FELSOT et al., 1998) e a meia-vida deste inseticida nos recursos hídricos além de estar relacionada com o tipo de formulação comercial e a concentração aplicada, relaciona-se com o pH da água, pois quanto mais alto o valor do pH maior a persistência neste ambiente (SARKAR et al., 1999). De acordo com Sarkar et al. (1999), a meia-vida da formulação comercial Confidor SL 200 pode variar de 31 a 43 dias. Já para a formulação Gaucho 70 WS a meia-vida pode ser estimada entre 34 e 46 dias, ambas dependendo do pH (4 e 9, respectivamente) e a da concentração aplicada.

Conforme o estudo realizado por Hladik e Kolpin (2016), pode-se atribuir a entrada do inseticida nos recursos hídricos devido ao uso tanto na agricultura quanto usos urbanos. Sadaria et al. (2017) expõem que a contribuição urbana do imidacloprido, utilizado para o controle de pulgas e carrapatos em animais de estimação, nos recursos hídricos se dá pelo lançamento de esgotos, e merece mais investigação e inclusão em avaliações de risco. Tišler et al. (2009), salientam que faltam dados sobre o comportamento ambiental do imidacloprido, por exemplo, a biodegradação e bioacumulação. No município de Agudo – RS, região caracterizada pelo cultivo de tabaco, foram avaliados agrotóxicos no rio em locais com alta e baixa atividade antropogênica, e foi detectada a presença de clomazone, nas concentrações de 1,72 e  $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$ , imidacloprido 3,65 e  $0,67 \mu\text{g L}^{-1}$  e atrazina 0,21 e  $0,22 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente (BECKER et al., 2009). Amaral et al. (2018), coletaram amostras de água do reservatório Passo Real – RS e encontraram concentrações de atrazina de 0,21 a  $0,56 \mu\text{g L}^{-1}$  no verão e 0,02 a  $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$  no inverno, e imidacloprido nas concentrações de 0,02 –  $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$  no inverno.

Apesar das vantagens do imidacloprido como modo de ação seletivo, a Comissão Europeia adotou uma proposta para restringir o uso do imidacloprido e outros dois agrotóxicos neonicotinóides por um período de 2 anos – 2013 a 2015 (COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) N° 485/2013, 2013), tendo em vista a avaliação de risco do imidacloprido

para abelhas, de acordo com o relatório da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2013).

O imidacloprido presente na água do Rio Potiribu, neste estudo, pode estar relacionado com o cultivo agrícola de inverno (trigo) e primavera/verão (milho e soja) da região, porém, no verão foi registrada a maior concentração do inseticida no ponto 3, a jusante do município de Ijuí, o que sugere a contaminação de origem urbana. O mesmo ocorreu no período de inverno, nos locais a montante da cidade não foram detectados o inseticida, já a jusante, no ponto 3, foi detectado, porém abaixo do limite de quantificação do método (<LOQ).

O fenpropimorfe ((±)-cis-4-[3-(4-terc-butilfenil)-2-metilpropil]-2,6-dimetilmorfolina), único agrotóxico detectado no sedimento neste estudo, é um fungicida muito utilizado nas culturas de cereais. Geralmente, é adicionado a outros agrotóxicos para aumentar o efeito da formulação (DRAZOVSKA et al., 2016). A solubilidade deste fungicida em água é baixa: 4,3 mg L<sup>-1</sup> em pH 7 e temperatura de 22°C (STAIMER; MÜLLER; KUBIAK, 1996). A meia vida do ingrediente ativo é de 91 a 180 dias no meio ambiente (GARCIA, 2005).

O fenpropimorfe, único ingrediente ativo detectado no sedimento durante todo período de estudo, é recomendado para a cultura da soja e pode indicar contaminação mais antiga do recurso hídrico. Por outro lado, também é indicado para o cultivo de trigo, que pode ter sido a fonte de contaminação do Rio Potiribu no outono, no ponto 2 (<LOQ).

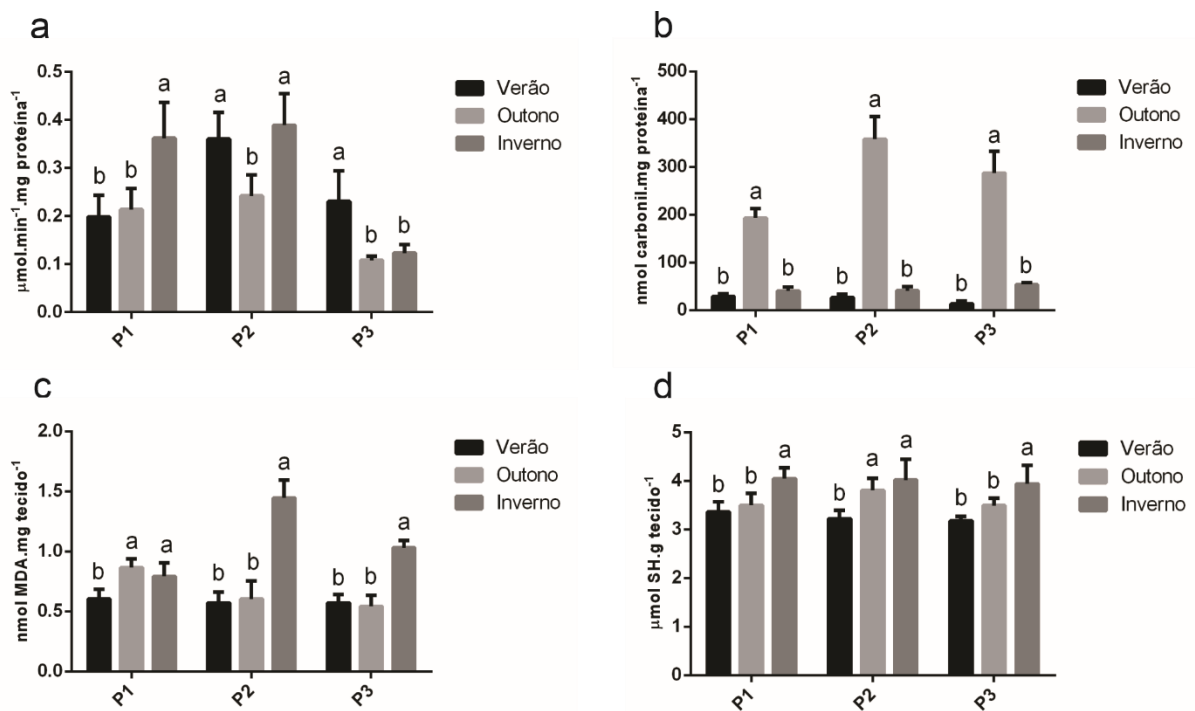
Diante do que foi exposto, evidencia-se a importância da avaliação de variáveis de qualidade da água em conjunto com a avaliação de agrotóxicos, pois as características físico-químicas da água podem influenciar no comportamento destes compostos químicos no ambiente. Além do pH e temperatura, acima citados, a avaliação da dureza total da água é muito importante. A dureza da água está relacionada principalmente com a concentração de cálcio (Ca<sup>+2</sup>) e magnésio (Mg<sup>+2</sup>), e sabe-se que águas duras podem influenciar na solubilidade dos agrotóxicos, tornando-os insolúveis, quando em contato (QUEIROZ; MARTINS; CUNHA, 2008). E, por fim, o resultado destes fatores, pode comprometer a saúde dos organismos presentes no meio aquático e o equilíbrio ecológico.

#### 4.3 BIOMARCADORES DE TOXICIDADE EM *Astyanax* sp.

No cérebro, a atividade da enzima AChE no ponto 1 foi significativamente maior no inverno, em relação ao verão e outono/2019, que não apresentaram diferença significativa entre eles. Já no ponto 2, houve menor atividade significativa desta enzima no outono em comparação com o verão e inverno. No ponto 3 houve maior atividade significativa no verão, em relação

aos outros períodos coletados. Houve aumento significativo dos níveis de proteínas carbonil em todos os pontos de coleta (P1, P2 e P3) no outono, em relação ao verão e inverno em cada ponto. Os níveis de peroxidação lipídica, no ponto 1, foram significativamente maiores no outono e inverno, em relação ao verão. Nos pontos 2 e 3, ambos na coleta de inverno apresentaram níveis de peroxidação lipídica significativamente maiores, em comparação com as demais coletas, entre o mesmo ponto. Os tióis não proteicos, no ponto 2, apresentaram níveis significativamente maiores nas coletas de outono e inverno, em relação a de verão. Já nos pontos 1 e 3, ambos apresentaram níveis significativamente maiores de tióis não proteicos na coleta de inverno, comparado com as demais coletas entre o mesmo ponto (Figura 7). No apêndice A estão dispostos os valores de cada biomarcador de toxicidade analisado, em cada tecido biológico dos peixes.

Figura 7 – Análises bioquímicas em cérebro de *Astyanax* sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019

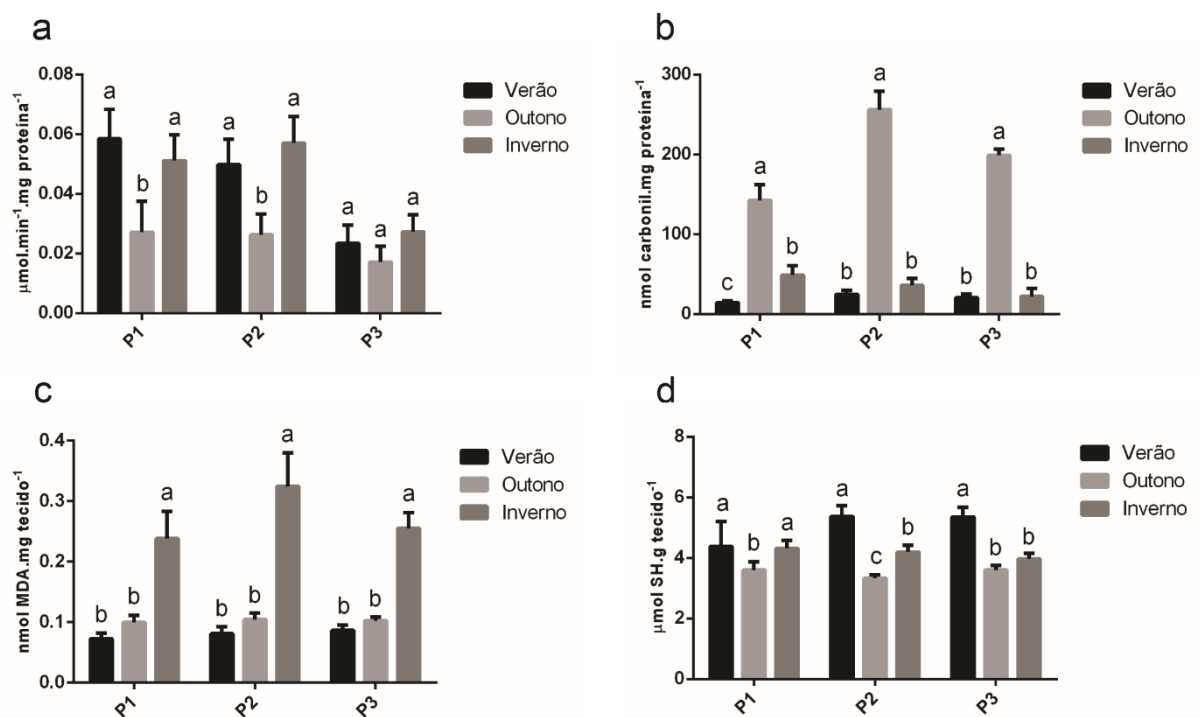


P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, a: atividade da acetilcolinesterase, b: níveis de proteínas carbonil, c: níveis de substâncias reativas ao TBA, d: níveis de tióis não proteicos. Letras diferentes correspondem a diferença significativa entre o mesmo ponto nos diferentes períodos de coleta, com nível significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

No músculo, a atividade da AChE foi significativamente menor nos pontos 1 e 2 na coleta de outono, em relação ao verão e inverno/2019; já no ponto 3 não houve diferença

significativa entre os períodos de coleta. Houve aumento significativo nos níveis de proteínas carbonil no outono em todos pontos amostrados, em relação as coletas de verão e inverno no mesmo local. Os níveis de peroxidação lipídica apresentaram aumento significativo em todos os locais de coleta (P1, P2 e P3) no inverno, quando comparados as coletas de verão e outono no mesmo ponto, sendo que estas duas últimas não apresentaram diferença significativa entre os períodos coletados. Os níveis significativamente mais baixos de tióis não proteicos, no ponto 1, foram obtidos na coleta de outono. No verão e inverno não houve diferença significativa neste ponto. No ponto 2, todos os períodos de coleta apresentaram diferença significativa entre os níveis de tióis não proteicos, em que os maiores níveis foram obtidos na coleta de verão. No ponto 3 houve aumento significativo de tióis não proteicos no verão, em relação ao outono e inverno, que não apresentaram diferença significativa entre si (Figura 8).

Figura 8 – Análises bioquímicas em músculo de *Astyanax* sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019



P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, a: atividade da acetilcolinesterase, b: n\u00edveis de prote\u00ednas carbonil, c: n\u00edveis de subst\u00e2ncias reativas ao TBA, d: n\u00edveis de ti\u00f3is n\u00e3o proteicos. Letras diferentes correspondem a diferen\u00e7a significativa entre o mesmo ponto e as diferentes esta\u00e7\u00f5es do ano, com n\u00edvel significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

A AChE \u00e9 reconhecida como um dos mais antigos biomarcadores ambientais (PAYNE; MATHIEU; FANCEY, 1996). A atividade desta enzima \u00e9 muito utilizada como biomarcador



de toxicidade de herbicidas e outros agrotóxicos, e a sua importância está relacionada às funções fisiológicas, como a locomoção e o equilíbrio (MIRON et al., 2005). Frequentemente a atividade da AChE é diminuída após a exposição a agrotóxicos, e esta redução pode causar distúrbios comportamentais, como a natação irregular, dificuldades para localizar e evitar predadores e orientação na busca de alimentos (PAN; DUTTA, 1998). No entanto, há estudos que demonstram que pode ocorrer o aumento da atividade da AChE em determinados tecidos quando o organismo é exposto a agrotóxicos (CATTANEO et al., 2008, 2011). Romani et al. (2003) observaram aumento na atividade da AChE em cérebro e músculo de *Sparus auratus*, expostos a baixas concentrações de cobre (0,1 e 0,5 mg L<sup>-1</sup>) e reportam sobre as quantidades tóxicas de cobre presentes na água devido a sua utilização em formulações de fungicidas.

De maneira geral, o ponto 3 apresentou um comportamento diferenciado dos demais pontos de coleta de lambaris, onde pode-se perceber menor atividade da AChE no cérebro e músculo nos três períodos de coleta. Esse fato pode estar relacionado com o lançamento de esgotos domésticos municipais, já que o ponto 3 se localiza a jusante do município, e pode conter agrotóxicos, metais e outros contaminantes. Payne et al. (1996), sugerem que o lançamento de efluentes domésticos, que possuem características de conter compostos nitrogenados, possam influenciar na inibição da AChE no músculo dos peixes. De fato, em todos os períodos de coleta no presente estudo foram encontradas maiores concentrações de nitrogênio total no ponto 3. Embora a agricultura seja grande contribuinte para a entrada de nitrogênio nos recursos hídricos, devido ao seu amplo uso para a fertilização, a descarga de esgotos domésticos possuem alta concentração de nitrogênio em sua composição (HOWARTH, 2004). Costa-Silva et al. (2015), obtiveram resultados semelhantes em *Astyanax* sp. coletados no Rio Vacacaí – RS, em que verificaram a inibição da atividade da AChE no músculo dos peixes no local com influência agrícola e urbana.

A contaminação da água pelos agrotóxicos, encontrados no Rio Potiribu, pode ter influenciado na atividade da AChE no cérebro e músculo dos peixes. É descrito na literatura, que o clomazone, detectado em todas as coletas do presente estudo, pode aumentar a atividade desta enzima nos músculos de *Cyprinus carpio* e *Rhamdia quelen* (MURUSSI et al., 2015). Estudos sobre o potencial de toxicidade da atrazina e, também, do imidacloprido na atividade da AChE em peixes, não são muito reportados. Sabe-se, porém, que houve redução na atividade da AChE no cérebro de *Oreochromis niloticus* e *Chrysichthys auratus* expostas por 28 dias às concentrações de 3 e 6 mg L<sup>-1</sup> de atrazina (HUSSEIN; EL-NASSER; AHMED, 1996). Carpas comuns *Cyprinus carpio* foram expostas as concentrações de 4,28, 42,8 e 428 µg L<sup>-1</sup> de atrazina por 40 dias, e pode-se observar inibição da atividade da AChE no cérebro e músculo em todos

os tratamentos (XING et al., 2010). *Danio rerio* foram expostos a atrazina nas concentrações de 10 e 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$ , por 14 dias e não houve diferença significativa na atividade da AChE no músculo, já no cérebro, a atividade diminuiu significativamente no tratamento de 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$  (SCHMIDEL et al., 2014). *Prochilodus lineatus* expostos à atrazina (2 e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) por 24 e 48 h não demonstraram alteração na atividade da AChE em cérebro e músculo (SANTOS; MARTINEZ, 2012). Em relação ao imidacloprido, não houve diferença significativa na atividade da AChE em cérebro e músculo de peixes *Prochilodus lineatus* expostos as concentrações de 1,25, 12,5, 125 e 1250  $\mu\text{g L}^{-1}$  de imidacloprido por 120 h (VIEIRA et al., 2018). Topal et al. (2017) avaliaram a atividade da AChE em truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, expostas ao imidacloprido (5, 10 e 20  $\text{mg L}^{-1}$ ) por 21 dias. A temperatura da água durante o experimento foi de 10 – 12 °C. Nas concentrações de 10 e 20  $\text{mg L}^{-1}$  do agrotóxico pode-se observar a inibição da AChE no cérebro destes organismos. De fato, todos os agrotóxicos detectados na água do Rio Potiribu, no presente estudo, provocam distúrbios na atividade da AChE em peixes, porém, estes estão relacionados com o tempo de exposição, além das concentrações de agrotóxicos e da espécie de peixe. Cabe ressaltar ainda, que todos estes estudos prévios, que demonstram os efeitos de agrotóxicos nestes organismos, foram conduzidos em laboratório sob condições controladas, por isso, não representam a real interferência sofrida pelos peixes no ambiente natural, que estão sob influência das mais diversas variáveis abióticas e bióticas.

Os peixes são animais ectotérmicos, ou seja, o seu metabolismo está diretamente relacionado com a temperatura da água (LUSHCHAK; BAGNYUKOVA, 2006). A atividade da AChE pode ser positivamente relacionada com a temperatura, ou seja, quando há o acréscimo da temperatura, a atividade da enzima também aumenta (DURIEUX et al., 2011). Neste estudo, a atividade da AChE no músculo dos peixes, nos pontos 1 e 2, apresentou valores significativamente maiores no período de verão, em que a temperatura foi maior, assim como no inverno, período mais frio. No cérebro dos peixes, a atividade da AChE no ponto 2, também foi maior nas coletas de verão e inverno, em relação ao outono. Além da associação com a temperatura mais elevada no verão, as alterações na atividade da AChE podem estar relacionadas com o maior número de agrotóxicos encontrados na água, e o efeito de suas misturas nestes períodos, bem como, podem estar relacionados com o efeito do clomazone no aumento da atividade desta enzima.

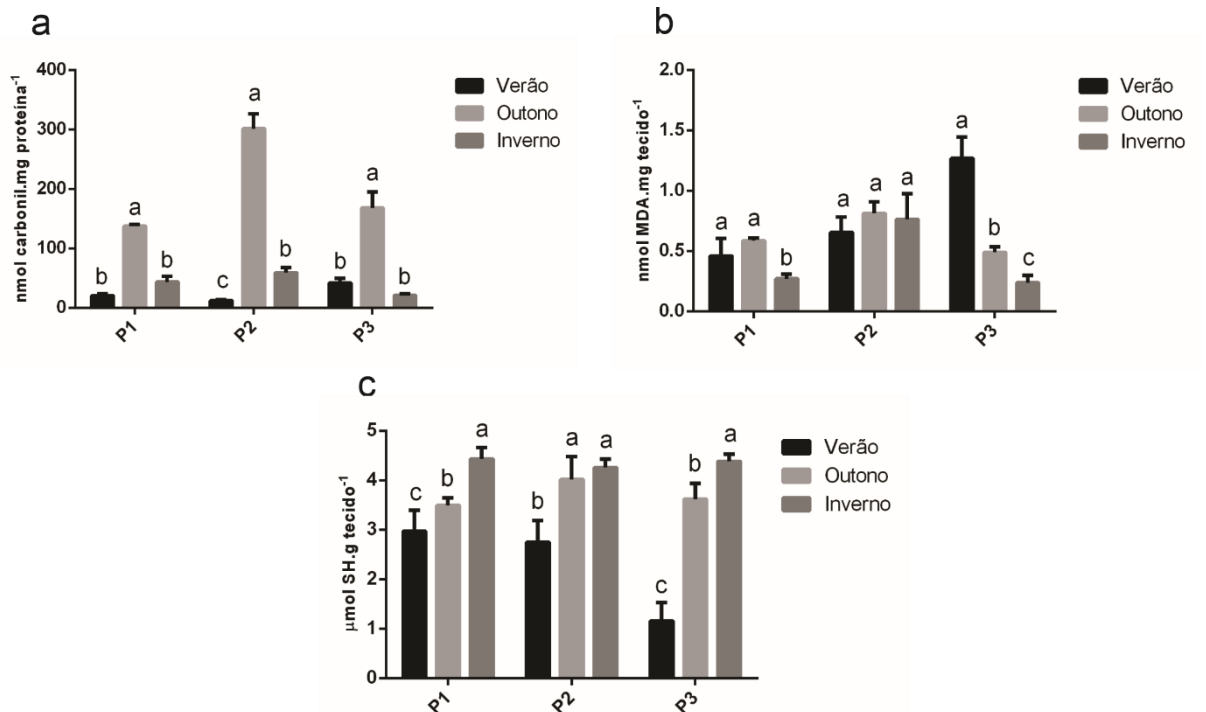
No ponto 3, houve aumento significativo da AChE no cérebro dos peixes no verão, em relação as coletas no período de outono e inverno no ponto. Este resultado pode estar relacionado com a presença de imidacloprido no ponto 3 no verão, bem como, com a

temperatura da água mais elevada no período. No entanto, como sugerido por Amaral et al. (2018), deve-se realizar testes laboratoriais para verificar a interação desta enzima com o imidacloprido.

Pode-se verificar o aumento dos níveis de tióis não proteicos no cérebro dos peixes em todos os pontos (P1, P2 e P3) no inverno, juntamente com o aumento da peroxidação lipídica nestes pontos no mesmo período. Esta associação positiva, pode estar relacionada com a condição de estresse oxidativo do peixe, e que os antioxidantes enzimáticos não foram capazes de prevenir o dano. No intestino dos peixes (Figura 9), a relação dos níveis de tióis não proteicos com a peroxidação lipídica, também foi observada. No inverno, no ponto 1, os maiores níveis de tióis não proteicos foram seguidos pela menor peroxidação lipídica no mesmo ponto e período de coleta, assim como no ponto 3, nas coletas de outono e inverno. Já no verão, no ponto 3, os maiores níveis de peroxidação lipídica, coincidem com os menores níveis de tióis não proteicos no ponto. Esta relação, evidencia a importância do papel antioxidante não enzimático na prevenção aos danos lipídicos. A redução dos tióis não proteicos em vários órgãos pode estar relacionada com a perda de antioxidantes não enzimáticos e com isso diminuindo a capacidade antioxidante dos peixes frente aos contaminantes. Costa-Silva et al. (2015) relacionaram a depleção de tióis não proteicos no músculo de *Astyanax* sp. com a possível presença de herbicidas e/ou agrotóxicos provenientes da agricultura, e metais pesados derivados das descargas de águas residuais urbanas.

No intestino dos lambaris, os maiores níveis de proteínas carbonil foram observadas no outono em todos os pontos de coleta, que diferiram significativamente quando comparados com as coletas de verão e inverno, no mesmo ponto. Os níveis de peroxidação lipídica não apresentaram diferença significativa no ponto 2 entre os períodos amostrais. Já no ponto 3, houve aumento significativo nos níveis de peroxidação lipídica no verão em relação ao outono e inverno. No ponto 1, não houve diferença significativa entre o verão e outono, e no inverno os níveis de peroxidação lipídica diminuíram significativamente quando comparados com os períodos de coleta anteriores no ponto. Os níveis de tióis não proteicos em todos os pontos foram menores significativamente no verão em relação ao outono e inverno. Nos pontos 1 e 3, houve aumento significativo dos níveis de tióis não proteicos no inverno, quando comparados com outono, no mesmo ponto. Já no ponto 2, não houve diferença significativa entre o outono e inverno (Figura 9).

Figura 9 – Análises bioquímicas em intestino de *Astyanax* sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019



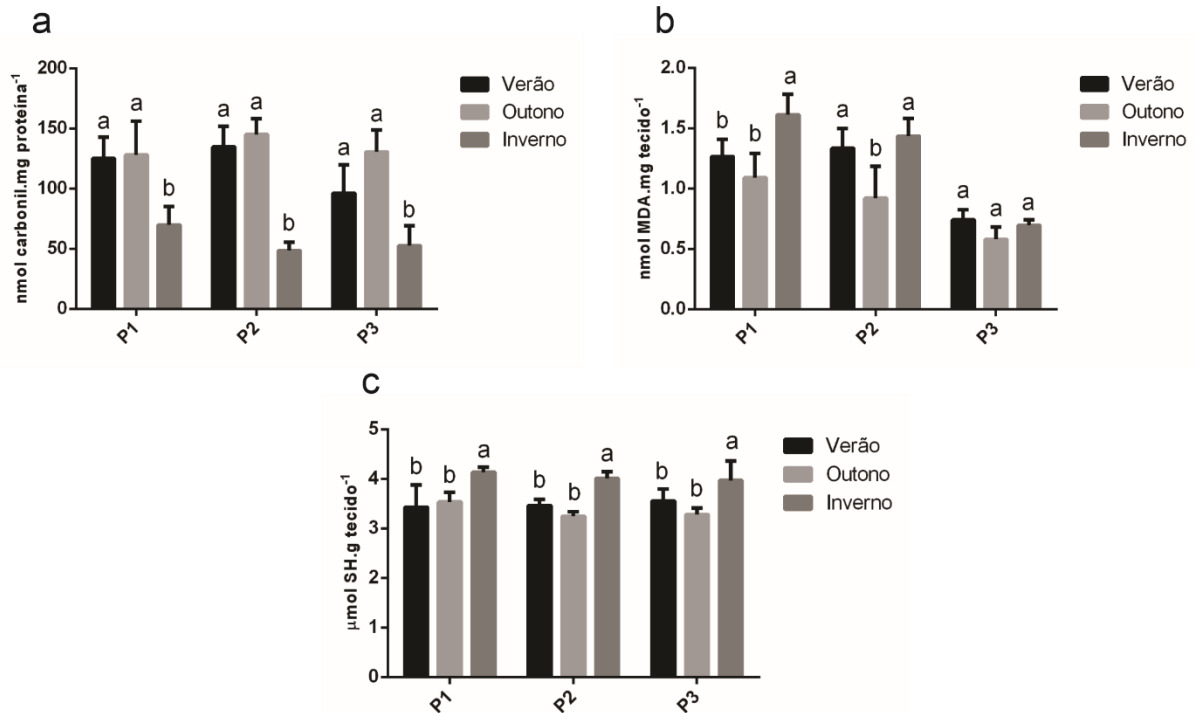
P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, a: níveis de proteínas carbonil, b: níveis de substâncias reativas ao TBA, c: níveis de tióis não proteicos. Letras diferentes correspondem a diferença significativa entre o mesmo ponto e as diferentes estações do ano, com nível significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

Em relação as brânquias de lambaris, os níveis de proteínas carbonil não diferiram significativamente entre as coletas de verão e outono em todos os pontos; já no inverno, houve diminuição significativa dos níveis de proteínas carboniladas em todos os locais de coleta, em relação aos demais períodos de coletas. Os níveis de tióis não proteicos apresentaram aumento significativo no inverno em todos os pontos de coletas. No verão e no outono, não houve diferença significativa entre os níveis de tióis não proteicos nos pontos 1, 2 e 3, comparando os períodos no mesmo ponto. Os níveis de peroxidação lipídica apresentaram aumento significativo no inverno, em relação ao verão e outono, no ponto 1. No ponto 2, os níveis de peroxidação lipídica diminuíram significativamente na coleta de outono, em relação ao verão e inverno. Já no ponto 3, não houve diferença significativa deste dano entre os períodos coletados (Figura 10).

As brânquias são os primeiros órgãos a entrar em contato com os contaminantes do meio aquático e por isso são os principais órgãos-alvo utilizados para avaliar a qualidade da água, sendo responsáveis pela troca de gases, equilíbrio ácido-base e regulação iônica (PAULINO et

al., 2014). Pelo fato de estarem em contato permanente com a água, elas tornam-se vulneráveis às variações sazonais, como por exemplo, a temperatura (AMARAL et al., 2018; GHISI et al., 2014).

Figura 10 – Análises bioquímicas em brânquias de *Astyanax* sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019



P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, a: níveis proteínas carbonil, b: níveis de substâncias reativas ao TBA, c: níveis de tióis não proteicos. Letras diferentes correspondem a diferença significativa entre o mesmo ponto e as diferentes estações do ano, com nível significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

A formação de proteínas carbonil pode ocorrer como resultado do estresse oxidativo (ALMROTH et al., 2005). Os níveis de proteínas carbonil nas brânquias foram relacionados inversamente com os níveis de tióis não proteicos, em todos os pontos de coleta (P1, P2 e P3), ou seja, quando houve aumento dos níveis de tióis não proteicos no verão, em relação ao outono e inverno no mesmo ponto, houve também a diminuição significativa dos níveis de proteínas carbonil no verão, em relação as demais coletas. Essa relação sugere que o aumento do conteúdo antioxidante não enzimático das células preveniu os danos nas proteínas, provocados pelo contato das brânquias com os contaminantes externos.

Por outro lado, no verão e outono, períodos chuvosos houve maior formação de proteínas carbonil em todos os pontos de coleta, o que pode estar relacionado com o contato

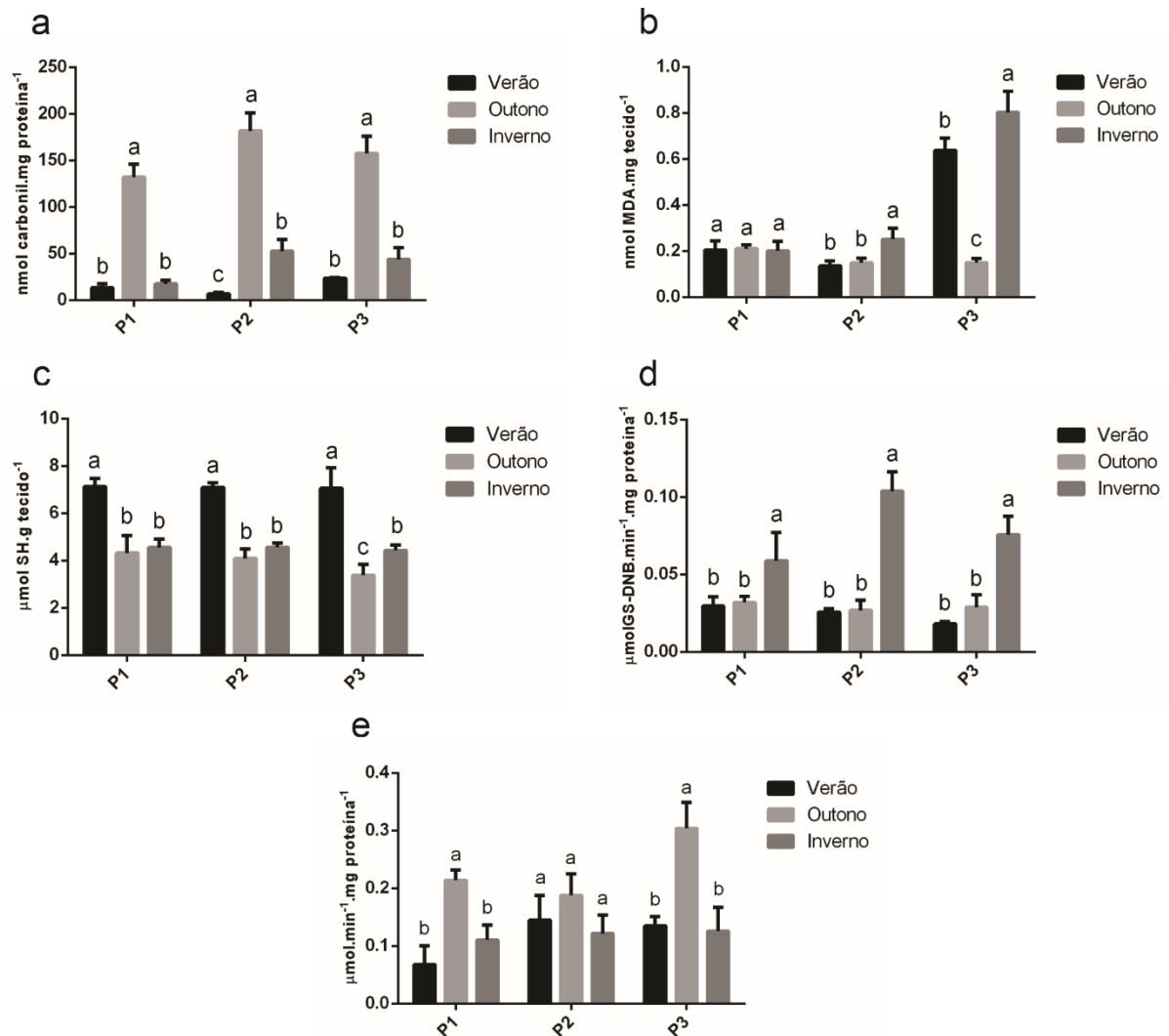
das brânquias a maior concentração de partículas carregadas pela chuva para dentro do rio. Este fato pode ser observado pelos altos valores de turbidez da água nestes períodos.

Neste estudo, os níveis mais baixos de peroxidação lipídica nas brânquias foram obtidos na coleta de outono, que coincide com o menor número de agrotóxicos encontrados na água. No ponto 2, houve aumento significativo da peroxidação lipídica no verão e inverno, em relação ao outono, que pode estar relacionado com o contato deste órgão com o maior número de agrotóxicos detectados na água no verão, e no inverno sob influência dos agrotóxicos juntamente com a baixa vazão do rio.

No fígado dos peixes, os níveis de proteínas carbonil foram significativamente maiores em todos os locais de coleta no outono, quando comparados as outras coletas no mesmo ponto. Não houve diferença significativa entre os níveis de peroxidação lipídica no ponto 1 nos diferentes períodos de coleta. No ponto 2 houve aumento significativo dos níveis de peroxidação lipídica no inverno, em relação ao verão e outono. Já no ponto 3, houve diferença significativa deste dano em todas as coletas, no verão e inverno foram verificados os maiores níveis de peroxidação lipídica, neste ponto. Os maiores níveis de tióis não proteicos em todos os pontos foram verificados no verão, quando comparados com as coletas de outono e inverno no mesmo ponto. A atividade da glutathione S-transferase (GST) foi significativamente maior em todos os locais de coleta no inverno, em relação ao verão e outono no mesmo ponto. Não houve diferença significativa na atividade da catalase (CAT) no ponto 2 entre os períodos. Já nos pontos 1 e 3, houve aumento significativo da atividade da CAT no outono em relação ao verão e inverno, quando comparada no entre as coletas no mesmo ponto (Figura 11).

O fígado possui inúmeras funções, dentre elas, sendo o principal órgão envolvido no metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos, além de desempenhar um papel fundamental na biotransformação, detoxificação e excreção de xenobióticos, por isso, é um dos alvos mais comuns em estudos de toxicidade (DONG et al., 2009; PAULINO et al., 2014). A GST atua no processo de biotransformação, catalisando a conjugação de xenobióticos e transformando o composto tóxico em um composto mais facilmente excretável. A exposição dos peixes a contaminantes pode causar tanto a indução quanto a inibição da atividade hepática da GST, o que está relacionado com a espécie de peixe e o tipo de poluente (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). A inibição da atividade da GST nos peixes *in situ* ocorre devido a exposição de misturas complexas dos contaminantes presentes no rio, como por exemplo, organoclorados e outros agrotóxicos (GÜNGÖRDÜ; ERKMEN; KOLANKAYA, 2012), que podem gerar um comprometimento geral do metabolismo do organismo.

Figura 11 – Análises bioquímicas em fígado de *Astyanax* sp. coletados no Rio Potiribu em Ijuí/RS no verão, outono e inverno/2019



P1: ponto 1, P2: ponto 2, P3: ponto 3, a: níveis proteínas carbonil, b: níveis de substâncias reativas ao TBA, c: níveis de tióis não proteicos, d: atividade da glutathione-S-transferase, e: atividade da catalase. Letras diferentes correspondem a diferença significativa entre o mesmo ponto e as diferentes estações do ano, com nível significativo de 95% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

O grande volume de chuvas ocasiona um maior carregamento de contaminantes através do escoamento das áreas ao entorno, provocando danos nos peixes a jusante. Por outro lado, no período seco, os contaminantes podem se acumular ao longo do rio devido a menor diluição (FREIRE et al., 2015). A precipitação pluviométrica, no presente estudo, parece ter influenciado nas respostas dos biomarcadores analisados. Nos períodos de coleta relacionados ao verão e outono, foram registradas maiores quantidades de chuvas, ao contrário do inverno. Nesse estudo foi possível observar um aumento significativo da atividade da GST no fígado em todos os pontos de coleta no período de inverno. Este fato pode estar relacionado com os

agrotóxicos encontrados, em adição com a menor diluição da água do período sem chuva. Amaral et al. (2018) também encontraram maior atividade da GST no inverno, e pressupõem que este aumento pode estar relacionado ao transporte de hormônios sexuais no período pré-reprodutivo de *Loricariichthys anus*, o que pode ser observado neste estudo com lambaris. É conhecido que espécies de *Astyanax* apresentam período reprodutivo compreendido entre o fim do inverno e a primavera (DALA-CORTE; AZEVEDO, 2010; HIRT; ARAYA; FLORES, 2011). A menor diluição dos compostos químicos presentes na água, pode explicar também os altos níveis de peroxidação lipídica nos músculos e cérebro dos peixes, obtidos na coleta de inverno.

A CAT tem como função converter peróxidos de hidrogênio, produto da cascata de geração de EROs, em compostos inofensivos ao organismo. O aumento na atividade da CAT geralmente indica a ativação do sistema de defesa antioxidante, como tentativa de manter a homeostase celular e, com isso, evitar o estresse oxidativo (GHISI et al., 2017). Porém, as respostas antioxidantes relacionadas a essa enzima, quando em condições de estresse oxidativo, pode tanto induzir quanto inibir a sua atividade (MURUSSI et al., 2015). No presente estudo, a atividade da CAT foi mais baixa no período de verão e no inverno, em relação ao outono, em todos os pontos de coleta. Nestes períodos foram encontradas maiores quantidades de agrotóxicos na água, sugerindo que o efeito das misturas xenobióticas podem estar comprometendo a atividade desta enzima e/ou talvez, o aumento da atividade da CAT no outono, esteja relacionada com o efeito tóxico do clomazone na atividade da enzima.

A atividade da CAT e os níveis de peroxidação lipídica, no fígado, foram bem relacionados no ponto 3 em todos períodos coletados: atividades mais baixas da catalase foram detectadas juntamente com maior dano lipídico. Os baixos níveis de peroxidação lipídica no fígado indicam que a ação das enzimas antioxidantes foi eficaz contra este dano. A defesa da CAT foi eficiente contra a peroxidação lipídica no fígado nos pontos 1 e 2 em todas as coletas, e no outono no ponto 3, mas não foram eficazes no controle do aumento dos níveis de proteínas carbonil nesse órgão, no outono, nos pontos 1, 2 e 3.

A glutathiona reduzida (GSH) é considerada o tiol não proteico mais abundante no organismo, e possui muitas funções importantes, dentre elas, a defesa antioxidante (MURUSSI et al., 2015). A GSH protege as células contra a toxicidade dos xenobióticos, através da sua conjugação espontânea com o composto químico ou catalisada pela GST, facilitando a excreção deste (HASSPIELER; BEHAR; DI GIULIO, 1994). Loro et al. (2015) encontraram níveis mais elevados de tióis no fígado e músculos de *Astyanax jacuhiensis* coletados no rio Uruguai – RS, no período mais quente do ano, e com menor número de agrotóxicos detectados. No presente



estudo, níveis mais altos de tióis não proteicos foram encontrados em todos os pontos (P1, P2 e P3) no período de verão, no fígado e músculo dos peixes, quando foi detectado o maior número de agrotóxicos na água. Este resultado sugere que os níveis de tióis não proteicos, nestes tecidos, podem estar relacionados positivamente com a temperatura, além de ser uma resposta antioxidante a exposição aos agrotóxicos registrados.

Em todos os tecidos avaliados neste estudo, pode-se observar aumento significativo dos níveis de proteínas carbonil na coleta de outono. Este achado reporta que no período analisado os peixes estavam sob influência de algum fator que tenha ocasionado tal dano. Embora no outono tenha sido o período em que foi observado menor número de agrotóxicos na água, pode ser que os peixes estavam expostos a agrotóxicos que não foram analisados neste estudo, como por exemplo o paraquat e outros dessecantes tóxicos utilizados nas culturas de outono/inverno, aliadas a alta precipitação pluviométrica do período. Os agrotóxicos são capazes de ocasionar danos nas proteínas dos peixes, dentre eles o paraquat, como pode ser observado no estudo realizado por Parvez e Raisuddin (2005). Outro fato que suporta a hipótese da contaminação do recurso hídrico no outono, é que foi o único período encontrado agrotóxico nos sedimentos. Por outro lado, os agrotóxicos detectados na água representam os contaminantes que estava presente naquele determinado momento da coleta, diferente das respostas bioquímicas dos lambaris, que fornecem informações de um período de tempo mais longo. Isto quer dizer, que os peixes poderiam ter sido expostos a algum contaminante que já não estava mais presente na água no momento da coleta, mas que tenha ocasionado tal dano.

Diante do que foi exposto, com a crescente produção mundial de alimentos e a consequente utilização de agrotóxicos para o cultivo, as preocupações em relação a contaminação ambiental, nas últimas décadas, também aumentaram. Apenas uma porção do agrotóxico aplicado no campo atinge o seu objetivo final, porque grande parte acaba atingindo organismos não-alvo ocasionando toxicidade e acumulando-se no meio ambiente (TIŠLER et al., 2009).

Para avaliar os efeitos provocados pela contaminação dos rios, o uso de biomarcadores de toxicidade em peixes tem sido muito comum. As respostas dos organismos à exposição a contaminantes, são muito mais satisfatórias e confiáveis quando a análise compreende múltiplos biomarcadores, pois fornece uma visão mais ampla destes efeitos no nível bioquímico, molecular ou outra organização biológica (FREIRE et al., 2015). Estas respostas podem representar uma adaptação importante ao estresse induzido pelos poluentes. Diversos estudos revelam que a exposição de peixes a contaminantes aquáticos podem alterar as atividades de determinadas enzimas, bem como aumentar a formação intracelular de EROs, o

que pode causar danos oxidativos aos sistemas biológicos, se as defesas antioxidantes do organismo não forem capazes de eliminá-los (VALON et al., 2013).

Estudos de campo em áreas impactadas são importantes para avaliação da saúde dos peixes em seu próprio ambiente, porém, é difícil determinar com precisão os agentes que possam estar influenciando nas mudanças do organismo (GHISI et al., 2014). Freire et al. (2015) salientam que é quase impossível de se realizar um estudo químico completo, devido à grande variação de produtos químicos presentes nos rios.

De fato, estudos em laboratório comprovam que os agrotóxicos podem interferir no metabolismo dos peixes, dentre eles, os detectados neste estudo. Zhu et al. (2011) investigaram os efeitos da exposição de diferentes concentrações de atrazina em *Danio rerio*, e puderam concluir que este herbicida induz o estresse oxidativo e danos ao DNA. Menezes et al. (2011a) também confirmaram que o clomazone (0,45 e 0,91 mg L<sup>-1</sup>) provoca distúrbios na saúde de *Rhamdia quelen*, como o aumento da peroxidação lipídica no fígado e músculo, aumento da carbonilação de proteínas, da atividade da GST e níveis de tióis não proteicos no fígado. Por outro lado, Murussi et al. (2015) demonstraram que os efeitos do clomazone (3 e 6 mg L<sup>-1</sup>) em *Cyprinus carpio* e *Rhamdia quelen* foram a diminuição dos níveis de peroxidação lipídica no fígado e o aumento da atividade da AChE no músculo de ambas espécies, e os níveis de tióis não proteicos diminuíram no fígado de *Rhamdia quelen*. Foi demonstrado a ocorrência de distúrbios na atividade da AChE, peroxidação lipídica, proteína carbonil e catalase em piava (*Leporinus obtusidens*) após exposição ao herbicida clomazone em concentração recomendada para o cultivo de arroz (0,5 mg L<sup>-1</sup>) (MIRON et al., 2008). O aumento dos níveis de peroxidação lipídica principalmente em brânquias e rins, mas também no cérebro e fígado, aumento do níveis de proteínas carbonil em brânquias, fígado e rins, diminuição da atividade da CAT no fígado e ainda aumento da atividade da GST no cérebro são alguns resultados obtidos pela exposição do peixe *Prochilodus lineatus* a concentrações de 1,25, 12,5, 125 e 1250 µg L<sup>-1</sup> de imidacloprido, confirmando que esta espécie foi severamente afetada pelo agrotóxico (VIEIRA et al., 2018).

É importante ressaltar que é difícil mensurar estes danos em estudos de campo, devido as misturas complexas que as águas dos rios apresentam. Estes efeitos, bem como as variáveis abióticas, podem interferir no comportamento da mistura de compostos químicos e gerar diversos resultados diferentes no organismo em contato. Fuzinato et al. (2015) salientam que as misturas complexas encontradas nos rios, são compostas de inúmeras substâncias que podem afetar negativamente os organismos aquáticos, e causar desequilíbrio ecológico.

Ainda, mesmo que as concentrações dos xenobióticos encontradas sejam baixas, elas podem ter efeitos tóxicos potencializados nos organismos expostos, devido aos processos aditivos como sinergismo e/ou antagonismo. Além disso, as mudanças ambientais como o aumento da temperatura e também a precipitação pluviométrica, podem alterar as características do ambiente e dos contaminantes, e com isso ocasionar efeitos diversos em muitos processos bioquímicos e fisiológicos dos organismos aquáticos (MANCIOCCO; CALAMANDREI; ALLEVA, 2014). A contaminação química do meio ambiente, que inclui os efeitos de exposição crônica, tem contribuído para a perda da biodiversidade mundial e o declínio ou desaparecimento de muitas populações (BICKHAM et al., 2000).

Outro fato importante a se considerar, é que no presente estudo não foi possível avaliar o agrotóxico glifosato no Rio Potiribu, que é amplamente utilizado no cultivo da soja e é o mais comercializado no Brasil. Diversos estudos apontam seus efeitos tóxicos nos organismos aquáticos (MENEZES et al. 2011b; SALBEGO et al. 2010) e que provavelmente poderiam estar interferindo também nos biomarcadores avaliados.

## 5 CONCLUSÃO

Com a realização deste estudo, pode-se verificar que a qualidade da água do Rio Potiribu esteve melhor no período de inverno, ao contrário do verão, em que a água apresentou pior qualidade, de acordo com o enquadramento previsto na legislação brasileira. Algumas variáveis físico-químicas puderam ser relacionadas com a sazonalidade, outras com a interferência da atividade agrícola e também dos despejos urbanos.

Em relação aos agrotóxicos, no período de verão foram detectados na água os ingredientes ativos atrazina, clomazone e imidacloprido em todos os pontos de coleta. Porém nos pontos 1 e 2 o imidacloprido ficou abaixo do limite de quantificação do método (<LOQ). No outono pode-se verificar o menor número de agrotóxicos, o clomazone esteve presente em todos os pontos de coleta deste período, e o imidacloprido abaixo do limite de quantificação nos pontos 1 e 3. Por último, na coleta de inverno foi detectada atrazina e clomazone em todos os pontos, e imidacloprido no ponto 3 (<LOQ). Apenas no outono foi possível detectar agrotóxico no sedimento, o fenpropimorfe que foi detectado do ponto 2 (<LOQ). Não foi detectado a presença de agrotóxicos no músculo dos peixes nos períodos amostrais.

Os biomarcadores de toxicidade avaliados neste estudo responderam de forma diferente às diferentes épocas de coleta, e aos diferentes tecidos analisados. As alterações observadas nos biomarcadores, podem estar relacionadas com a contaminação da água pelos agrotóxicos, bem como, com os fatores abióticos, como por exemplo, a temperatura e a precipitação pluviométrica. Também, fatores como a interferência urbana por meio da composição dos esgotos domésticos, pode ter afetado a qualidade da água e a saúde dos peixes.

Por fim, comprova-se a complexidade de investigar todos os fatores que possam estar contribuindo para as alterações bioquímicas nos peixes, devido a mais diversa composição de substâncias químicas que estão presentes nas águas dos rios. E também, é muito difícil prever o efeito destas misturas nos organismos estudados.

Para estudos futuros, sugere-se a quantificação de coliformes totais ou a *E. coli*, tendo em vista a interferência dos esgotos domésticos no Rio Potiribu, e com isso, avaliar a qualidade microbiológica da água conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2005). Sugere-se também a avaliação de agrotóxicos específicos que são utilizados na cultura da soja, que é o principal cultivo agrícola da região, como por exemplo o glifosato, e melhor fiscalização e orientação em relação ao uso do clomazone no município. Por fim, em nível de legislação brasileira, sugere-se a ampliação do número de agrotóxicos e o seu respectivo valor máximo permitido para águas

doces superficiais, já que a maioria dos agrotóxicos detectados na água neste estudo não estão presentes na referida legislação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**. v. 105, p. 121–126, 1984.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. 2019a. **Monografias autorizadas**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 03 jan. 2020.

\_\_\_\_\_. **Resolução DC/ANVISA nº 294 de 29 de julho de 2019b**. Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=381153>>. Acesso em: 08 abr. 2020.

ALBUQUERQUE, A. F. et al. Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, p. 1–9, 2016.

ALMROTH, B. C. et al. Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. **Aquatic Toxicology**, v. 73, p. 171–180, 2005.

AMARAL, A. M. B. et al. Seasonal implications on toxicity biomarkers of *Loricariichthys anus* (Valenciennes, 1835) from a subtropical reservoir. **Chemosphere**, v. 191, p. 876–885, 2018.

AN, Y.; KAMPBELL, D. H.; BREIDENBACH, G. P. *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediments at lake marinas. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 771–778, 2002.

APHA. **Standard Methods for the Examination of water and wastewater**. 22 nd edition. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation. Edited by: Eugene W. Rice, Rodger B. Baird, Andrew D. Eaton, Lenore S. Clesceri. 2012.

ARES, J. Time and space issues in ecotoxicology: population models, landscape pattern analysis, and long-range environmental chemistry. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 945–957, 2003.

ARISEKAR, U. et al. Accumulation of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in fish, water, and sediments in the Thamirabarani river system of southern peninsular India. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 11, p. 100194, 2019

ASHAUER, R.; BOXALL, A.; BROWN, C. Predicting effects on aquatic organisms from fluctuating or pulsed exposure to pesticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 7, p. 1899–1912, 2006.

BACCHETTA, C. et al. Combined toxicological effects of pesticides: A fish multi-biomarker approach. **Ecological Indicators**, v. 36, p. 532–538, 2014.

BARATA, C. et al. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 140, n. 2, p. 175–186, 2005.

BARILLET, S. et al. Bioaccumulation, oxidative stress, and neurotoxicity in *Danio rerio* exposed to different isotopic compositions of uranium. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 497–505, 2007.

BARIŠIĆ, J. et al. Evaluation of architectural and histopathological biomarkers in the intestine of brown trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) challenged with environmental pollution. **Science of the Total Environment**, v. 642, p. 656–664, 2018.

BARRETO, S.; HERMAN, L.; GARIBOTTI, V. Levantamento dos Agrotóxicos Usados no Estado do Rio Grande do Sul por Bacia Hidrográfica. **Boletim Epidemiológico**, v. 14, n. 2, p. 3–6, 2012.

BARZILAI, A.; YAMAMOTO, K. I. DNA damage responses to oxidative stress. **DNA Repair**, v. 3, p. 1109–1115, 2004.

BECKER, A. G. et al. Pesticide contamination of water alters the metabolism of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 1734–1739, 2009.

BENDER, M. A. et al. Phosphorus dynamics during storm events in a subtropical rural catchment in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 261, p. 93–102, 2018.

BEYER, J. et al. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: A discussion paper. **Marine Environmental Research**, v. 96, p. 81–91, 2014.

BICKHAM, J. W. et al. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: Implications for biomonitoring and ecotoxicology. **Mutation Research**, v. 463, n. 1, p. 33–51, 2000.

BISUTTI, I.; HILKE, I.; RAESSLER, M. Determination of total organic carbon - An overview of current methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10–11, p. 716–726, 2004.

BOMBARDI, L. M. Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia. - São Paulo: FFLCH - USP, 2017, 296 p.

BOTELHO, R. G. et al. Environmentally Relevant Concentrations of Atrazine and Ametrine Induce Micronuclei Formation and Nuclear Abnormalities in Erythrocytes of Fish. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 69, n. 4, p. 577–585, 2015.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRASIL. **Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos,

seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/L7802.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm)>. Acesso em: 05 jun. 2018.

\_\_\_\_\_. Ministério do Meio Ambiente. **Portaria normativa nº 84, de 15 de outubro de 1996.** Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mma\\_ibama/1996/prt0084\\_15\\_10\\_1996.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mma_ibama/1996/prt0084_15_10_1996.html)>. Acesso em: 15 jul. 2018.

\_\_\_\_\_. **Decreto nº 4074, de 4 de janeiro de 2002.** Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/legislacao/arquivos-de-legislacao/decreto-4074-2002-decreto-dos-agrotoxicos>>. Acesso em: 14 jul. 2018.

\_\_\_\_\_. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2018.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011.** Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html)>. Acesso em: 14 jul. 2018.

BUAH-KWOFIE, A.; HUMPHRIES, M. S.; PILLAY, L. Bioaccumulation and risk assessment of organochlorine pesticides in fish from a global biodiversity hotspot: iSimangaliso Wetland Park, South Africa. **Science of The Total Environment**, v. 621, p. 273–281, 2018.

BUDDE, W. L. Analytical mass spectrometry of herbicides. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 23, n. 1, p. 1–24, 2004.

BUENO-KRAWCZYK, A. C. D. et al. Multibiomarker in fish to evaluate a river used to water public supply. **Chemosphere**, v. 135, p. 257–264, 2015.

BUENO, M. R.; CUNHA, J. P. A. R. d.; SANTANA, D. G. Assessment of spray drift from pesticide applications in soybean crops. **Biosystems Engineering**, v. 154, p. 35–45, 2017.

CARNEIRO, F. et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015, 624 p.

CATTANEO, R. et al. Metabolic and histological parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to commercial formulation of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 92, n. 3, p. 133–137, 2008.

CATTANEO, R. et al. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to the herbicide



penoxsulam in rice field conditions. **Journal of Applied Toxicology**, v. 31, n. 7, p. 626–632, 2011.

CATTELAN, A. J.; DALL'AGNOL, A. The rapid soybean growth in Brazil. **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, v. 25, n. 1, 2018.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**/Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Organizadores: Carlos Jesus Brandão ... [et al.]. -- São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011. 326 p.

CHAPMAN, P. M. Current approaches to developing sediment quality criteria. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 8, p. 589–599, 1989.

CHOUDHARY, S. et al. A review: Pesticide residue: cause of many animal health problems. **Journal of entomology and zoology studies**, v. 6, n. 3, p. 330–333, 2018.

CLASEN, B. et al. Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. **Science of the Total Environment**, v. 626, p. 737–743, 2018.

COLIN, N. et al. Ecological relevance of biomarkers in monitoring studies of macro-invertebrates and fish in Mediterranean rivers. **Science of the Total Environment**, v. 540, p. 307–323, 2016.

COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 485/2013. **Official Journal of the European Union**, v. 139, p. 12–26, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. 2017. **Grãos série histórica**. Disponível em: <<https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CORRELL, D. L.; JORDAN, T. E.; WELLER, D. E. Effects of precipitation, air temperature, and land use on organic carbon discharges from rhode river watersheds. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 128, p. 139–159, 2001.

COSTA, M. R. et al. Habitat preferences of common native fishes in a tropical river in Southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 4, p. 871–880, 2013.

COSTA-SILVA, D. G. et al. Oxidative stress markers in fish (*Astyanax* sp. and *Danio rerio*) exposed to urban and agricultural effluents in the Brazilian Pampa biome. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 15526–15535, 2015.

CUNHA, S. C.; PENA, A.; FERNANDES, J. O. Mussels as bioindicators of diclofenac contamination in coastal environments. **Environmental Pollution**, v. 225, p. 354–360, 2017.

DABROWSKI, J. M.; SHADUNG, J. M.; WEPENER, V. Prioritizing agricultural pesticides used in South Africa based on their environmental mobility and potential human health effects. **Environment International**, v. 62, p. 31–40, 2014.

DALA-CORTE, R. B.; AZEVEDO, M. A. Biologia reprodutiva de *Astyanax henseli* (Teleostei, Characidae) do curso superior do rio dos Sinos, RS, Brasil. **Iheringia - Serie Zoologia**, v. 100, n. 3, p. 259–266, 2010.

DAS, D. et al. Effect of heavy metals on tissue-specific antioxidant response in Indian major carps. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 22, p. 18010–18024, 2017.

DEKNOCK, A. et al. Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas river basin (Ecuador). **Science of the Total Environment**, v. 646, p. 996–1008, 2019.

DELGADO-MORENO, L. et al. Occurrence and toxicity of three classes of insecticides in water and sediment in two southern California coastal watersheds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9448–9456, 2011.

DEPLEDGE, M.; AAGAARD, A.; GYORKOS, P. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioural biomarkers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, p. 19–27, 1995.

DEWAILLY, E. et al. Inuit exposure to organochlorines through the aquatic food chain in arctic québec. **Environmental Health Perspectives**, v. 101, n.7, p. 618–620, 1993.

DONG, X. et al. Effects of atrazine on cytochrome P450 enzymes of zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, v. 77, n. 3, p. 404–412, 2009.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 421–431, 1990.

DRAZOVSKA, M. et al. Evaluation of potential genotoxic/cytotoxic effects induced by epoxiconazole and fenpropimorph-based fungicide in bovine lymphocytes in vitro. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 51, n. 11, p. 769–776, 2016.

DURIEUX, E. D. H. et al. Natural factors to consider when using acetylcholinesterase activity as neurotoxicity biomarker in Young-Of-Year striped bass (*Morone saxatilis*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 37, p. 21–29, 2011.

ELIBARIKI, R.; MAGUTA, M. M. Status of pesticides pollution in Tanzania – A review. **Chemosphere**, v. 178, p. 154–164, 2017.

ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 82, p. 70–77, 1959.

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88–95, 1961.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. 2018. **Soja em números (safra 2017/2018)**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 07 maio 2018.

\_\_\_\_\_. **Agrotóxicos no Brasil.** Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_40\\_210200792814.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_40_210200792814.html)>. Acesso em: 01 jun. 2018.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid. **EFSA Journal** 11:3068, 2013.

FEIX, R. D.; LEUSIN JÚNIOR, S.; AGRANONIK, C. Painel do agronegócio no Rio Grande do Sul — 2016. In: **Painel do Agronegócio no Rio Grande do Sul - 2016.** p. 1–44.

FELSOT, A. S. et al. Distribution of Imidacloprid in soil following subsurface drip chemigation. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 363–370, 1998.

FERNANDES, M. E. S. et al. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. **Chemosphere**, v. 156, p. 45–55, 2016.

FINGLER, S. et al. Herbicide micropollutants in surface, ground and drinking waters within and near the area of Zagreb, Croatia. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 12, p. 11017–11030, 2017.

FIORESSI, S. E. et al. Conformation-independent quantitative structure-property relationships study on water solubility of pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, n. July 2018, p. 47–53, 2019.

FONTANA, D. C. et al. Modelo de estimativa de rendimento de soja no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 399–403, 2001.

FORBES, V.; PALMQVIST, A.; BACH, L. The Use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 1, p. 272–280, 2006.

FREIRE, C. A. et al. A multibiomarker evaluation of urban, industrial, and agricultural exposure of small characins in a large freshwater basin in southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 17, p. 13263–13277, 2015.

FRIBERG, N. et al. **Biomonitoring of Human Impacts in Freshwater Ecosystems: The Good, the Bad and the Ugly**, v. 44, 2011.

FUZINATTO, C. F. et al. Oxidative stress and hypermethylation induced by exposure of *Oreochromis niloticus* to complex environmental mixtures of river water from Cubatão do Sul, Brazil, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 114, p. 190–197, 2015.

GARCIA, C. S. **Sistema especialista para avaliação do comportamento de pesticidas em bacias hidrográficas.** 2005. 362p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2005.

GERÓNIMO, E. et al. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. **Chemosphere**, v. 107, p. 423–431, 2014.

GHANNEM, S.; TOUAYLIA, S.; BOUMAIZA, M. Beetles (Insecta: Coleoptera) as bioindicators of the assessment of environmental pollution. **Human and Ecological Risk**

**Assessment**, v. 24, n. 2, p. 456–464, 2018.

GHISI, N. C. et al. In Situ Assessment of a Neotropical Fish to Evaluate Pollution in a River Receiving Agricultural and Urban Wastewater. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 93, p. 699–709, 2014.

GHISI, N. C. et al. Multivariate and integrative approach to analyze multiple biomarkers in ecotoxicology: A field study in Neotropical region. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 1208–1218, 2017.

GÜNGÖRDÜ, A.; ERKMEN, B.; KOLANKAYA, D. Evaluation of spatial and temporal changes in biomarker responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) for biomonitoring the Meric , Delta, Turkey. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 33, n. 3, p. 431–439, 2012.

GUO, J. et al. Bioaccumulation of Dechloranes, organophosphate esters, and other flame retardants in Great Lakes fish. **Science of the Total Environment**, v. 583, p. 1–9, 2017.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, p. 7130–7139, 1974.

HANSEN, P. D. Biosensors and ecotoxicology. **Engineering in Life Sciences**, v. 8, n. 1, p. 26–31, 2008.

HASSPIELER, B. M.; BEHAR, F. V.; DI GIULIO, R. . Glutathione-Dependent defense in channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and Brown Bullhead (*Ameriurus nebulosus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 28, p. 82–90, 1994.

HERRERO-HERNÁNDEZ, E. et al. Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. **Journal of Hydrology**, v. 486, p. 234–245, 2013.

HINTZEN, E. P.; LYDY, M. J.; BELDEN, J. B. Occurrence and potential toxicity of pyrethroids and other insecticides in bed sediments of urban streams in central Texas. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 1, p. 110–116, 2009.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. **Documentos 349-Embrapa Soja**, p. 37, 2014.

HIRT, L. M.; ARAYA, P. R.; FLORES, S. A. Estrutura populacional, biologia reprodutiva e alimentação de *astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) em um tributário do alto rio paraná, misiones, Argentina. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 23, n. 1, p. 1–12, 2011.

HLADIK, M. L.; KOLPIN, D. W. First national-scale reconnaissance of neonicotinoid insecticides in streams across the USA, **Environmental Chemistry**, v. 13, p. 12–20, 2016.

HOLVOET, K. M. A.; SEUNTJENS, Piet; VANROLLEGHEM, Peter A. Monitoring and modeling pesticide fate in surface waters at the catchment scale. **Ecological Modelling**, v. 209, n. 1, p. 53–64, 2007.

HOWARTH, R. W. Human acceleration of the nitrogen cycle: drivers, consequences, and steps toward solutions. **Water Resources**, v. 4, p. 7–13, 2004.

HUSSEIN, S. Y.; EL-NASSER, M. A.; AHMED, S. M. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut, Egypt. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 57, p. 503–510, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. 2002. **Mapas temáticos: solos**. Disponível em: < <https://mapas.ibge.gov.br/tematicos/solos.html>>. Acesso em: 21 jan 2020.

\_\_\_\_\_. 2017. **Produção agrícola municipal**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 07 maio 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS RENOVÁVEIS – IBAMA. 2018. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>>. Acesso em: 01 jun. 2018.

\_\_\_\_\_. 2019. **Histórico de comercialização 2000 a 2018**. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#iniciodapagina>>. Acesso em: 07 dez 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET. 2019. **Estações automáticas - gráficos**. Disponível em: <[http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede\\_estacoes\\_auto\\_graf](http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf)>. Acesso em: 03 jan. 2020.

INSTITUTO RIO GRANDENSE DO ARROZ – IRGA. 2019. **Médias climatológicas**. Disponível em: < <https://irga.rs.gov.br/medias-climatologicas>>. Acesso em: 03 jan. 2020.

JABLONOWSKI, N. D.; SCHÄFFER, A. Still present after all these years: persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, p. 328–331, 2011.

JAGER, T. et al. General unified threshold model of survival - a toxicokinetic- toxicodynamic framework for ecotoxicology. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 2529–2540, 2011

JESCHKE, P. et al. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2897–2908, 2011.

JONSSON, C. M. et al. Risk assessment of the herbicide Clomazone to aquatic life. **Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen**, v. 26, p. 1724–1726, 1998.

LARSON, S.; GILLIOM, R. Regression models for estimating herbicide concentrations. **Water Resources**, v. 37, n. 5, 2001.

- LASSERRE, J. P. et al. Effects of the endocrine disruptors atrazine and PCB 153 on the protein expression of MCF-7 human cells. **Journal of Proteome Research**, v. 8, n. 12, p. 5485–5496, 2009.
- LEMOS, C. T. et al. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. **Science of the Total Environment**, v. 406, n. 1–2, p. 337–343, 2008.
- LI, Z.; JENNINGS, A. Global variations in pesticide regulations and health risk assessment of maximum concentration levels in drinking water. **Journal of Environmental Management**, v. 212, p. 384–394, 2018.
- LIJTEROFF, R.; LIMA, L.; PRIERI, B. Uso de líquens como bioindicadores de contaminación atmosférica en la ciudad de San Luis, Argentina. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 25, n. 2, p. 111–120, 2009.
- LIU, S. Y.; SHOCKEN, M.; ROSAZZA, J. P. N. Microbial transformations of Clomazone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 313–319, 1996.
- LIVINGSTONE, D. R. Review biotechnology and pollution monitoring: Use of molecular biomarkers in the aquatic environment. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 57, p. 195–211, 1993.
- LIVINGSTONE, D. R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 8, p. 656–666, 2001.
- LORO, V. L. et al. Spatial and temporal biomarkers responses of *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) (Characiformes: Characidae) from the middle rio Uruguai, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 3, p. 569–578, 2015.
- LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 13–30, 2011.
- LUSHCHAK, V. I.; BAGNYUKOVA, T. V. Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 144, p. 283–289, 2006.
- MAINSTONE, C. P.; PARR, W. Phosphorus in rivers – ecology and management. **The Science of the Total Environment**, v. 282–283, p. 25–47, 2002.
- MALAJ, E. et al. Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 26, p. 9549–9554, 2014.
- MALAKOOTIAN, M.; MORTAZAVI, M. S.; AHMADI, A. Heavy metals bioaccumulation in fish of southern Iran and risk assessment of fish consumption. **Environmental Health Engineering and Management Journal**, v. 3, n. 2, p. 61–68, 2016.
- MAMINDY-PAJANY, Y. et al. Arsenic in marine sediments from French Mediterranean ports:

Geochemical partitioning, bioavailability and ecotoxicology. **Chemosphere**, v. 90, n. 11, p. 2730–2736, 2013.

MANCIOCCO, A.; CALAMANDREI, G.; ALLEVA, E. Global warming and environmental contaminants in aquatic organisms : The need of the etho-toxicology approach. **Chemosphere**, v. 100, p. 1–7, 2014.

MARCON, L. et al. Immunohistochemical, morphological and histometrical analyses of follicular development in *Astyanax bimaculatus* (Teleostei: Characidae) exposed to an organochlorine insecticide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 249–258, 2017.

MARTINS, M. L. et al. Determination of pesticide residues and related compounds in water and industrial effluent by solid-phase extraction and gas chromatography coupled to triple quadruple mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 7697–7709, 2013.

MENÉNDEZ-HELMAN, R. J. et al. Circannual rhythms of acetylcholinesterase (AChE) activity in the freshwater fish *Cnesterodon decemmaculatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 111, p. 236–241, 2015.

MENEZES, C. C. et al. Oxidative parameters of *Rhamdia quelen* in response to commercial herbicide containing clomazone and recovery pattern. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 100, p. 145–150, 2011a.

MENEZES, C. C. et al. Roundup effects on oxidative stress parameters and recovery pattern of *Rhamdia quelen*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 665–671, 2011b.

MENEZES, C. et al. Herbicide Clomazone effects on  $\delta$ -Aminolevulinic acid activity and metabolic parameters in *Cyprinus carpio*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, p. 393–398, 2014.

MERVOSH, T. L.; SIMS, G. K.; STOLLER, E. W. Clomazone fate in soil as affected by microbial activity, temperature, and soil moisture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 537–543, 1995.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. 2017. **Quatro estados concentram quase 70% da produção de grãos do país**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/tecnologia-no-cultivo-de-soja-estimulou-mecanizacao-de-outras-culturas>>. Acesso em: 07 maio 2018.

MIRON, D. S. et al. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 61, p. 398–403, 2005.

MIRON, D. S. et al. Biochemical effects of clomazone herbicide on piava (*Leporinus obtusidens*). **Chemosphere**, v. 74, n. 1, p. 1–5, 2008.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170–3175, 1972.

MORAES, B. S. et al. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 3, p. 328–335, 2011.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): A species complex. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 14, n. 2, p. 331–357, 1991.

MORESCO, R. M.; MARGARIDO, V. P.; DE OLIVEIRA, C. A persistent organic pollutant related with unusual high frequency of hermaphroditism in the neotropical anuran *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826. **Environmental Research**, v. 132, p. 6–11, 2014.

MOTTES, C. et al. Relationships between past and present pesticide applications and pollution at a watershed outlet: The case of a horticultural catchment in Martinique, French West Indies. **Chemosphere**, v. 184, p. 762–773, 2017.

MUNARETTO, J. S. et al. Development of a multiresidue method for the determination of endocrine disrupters in fish fillet using gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 116, p. 827–834, 2013.

MURILLO-ZAMORA, S. et al. Elimination of fungicides in biopurification systems: Effect of fungal bioaugmentation on removal performance and microbial community structure. **Chemosphere**, v. 186, p. 625–634, 2017.

MURUSSI, C. R. et al. Integrated assessment of biomarker response in Carp (*Cyprinus carpio*) and Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to Clomazone. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, p. 646–654, 2015.

NAUEN, D. R.; JESCHKE, P.; COPPING, L. In Focus: Neonicotinoid insecticides. **Pest Management Science**, v. 64, p. 1081, 2008.

NORDBORG, M. et al. Freshwater ecotoxicity impacts from pesticide use in animal and vegetable foods produced in Sweden. **Science of the Total Environment**, v. 581–582, p. 448–459, 2017.

ORSI, M. L.; CARVALHO, E. D.; FORESTI, F. Biologia populacional de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) do médio Rio Paranapanema, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 2, p. 207–218, 2004.

OTURAN, N.; BRILLAS, E.; OTURAN, M. A. Unprecedented total mineralization of atrazine and cyanuric acid by anodic oxidation and electro-Fenton with a boron-doped diamond anode. **Environmental Chemistry Letters**, v. 10, p. 165–170, 2012.

PAN, G.; DUTTA, H. M. The inhibition of brain Acetylcholinesterase activity of juvenile Largemouth Bass *Micropterus salmoides* by sublethal concentrations of Diazinon. **Environmental Research**, v. 79, p. 133–137, 1998.



PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, p. 112–117, 2005.

PATIL, V. K.; DAVID, M. Oxidative stress in freshwater fish, *Labeo rohita* as a biomarker of malathion exposure. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 12, p. 10191–10199, 2013.

PAULINO, M. G.; SAKURAGUI, M. M.; FERNANDES, M. N. Effects of atrazine on the gill cells and ionic balance in a neotropical fish, *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**, v. 86, n. 1, p. 1–7, 2012.

PAULINO, M. G. et al. The impact of organochlorines and metals on wild fish living in a tropical hydroelectric reservoir: bioaccumulation and histopathological biomarkers. **Science of the Total Environment**, v. 497–498, p. 293–306, 2014.

PAYNE, J. F.; MATHIEU, A.; FANCEY, L. L. Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. **Marine Pollution Bulletin**, v. 32, n. 2, p. 225–231, 1996.

PEREIRA, L.; FERNANDES, M. N.; MARTINEZ, C. B. R. Hematological and biochemical alterations in the fish *Prochilodus lineatus* caused by the herbicide clomazone. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 1–8, 2013.

PIANCINI, L. D. S. et al. Mesotrione herbicide promotes biochemical changes and DNA damage in two fish species. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 1157–1163, 2015.

PLANO MUNICIPAL DE SANEAMENTO BÁSICO DO MUNICÍPIO DE IJUÍ – RS (PLAMSAB): Volume 01: **Diagnóstico do Saneamento Básico**/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas – Porto Alegre: UFRGS, 2011. 157 p.

PRIOLI, S. M. A. P. et al. Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçú River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 4, p. 421–430, 2002.

QUAYLE, W. C.; OLIVER, D. P.; ZRNA, S. Field dissipation and environmental hazard assessment of clomazone, molinate, and thiobencarb in Australian rice culture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 19, p. 7213–7220, 2006.

QUEIROZ, A. A.; MARTINS, J. A. S.; CUNHA, J. P. A. R. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 4, p. 8–19, 2008.

RAMSDORF, W. A.; VICARI, T.; ARTONI, R. F. Handling of *Astyanax* sp. for biomonitoring in Cangüiri Farm within a fountainhead (Iraí River Environment Preservation Area) through the use of genetic biomarkers. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, p. 5841–5849, 2012.

RASHED, M. N. Monitoring of environmental heavy metals in fish from nasser lake. **Environment International**, v. 27, n. 1, p. 27–33, 2001.

REICHENBERGER, S. et al. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. **Science of the Total Environment**, v. 384, n. 1–3, p. 1–35, 2007.

RICHARDS, R. P.; BAKER, D. B. Pesticide concentration patterns in agricultural drainage networks in the lake Erie Basin. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 13–26, 1993.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Coordenação e Planejamento. **Atlas Socioeconômico: Estado do Rio Grande do Sul/** Rio Grande do Sul. Porto Alegre: SCP, 2002. 2. ed. rev. ampl. 112p.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Meio Ambiente. **Resolução nº 111/2012**. Aprova o enquadramento das águas superficiais da Bacia Hidrográfica do Rio Ijuí. 2012.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Planejamento, Orçamento e Gestão. 2018. **Atlas socioeconômico do Rio Grande do Sul**. Disponível em: <<https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/soja>>. Acesso em: 25 maio 2018.

ROEX, E. W. M.; KEIJZERS, R.; VAN 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.

ROMANI, R. et al. Increased acetylcholinesterase activities in specimens of *Sparus auratus* exposed to sublethal copper concentrations. **Chemico-Biological Interactions**, v. 145, p. 321–329, 2003.

ROSSI, S. C. et al. Sublethal effects of waterborne herbicides in tropical freshwater fish. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 87, n. 6, p. 603–607, 2011.

SABIN, G. P. et al. Multiresidue determination of pesticides in drinking water by gas chromatography-mass spectrometry after solid-phase extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 918–925, 2009.

SADARIA, A. M. et al. Passage of fiproles and imidacloprid from urban pest control uses through wastewater treatment plants in Northern California, USA. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 6, p. 1473–1482, 2017.

SALBEGO, J. et al. Herbicide formulation with Glyphosate affects growth, Acetylcholinesterase activity, and metabolic and hematological parameters in Piava (*Leporinus obtusidens*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 58, p. 740–745, 2010.

SAKURAGUI, M. M. et al. Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 41–51, 2013.

SANTANA, C. A. et al. Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy applied in fish scales to access environmental integrity: A case study of *Astyanax altiparanae* species. **Infrared Physics and Technology**, v. 72, p. 84–89, 2015.

SANTOS, T. G.; MARTINEZ, C. B. R. Atrazine promotes biochemical changes and DNA damage in a Neotropical fish species. **Chemosphere**, v. 89, p. 1118–1125, 2012.

SARKAR, M. A. et al. Effect of pH and type of formulation on the persistence of imidacloprid in water. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, n. 5, p. 604–609, 1999.

SECRETARIA ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE – SEMA/RS. **Processo de Planejamento dos Usos da Água na Bacia Hidrográfica do Rio Ijuí: Enquadramento**. Relatório final. 2012.

SCHMIDEL, A. J. et al. Subchronic atrazine exposure changes defensive behaviour profile and disrupts brain acetylcholinesterase activity of zebra fish. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 44, p. 62–69, 2014.

SILVA, A. G.; MARTINEZ, C. B. R. Morphological changes in the kidney of a fish living in an urban stream. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, n. 2, p. 185–192, 2007.

SILVA-BARNI, M. F. et al. Passive sampling of pesticides and polychlorinated biphenyls along the Quequén Grande River Watershed, Argentina. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 38, n. 2, p. 340–349, 2019.

SIMONATO, J. D.; FERNANDES, M. N.; MARTINEZ, C. B. R. Gasoline effects on biotransformation and antioxidant defenses of the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 6, p. 1400–1410, 2011.

SIVASANKAR, R. et al. *Loricata ciliates* as an indicator of eutrophication status in the estuarine and coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 129, n. 1, p. 207–211, 2018.

SMILEY, P. C.; KING, K. W.; FAUSEY, N. R. Annual and seasonal differences in pesticide mixtures within channelized agricultural headwater streams in central Ohio. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 193, p. 83–95, 2014.

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

SOLOMON, K. R. et al. Effects of Atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: A critical review. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 38, p. 721–772, 2008.

STADTMAN, E. R.; LEVINE, R. L. Protein Oxidation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, n. 1, p. 191–208, 2006.

STAIMER, N.; MÜLLER, T.; KUBIAK, R. Volatilization of <sup>14</sup>C-Labelled Fenpropimorph after application to plants and soil under simulated outdoor conditions. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 65, n. 1–4, p. 183–191, 1996.

SUDO, M.; KUNIMATSU, T.; OKUBO, T. Concentration and loading of pesticide residues in Lake Biwa basin (Japan). **Water Research**, v. 36, n. 1, p. 315–329, 2002.

SUN, S. et al. Occurrence, spatial distribution, and seasonal variation of emerging trace organic pollutants in source water for Shanghai, China. **Science of the Total Environment**, v. 639, p. 1–7, 2018.

TAPPE, W.; GROENEWEG, J.; JANTSCH, B. Diffuse atrazine pollution in German aquifers. **Biodegradation**, v. 13, n. 1, p. 3–10, 2002.

TESFAMICHAEL, A. A.; KALUARACHCHI, J. J. A methodology to assess the risk of an existing pesticide and potential future pesticides for regulatory decision-making. **Environmental Science and Policy**, v. 9, n. 3, p. 275–290, 2006.

TIECHER, T. et al. Phosphorus forms in sediments as indicators of anthropic pressures in an agricultural catchment in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 41, p. 1–17, 2017.

TIECHER, T. et al. Potential of phosphorus fractions to trace sediment sources in a rural catchment of Southern Brazil: Comparison with the conventional approach based on elemental geochemistry. **Geoderma**, v. 337, p. 1067–1076, 2019.

TIŠLER, T. et al. Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. **Chemosphere**, v. 76, p. 907–914, 2009.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247–268, 2005.

TOPAL, A. et al. Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. **Chemosphere**, v. 175, n. November, p. 186–191, 2017.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, p. 151–173, 1977.

VALON, M. et al. Evaluating environmental pollution by applying oxidative stress biomarkers as bioindicators of water pollution in fish. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 22, n. 5, p. 1519–1523, 2013.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 13, p. 57–149, 2003.

VERDOUW, H., VAN ECHELD, C.J.A., DEKKERS, E.M.J. Ammonia determinations based on indophenol formation with sodium salicylate. **Water Research**, 12, 399-402, 1978

VIEIRA, C. E. D. et al. Integrated biomarker response index using a Neotropical fish to assess the water quality in agricultural areas. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, n. 1, p. 153–164, 2014.

VIEIRA, C. E. D. et al. A comparative approach using biomarkers in feral and caged Neotropical fish: Implications for biomonitoring freshwater ecosystems in agricultural areas. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 598–609, 2017.

VIEIRA, C. E. D. et al. DNA damage and oxidative stress induced by imidacloprid exposure in different tissues of the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**, v. 195, p. 125–134, 2018.

VIEIRA, C. E. D. et al. An integrated approach in subtropical agro-ecosystems: Active biomonitoring, environmental contaminants, bioaccumulation, and multiple biomarkers in fish. **Science of the Total Environment**, v. 666, p. 508–524, 2019.

VILLAVERDE, J. J. et al. Considerations of nano-QSAR/QSPR models for nanopesticide risk assessment within the European legislative framework. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 1530–1539, 2018.

VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, p. 813–839, 2007.

WALKER, C. H. Kinetic models to predict bioaccumulation of pollutants. **Functional Ecology**, v. 4, n. 3, p. 295–301, 1990.

WANG, G. et al. Bioaccumulation mechanism of organophosphate esters in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Environmental Pollution**, v. 229, p. 177–187, 2017.

WILHELM FILHO, D. et al. Seasonal changes in antioxidant defenses of the digestive gland of the brown mussel (*Perna perna*). **Aquaculture**, v. 203, p. 149–158, 2001.

XING, H. et al. Effects of atrazine and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and Carboxylesterase in brain and muscle of common carp. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, p. 26–30, 2010.

YAN, L. J.; TRABER, M.G.; PACKER, L. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human lowdensity lipoproteins. **Analytical Biochemistry**, v. 228, p. 349–351, 1995.

YONG, Z. Pesticide pollution to water environment of Three Gorges Reservoir area. **International Conference on Challenges in Environmental Science and Computer Engineering, CESCE 2010**, v. 1, p. 77–80, 2010.

ZANELLA, R. et al. Monitoring of the herbicide clomazone in environmental water samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Chromatographia**, p. 573–577, 2002.

ZHU, L. S. et al. DNA damage and effects on antioxidative enzymes in zebra fish (*Danio rerio*) induced by atrazine. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 21, n. 1, p. 31–36, 2011.

**APÊNDICE A – VALORES DOS BIOMARCADORES DE TOXICIDADE AVALIADOS EM *Astyanax* sp. COLETADOS NO VERÃO, OUTONO E INVERNO DE 2019 NO RIO POTIRIBU EM IJUÍ/RS**

	Verão			Outono			Inverno		
<b>Cérebro</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>
NPSH	3,36	3,22	3,18	3,49	3,81	3,49	4,05	4,02	3,94
PC	28,77	26,89	13,39	193,32	358,31	287,14	40,79	40,91	53,88
PL	0,604	0,572	0,572	0,865	0,605	0,543	0,792	1,446	1,031
AChE	0,198	0,361	0,231	0,214	0,242	0,108	0,362	0,389	0,123
<b>Brânquias</b>									
NPSH	3,43	3,46	3,55	3,53	3,25	3,28	4,14	4,01	3,97
PC	125,11	134,67	96,17	128,15	145,09	130,66	69,86	48,56	52,57
PL	1,265	1,334	0,742	1,091	0,920	0,579	1,613	1,436	0,695
<b>Fígado</b>									
NPSH	7,12	7,09	7,05	4,32	4,09	3,38	4,55	4,56	4,43
PC	13,47	6,70	23,67	132,29	181,80	157,54	17,66	52,52	43,95
PL	0,205	0,136	0,636	0,210	0,148	0,149	0,201	0,251	0,802
GST	0,029	0,026	0,018	0,032	0,027	0,029	0,059	0,104	0,076
CAT	0,068	0,145	0,135	0,214	0,188	0,304	0,111	0,122	0,126
<b>Intestino</b>									
NPSH	2,97	2,75	1,16	3,49	4,02	3,62	4,43	4,26	4,38
PC	20,56	12,03	41,69	137,49	301,59	168,32	43,66	59,32	21,14
PL	0,459	0,653	1,268	0,586	0,813	0,489	0,270	0,763	0,238
<b>Músculo</b>									
NPSH	4,37	5,37	5,36	3,60	3,34	3,61	4,32	4,19	3,97
PC	14,48	24,96	20,59	142,58	256,14	198,81	48,77	36,09	22,09
PL	0,072	0,081	0,086	0,099	0,104	0,102	0,238	0,324	0,255
AChE	0,058	0,049	0,023	0,027	0,026	0,017	0,051	0,057	0,027

NPSH: tióis não proteicos, do inglês “non-protein thiols” ( $\mu\text{mol SH.g tecido}^{-1}$ ), PC: proteínas carbonil (nmol carbonil.mg proteína<sup>-1</sup>), PL: peroxidação lipídica, quantificada de acordo com os níveis de substâncias reativas ao TBA (nmol TBA.mg tecido<sup>-1</sup>), AChE: atividade da acetilcolinesterase ( $\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$ ), GST: atividade da glutatona S-transferase ( $\mu\text{molGS-DNB.min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$ ) e CAT: atividade da catalase ( $\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$ ).

**APÊNDICE B – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NA ÁGUA DO RIO POTIRIBU NO VERÃO DE 2019**

Atrazina	Monolinuron
Azinfós-etílico	Oxamil
Azinfós-metílico	Paraoxom-etílico
Azoxistrobina	Piraclostrobina
Bentazona	Pirazofós
Bitertanol	Piridafentiona
Boscalida	Profenofós
Bromoconazol	Propiconazol
Carbaril	Propoxur
Carbofurano-3-hidróxido	Quincloraque
Carbofurano	Simazina
Cianazina	Tebuconazol
Clomazona	Terbutilazina
Clorpirifós-metílico	Tetraconazol
Clorprofam	Tiacloprido
Difenoconazol	Tiametoxam
Dimetoato	Tiodicarbe
Epoxiconazol	Tolclofós-metílico
Fenarimol	Triadimefom
Fluquinconazol	Triadimenol
Fluroxipir	Triazofós
Flutolanil	Trifloxistrobina
Imidacloprido	Vamidotiona
Iprovalicarbe	
Linurom	
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	
Metsulfurom-metílico	
Mevinfós	
Miclobutanil	
Monocrotofós	

**APÊNDICE C – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NOS SEDIMENTOS DO RIO POTIRIBU NO VERÃO DE 2019**

Atrazina	Oxamil
Azinfós-etílico	Paraoxom-etílico
Azinfós-metílico	Piraclostrobina
Azoxistrobina	Pirazofós
Bentazona	Piridafentona
Bitertanol	Profenofós
Boscalida	Propiconazol
Bromoconazol	Propoxur
Carbaril	Quincloraque
Carbofurano-3-hidróxido	Simazina
Carbofurano	Tebuconazol
Cianazina	Terbutilazina
Clomazona	Tetraconazol
Clorpirifós-metílico	Tiacloprido
Clorprofam	Tiametoxam
Dimetoato	Tiodicarbe
Epoxiconazol	Tolclofós-metílico
Fenarimol	Triadimefom
Fluquinconazol	Triadimenol
Fluroxipir	Triazofós
Flutolanil	Trifloxistrobina
Imidacloprido	Vamidotiona
Iprovalicarbe	
Linurom	
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	
Metsulfurom-metílico	
Mevinfós	
Miclobutanil	
Monocrotofós	
Monolinuron	



**APÊNDICE D – INGREDIENTES ATIVOS ANALISADOS DOS AGROTÓXICOS NO MÚSCULO DOS PEIXES NO VERÃO DE 2019**

Atrazina	Metsulfurom-metílico
Azinfós-etílico	Mevinfós
Azinfós-metílico	Miclobutanil
Azoxistrobina	Monocrotofós
Bentazona	Monolinurom
Bitertanol	Oxamil
Boscalida	Paraoxom-etílico
Bromoconazol	Piraclostrobina
Buprofenzina	Pirazofós
Carbaril	Piridafentiona
Carbendazim	Primetanil
Carbofurano-3-hidróxido	Pirimicarbe
Carbofurano	Pirimifós-metílico
Cianazina	Profenofós
Clorpirifós-metílico	Propiconazol
Diazinona	Propoxur
Difenoconazol	Quinoxifeno
Dimetoato	Simazina
Epoconazol	Tebuconazol
Fenpropimorfe	Terbufós
Fenarimol	Tetraconazol
Fentiona	Tiacloprido
Fluquinconazol	Tiametoxam
Fluroxipir	Tolclofós-metílico
Flutolanil	Triadimefom
Imazalil	Triadimenol
Imidacloprido	Triazofós
Iprovalicarbe	Trifloxistrobina
Linurom	Vamidotiona
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metamidofós	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	

**APÊNDICE E – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NA ÁGUA DO RIO POTIRIBU NO OUTONO DE 2019**

Atrazina	Monocrotofós
Azinfós-etílico	Monolinuron
Azinfós-metílico	Oxamil
Azoxistrobina	Paraoxom-etílico
Bentazona	Piraclostrobina
Bitertanol	Pirazofós
Boscalida	Piridafentiona
Bromoconazol	Profenofós
Carbaril	Propiconazol
Carbofurano-3-hidróxido	Propoxur
Carbofurano	Quincloraque
Cianazina	Simazina
Clomazona	Tebuconazol
Clorpirifós-metílico	Terbutilazina
Clorprofam	Tetraconazol
Diazinona	Tiacloprido
Difenoconazol	Tiametoxam
Dimetoato	Tiodicarbe
Epoxiconazol	Tolclofós-metílico
Fenarimol	Triadimefom
Fluquinconazol	Triadimenol
Fluroxipir	Triazofós
Flutolanil	Trifloxistrobina
Imidacloprido	Vamidotiona
Iprovalicarbe	
Linurom	
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	
Metsulfurom-metílico	
Mevinfós	
Miclobutanil	

**APÊNDICE F – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NOS SEDIMENTOS DO RIO POTIRIBU NO OUTONO DE 2019**

Atrazina	Mepronil	Triazofós
Azinfós-etílico	Metalaxil	Triadimenol
Azinfós-metílico	Metamidofós	Trifloxistrobina
Azoxistrobina	Metconazol	Vamidotiona
Bentazona	Metiocarbe-sulfona	
Bitertanol	Metiocarbe-sulfóxido	
Boscalida	Metsulfurom-metílico	
Bromoconazol	Mevinfós	
Buprofenzina	Miclobutanil	
Carbaril	Monocrotofós	
Carbendazim	Monolinurom	
Carbofurano-3-hidróxido	Oxamil	
Carbofurano	Paraoxom-etílico	
Carboxina	Piraclostrobina	
Cianazina	Pirazofós	
Clomazona	Piridabem	
Clorpirifós-etílico	Piridafentiona	
Clorpirifós-metílico	Piridato	
Clorprofam	Pirimetanil	
Deltametrina	Pirimifós-metílico	
Diazinona	Profenofós	
Difenoconazol	Propargito	
Dimetoato	Propiconazol	
Epoconazol	Propoxur	
Fenpropimorfe	Quincloraque	
Fenarimol	Quinoxifeno	
Fentiona	Simazina	
Fluquinconazol	Tebuconazol	
Fluroxipir	Terbufós	
Flutolanil	Terbutilazina	
Imazalil	Tetraconazol	
Imidacloprido	Tiacloprido	
Iprovalicarbe	Tiametoxam	
Linurom	Tiodicarbe	
Malationa	Tolclofós-metílico	
Mecarbam	Triadimefom	

**APÊNDICE G – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NO MÚSCULO DOS PEIXES NO OUTONO DE 2019**

Atrazina	Metsulfurom-metílico
Azinfós-etílico	Mevinfós
Azinfós-metílico	Miclobutanil
Azoxistrobina	Monocrotofós
Bentazona	Monolinurom
Bitertanol	Oxamil
Boscalida	Paraoxom-etílico
Bromoconazol	Piraclostrobina
Buprofenzina	Pirazofós
Carbaril	Piridafentiona
Carbendazim	Primetanil
Carbofurano-3-hidróxido	Pirimicarbe
Carbofurano	Pirimifós-metílico
Cianazina	Profenofós
Clorpirifós-metílico	Propiconazol
Diazinona	Propoxur
Difenoconazol	Quinoxifeno
Dimetoato	Simazina
Epoconazol	Tebuconazol
Fenpropimorfe	Terbufós
Fenarimol	Tetraconazol
Fentiona	Tiacloprido
Fluquinconazol	Tiametoxam
Fluroxipir	Tolclofós-metílico
Flutolanil	Triadimefom
Imazalil	Triadimenol
Imidacloprido	Triazofós
Iprovalicarbe	Trifloxistrobina
Linurom	Vamidotiona
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metamidofós	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	

**APÊNDICE H – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NA ÁGUA DO RIO POTIRIBU NO INVERNO DE 2019**

Atrazina	Monocrotofós
Azinfós-etílico	Monolinuron
Azinfós-metílico	Oxamil
Azoxistrobina	Paraoxom-etílico
Bentazona	Piraclostrobina
Bitertanol	Pirazofós
Boscalida	Piridafentiona
Bromoconazol	Profenofós
Carbaril	Propiconazol
Carbofurano-3-hidróxido	Propoxur
Carbofurano	Quincloraque
Cianazina	Simazina
Clomazona	Tebuconazol
Clorpirifós-metílico	Tetraconazol
Clorprofam	Tiacloprido
Diazinona	Tiametoxam
Difenoconazol	Tiodicarbe
Dimetoato	Tolclofós-metílico
Epoxiconazol	Triadimefom
Fenarimol	Triadimenol
Fluquinconazol	Triazofós
Fluroxipir	Trifloxistrobina
Flutolanil	Vamidotiona
Imidacloprido	
Iprovalicarbe	
Linurom	
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	
Metsulfurom-metílico	
Mevinfós	
Miclobutanil	

**APÊNDICE I – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NOS SEDIMENTOS DO RIO POTIRIBU NO INVERNO DE 2019**

2,4-D	Metalaxil	Trifloxistrobina
Atrazina	Metamidofós	Vamidotiona
Azinfós-etílico	Metconazol	
Azinfós-metílico	Metiocarbe-sulfona	
Azoxistrobina	Metiocarbe-sulfóxido	
Bentazona	Metsulfurom-metílico	
Bitertanol	Mevinfós	
Boscalida	Miclobutanil	
Bromoconazol	Monocrotofós	
Buprofenzina	Monolinurom	
Carbaril	Oxamil	
Carbendazim	Paraoxom-etílico	
Carbofurano-3-hidróxido	Piraclostrobina	
Carbofurano	Pirazofós	
Cianazina	Piridabem	
Clomazona	Piridafentiona	
Clorpirifós-etílico	Piridato	
Clorpirifós-metílico	Primetanil	
Clorprofam	Pirimifós-metílico	
Deltametrina	Profenofós	
Difenoconazol	Propargito	
Dimetoato	Propiconazol	
Epoconazol	Propoxur	
Fenpropimorfe	Quincloraque	
Fenarimol	Quinoxifeno	
Fentiona	Simazina	
Fluquinconazol	Tebuconazol	
Fluroxipir	Terbufós	
Flutolanil	Tetraconazol	
Imazalil	Tiacloprido	
Imidacloprido	Tiametoxam	
Iprovalicarbe	Tiodicarbe	
Linurom	Tolclofós-metílico	
Malationa	Triadimefom	
Mecarbam	Triadimenol	
Mepronil	Triazofós	

**APÊNDICE J – INGREDIENTES ATIVOS DOS AGROTÓXICOS ANALISADOS NO MÚSCULO DOS PEIXES NO INVERNO DE 2019**

Atrazina	Metsulfurom-metílico
Azinfós-etílico	Mevinfós
Azinfós-metílico	Miclobutanil
Azoxistrobina	Monocrotofós
Bentazona	Monolinurom
Bitertanol	Oxamil
Boscalida	Paraoxom-etílico
Bromoconazol	Piraclostrobina
Buprofenzina	Pirazofós
Carbaril	Piridafentiona
Carbendazim	Primetanil
Carbofurano-3-hidróxido	Pirimicarbe
Carbofurano	Pirimifós-metílico
Cianazina	Profenofós
Clorpirifós-metílico	Propiconazol
Diazinona	Propoxur
Difenoconazol	Quinoxifeno
Dimetoato	Simazina
Epoconazol	Tebuconazol
Fenpropimorfe	Terbufós
Fenarimol	Tetraconazol
Fentiona	Tiacloprido
Fluquinconazol	Tiametoxam
Fluroxipir	Tolclofós-metílico
Flutolanil	Triadimefom
Imazalil	Triadimenol
Imidacloprido	Triazofós
Iprovalicarbe	Trifloxistrobina
Linurom	Vamidotiona
Malationa	
Mecarbam	
Mepronil	
Metalaxil	
Metamidofós	
Metconazol	
Metiocarbe-sulfona	
Metiocarbe-sulfóxido	