

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

Carine Baggiotto

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DE UMA INDÚSTRIA
DE BENEFICIAMENTO DE BATATAS UTILIZANDO *Cyprinus carpio*
COMO BIOINDICADOR**

Santa Maria, RS

2017

Carine Baggiotto

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DE UMA INDÚSTRIA DE
BENEFICIAMENTO DE BATATAS UTILIZANDO *Cyprinus carpio* COMO
BIOINDICADOR**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Engenharia Ambiental**

Orientador: Prof. Dr. Francisco Rossarolla Forgiarini
Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Bárbara Estevão Clasen

Santa Maria, RS
2017

Carine Baggiotto

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DE UMA INDÚSTRIA DE
BENEFICIAMENTO DE BATATAS UTILIZANDO *Cyprinus carpio* COMO
BIOINDICADOR**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Engenharia Ambiental**

Aprovada em 04 de agosto de 2017:

Francisco Rossarolla Forgiarini, Dr (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Delmira Beatriz Wolff, Dr^a (UFSM)

Alexandra Pretto, Dr^a (Unipampa)

*É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas,
mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se aos pobres de
espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem
numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória,
nem derrota.*

Theodore Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais por todo apoio, desde o momento em que falei que queria estudar, sempre me proporcionaram o melhor, dentro de suas possibilidades econômicas, mas sem medidas em compreensão e amor. Aos meus irmãos: Joel, que sempre me apoiou e acreditou em mim; ao Daniel, que mesmo longe, sempre está perto do meu coração; a Raquel, por sempre me ouvir, quando precisei.

Ao meu orientador Francisco Forgiarini, pelo auxílio e coragem de começar esse trabalho, um tanto diferente do seu ramo de pesquisas. À minha co-orientadora Bárbara Clasen, por toda ajuda e ensinamentos, agradeço.

Aos professores do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, que desde a graduação, proporcionaram o aprendizado necessário para seguir nessa jornada acadêmica, que se encontra apenas no começo.

Aos colegas e amigos do Grupo de Gestão de Recursos Hídricos, Graciela, Ronaldo, Samara, Thailize, Júlia, Keila, Gustavo, pelo companheirismo e momentos de descontração.

Ao meu namorado Marciano Friedrich, por estar sempre ao meu lado, me incentivando e principalmente me acalmando quando pirava (e foram muitas vezes!!!!).

As minhas bolsistas Maéli Castoldi e Luiza Loss, pela ajuda no laboratório, idas a campo (mesmo com medo das vacas, né Maéli), pelos momentos de desconcentração em que ríamos para não chorar quando as coisas não davam certo, obrigada!

Ao pessoal do Laboratório de Toxicologia Aquática, pelo auxílio e por ceder os equipamentos quando mais precisava. Obrigada Doti por me salvar muitas vezes!

Ao Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) pela realização das análises fundamentais para realização desse trabalho.

Ao funcionário do DESA Fábio França, pelo auxílio no deslocamento quando precisava ir a campo.

À minha colega de mestrado, Roberta Lisbôa pelo auxílio e por dividir as incertezas na pesquisa.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de estudar nessa instituição de excelência.

À CAPES pela bolsa de mestrado.

A todos que de uma forma ou outra contribuíram para a realização deste trabalho, agradeço.

RESUMO

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DE UMA INDÚSTRIA DE BENEFICIAMENTO DE BATATAS UTILIZANDO *Cyprinus carpio* COMO BIOINDICADOR

AUTORA: Carine Baggiotto

ORIENTADOR: Dr. Francisco Rossarolla Forgiarini

Ao serem lançados em corpos hídricos, os efluentes da indústria de beneficiamento de batatas podem originar graves danos à biota aquática causando, inclusive, morte de peixes por intoxicação. Os peixes têm sido amplamente utilizados em estudos ecotoxicológicos ao longo dos anos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a possível toxicidade do efluente da indústria de beneficiamento de batatas através da determinação de biomarcadores bioquímicos utilizando peixes como bioindicadores de contaminação aquática. Foram utilizadas 60 carpas (*Cyprinus carpio*) para avaliar os danos oxidativos causados pelo efluente da indústria de beneficiamento de batatas, bem como no sistema de defesa antioxidante destes peixes. O efluente foi coletado em um tanque de sedimentação de uma das indústrias de beneficiamento de batatas do tipo inglesa (*Solanum tuberosum*) no município de Silveira Martins-RS. Foram realizadas análises físico-químicas e das concentrações de agrotóxicos no efluente e também uma análise crítica a respeito da legislação existente. Os peixes foram expostos ao efluente bruto e a coleta foi realizada após 7, 14 e 28 dias. Foram utilizados cérebro, brânquias, fígado e músculo para as análises bioquímicas. As análises realizadas foram atividade das enzimas Acetilcolinesterase, Catalase e Superóxido Dismutase, além da determinação dos níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). Foram encontrados 7 princípios ativos de agrotóxicos no efluente e as análises físico-químicas acusaram que a turbidez e os sólidos suspensos estão em desacordo com a legislação existente. Os níveis de TBARS aumentaram no fígado dos peixes após 7 e 14 dias, nas brânquias os níveis aumentaram após 7 dias. A atividade da AChE não foi alterada em cérebro, porém no músculo após 7, 14 e 28 dias esta sofreu aumento. A atividade da SOD não apresentou alteração no fígado em nenhum dos tempos testados. A atividade da CAT nas brânquias aumentou após 7 e 14 dias, enquanto que não foram observadas alterações em fígado. Os resultados sugerem que o efluente pode causar estresse oxidativo, afetando os parâmetros bioquímicos e enzimáticos nas carpas e que as análises de resíduos de agrotóxicos deveriam ser uma exigência do órgão legislador, pois somente com as análises exigidas até então, não se pode mensurar todas as substâncias que estão sendo lançadas nos corpos hídricos.

Palavras-Chaves: *Solanum tuberosum*; Toxicidade aquática; Resíduos agrícolas; *Cyprinus carpio*

ABSTRACT

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFLUENT OF A POTATO BENEFIT INDUSTRY USING *Cyprinus carpio* AS A BIOINDICATOR

AUTHOR: CARINE BAGGIOTTO

ADVISOR: DR FRANCISCO ROSSAROLLA FORGIARINI

When released into water bodies, the effluent from the potato processing industry can cause serious damage to aquatic biota, causing even death of fish through intoxication. Fish have been widely used in ecotoxicological studies over the years. The objective of this work was to evaluate the possible effluent toxicity from the potato processing industry through of biochemical biomarkers using fish as bioindicators. Sixty carp (*Cyprinus carpio*) were used to evaluate the oxidative damages caused by the potato processing industry effluent, as well as the fish antioxidant defense system. The effluent was collected in a sedimentation tank from potato processing industries (*Solanum tuberosum*) in Silveira Martins-RS. Physical and chemical analyzes and pesticides concentrations were carried out in the effluent, as well as a critical legislation analysis. The fish were exposed to the gross effluent and collected after 7, 14 and 28 days. Brain, gills, liver and muscle were used to biochemical analysis. Acetylcholinesterase, Catalase and Superoxide Dismutase activity, as well as the determination of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) were evaluated. Seven pesticides were found in the effluent, and the physicochemical analyzes showed that turbidity and suspended solids are in disagreement with the legislation. TBARS levels were increased in fish liver after 7 and 14 days, in gills increased after 7 days. AChE activity was not altered in brain, but in muscle after 7, 14 and 28 days an increased were observed. The SOD activity did not present alteration in liver in any period tested. CAT activity in gills increased after 7 and 14 days, whereas no changes were observed in liver. The results suggest that the effluent can cause oxidative stress, affecting the biochemical and enzymatic parameters in carps and the pesticide residues analysis should be required in the legislation, because only with the analyzes currently required, it is not possible to measure all the substances that are being released into the water bodies.

Keywords: *Solanum tuberosum*; Aquatictoxicity; Agricultural residues; *Cyprinus carpio*

Lista de figuras

Revisão Bibliográfica

Figura 1: Imagens de mortandade de peixes em reservatório em Silveira Martins. Fotos: Jairo Becker / Reprodução / A Razão (2013).	17
Figura 2: Exemplar de <i>Cyprinus carpio</i>	21
Figura 3: Mecanismo de reação de TBARS (Adaptado de FRANKEL, 2005)	24
Figura 4: Mecanismo de hidrólise da acetilcolina pela enzima acetilcolinesterase ...	26
Figura 5: Mecanismo geral de inibição da acetilcolinesterase por pesticidas organofosforados	26

Artigo 1

Figura 1. (A) Vista aérea do local de estudo. (B) Local onde ocorre o lançamento do efluente no rio. (C) Situação do rio após o lançamento do efluente.....	32
---	----

Artigo 2

Figura 1: (A) Imagem aérea da empresa de beneficiamento de batatas, em destaque o córrego. (B) imagem do rio onde é realizado o despejo da água de indústria de beneficiamento de batatas.....	49
--	----

Figura 2: Atividade de SOD em fígado de <i>Cyprinus carpio</i> após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N=10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle em $p \leq 0,05$	55
---	----

Figura 3: Atividade da enzima CAT em fígado e brânquias de <i>Cyprinus carpio</i> após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N=10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa do grupo controle em $p \leq 0,05$	55
---	----

Figura 4: Atividade de TBARS em cérebro, fígado, músculo e brânquias de <i>Cyprinus carpio</i> após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N=10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa do grupo controle em $p \leq 0,05$	56
--	----

Figura 5: Atividade de AChE em cérebro e músculo de <i>Cyprinus carpio</i> após diferentes tempos de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N = 10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa do grupo controle em $p \leq 0,05$	57
--	----

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1: Concentrações dos parâmetros físico-químicos do efluente e limites das Resoluções CONSEMA 128 e CONAMA 430 e Concentrações no rio para a vazão de referência e limites da Classe 2 na Resolução CONAMA 357.....35

Tabela 2: Resultado da análise de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....36

Artigo 2

Tabela 1: Concentrações de resíduos de agrotóxicos no efluente de indústria de beneficiamento de batatas.....54

Tabela 2: Pesos e comprimentos dos peixes após 28 dias.....54

Lista de Abreviaturas e Siglas

AChE: acetilcolinesterase

BSA: albumina do soro bovino

CAT: catalase

EROs: espécies reativas de oxigênio

GPx: glutatona peroxidase

GST: glutatona S-transferase

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

MDA: malondialdeído

TBA: ácido 2-tiobarbitúrico

TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

SOD: superóxido dismutase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	AGROTÓXICOS E CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS.....	16
3.3	ECOTOXICOLOGIA	18
3.4	BIOINDICADORES E BIOMARCADORES.....	19
3.5	CARPA HÚNGARA (<i>Cyprinus carpio</i> L.1758).....	20
3.6	ESTRESSE OXIDATIVO E TESTES BIOQUÍMICOS.....	21
3.6.1	Superóxido dismutase (SOD).....	22
3.6.2	Atividade da Catalase (CAT).....	23
3.6.3	Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrio (TBARS)	23
3.6.4	Carbonilação de proteínas	24
3.6.5	Glutathione S- Transferase (GST).....	25
3.6.6	Acetilcolinesterase (AChE).....	25
4	METODOLOGIA.....	28
5	RESULTADOS	29
5.2	ARTIGO 1: LICENCIAMENTO AMBIENTAL DA ATIVIDADE DE BENEFICIAMENTO DE BATATAS	29
5.3	ARTIGO 2: EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE <i>CYPRINUS CARPIO</i> AO EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE BENEFICIAMENTO DE BATATAS	46
6	DISCUSSÃO	67
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
	REFERÊNCIAS.....	71
	APÊNDICE A	80

1 INTRODUÇÃO

Segundo IBGE (2011), no Brasil os resíduos de agrotóxicos são a segunda principal fonte de contaminação das águas, atrás apenas do esgoto sanitário. E conforme a Central Estadual de Vigilância em Saúde - CEVS (2010) constatou-se que a utilização destas substâncias é crescente no Rio Grande do Sul, aumentando a necessidade de conhecimento dos riscos químicos, especialmente para os mananciais de captação de água.

O Rio Grande do Sul é o quarto maior produtor nacional de batata-inglesa, com uma produção média anual de 378.153 toneladas, 10% da produção nacional, superado apenas pelos estados de Minas Gerais, Paraná e São Paulo (ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RS, 2011). Em Silveira Martins, região central do estado, a cultura da batata representa 5,24% da área plantada, correspondendo a 40% do valor total monetário da produção municipal (IBGE, 2013).

Assim, o abuso destes agrotóxicos é comum em lavouras de batatas na busca de um produto adequado ao mercado, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, onde historicamente chegam a ser feitas até 30 pulverizações por ciclo produtivo (LOPES e BUSO, 1999). Aplicações equivocadas de agrotóxicos resultam em aumento do custo de produção, grave poluição ambiental, problemas à saúde do agricultor e contaminação dos alimentos, o que pode resultar também em danos à saúde dos consumidores destes alimentos (LOPES e BUSO, 1999).

Após a safra, os agricultores encaminham a produção das batatas para indústrias de beneficiamento. Estas realizam a lavagem, seleção, ensacagem, armazenamento e posterior distribuição das batatas. No momento da lavagem das batatas, é utilizado um volume excessivo de água, que normalmente são lançadas em mananciais e córregos sem nenhum tipo de tratamento, causando danos ao meio ambiente (RODRIGUES, 2011), e a possibilidade de morte de peixes por intoxicação. Também pode afetar a população a jusante do ponto de lançamento, pois podem estar retirando a água do córrego, por exemplo, para irrigação de cultivares que são consumidas in natura.

Neste contexto, é preciso avaliar as substâncias que podem estar presentes no efluente da indústria de beneficiamento de batatas, como também a interação delas com o meio ambiente, os seres vivos e quais impactos são causados. A ecotoxicologia nasceu como ciência para auxiliar no monitoramento ambiental,

baseada principalmente na resposta de organismos individuais a estressores químicos (de PAIVA MAGALHAES e FERRÃO-FILHO, 2008), além de ser muito importante para auxiliar na determinação de padrões de qualidade da água.

Na legislação brasileira contempladas pelas Resoluções CONAMA 430/2011 e 357/2006, e do Rio Grande do Sul a Resolução CONSEMA 128/2006, são apresentados limites de lançamento de efluentes. No entanto, não há citação direta sobre condições de lançamentos de efluentes de atividades específicas, tais como os produzidos por atividades agropecuárias. Uma vez que somente as análises químicas não possibilitam a avaliação do potencial de risco ambiental dos contaminantes, os testes de toxicidade são essenciais (COSTA et al., 2008). A carpa pode ser utilizada como organismo teste para os testes ecotoxicológicos mencionados na legislação, que podem comprovar a contaminação por agrotóxicos em rios que recebem esses efluentes.

Entre os efeitos que os agrotóxicos podem causar em peixes está a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e alterações em antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, o que pode causar uma situação de estresse oxidativo (CLASEN et al., 2012). Estudos com peixes expostos a diferentes agrotóxicos têm evidenciado alterações nos componentes antioxidantes da célula (ORUÇ e USTA, 2007; MONTEIRO et al., 2006; MIKULA et al., 2009; MODESTO e MARTINEZ, 2010 a, b), indicando que a presença destes no ambiente aquático pode prejudicar a saúde destes animais.

Trabalhos sobre ecotoxicologia realizados em áreas de arroz irrigado, soja e milho têm sido encontrados na literatura, podendo-se citar os trabalhos de Deprá et al. (1989a e 1989b) citado por Resgalla Junior et al. (2002), Resgalla Junior et al. (2002), Miron et al. (2005), Moraes et al. (2011) e Clasen et al. (2012).

A toxicidade dos agrotóxicos é variável e depende das propriedades dos ingredientes ativos e inertes do produto. Os efeitos dos agrotóxicos podem ser agudo, subcrônicos e crônicos e podem interferir na fisiologia, no comportamento e na reprodução dos organismos (IBAMA, 2009). Segundo IBAMA (2009), a toxicidade está relacionada com o tempo de persistência disponível no meio ambiente. Os agrotóxicos podem interferir em processos básicos do ecossistema, como a respiração do solo realizada pelos microrganismos, ciclagem de nutrientes, mortandade de peixes ou aves, bem como a redução de suas populações, entre outros efeitos.

Não foram encontrados na literatura nacional e internacional trabalhos que relatem pesquisas sobre o efluente da indústria de beneficiamento de batatas como possível agente tóxico. Há necessidade de se aprofundar nas investigações dos efeitos dos compostos químicos presentes nesse efluente, os quais dependerão das concentrações, de suas propriedades e como afetam o organismo exposto. A importância do estudo destes efeitos está relacionada ao fato dos humanos estarem indiretamente sujeitos aos efeitos tóxicos destes agrotóxicos utilizados em lavouras de batatas, através do consumo de peixes contaminados, bem como a utilização da água dos mananciais hídricos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos tóxicos do efluente da indústria de beneficiamento de batatas em peixes da espécie *Cyprinus carpio*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar físico-quimicamente e detectar os princípios ativos de agrotóxicos no efluente de uma indústria de beneficiamento de batatas e analisar as exigências do processo de licenciamento ambiental da atividade;
- b) Expor os peixes ao efluente e após determinar:
 - A atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em cérebro e músculo.
 - A atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) em fígado.
 - A atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT) em fígado e brânquias;
 - O possível estado de estresse oxidativo evidenciado por peroxidação lipídica, através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em cérebro, fígado, músculo e brânquias;
- c) Verificar variação de peso corporal e comprimento dos peixes.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 AGROTÓXICOSE CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS

A produtividade agrícola em larga escala está diretamente vinculada ao controle de pragas e doenças na lavoura utilizando constantemente agrotóxicos no ambiente. A toxicidade dos agrotóxicos, porém, pode não ficar restrita apenas aos locais onde são aplicados (DENEER, 2000). Grande parte dos princípios ativos dos agrotóxicos tem como destino final os corpos hídricos, devido ao escoamento superficial, contaminando a fauna aquática e diminuindo a qualidade das águas tanto superficiais quanto subterrâneas devido a infiltração nos lençóis freáticos.

No Brasil, a partir de 1970, criou-se a necessidade de regulamentação dos agrotóxicos, tendo em vista o aumento do uso no país. A legislação foi sendo atualizada, através de inúmeras portarias e, posteriormente, pela Lei dos Agrotóxicos (BRASIL, 1989) e atualizada conforme a necessidade até os últimos anos (BRASIL, 2002).

As transformações de produtos químicos no meio ambiente podem causar efeitos tóxicos similares ao produto original ou até mesmo efeitos colaterais inesperados em organismos não alvos ou então em outros casos, os componentes químicos perdem sua ação original em seu organismo alvo (ESCHER et al., 2008). No Quadro 1 encontram-se a classificação e os efeitos das intoxicações causadas por agrotóxicos em animais.

A contaminação das águas superficiais por agrotóxicos é quase que em sua totalidade proveniente de fatores diretos (lançamento no corpo d'água) e indiretos (durante a sua aplicação ao meio) podendo causar danos ao ambiente e ao homem.

De acordo com Bertoletti (2008), não existe 100% de segurança de não ocorrer efeitos tóxicos quando organismos são expostos a agentes químicos, pois a presença deles em ecossistemas aquáticos sempre representa um risco aos seres vivos.

Quadro 1: Classificação das intoxicações causadas por agrotóxicos em animais.

Intoxicações	Descrição
Aguda	O organismo logo reage, apresentando sinais e/ou sintomas. Os sintomas aparecem nas primeiras 24 horas após exposição, e podem ser fatais ou perdurarem por certo tempo, dependendo do produto e da dose. Os casos agudos são de diagnóstico fácil por serem logo correlacionados com a exposição ao tóxico.
Crônica	Torna-se difícil estabelecer a correlação entre causa e efeito. Existem manifestações que surgem meses e até anos após a exposição a algum agrotóxico, ou após a exposição continuada e frequente a pequenas doses de agrotóxicos. Há casos de intoxicações por verdadeiros coquetéis de agrotóxicos, dificultando o diagnóstico.
Recôndita	É o resultado do acúmulo de quantidades mínimas de um agrotóxico no organismo, suficiente para interferir na normalidade dos fenômenos vitais. Alguns agrotóxicos apresentam efeitos <i>mutagênicos e carcinogênicos</i> . Dose letal 50% oral (DL-50 oral): é a dose única, que provoca a morte em 50% dos animais testados, em até 14 dias, após sua administração por via oral. Dose letal 50% dérmica (DL-50 dérmica): é a dose única, que após o contato por 24 horas com a pele tanto intacta, quanto escoriada, provoca a morte em 50% dos casos, em 14 dias após a sua administração. (O animal para este teste é o rato albino macho).

Fonte: MAPA, 2015.

Embora exista uma regulação de descargas de compostos tóxicos no ambiente, o ecossistema aquático pode apresentar condições inadequadas para manutenção da vida mesmo quando as características físico-químicas da água conferem com a estabelecida pelo critério de qualidade. Nos ambientes aquáticos, os organismos podem ser expostos a agentes contaminantes presentes tanto na água quanto nos sedimentos, e dessa contaminação podem surgir transformações na biodiversidade aquática, ocasionando na desestruturação dos ambientes físicos, da dinâmica química e das comunidades biológicas (COSTA et al., 2008).

É comum em Silveira Martins/RS ocorrerem casos de mortandade de peixes em reservatórios e rios devido ao suposto uso de agrotóxicos em diversas culturas agrícolas, como o noticiado por um jornal local, conforme se observa na Figura 1.

Figura 1: Imagens de mortandade de peixes em reservatório em Silveira Martins. Fotos: Jairo Becker / Reprodução / A Razão (2013).



3.2 CULTURA DA BATATA

A batata (*Solanum tuberosum* L.), também conhecida como batatinha ou batata-inglesa, é nativa da Cordilheira dos Andes (América Latina), onde era consumida pelas populações nativas há mais de 8000 anos (LOPES & BUSO, 1999).

Para controle de plantas daninhas na cultura da batata, segundo ABBA (2003) são utilizados glyphosate, Paraquat (Gramoxone) ou Diquat (Reglone), metribuzin (Sencor), fluazifop-p-butil (Fusilade 125) ou fenoxaprop-ethyl (Podium) e haloxyfop (Verdict).

Já para os tratamentos fitossanitários, segundo Anvisa (2016) são registrados e autorizados para uso na cultura da batata, um total de 129 princípios ativos. Essa listagem encontra-se no Apêndice A. Nem todos os princípios ativos são usados conjuntamente. O técnico responsável, juntamente ao agricultor, faz uma seleção dos disponíveis, e estes são aplicados em suas lavouras.

3.3 ECOTOXICOLOGIA

O termo ecotoxicologia foi cunhado pelo professor e pesquisador francês René Truhaut, em 1969, reunindo a designação eco (do grego oikos, elementos de composição com o significado de casa, domicílio, habitat, meio ambiente) e a palavra toxicologia (ciência dos agentes tóxicos, dos venenos e da intoxicação). Naquela época, já existia a crescente preocupação dos cientistas e autoridades em compreender os efeitos deletérios promovidos pelas substâncias químicas, mormente as de origem antrópica, sobre os ecossistemas (seus bioconstituintes e suas inter-relações) (AZEVEDO; CHASIN, 2004).

De maneira geral, o termo ecotoxicologia é empregado para relacionar os efeitos tóxicos das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos, especialmente nas populações e nas comunidades de um ecossistema definido, incluindo os caminhos da transferência desses agentes e sua interação com o ambiente (IBAMA, 2009).

A ecotoxicologia é uma área especializada da toxicologia ambiental que centra seus estudos nos efeitos ocasionados por agentes químicos e físicos sobre a

dinâmica de populações e comunidades integrantes de ecossistemas definidos (RONCO et al., 2004). A relação entre a concentração de uma substância química à qual é exposto um determinado organismo e o efeito nocivo que lhe é produzido, conhecida como relação dose-resposta, é um dos aspectos mais importantes da ecotoxicologia aquática (COSTA et al., 2008)

A ampla composição dos efluentes gerou necessidades maiores sobre o conhecimento dos efeitos tóxicos dos diferentes poluentes sobre a biota aquática, pois esta é afetada diretamente. Para uma melhor compreensão do potencial tóxico de um ambiente e seus efeitos sobre a biota local, é imprescindível uma visão ampla que envolva noções de genética, proteômica, metabolismo celular e de níveis de organização biológica mais elevados, a fim de tornar este tipo de estudo com biomarcadores uma ferramenta essencial para o manejo e conservação do meio ambiente (MOORE et al., 2004).

Vários parâmetros bioquímicos de peixes têm sido utilizados como biomarcadores devido às suas respostas a substâncias tóxicas. Dentre os biomarcadores bioquímicos, os mais extensivamente investigados são as enzimas envolvidas na detoxificação de xenobióticos e de seus metabólitos, ou seja, as enzimas de biotransformação e de defesa antioxidante (MARTINEZ, 2006).

3.4 BIOINDICADORES E BIOMARCADORES

Segundo Lijteroff et al. (2009), bioindicadores são indivíduos ou comunidades que fornecem informações sobre a condição de um ecossistema, demonstrando a presença de alterações ambientais. Em se tratando de ambiente aquático, plantas aquáticas, algas, crustáceos, moluscos, peixes, mamíferos, aves, entre outros, podem ser alvos de estudos, portanto são considerados bioindicadores (LINS et al., 2010).

A utilização de bioindicadores permite determinar a concentração dos poluentes que influenciam os organismos, bem como o padrão de contaminação e a biodisponibilidade (FERREIRA, 2015). Os peixes são cada vez mais utilizados como bioindicadores em avaliações de contaminação ambiental, pois ocupam níveis tróficos superiores na cadeia alimentar e podem facilmente estar em contato com os poluentes presentes na água.

Os peixes têm sido amplamente utilizados em estudos ecotoxicológicos ao longo dos anos. Como exemplos tem-se os trabalhos de Moraes et al. (2011) e Clasen et al. (2012), Clasen et al. (2014), Li et al. (2015) que utilizaram *Cyprinus carpio* como bioindicador; Yan et al. (2015) fizeram uso de *Danio rerio* (zebrafish); Abhijith et al. (2016) utilizaram *Catla catla* (Carpa indiana); Atli et al. (2016) utilizaram *Oreochromis niloticus* (tilapia), *Cyprinus carpio* (carpa), *Onchorhynchus mykiss* (Truta) e *Clarias garipienus* (bagre); Bonansea et al. (2016) estudaram *Jenynsia multidentata* (barrigudinho); Clasen et al. (2017) e Persch et al. (2017) estudaram *Rhamdia quelen* (Jundiá).

Os biomarcadores são indicadores biológicos capazes de indicar eventos que precedem os efeitos irreversíveis de contaminantes ao ambiente e/ou aos organismos, permitindo, por meio de análises relativamente simples, fornecerem uma indicação geral previa de contaminação. São medidas de fluidos corporais, células e tecidos, ou medidas realizadas sobre o organismo completo, que indicam em termos bioquímicos, celulares, fisiológicos, comportamentais ou energéticos a presença de poluentes ou a magnitude da resposta do animal exposto (LINDE, 2005).

3.5 CARPA HÚNGARA (*Cyprinus carpio* L.1758)

A carpa húngara, espécie da família Cyprinidae, gênero *Cyprinus*, espécie *Cyprinus carpio* L. 1758 é uma espécie exótica, de origem asiática, criada na China há mais de 2.000 anos (CASTAGNOLLI e CYRINO, 1986). No Brasil, onde se adaptou com grande facilidade, foi introduzida no Estado de São Paulo, em 1904.

A carpa húngara possui escamas ciclóides, barbelas, nadadeira dorsal que se estende na maior parte do dorso, dentes faringianos e ausência de dentes na mandíbula. Representa o peixe mais produzido no mundo por ser totalmente domesticado, tolerar baixos níveis de oxigênio dissolvido na água e sobreviver a grandes amplitudes de temperatura (EMBRAPA, 2013). É uma espécie onívora que se alimenta de invertebrados, plantas, algas, consome larvas de insetos e crustáceos, podendo alimentar-se também de pequenos peixes (MABUCHI et al., 2006).

A carpa é uma das espécies mais produzidas e comercializadas no Rio Grande do Sul (MPA, 2014) e por ser uma espécie que se adapta facilmente e é resistente a ambientes inóspitos, pode ser usada como bioindicador em experimentos de ecotoxicologia. Na Figura 2, temos um exemplar de *Cyprinus carpio*.

Figura 2: Exemplar de *Cyprinus carpio*



(Fonte própria)

Vários trabalhos já foram realizados utilizando essa espécie como bioindicadora, podendo ser citados os trabalhos de Moraes et al (2011), Clasen et al. (2012), Yonar et al. (2012), Wang et al. (2013), Clasen et al. (2014), Li et al. (2015), Gutiérrez-Gómez et al. (2016), Cortes-Diaz et al. (2017). Todos os autores utilizaram a espécie na determinação de enzimas como biomarcadores.

3.6 ESTRESSE OXIDATIVO E TESTES BIOQUÍMICOS

A instalação do processo de estresse oxidativo provém da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses (BARBOSA et al., 2010). Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (HALLIWELL e WHITEMAN, 2004).

Segundo Halliwell e Gutteridge (2007), o oxigênio é uma molécula essencial para os organismos aeróbios, mas ao mesmo tempo seu consumo é capaz de gerar substâncias tóxicas a nível intracelular e extracelular, criando então o chamado “paradoxo do oxigênio”, devido ao balanço existente entre suas vantagens e

desvantagens. Essas substâncias tóxicas são geradas durante o transporte de elétrons, reações enzimáticas, reações de auto-oxidação, ou ainda, pelo grupo heme de proteínas, e são comumente chamadas de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($OH\cdot$) (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007).

As EROs podem transformar as macromoléculas celulares, incluindo as proteínas, os lipídios e o DNA (SIES, 1993). Cerca de 2% a 5% do oxigênio metabolizado nas mitocôndrias são desviados para outra via metabólica, e reduzidos de forma univalente, dando origem às EROs (BRASILEIRO, 1997).

O dano oxidativo é caracterizado por aumentos nos níveis dos produtos de oxidação de macromoléculas, tais como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e carbonilação de proteínas. Como resultado da peroxidação lipídica uma grande variedade de aldeídos podem ser produzidos, incluindo hexanal, o malondialdeído (MDA) e 4-hidroxinonenal (CATALA, 2006). Parvez e Raisuddin (2005) e Almroth et al. (2005) sugerem que a dosagem de carbonilação de proteínas em peixes pode ser usada como biomarcador complementar de estresse oxidativo.

Para neutralizar os efeitos das EROs, as células possuem mecanismos de defesa antioxidante. As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) são importantes para os mecanismos de proteção celular contra as EROs, assim como a glutathione S-transferase (GST) (MENEZES, 2013). Essas enzimas têm sido usadas como indicadores de dano oxidativo em peixes expostos a diversos agroquímicos (STARA et al., 2012).

3.6.1 Superóxido dismutase (SOD)

A superóxido dismutase é uma das principais enzimas utilizadas no combate ao dano oxidativo das espécies reativas de oxigênio (AVILEZ et al., 2008). Desempenham uma das funções mais importantes do organismo no combate aos radicais livres por realizar a função de catalisar a dismutação do superóxido em peróxido e oxigênio (ZHENG et al., 2010).

Segundo Nunes et al. (2015), altas atividades de SOD estão relacionadas a uma maior produção de peróxido de hidrogênio que é a molécula chave para vários processos metabólicos dentro da célula desde a produção de radicais livres até produção de compostos fenólicos.

Letendre et al. (2008), utilizaram a superóxido dismutase como medidor do estresse oxidativo causado pelo ciclo de maré na espécie *Mytilus edulis*, os quais foram divididos em grupos e submetidos a regiões marinhas profundas e superficiais, e como resultado foi verificado o aumento na atividade enzimática naqueles grupos alocados em ambiente mais profundo.

3.6.2 Atividade da Catalase (CAT)

A enzima catalase (CAT), um componente de defesa antioxidante primário, exerce duas funções importantes: a decomposição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a água e oxigênio ($H_2O + O_2$) e a oxidação de compostos hidrogenados, como metanol, etanol, ácido fórmico, fenóis, com o consumo de um mol de peróxido (AEBI, 1984).

Segundo Avilez et al. (2008), a atividade da catalase é importante para o monitoramento ambiental, por ser uma enzima que apresenta elevada atividade quando o organismo se encontra em estresse oxidativo. Por esse motivo, é utilizada como biomarcadora em diversos estudos que analisam o impacto ambiental como descrito por Atli e Canli (2007) e Zanette et al. (2008).

Dautremepuits et al. (2004) utilizou a catalase como marcador para avaliar a interferência do cobre e de fungicidas, a base de cobre, sobre o fígado e rim em peixes da espécie *Cyprinus carpio* L.

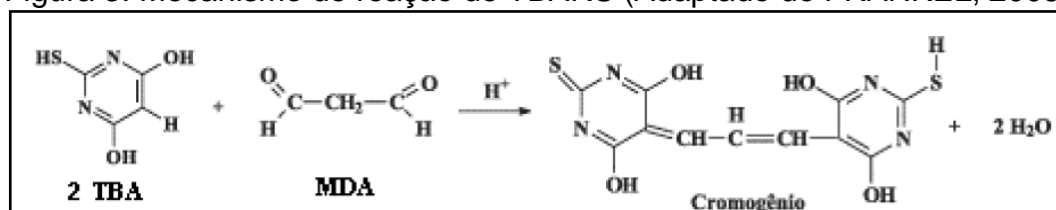
3.6.3 Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrio (TBARS)

O ensaio conhecido como TBARS, um dos mais utilizados em tecidos de peixes, quantifica a formação de malondialdeído (MDA). O MDA é um dos produtos finais da peroxidação lipídica, que reage com o ácido tiobarbitúrico em pH ácido e temperaturas elevadas para formar um composto fluorescente de cor rosa (Figura 3), que pode ser quantificado em espectrofotômetro (MARTINEZ, 2006).

Atualmente, a peroxidação lipídica é considerada como os principais mecanismos moleculares envolvidos no dano oxidativo para estruturas celulares e no processo de toxicidade que conduzem à morte celular (REPETTO et al., 2012). Ela envolve a formação e propagação de radicais lípidos, a absorção de oxigênio,

um rearranjo das ligações duplas nos lípidos insaturados e a eventual destruição dos lípidos da membrana, com a produção de uma variedade de produtos de degradação, incluindo álcoois, cetonas, alcanos, aldeídos e éteres (DIANZANI e BARRERA, 2008).

Figura 3: Mecanismo de reação de TBARS (Adaptado de FRANKEL, 2005)



Tagliari et al. (2006) encontraram alterações nos níveis de TBARS no fígado de *Gymnogeophagus gymnogenys* quando expostos aos despejos de curtumes com a presença de compostos mutagênicos na água intersticial.

As alterações no conteúdo MDA variaram entre aumentos e diminuições em tecido renal de *Cyprinus carpio* quando em contato com diazinon, um inseticida organofosforado (ORUÇ e USTA, 2007).

3.6.4 Carbonilação de proteínas

A carbonilação consiste na alteração das cadeias laterais de aminoácidos com a formação de grupamentos do tipo aldeídos, cetonas, amidas, carboxilas e ésteres (LIEBEL, 2011). Carbonilos protéicos são formados precocemente durante condições de estresse oxidativo e não são o resultado de um oxidante específico, assim podem ser chamados demarcador de oxidação total de proteínas (WEBER et al., 2015).

Parvez e Raisuddin (2005) utilizaram a indução da carbonilação de proteína, como um biomarcador de estresse oxidativo em estudos laboratoriais para avaliar os efeitos tóxicos de agrotóxicos em peixes de água doce, *Channa punctata* (Bloch), expostos a deltametrina, endossulfan e paraquat. Os autores observaram aumento significativo em carbonilação de proteínas em resposta a 48 h de exposição única em todos os tecidos analisados.

3.6.5 Glutathione S-Transferase (GST)

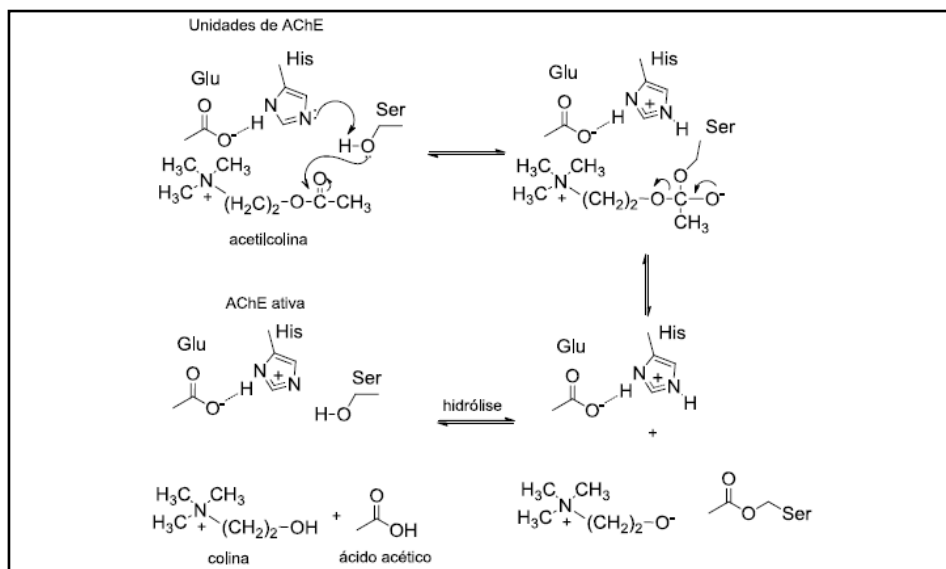
As glutathione S-transferases (GST) representam uma importante família de enzimas, primariamente citosólicas, que catalisam a conjugação de vários compostos com o tripeptídeo glutathione. Essas proteínas também desempenham papéis adicionais no processo de detoxificação de xenobióticos. O fígado é a principal fonte de GST em peixes, onde essa enzima corresponde a uma grande fração das proteínas hepáticas solúveis (MARTINEZ, 2006).

Um aumento na atividade hepática da GST já foi reportado em vários estudos após a exposição de peixes a contaminantes orgânicos, como, por exemplo, no peixe neotropical *Prochilodus lineatus* exposto à fração solúvel do óleo diesel (SIMONATO et al., 2006). Almeida et al. (2005) mostraram em seu trabalho que ocorreu um aumento significativo na atividade da GST em tecidos de peixes expostos ao sedimento coletados ao longo de um córrego urbano no qual vários tipos de contaminantes são descarregados. Da mesma forma, o aumento da atividade da GST foi observado por Camargo e Martinez (2006) quando compararam peixes mantidos em locais impactados com animais mantidos em locais livres de poluentes. Essa atividade aumentada da GST pode estar associada a um processo adaptativo do organismo à presença de uma variedade de compostos orgânicos no ambiente (GALLAGHER et al., 2001).

3.6.6 Acetilcolinesterase (AChE)

A atividade desta enzima é extremamente importante para muitas funções fisiológicas dos peixes, como localização da presa, fuga do predador e orientação em direção ao alimento (DUTTA & ARENDS, 2003). A principal função da AChE é a hidrólise da acetilcolina (ACh), o mediador das sinapses colinérgicas no sistema nervoso, prevenindo contínuas passagens de impulsos, o que é vital para um normal funcionamento do sistema sensorial e neuromuscular (COLOMBI, 2009), como pode ser observado na Figura 4.

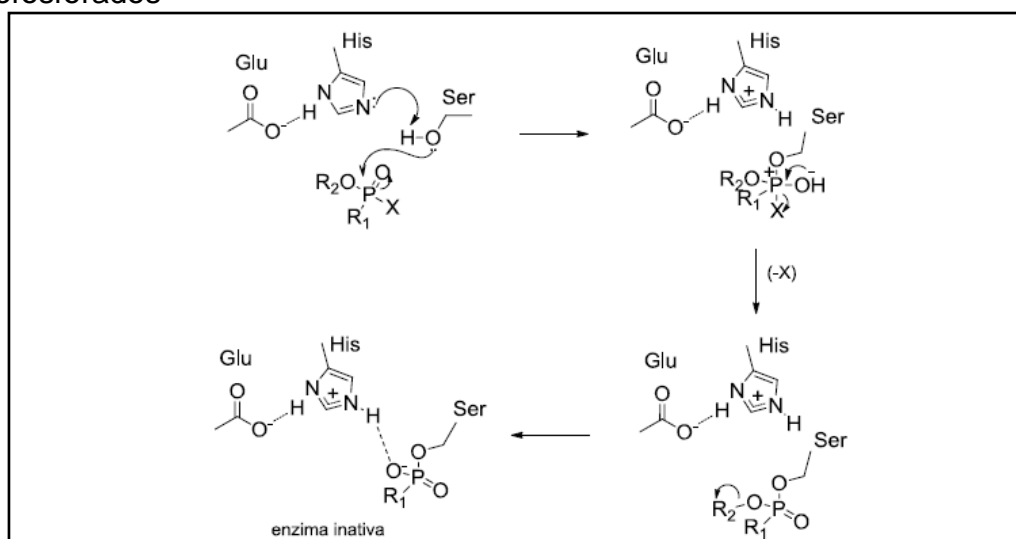
Figura 4: Mecanismo de hidrólise da acetilcolina pela enzima acetilcolinesterase



Fonte: Santos et al. 2007

A inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) por agrotóxicos organofosforados e carbamatos é considerado um marcador biológico específico da exposição e efeitos a estes agrotóxicos (ALVES et al., 2007). Na Figura 5, temos o mecanismo geral de inibição da acetilcolinesterase por pesticidas organofosforados.

Figura 5: Mecanismo geral de inibição da acetilcolinesterase por pesticidas organofosforados



Fonte: Santos et al. (2007)

Clasen et al. (2012) investigou os efeitos da exposição de *Cyprinus carpio* a carbofuran e fipronil e verificou que a atividade da enzima AChE mostrou-se inibida em cérebro e músculo. Colombi (2009) observou a inibição da atividade colinesterástica no músculo de *Hoplias malabaricus* (traira), quando estas foram expostas a mercúrio orgânico, verificando que a acetilcolinesterase foi eficaz como biomarcador em peixes expostos.

Os resultados do estudo realizado por Oruç e Usta (2007), sugerem que a acetilcolinesterase teve sua atividade reduzida nos tecidos musculares de *Cyprinus carpio*, quando expostos a diazinon, um organofosfato.

A atividade da AChE cerebral dos peixes expostos a Triclorfom por 24 h foi reduzida em 55-57% em comparação com os controles (CHANDRASEKARA e PATHIRATNE, 2005). Exemplares de *Channa striata* expostos ao diazinon no dia de aplicação na lavoura de arroz apresentaram redução da atividade da AChE e 21 dias após a aplicação na lavoura houve uma recuperação de cerca de 70% desta perda, mas ainda apresentava-se significativamente reduzida (CONG et al. 2008).

4 METODOLOGIA

A presente pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal de Santa Maria – RS, junto ao Laboratório de Engenharia e Meio Ambiente (LEMA), localizado no prédio do Centro de Tecnologia CT, Anexo dos Laboratórios – CT-LAB. Para a realização prática do trabalho foi utilizado um efluente proveniente de uma indústria de beneficiamento de batatas, localizado no município de Silveira Martins no Estado do Rio Grande do Sul.

No primeiro artigo deste trabalho são apresentados os aspectos referentes à caracterização físico-química do efluente bruto, onde foram determinados os princípios ativos existentes e a concentração de cada um. Também foi realizada uma avaliação comparativa dos resultados das análises frente ao que preconiza a legislação atual vigente, convergindo para uma análise crítica acerca destas exigências.

Já o segundo artigo expõe os resultados das avaliações feitas em *Cyprinus carpio* que foram expostos ao efluente bruto por um tempo pré-determinado. Posteriormente, os espécimes foram sacrificados e destes foram retirados alguns órgãos e tecido que foram submetidos a análises enzimáticas para determinar o nível de estresse oxidativo sofrido por estes.

Ressalta-se que em razão de ter sido utilizada metodologias distintas em cada artigo, essas são apresentadas e detalhas nos trabalhos correspondentes.

5 RESULTADOS

5.2ARTIGO 1: LICENCIAMENTO AMBIENTAL DA ATIVIDADE DE BENEFICIAMENTO DE BATATAS

Resumo

A contaminação das águas por agrotóxicos é um dos principais problemas ambientais. Dentre as culturas agrícolas destaca-se a batata, que emprega uma grande quantidade de agrotóxicos durante toda a sua produção. Este artigo tem por finalidade caracterizar o efluente da atividade de beneficiamento de batatas e analisar as exigências do processo de licenciamento ambiental, a partir da legislação existente. O efluente foi coletado na saída do sistema de tratamento de efluentes de uma indústria de beneficiamento de batatas do tipo inglesa e analisado em laboratório para detecção dos possíveis agrotóxicos presentes, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), e caracterizado físico-quimicamente por análises de temperatura, turbidez, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, demanda bioquímica de oxigênio, demanda química de oxigênio, sólidos dissolvidos, sólidos em suspensão, sólidos sedimentáveis e sólidos totais utilizando o *Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater*. Nas análises realizadas por HPLC foram encontrados a presença de 7 princípios ativos de agrotóxicos e as análises físico-químicas acusaram que a turbidez e os sólidos suspensos estão em desacordo com a legislação existente. Assim, percebe-se a necessidade de as análises de resíduos de agrotóxicos serem uma exigência do órgão legislador para emissão de licenças ambientais, pois somente através das análises exigidas até então não se pode mensurar todas as substâncias que estão sendo lançadas nos corpos hídricos.

Palavras-chave: Efluentes; Legislação ambiental; Agrotóxicos.

Abstract

Water contamination by pesticides is an environmental problem. Among the agricultural crops, potatoes stand out for employing a large pesticides quantity in its production. This research aims to characterize the potato processing effluent activity and to analyze the environmental licensing requirements, based on the existing legislation. The effluent was collected at the effluent treatment system exit from potato processing industry and analyzed in laboratory for the pesticide detection by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). It is characterized physic chemically by analyzes of temperature, turbidity, pH, dissolved oxygen, electrical conductivity, biochemical oxygen demand, chemical demand dissolved solids, suspended solids, settling solids and total solids using the Standard Methods for the Water and Wastewater examination. In the HPLC analyzes, 7 active pesticides was found and the physicochemical analyzes showed that the turbidity and the suspended solids are in disagreement with the legislation. Thus, the necessity to analyze pesticide residues must be a requirement of the legislature body to issue

environmental licenses, because through the analysis currently required it is not possible to measure all the substances that are being released into the water bodies.

Keywords: Effluents; Environmental legislation; Pesticides.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação das águas superficiais por agrotóxicos é quase que em sua totalidade proveniente de fatores diretos (lançamento no corpo d'água) e indiretos (durante a sua aplicação ao meio) podendo causar danos ao ambiente e ao homem. De acordo com Bertolotti (2008), não existe 100% de segurança de não ocorrer efeitos tóxicos quando organismos são expostos a agentes químicos, pois a presença deles em ecossistemas aquáticos sempre representa um risco aos seres vivos.

Embora exista uma regulação de descargas de compostos tóxicos no ambiente, o ecossistema aquático pode apresentar condições inadequadas para a manutenção da vida mesmo quando as características físico-químicas da água atendem os critérios de qualidade. Assim, a caracterização dos constituintes dessas misturas e a identificação dos compostos de maior preocupação em diferentes estruturas espaciais é uma das questões-chave para a proteção dos ecossistemas naturais (VÖRÖSMARTY et al., 2010)

Atualmente são utilizados diversos tipos de agrotóxicos, pois a produtividade agrícola em larga escala está diretamente vinculada ao controle de pragas e doenças na lavoura e, como consequência, combinações complexas de compostos potencialmente perigosos estão presentes no meio aquático (KUZMANOVIĆ et al., 2016). Após a aplicação nas plantações, o principal destino dos agrotóxicos é o solo, onde pode ser submetido a vários processos, como degradação, escoamento, lixiviação e volatilização, sofrendo transporte para outros locais e atingindo áreas não visadas e organismos não-alvo como os aquáticos (IORIS, 2016).

Neste contexto, o município de Silveira Martins no Estado do Rio Grande do Sul se destaca, pois é comum ocorrerem casos de mortandade de peixes em reservatórios e rios devido ao suposto uso de agrotóxicos, como o noticiado por um jornal local (A Razão, 2013). O município é um importante produtor de batata inglesa

da região, que emprega uma grande quantidade de agrotóxicos durante toda a sua produção. No momento do beneficiamento, que realiza a seleção e lavagem das batatas, é utilizado um grande volume de água. Normalmente, para este tipo de atividade os órgãos ambientais exigem apenas um tratamento simplificado de sedimentação.

ABBA (2006) relata que o maior problema quando se realizam pesquisas sobre sistemas de tratamento dos efluentes da produção agrícola é a falta de valores limites de aplicação desses efluentes na natureza. A mesma publicação aborda que para a conservação e a preservação ambiental tem-se que tomar como parâmetro sempre o menor índice, ou seja, quanto mais próximo do zero de efluente, menor o risco existente de dano ambiental.

Na legislação brasileira, contemplada pelas Resoluções CONAMA 357/2005 e 430/2011, e do Rio Grande do Sul, a Resolução CONSEMA 128/2006 são apresentados limites de lançamento de efluentes em corpos hídricos. No entanto, não há citação direta sobre condições de lançamentos de efluentes de atividades específicas, tais como os produzidos por atividades agropecuárias.

Assim, o licenciamento ambiental da atividade de beneficiamento de batatas se torna um tanto falho, pois os condicionantes são muito amplos, abrindo muitas brechas para o não cumprimento da lei. Além disso, falta fiscalização da atividade.

O não cumprimento da legislação faz do sistema de gestão ambiental ineficiente e tem ocasionado o lançamento de águas residuárias sem tratamento adequado nos cursos de água. Isso gera elevação da matéria orgânica na água, diminuição do oxigênio dissolvido, alteração da temperatura, aumento da concentração de sólidos solúveis e totais na água, desencadeando a proliferação de doenças veiculadas pela água (MATOS, 2005).

Considerando o grande uso de agrotóxicos em lavouras de batatas, este artigo tem por finalidade caracterizar o efluente da atividade de beneficiamento de batatas e analisar as exigências do processo de licenciamento ambiental da atividade, a partir de revisão bibliográfica sobre a legislação existente.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O efluente bruto foi coletado na saída do sistema de tratamento dos efluentes de uma das indústrias de beneficiamento de batatas do tipo inglesa no município de Silveira Martins – RS. O sistema de tratamento é composto por tanques de sedimentação simples com fluxo intermitente e o efluente é liberado para o rio que passa próximo. Na figura 1, pode-se detectar o curso hídrico onde é realizado o despejo do efluente.

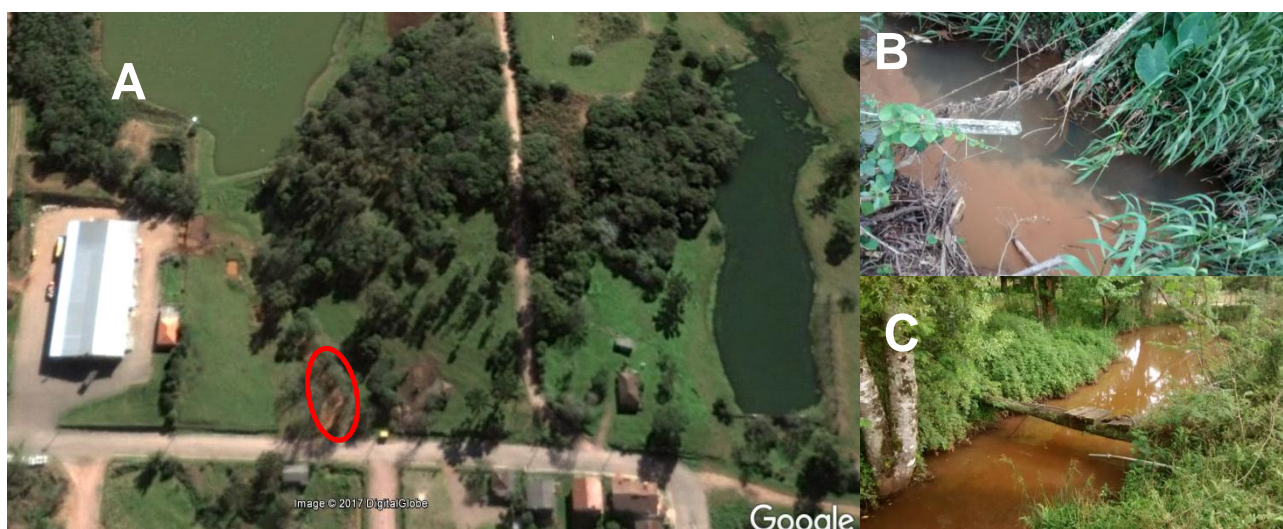


Figura 1. (A) Vista aérea do local de estudo. (B) Local onde ocorre o lançamento do efluente no rio. (C) Situação do rio após o lançamento do efluente. Data imagem: 16/08/2011

Para determinar a vazão de referência do rio onde o efluente é lançado foi utilizada a vazão específica da região utilizando o monitoramento com cerca de 4 anos de dados na bacia da Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) que fica ao lado da bacia desse estudo. No Estado a vazão de referência para outorga é de 75% da Q90 (HORN, 2016). Na bacia da Corsan a vazão específica com 90% de permanência calculada foi de 1,20 l/s.km² (FORGIARINI et al., 2015). Na bacia deste estudo, cuja área é de 10,87 ha, a vazão resultante com 75% de vazão outorgável foi de 0,09 l/s.

A caracterização físico-química do efluente foi realizada durante 4 campanhas de amostragem e realizada uma média de valores das análises de temperatura e Oxigênio Dissolvido (OD) em campo, turbidez, pH, Condutividade Elétrica, Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Sólidos Dissolvidos, Sólidos em Suspensão, Sólidos Sedimentáveis e Sólidos Totais em

laboratório. Os processos analíticos utilizados estão preconizados no *Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WPCF, 2012).

A Resolução CONAMA 357/2005 estabelece que rios não enquadrados são considerados classe 2. Portanto, para serem lançados os efluentes não devem modificar esta classe do rio. Para realizar o cálculo das concentrações dos parâmetros físico-químicos e determinar se o efluente lançado atende a classe 2 do rio foram utilizadas as equações 1 e 2.

$$Q_T = C_T * Q_L \quad \text{(Equação 1)}$$

Sendo:

Q_T =Carga Total (mg/dia);

C_T =Concentração encontrada pela análise físico-química (mg/L);

Q_L =Vazão de efluente lançada (L/dia).

$$C_A = Q_T / Q_{75} \quad \text{(Equação 2)}$$

Sendo:

C_A =Concentração na Água (mg/L);

Q_T =Carga total (mg/dia);

Q_{75} =Vazão de Referência com 75% de permanência (L/dia).

O efluente coletado foi enviado ao LARP (Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas), localizado na Universidade Federal de Santa Maria, para detecção dos possíveis agrotóxicos presentes. Foi utilizado o método descrito por Zanella et al. (2003) que é baseado em cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC)

Para realizar o cálculo da concentração de agrotóxico na água foram utilizadas as equações 3, 4 e 5.

$$Q_{ST} = C_{ST} * Q_L \quad \text{(Equação 3)}$$

Sendo:

Q_{ST} =Carga Sólida Total (Kg/dia);

C_{ST} =Concentração de Sólidos Totais (Kg/L);

Q_L =Vazão de efluente lançada (L/dia).

$$Q_{AG} = Q_{ST} * C_{AGS} \quad (\text{Equação 4})$$

Sendo:

Q_{AG} =Carga de Agrotóxico ($\mu\text{g}/\text{dia}$);

Q_{ST} =Carga Sólida Total (Kg/dia);

C_{AGS} =Concentração de Agrotóxico no Sedimento ($\mu\text{g}/\text{Kg}$);

$$C_{AGA} = Q_{AG} / Q_{75} \quad (\text{Equação 5})$$

Sendo:

C_{AGA} =Concentração de Agrotóxico na Água ($\mu\text{g}/\text{L}$);

Q_{AG} =Carga de Agrotóxico ($\mu\text{g}/\text{dia}$);

Q_{75} =Vazão de Referência com 75% de permanência (L/dia).

Também foi realizada uma busca nas bases literárias sobre a legislação existente em relação à contaminação de águas superficiais por agrotóxicos, e verificado quais foram as exigências do órgão licenciador para concessão da licença ambiental.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão os valores médios das análises dos parâmetros físico-químicos, os valores estabelecidos na CONSEMA 128 e na CONAMA 430 como padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos e as concentrações no rio onde ocorre o lançamento com os limites para a classe 2 da CONAMA 357.

Tabela 1. Concentrações dos parâmetros físico-químicos do efluente e limites das Resoluções CONSEMA 128 e CONAMA 430 e Concentrações no rio para a vazão de referência e limites da Classe 2 na Resolução CONAMA 357.

Parâmetro	Média ±Desvio Padrão	CONSEMA128/2006 (até 20 m ³ /d)	CONAMA 430/2011	Conc. Rio	Classe 2 (CONAMA 357/2006)
Temperatura (°C)	21,1 ± 4,5	< 40	< 40		
OD	2,5 ± 1,7	-	-		
pH	6,3 ± 0,1	6 e 9	5 a 9		
Condutividade Elétrica (µS/cm)	149,4 ± 28,1	-	-		
Turbidez (NTU)	165,5 ± 62,5	-	Até 40		
Sólidos Suspensos (mg/L)	609,0 ± 286,4	180	-	361,5	
Sólidos Totais (mg/L)	850,0 ± 206,1	-	-	504,5	
Sólidos Dissolvidos (mg/L)	238,0 ± 82,1	-	-	141,3	500
Sólidos Sedimentáveis (ml/L)	0,3 ± 0,1	≤1,0	≤1,0	0,2	1
DBO ₅ (mg O ₂ /L)	20,5 ± 15,3	180	-	12,2	5
DQO (mg O ₂ /L)	70,3 ± 23,0	400	-	41,7	

Observa-se que os parâmetros turbidez e sólidos suspensos estão em desacordo com a legislação. A turbidez ocorre pela presença de partículas em suspensão, ou de substâncias em solução, que tende a agravar a poluição. A turbidez limita a penetração de raios solares, restringindo a realização da fotossíntese que, por sua vez, reduz a reposição do oxigênio (GONÇALVES, 2009). Notoriamente, quanto maior a turbidez, maior a quantidade de sólidos, razão essa pela qual ambos os parâmetros estão em discrepância com a legislação. A grande quantidade de sólidos que são lançados no rio, juntamente com os sólidos grosseiros, que deveriam ter ficado retido nas grades do tratamento preliminar, podem causar impactos negativos significativos, conferindo uma cor avermelhada à água e, ao longo dos anos, poderá assorear e extinguir sua fauna.

Notou-se também que o OD teve valores muito baixos, o que pode prejudicar a biota aquática, já que ele é considerado um teste-chave na análise ambiental para verificar a qualidade das águas de uma bacia, pois sua variação revela o grau de poluição existente (APHA; AWWA; WPCF, 2012). A temperatura do efluente não era elevada.

Quanto ao pH, este manteve-se constante, sempre próximo à 6, que é o limite inferior previsto na CONSEMA nº 128/2006, pois os critérios de proteção à vida aquática em águas superficiais fixam o pH entre 6 e 9 (CETESB, 2009). Já em relação à condutividade elétrica (CE), que conforme Mortari e Silva (2009) é uma estimativa rápida do conteúdo de sólidos de uma amostra, ficou sempre acima de

100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. De acordo com a CETESB (2009), a CE representa uma medida indireta da concentração de poluentes, sendo níveis superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ considerados críticos para a biota aquática.

Com relação à DQO e DBO, os valores encontrados não foram superiores à legislação estadual, já que a legislação federal não delimita valores. Esses dois parâmetros são indispensáveis, pois a quantidade de matéria orgânica presente é importante para se conhecer o grau de poluição de uma água residuária, para se dimensionar as estações de tratamento de esgotos e medir sua eficiência.

Quanto às concentrações dos parâmetros físico-químicos do rio, calculadas com as equações 1 e 2 da metodologia, observou-se que a DBO está em desconformidade com a classe 2 da CONAMA nº 357. Isso deve refletir diretamente na quantidade de oxigênio dissolvido disponível para a fauna do rio.

Apesar dos resultados físico-químicos terem registrado alterações da qualidade da água, estes não conseguem indicar todos os prejuízos à biota. Martins (2004) concluiu que as análises usuais não são suficientes para indicar os efeitos nocivos sobre indivíduos presentes nos corpos receptores de efluentes, não refletindo a real condição de qualidade ambiental desses ecossistemas.

As análises de resíduos de agrotóxicos deveriam ser uma exigência do órgão legislador para emissão de licenças ambientais, pois somente com as análises exigidas até então não se pode mensurar todas substâncias que estão sendo lançadas nos corpos hídricos. Segundo Rubinger (2009), as análises somente dos parâmetros físico-químicos são insuficientes, pois se tornaria impossível determinar quimicamente todos os componentes existentes em uma amostra de água ou efluente e avaliar seu efeito potencial aos seres.

Na tabela 2, tem-se o resultado da HPLC, com os princípios ativos encontrados, sua classe e a concentração detectada, juntamente com as cargas e concentrações das mesmas calculadas pelas equações 3 a 5.

Tabela 2. Resultado da análise de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Princípio ativo	Classe	Classif.	LOQ	LOD	C _{AGS}	Carga Agrot (µg/dia)	Conc (µg/L)
Azoxistrobina	Fungicida	Medianamente tóxico	5,00	2,00	21,00	89,25	0,01
Clorpirifós	Inseticida	Altamente tóxico	5,00	2,00	278,00	1181,50	0,14
Difenoconazol	Fungicida	Extremamente tóxico	20,00	6,00	36,00	153,00	0,02
Fenpropatrina	Inseticida/ Acaricida	Altamente tóxico	10,00	3,00	239,00	1015,75	0,12
Flutolanil	Fungicida sistêmico	Medianamente tóxico	5,00	2,00	6,00	25,50	0,003
Tebuconazol	Fungicida	Pouco tóxico	5,00	2,00	62,00	263,50	0,03
Tiametoxam	Inseticida	Medianamente tóxico	5,00	2,00	11,00	46,75	0,01
Total	-	-	-	-	653,00	2775,25	0,33

LOQ-Limite de quantificação do método (do inglês Limit of quantification) em µg/Kg

LOD-Limite de detecção do método (do inglês Limit of detection) em µg/Kg

C_{AGS}-concentração dos agrotóxicos no sedimento em µg/Kg

Classif.- classificação toxicológica quanto a periculosidade (EMBRAPA, 2017)

Conc. – Concentração de agrotóxico no efluente

Nas análises realizadas por HPLC, além da presença de 6 princípios ativos indicados para uso na cultura da batata, foi encontrado o princípio ativo Fenpropatrina, que não é indicado para essa cultura e é considerado altamente tóxico, o que pode trazer contaminação adicional tanto no solo onde é aplicado, quanto no corpo hídrico onde o efluente da indústria é lançado. Além disso, esses princípios ativos não constam na legislação, o que ocasiona uma falha.

Segundo informações da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio Grande do Sul (EMATER-RS), os produtos utilizados na cultura da batata no município de Silveira Martins são Pyrinex 480 EC (Clorpirifós), Furadan (Carbofurano), Connect (Beta-Ciflutrina e Imidacloprido), Engeo Pleno (Tiametoxam) e Priorixtra (Azoxistrobina). Estes agrotóxicos podem causar diversos sintomas aos seres expostos. Alguns deles foram encontrados na análise HPLC (Tabela 2), assim como outros que não são de conhecimento da EMATER-RS, ou seja, os agricultores estão usando sem orientação técnica.

O tiametoxam é um inseticida sistêmico do grupo neonicotinoide, da família nitroguanidina que atua no receptor nicotínico acetilcolina da membrana de insetos, lesando o sistema nervoso e levando-os a morte (MARTINS et al., 2012). Em estudos com animais, causa sintomas de intoxicação aguda indicando efeito no sistema nervoso central em altas doses. O mesmo pode ser esperado para humanos, quando expostos a esse princípio ativo. (ENGEOTM PLENO, 2016).

Segundo a *PesticideAction Network UK* (2017) a azoxistrobina é o fungicida mais amplamente aplicado no mundo, mesmo que possua uma baixa toxicidade

aguda e crônica para mamíferos, aves e abelhas (EFSA, 2010), é considerado tóxico para peixes de água doce e estuarinos e marinhos e invertebrados aquáticos (EPA, 1997). Ela pode causar irritação ocular, prurido, eritema, fraqueza, cefaléia, tontura e dores no trato respiratório (após inalação) (PRIORI®,2016).

O clorpirifós é um inseticida organofosforado que não é autorizado no Brasil (ANVISA, 2014). Ele pode causar vômito, diarreia, cólicas abdominais, broncoespasmo, miose puntiforme e parálitica, bradicardia, hipersecreção, ansiedade, agitação, confusão mental, ataxia, depressão de centros cardio-respiratórios, convulsões e coma (PYRINEX 480 EC, 2017).

O difenoconazol pode causar nos casos agudos, irritação nos olhos e trato respiratório, irritação dérmica discreta. Em caso de ingestão provoca náusea, vômitos, dores abdominais importantes, diarreia. A ingestão causa lesões significativas da parede do tubo digestivo, principalmente do estômago, associadas a espasmos musculares crônicos, convulsões e alteração da consciência. A inalação de grandes quantidades provoca tosse, dispneia e, nos casos mais graves, expectoração sanguinolenta. Nos casos crônicos, pode causar opacificação do cristalino e lesão hepatotóxica que vai da vacuolização até a necrose focal ou multifocal (PRISMA®, 2017).

Os piretróides, do qual a fenpropatrina faz parte, são atualmente os inseticidas mais utilizados, pois apresentam baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental, são efetivos contra um largo espectro de insetos e são necessárias baixas quantidades para exercerem sua ação (dos SANTOS et al., 2007). Porém, eles demonstraram ser tóxicos para peixes, artrópodes aquáticos e abelhas em testes laboratoriais (VIRAN et al., 2003). Os sintomas mais comuns de intoxicação por fenpropatrina são formigamento, prurido, eritema e queimação na face ou em outras áreas expostas. Em princípio o contato não é irritante, contudo o efeito principal da exposição é a dermatite. A lesão usual é uma dermatite eritematosa moderada com vesículas, pápulas nas áreas úmidas e intenso prurido. Pode causar também náusea, vômito e dor abdominal (SUMIRODY 300, 2017).

O flutolanil é um fungicida altamente ativo, de baixa toxicidade com amplo espectro no controle da doença (YANG et al., 2016). Os autores ainda relatam que sintomas como inibição de aumento de peso, e vômitos uma diarreia, congestão do trato intestinal em cães foram causados pelo flutolanil. Quando ocorre intoxicação

em humanos tem se relatado febre, tonturas, taquicardia e hipertensão (MONCUT, 2017).

As informações sobre o destino ambiental do tebuconazol é escassa (SANCHO et al., 2010). Em humanos causa irritação dermal leve e não há evidência de toxicidade sistêmica e pode ocorrer irritação ocular após exposição. Baseado nos estudos de toxicidade animal do ingrediente ativo, tebuconazol, pode haver efeitos tóxicos nos seguintes órgãos: baço, fígado, adrenais e cristalino dos olhos (TEBUCONAZOLE NORTOX, 2017).

Os reais danos que esses princípios ativos causam à fauna e flora, tanto do solo quanto da água, ainda estão sendo estudados por meio de testes ecotoxicológicos. A toxicologia ambiental tem contribuído grandemente no estabelecimento de limites permissíveis de poluentes na água para a proteção da vida aquática, na avaliação da eficiência do tratamento de efluentes industriais, na avaliação da carga poluidora de efluentes com baixo teor orgânico, na avaliação da toxicidade de novos produtos, como também, em programas de monitoramento da qualidade das águas (ROSA et al., 2010).

Quanto à legislação existente para contaminação de águas superficiais por agrotóxicos a Resolução CONAMA nº 430/2011 (BRASIL, 2011) que complementa e altera a Resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005), não relaciona padrões de agrotóxicos na água e recomenda que possíveis substâncias causadoras de danos aos seres vivos deverão ser investigadas. Segundo as resoluções os critérios de toxicidade deverão se basear em resultados de testes ecotoxicológicos padronizados utilizando organismos aquáticos.

Da mesma forma, a Resolução CONSEMA nº 128/2006 (RIO GRANDE DO SUL, 2006) dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul, menciona somente que “Os efluentes líquidos de que trata esta Resolução devem atender aos padrões de toxicidade estabelecidos em resolução específica sobre a matéria ou conforme exigências do órgão ambiental competente, definidos caso a caso, até que a mesma esteja em vigor”.

Apesar das resoluções existentes, ainda há poucas referências em relação aos limites tolerados de agrotóxicos em cursos de água no Brasil. Para a União Européia, a concentração máxima é $0,1\mu\text{g L}^{-1}$ para cada agrotóxico e $0,5\mu\text{g L}^{-1}$ para o total de agrotóxicos em águas destinadas ao consumo humano, independente de

sua toxicidade (COUNCIL DIRECTIVE, 1980) e limites semelhantes também são adotados por outros países, como Estados Unidos e Canadá (CARNEY, 1991).

Para avaliar se estas concentrações estavam dentro dos limites exigidos, utilizou-se a Vazão de Referência com 75% de permanência de 8424,0 L dia⁻¹ e a Carga de Sedimento Total encontrada para Vazão de efluente lançada de 5000 L dia⁻¹ de 4,25 Kg dia⁻¹. Estes valores foram utilizados nas equações 2 e 3 para determinar as Concentrações dos Agrotóxicos na água exibidas na Tabela 2. O Clorpirifós e a Fenpropatrina ficaram acima do limite de concentração máxima permitido pela União Européia com 0,14 e 0,12µg L⁻¹, respectivamente, porém a concentração total dos agrotóxicos encontrados não ultrapassou o valor máximo permitido.

Sendo o Clorpirifós um inseticida organofosforado não autorizado no Brasil, segundo a ANVISA (2014) e pela Fenpropatrina não ser recomendada para a cultura da batata, e ambos serem considerado altamente tóxico pela Embrapa (2017), essa contaminação torna-se preocupante, pois em muitas situações, quando um agrotóxico é usado, ele também mata organismos não-alvo e isso pode alterar drasticamente o equilíbrio natural do ecossistema (SARWAR, 2015).

Quanto às exigências do órgão legislador para emissão das licenças ambientais, esse questiona se a indústria gera efluentes líquidos, emissões atmosféricas, resíduos sólidos e suas características. A partir destas informações é exigido procedimentos de tratamento e disposição final. No caso da indústria de beneficiamento de batatas do presente trabalho, a sua licença estabelece que os efluentes líquidos deveriam ser recirculados, o que não está ocorrendo. Esta situação caracteriza um descumprimento da licença por parte da indústria, como também uma falta de fiscalização. Além disso, para o efluente ser recirculado deveria ser instalado um sistema adequado de tratamento que permitisse o seu reuso.

4 CONCLUSÃO

O efluente da atividade de beneficiamento de batatas analisado encontra-se fora dos padrões das legislações vigentes, pois existem parâmetros físico-químicos que não atendem as normas regulatórias. Também, foram encontrados vários

princípios ativos de agrotóxico nesse resíduo, sendo que dois destes se encontraram acima do permitido pela legislação internacional, isso evidencia que as exigências do licenciamento ambiental da atividade não são suficientes.

As legislações brasileiras atuais deixam a responsabilidade de análises adicionais para o órgão ambiental competente, o que permite a subjetividade. Portanto, as análises de resíduos de agrotóxicos deveriam ser uma exigência do órgão legislador para emissão ou renovação de licenças ambientais para esse tipo de atividade, pois somente com as exigências existentes, não se pode mensurar todas as substâncias que estão sendo lançadas nos corpos hídricos e seus efeitos sobre a biota aquática. Os limites de concentrações de agrotóxicos das legislações internacionais poderiam ser adotados no Brasil.

Como recomendação, sugere-se o redimensionamento dos sedimentadores da indústria de beneficiamento de batatas, para que os sólidos fiquem retidos nesses locais, não chegando ao corpo hídrico. O redimensionamento do sistema de tratamento permitiria o reuso da água.

REFERÊNCIAS

ABBA – Associação Brasileira da Batata. Direito Ambiental na Agricultura. Recursos Hídricos e Beneficiamento de Batata. **Batata Show**. Nº 14 Ano 6. 2006.

ANVISA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos - Relatório 2012 (2ª etapa)**. 2014. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br>> Acesso 11 abr 2017.

A RAZÃO. Reportagem do Jornal A Razão: “**Crime Ambiental: peixes morrem por envenenamento em Silveira Martins**”. 2013. Disponível em www.arazao.com.br/crime-ambiental-peixes-morrem-por-envenenamento-em-silveira-martins/. Acesso em 03 out. 2013.

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington D.C., 2012.

BERTOLETTI, E; GHERRARDI-GOLDSTEIN, E.; NIPPER, M.G. Toxicidade de efluentes industriais na Grande São Paulo. **Revista DAE**, v.49, N.155, p.63-70. 2008.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357, de 31 de março de 2005. **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. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 430, de 13 de maio de 2011. **Dispõe sobre as condições de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2011.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de Qualidade das Águas Superficiais do Estado de São Paulo.** São Paulo. 2009. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguas-superficiais/variaveis.pdf>> Acesso em: 14 mar. 2017.

CARNEY, M. European drinking water standards. **Journal American Water Works Association**, Denver, v.83, n.6, p. 48-55. 1991.

COUNCIL DIRECTIVE. **Relating to the quality of water intended for human consumption.** European Communities, 1980. 19p. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/consleg/1980/L/01980L0778-19950101-n.pdf>> Acesso em 2 fev 2017.

DERÍSIO, J. C. **Introdução ao Controle de Poluição Ambiental.** São Paulo: Signus, 2000.

dos SANTOS, M. A. T., AREAS, M. A., & REYES, F. G. R. Piretróides—uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, v.18, pag.339-349. 2007.

EFSA. Peer review report to the conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azoxystrobin. **EFSA J.** v.8 (4), 110. 1542. 2010.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Uso de agrotóxicos.** Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fohgb6co02wyiv8065610dc2ls9ti.html>> Acesso em 28 jun 2017.

ENGEO™ PLENO. **Bula de agrotóxico.** Disponível em <<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjFiM7B3urSAhXJS5AKHeeUByoQFggcMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.syngenta.com.br%2Ffile%2F1941%2Fdownload%3Ftoken%3DKZcskGld&usg=AFQjCNFhflxVLtgJEmv-JajrI-3QSjIPhw&sig2=pNBvmQyXLIL3cNkOAOQ83g>> Acesso em 21 mar 2017.

EPA. United States Environmental Protection Agency. **Azoxystrobin Pesticide Fact Sheet.** 1997. Disponível em <<http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/azoxystrobin.pdf>> Acesso em 11 abr 2017.

FORGIARINI, F. R.; HISTER, C. A. L.; Horn, J. F. ; MORAES, L. M. ; LOPES, Geraldo da Silveira . A gestão ambiental e suas implicações: estudo de caso em Silveira Martins/RS. In: LORENZI JÚNIOR, D.; BOBSIN, D.; SONZA, I. B.;

TRAVERSO, L. D.. (Org.). **Desafios da gestão: interfaces do turismo, agronegócio e meio ambiente**. 1ed.Santa Maria: CESMA,v. , p. 337-357. 2015.

GONÇALVES, E. M. **Avaliação da qualidade da água do rio Uberabinha – Uberlândia - MG**. 159f. 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos processos químicos e bioquímicos)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

HORN, J. F. C. **Estimativa de vazão com dados escassos: novas hipóteses para o Método Silveira**. 2016. Tese de Doutorado. 542 p. Universidade Federal de Santa Maria.

IORIS, A. A. R. Tropical wetland management: The South-American Pantanal and the international experience. **Routledge**. 2016.

JORDÃO, E. P. e PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. Rio de Janeiro: ABES, 7. ed, 2011.

KUZMANOVIĆ, M.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; De CASTRO-CATALÀ, N.; GUASCH, H.,; PETROVIĆ, M.; MUÑOZ, I.;GINEBREDA, A.;BARCELÓ, D. Ecotoxicological risk assessment of chemical pollution in four Iberian river basins and its relationship with the aquatic macro invertebrate community status. **Science of the Total Environment**, v.540, p. 324-333. 2016.

MARTINS, L. H. B. **Avaliação do impacto ambiental causado pelo efluente da indústria de polpa de celulose e papel, *in situ*, utilizando o bioindicador *Oreochromis niloticus* (Tilápia)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina. 121 p. 2004.

MARTINS, R. G.; MARTINS, M. B. G.; SILVA, J. M.; PEREIRA, M. A.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B.; CAMARGO E CASTRO, P. R. de. Thiamethoxam on the histological characteristics of sugarcane young roots. **Ciencia Rural**. vol:42 iss:11 pg:1936. 2012.

MATOS, A. T. **Tratamento de resíduos agroindustriais**. Viçosa-MG: Fundação Estadual do Meio Ambiente; Minas Gerais: Universidade federal de Viçosa, 2005.

MONCUT – **Bula de agrotóxico**. Disponível em <<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/moncut.pdf>> Acesso 23 mar 2017.

MORTARI, S. R.; SILVA, R. F. Qualidade da água. In: RIGUES, A. A.; BURIOL, G. A.; BOER, N. **Água e educação: Princípios e estratégias de uso e conservação**. Centro Universitário Francisco. 272p. 2009.

PESTICIDE ACTION NETWORK UK. 2017. Disponível em <<http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/azoxystr.htm>>Acesso em 11 abr 2017.

PRIORI XTRA-**Bula de agrotóxico**. Disponível em

<<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwiL846m2-rSAhXEE5AKHfYaAcAQFggcMAA&url=HTTPS%3A%2F%2Fwww.syngenta.com.br%2Ffile%2F2196%2Fdownload%3Ftoken%3DO0SnTyjr&usg=AFQjCNFVuAjZ9hZCMDdDHZQL-IPsckVwZw&sig2=E10loJN5h5Q-qhyjiDfmtA>> Acesso em 21 mar 2017.

PRISMA – **Bula de agrotóxico**. Disponível em <<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/prisma.pdf>> Acesso em 22 mar 2017.

PYRINEX 480 EC- **Bula de agrotóxico**. Disponível em <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/PYRINEX_480_EC.pdf> Acesso em 21 mar 2017.

RIO GRANDE DO SUL. CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE – CONSEMA, **Resolução nº 128**. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. 2006.

ROSA, S. A. S.; ZLUHAN, M. R.; DEMETRIO, A. C. **Recursos hídricos e a toxologia ambiental**. 2010. Disponível em: <<http://docplayer.com.br/9117713-Recursos-hidricos-e-a-toxologia-ambiental.html>> Acesso em 18 nov 2016.

RUBINGER, C. F. **Seleção de métodos biológicos para a avaliação toxicológica de efluentes industriais**. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). 90 f. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil, 2009.

SANCHO, E.; VILLARROEL, M.J.; FERNÁNDEZ, C.; ANDREU, E.; FERRANDO, M.D. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotox. Environ. Saf.** v.73, p.370–376. 2010.

SARWAR, M. The killer chemicals as controller of agriculture insect pests: The conventional insecticides. **International Journal of Chemical and Biomolecular Science**, 1(3), 141-147. 2015.

SUMIRODY 300 – **Bula de Agrotóxico**. Disponível em <<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/sumirody300.pdf>> Acesso em 22 mar 2017.

TEBUCONAZOLE NORTOX – **Bula de agrotóxico**. Disponível em <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/tebuconazole_nortox.pdf> Acesso em 23 mar 2017.

VIRAN, R.; ERKOC, F. U.; POLAT, H.; KOÇAK, O. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.55, p.82-85, 2003.

VÖRÖSMARTY, C.J.; McINTYRE, P.B.; GESSNER, M.O.; DUDGEON, D.; PRUSEVICH, A.; GREEN, P.; GLIDDEN, S.; BUNN, S. E.; SULLIVAN, C. A.; REIDY LIERMANN, C.; DAVIES, P. M. **Global threats to human water security and river biodiversity** *Nature*, 467 pp. 555-561. 2010.

YANG, Y., QI, S., CHEN, J.; LIU, Y.; TENG, M.; WANG, C. Toxic Effects of Bromothalonil and Flutolanil on Multiple Developmental Stages in Zebrafish. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. vol:97 iss:1 pg:91 -97.2016.

ZANELLA, R., PRIMEL, E.G., GONÇALVES, F.F., KURZ, M.H.S., MISTURA, C.M. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic procedure for the determination of herbicide residues in surface and agricultural waters. **Journal of Separation Science**.v.26, p.935-938. 2003.

5.3ARTIGO 2: EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE *Cyprinus carpio* AO EFLUENTE DE UMA INDÚSTRIA DE BENEFICIAMENTO DE BATATAS

Resumo

No cultivo da batata um dos principais problemas é o uso demasiado de agrotóxicos. Durante o beneficiamento das batatas ocorre a lavagem das mesmas, sendo utilizado um volume excessivo de água. Ao serem lançados em corpos hídricos esses efluentes podem causar graves danos à biota aquática, inclusive, a morte de peixes. Essa pesquisa tem o objetivo de avaliar os efeitos ecotoxicológicos dos compostos químicos presente no efluente da indústria de beneficiamento de batatas, por meio de testes de toxicidade utilizando carpas (*Cyprinus carpio*) como bioindicadores. As carpas foram expostas ao efluente por 7, 14 e 28 dias em condições de laboratório e após foram feitas análises bioquímicas nos seus órgãos. Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) aumentaram no fígado dos peixes após 7 e 14 dias e nas brânquias após 7 dias. A atividade da acetilcolinesterase (AChE) não foi alterada no cérebro, porém no músculo após 7, 14 e 28 dias esta sofreu aumento. A atividade da superóxido dismutase (SOD) não apresentou alteração no fígado em nenhum dos tempos testados. A atividade da catalase (CAT) nas brânquias aumentou após 7 e 14 dias, enquanto que não foram observadas alterações em fígado. Estes resultados sugerem que o resíduo pode causar estresse oxidativo, afetando os parâmetros bioquímicos e enzimáticos em carpas.

Palavras-chave: Peixes; Agrotóxicos; Atividade antioxidante; Estresse oxidativo; *Solanum tuberosum*

Abstract

In potato cultivation a serious problems is the excessive pesticide use. During the potatoes processing, it is washed and an excessive volume of water is used. When released into water bodies, these effluents can cause serious damage to aquatic biota, including the death of fish. This research has the objective of evaluating the ecotoxicological effects of the chemical compounds present in the potato processing industry effluent through toxicity tests using carp (*Cyprinus carpio*) as bioindicators. Carps were exposed to the effluent for 7, 14 and 28 days under laboratory conditions and biochemical analyzes were performed on their organs. Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels were increased in fish liver after 7 and 14 days and in gills were increased after 7 days. Acetylcholinesterase activity (AChE) was not altered in brain, but in muscle after 7, 14 and 28 days an increased were observed. Superoxide dismutase (SOD) activity did not present alteration in liver in any period tested. The catalase (CAT) activity in gills were increased after 7 and 14 days, while no changes were observed in liver. These results suggest that the pesticide residues can cause oxidative stress, affecting the biochemical and enzymatic parameters in carps.

Keywords: Fishes; Pesticides; Antioxidant activity; Oxidative stress; *Solanum tuberosum*

1 INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a terceira cultura alimentar mais importante do planeta e a primeira *commodity* não grão. Sua produção mundial anual supera 330 milhões de toneladas em uma área de 18 milhões de hectares. No Brasil, a batata é a hortaliça mais importante, com uma produção anual de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas em uma área de cerca de 130 mil hectares (EMBRAPA, 2015). No entanto, no cultivo da batata um dos principais problemas é o uso demasiado de agrotóxicos e chegam a ser feitas até 30 pulverizações por ciclo produtivo (LOPES e BUSO, 1999). Aplicações exageradas de agrotóxicos resultam em aumento do custo de produção, grave poluição ambiental, problemas à saúde do agricultor e contaminação dos alimentos, o que pode resultar também em danos à saúde dos consumidores (LOPES e BUSO, 1999).

Após a safra, os agricultores encaminham a produção para indústrias de beneficiamento das batatas, que realizam a lavagem destas, seleção dos tubérculos, armazenamento e posterior distribuição. Essa prática da lavagem da batata consome volume excessivo de água, o que pode provocar danos ao meio ambiente. O despejo da água residual da etapa de lavagem é realizado na maioria das vezes em mananciais e córregos sem nenhum tipo de tratamento (RODRIGUES, 2011). Ao serem lançados em corpos hídricos, esses efluentes podem causar graves danos à biota aquática causando, inclusive, morte de peixes.

A legislação brasileira estabelece padrões de qualidade para corpos d'água e lançamento de efluentes, porém não relaciona níveis de agrotóxicos na água e recomenda que possíveis substâncias causadoras de danos aos seres vivos deverão ser investigadas. Critérios de toxicidade devem ser baseados em resultados de testes ecotoxicológicos. A carpa (*Cyprinus carpio*) é muito utilizada em testes toxicológicos (DAUTREMEPUITS et al., 2004; CHANDRASEKARA e PATHIRATNE, 2005; ORUÇ e USTA, 2007; SALVO et al., 2008; FERRARO, 2009; MORAES et al., 2011; CLASEN et al., 2012; MENEZES et al., 2013; MURUSSI et al., 2014; ATLI et al., 2016), podendo comprovar a contaminação por agrotóxicos em ecossistemas aquáticos que recebem esses efluentes.

Entre os efeitos que os agrotóxicos podem causar em peixes está a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e alterações em antioxidantes enzimáticos

e não-enzimáticos, o que pode causar uma situação de estresse oxidativo (CLASEN et al., 2012). A peroxidação lipídica, que é medida pelo ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), é considerada como os principais mecanismos moleculares envolvidos no dano oxidativo para estruturas celulares e no processo de toxicidade que conduzem à morte celular (REPETTO et al., 2012).

Para neutralizar os efeitos das EROs as células possuem mecanismos de defesa antioxidante. Segundo Avilez et al. (2008), a atividade da catalase é importante para o monitoramento ambiental, por ser uma enzima que apresenta elevada atividade quando o organismo se encontra em estresse oxidativo. A superóxido dismutase desempenha uma das funções mais importantes do organismo no combate aos radicais livres por realizar a função de catalisar a dismutação do superóxido em peróxido e oxigênio (ZHENG et al., 2010). As glutathione S-transferases (GST) representam uma importante família de enzimas que catalisam a conjugação de vários compostos com o tripeptídeo glutathione. Essas proteínas desempenham papéis adicionais no processo de detoxificação de xenobióticos (MARTINEZ, 2006). Já a acetilcolinesterase (AChE), tem como principal função hidrolisar a acetilcolina (ACh), que é o mediador das sinapses colinérgicas no sistema nervoso, prevenindo contínuas passagens de impulsos, o que é vital para um normal funcionamento do sistema sensorial e neuromuscular (COLOMBI, 2009).

A maioria dos estudos avalia o efeito de agrotóxicos individualmente, porém no ambiente, estes são encontrados em maior número como demonstrado neste estudo. Por isso, o efeito combinado de agrotóxicos a organismos não alvo deve ser mais explorado. Sendo assim, esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos ecotoxicológicos dos compostos químicos presente no efluente da indústria de beneficiamento de batatas, através de testes de toxicidade, utilizando carpas como bioindicadores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 EFLUENTE

O efluente bruto foi coletado na saída do sistema de tratamento dos efluentes de uma das indústrias de beneficiamento de batatas do tipo inglesa no município de

Silveira Martins, RS, Brasil (Figura 1). O sistema de tratamento é composto por tanques de sedimentação simples com fluxo intermitente e o efluente é liberado para o rio que passa próximo.



Figura 1 – (A) Imagem aérea da empresa de beneficiamento de batatas, em destaque o córrego. (B) imagem do rio onde é realizado o despejo do efluente da indústria.

O efluente coletado foi enviado ao LARP (Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas), localizado na Universidade Federal de Santa Maria, para detecção dos possíveis agrotóxicos presentes. Foi utilizado o método descrito por Zanella et al. (2003) que é baseado em cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC)

2.2 PEIXES

Foram utilizadas 60 carpas da espécie *Cyprinus carpio* obtidas de pisciculturas da região, pesando aproximadamente 10-20 gramas. Os peixes foram transferidos para caixas de 250 L com temperatura e aeração constantes, permanecendo nestas condições durante dez dias. Parâmetros de qualidade da água como temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) foram monitorados diariamente. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia com ração comercial Supra® (42% de proteína bruta).

Este estudo recebeu aprovação da Comissão de Ética no uso de animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM), protocolada sob CEUA nº 4847050417.

2.3 DESENHO EXPERIMENTAL

Após o período de aclimatação, os peixes foram distribuídos em caixas de 45 litros, com densidade de 15 peixes por caixa em duplicata (totalizando 4 caixas). Em 2 destas caixas os peixes foram expostos ao efluente bruto, somente com aeração constante, sem troca de efluente durante o período experimental, compondo o tratamento. Nas outras 2 caixas foi utilizada água limpa, com aeração constante e filtragem, sendo realizadas 2 trocas de água durante o período experimental, configurando o controle. Os peixes foram alimentados com ração comercial da Supra contendo 42% de proteína bruta uma vez ao dia, 5% biomassa. Os parâmetros de qualidade de água foram avaliados diariamente da mesma maneira como descrito na aclimatação. Foram coletados 5 peixes de cada caixa após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente para separação do material biológico.

Cada peixe foi pesado e medido antes da secção medular para posterior retirada do cérebro, brânquias, fígado e músculo para análises bioquímicas.

2.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

2.4.1 Ensaio da Superóxido Dismutase (SOD)

Foram realizadas medidas de atividade de superóxido dismutase para o tecido do fígado baseado na inibição da reação do radical superóxido com adrenalina, como descrito por McCord e Fridovich (1969). Neste método, a SOD presente na amostra concorre com o sistema de detecção de radical superóxido. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe a taxa de oxidação de adrenalina em 50%. A oxidação de adrenalina leva à formação do produto colorido, adrenocromo. A atividade da SOD é determinada pela medição da taxa de formação de adrenocromo, medida a 480 nm, um meio de reação contendo glicina-NaOH (50 mM, pH 10) e epinefrina (1 mM). A atividade de SOD foi expressa em UI / mg de proteína

$$SOD = \frac{1000}{(VI\ 50 * PTN)} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

VI 50= (0,5-b)/a, sendo b e a coeficientes da equação da reta

PTN= proteína determinada após o ensaio, em mg/ml (Comassie)

2.4.2 Ensaio da atividade da Catalase (CAT)

A atividade da catalase foi determinada por espectrofotometria ultravioleta (NELSON e KIESOV 1972). Os tecidos de fígado e brânquias (50 mg), foi homogeneizados num homogeneizador de vidro / Teflon Potter-Elvehjem com tampão de fosfato de potássio 20 mM, pH 7,5 (1:20 w / v), centrifugou-se a 10000 xg durante 10 min a 4 ° C. A mistura de ensaio consistiu em 2,0 mL de tampão de fosfato de potássio (50 mM, pH 7,0), 0,05 ml de H₂O₂ (0,3 M) e 0,01 e 0,05 mL de homogeneizado (fígado e brânquias, respectivamente). A mudança de absorção do H₂O₂ em 60 s foi medida a 240 nm, utilizando cubetas de quartzo. A atividade da catalase foi calculada e expressa em proteínas $\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg}$, utilizando a Equação 2:

$$CAT = Inc / 4,6E7 \times 2 / V\ amostra / prote\acute{a}na \times 1000 / 60 \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

Inc=coeficiente angular da reta

4,67E7= coeficiente de extinção do Peróxido de Hidrogênio

V amostra= volume de material enzimático utilizado em mL

Proteína=proteína determinada após o ensaio, em mg/ml (Comassie)

60=tempo de 1 minuto que é realizada a leitura

2.4.3 Ensaio da Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi estimada utilizando o ensaio de TBARS, realizado pela reação do malondialdeído (MDA) com ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), o qual foi

medido espectrofotometricamente de acordo com Buege e Aust (1978). Fígado, músculo, brônquias e cérebro (50-50-250-100mg) foram homogeneizados em fosfato de potássio (20 mM) e centrifugou-se a 5000 xg durante 10 min. Depois, ao homogeneizado (400-250-400-400 mL) foi adicionado TCA a 10% e ácido tiobarbitúrico 0,67% ajustada para um volume final de 1 mL. As amostras foram incubadas durante 30 min a 95 ° C. Após as amostras foram centrifugadas a 5000 X g durante 15 min e a absorbância foi medida a um comprimento de onda de 532 nm. Os níveis de TBARS foram expressos como $\mu\text{mol MDA} / \text{mg prote\u00edna}$, utilizando a Equação 3:

$$TBARS = (A \times FC) / (\text{prote\u00edna}) / V_{\text{amostra}} \quad (\text{Equa\u00e7\u00e3o 3})$$

Sendo:

A= absorb\u00e2ncia por espectrofotometria

FC= fator de corre\u00e7\u00e3o da curva de malondialde\u00eddo (MDA)

Prote\u00edna=prote\u00edna determinada ap\u00f3s o ensaio, em mg/ml (Comassie)

V amostra = volume de material enzim\u00e1tico utilizado em mL

2.4.4 Ensaio da atividade da Acetilcolinesterase (AChE)

A atividade AChE foi medida utilizando o m\u00e9todo descrito por Ellman et al. (1961) e modificado por Miron et al. (2005). C\u00e9rebro e m\u00fasculo (30 mg) foram pesados e homogeneizados com tamp\u00e3o de fosfato de s\u00f3dio pH 7,2, 50 mM Triton X-100 a 1%. O homogeneizado foi centrifugado durante 10 min a 3000 xg e 5°C e o sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. Uma aliquota de sobrenadante de 50 μL de c\u00e9rebro e m\u00fasculo foram incubadas a 30°C durante 2 min com uma solu\u00e7\u00e3o tamp\u00e3o contendo 0,1 mM de fosfato de s\u00f3dio, pH 7,5 e 1 mM de DTNB. Ap\u00f3s a incubação, a rea\u00e7\u00e3o foi iniciada pela adi\u00e7\u00e3o de Ach (0,5 mM). A absorb\u00e2ncia foi medida por espectrofotometria a 412 nm, durante 2 min. A atividade da enzima foi expressa em $\mu\text{mol Ach hidrolisado} / \text{min} / \text{mg de prote\u00edna}$, utilizando a Equa\u00e7\u00e3o 4:

$$AChE = \frac{\Delta Ex \ 2}{13,6 / V_{\text{amostra}} / \text{prote\u00edna}} \quad (\text{Equa\u00e7\u00e3o 4})$$

Sendo:

ΔE = valor da extinção em 2 minutos (diferenças das absorvâncias em 2' Leitura 6 – 1)

2 = volume total em mL

13,6 = fator de correção, obtido através da curva de cisteína

V amostra = volume de material enzimático utilizado em mL

Proteína = proteína determinada após o ensaio, em mg/ml (Comassie)

2.4.5 Ensaio da proteína

A proteína foi determinada pelo método de azul de Comassie utilizando albumina do soro bovino (BSA) como padrão. A absorvância das amostras foi medida a 595 nm de acordo com Bradford (1976). A unidade é mg/mL de proteína.

A equação utilizada para a determinação da Proteína foi a seguinte:

$$Proteína = A \times FC / V \text{ amostra} \quad (\text{Equação 5})$$

Sendo:

A= absorvância por espectrofotometria

FC= Fator de correção, obtido através da curva de Albumina

V amostra= volume de material enzimático utilizado em mL

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, a fim de aferir a normalidade dos dados, sendo realizado teste de Dunnett para os dados que seguiram distribuição normal. Para a análise de dados com distribuição não-normal, foi utilizada a análise de variância não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis), complementada com as comparações múltiplas entre pares de grupos usando Bonferroni (NORMAN e STREINER, 1994). Para todas as análises foi adotado nível de significância de 5%.

Para as análises estatísticas, foi utilizada uma extensão do Excel, o Action Stat.

3 RESULTADOS

A concentração de resíduos de agrotóxicos no efluente foi analisada antes do início do período experimental e estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Concentrações de resíduos de agrotóxicos no efluente de indústria de beneficiamento de batatas.

Princípio ativo	Classe	Classificação toxicológica	LOQ	LOD	C _{AG}
Azoxistrobina	Fungicida	Medianamente tóxico	5,00	2,00	21,00
Clorpirifós	Inseticida	Altamente tóxico	5,00	2,00	278,00
Difenoconazol	Fungicida	Extremamente tóxico	20,00	6,00	36,00
Fenpropatrina	Inseticida/ Acaricida	Altamente tóxico	10,00	3,00	239,00
Flutolanil	Fungicida sistêmico	Medianamente tóxico	5,00	2,00	6,00
Tebuconazol	Fungicida	Pouco tóxico	5,00	2,00	62,00
Tiametoxam	Inseticida	Medianamente tóxico	5,00	2,00	11,00

LOQ-Limite de quantificação do método (do inglês Limit of quantification) em µg/Kg

LOD-Limite de detecção do método (do inglês Limit of detection) em µg/Kg

C_{AG}-concentração dos agrotóxicos(µg/Kg)

Classif.- classificação toxicológica quanto a periculosidade (EMBRAPA, 2017)

Os parâmetros de crescimento, comprimento e peso após 28 dias de exposição ao efluente estão representados na Tabela 2. Os grupos de peixes expostos ao efluente não diferiram em peso ou comprimento total em comparação com o grupo controle.

Tabela 2: Pesos e medidas dos peixes após 28 dias.

DIAS	CONTROLE		TRATAMENTO	
	PESO (g)	COMP (cm)	PESO (g)	COMP (cm)
7	42,59±12,14	14,6 ±1,49	39,33±8,8	13,95±1,14
14	36,15±17,53	13,05 ±2,37	32,39±6,84	13,1±0,84
28	32,3±18,89	13,1±3,29	34,29±10,41	13,1±1,29

Dos parâmetros de qualidade medidos diariamente na água e no efluente, a temperatura manteve-se em 20± 1,5° C e oxigênio dissolvido, 7 ± 1 mg.L⁻¹.

A enzima superóxido dismutase (SOD) não apresentou alterações significativas em fígado em nenhum dos períodos testados (figura 2).

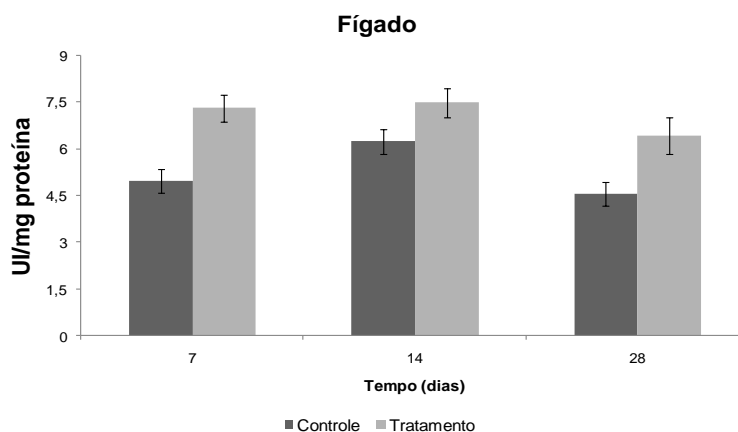


Figura 2 – Atividade de SOD em fígado de *Cyprinus carpio* após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N=10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa em relação ao grupo controle em $p \leq 0,05$.

Para a enzima catalase (CAT) não ocorreram alterações significativas em fígado. Já para brânquias, ocorreu mudança significativa entre controle e tratamento aos 7 e 14 dias (figura 3).

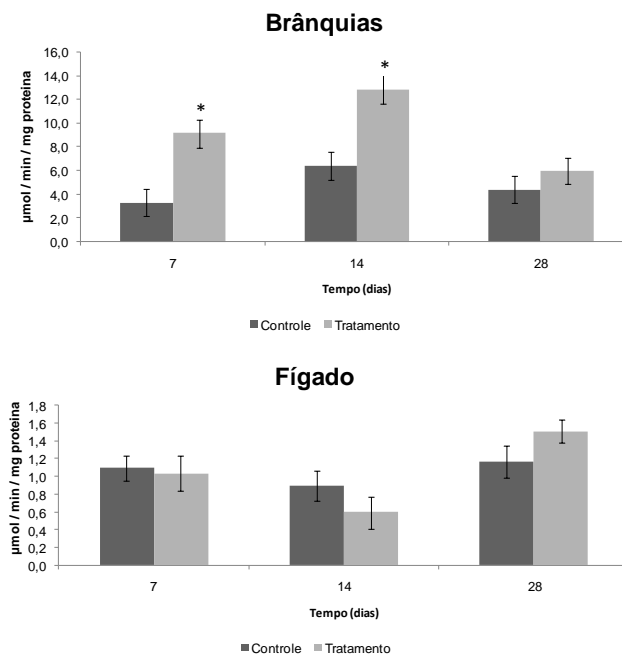


Figura 3 – Atividade da enzima CAT em fígado e brânquias de *Cyprinus carpio* após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N=10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa do grupo controle em $p \leq 0,05$.

Em cérebro e músculo não foram observadas alterações significativas de TBARS entre controle e tratamento exposto ao efluente. Já no fígado ocorreu

aumento significativo aos 7 e 14 dias, enquanto as brânquias mostraram alterações somente aos 7 dias (figura 4).

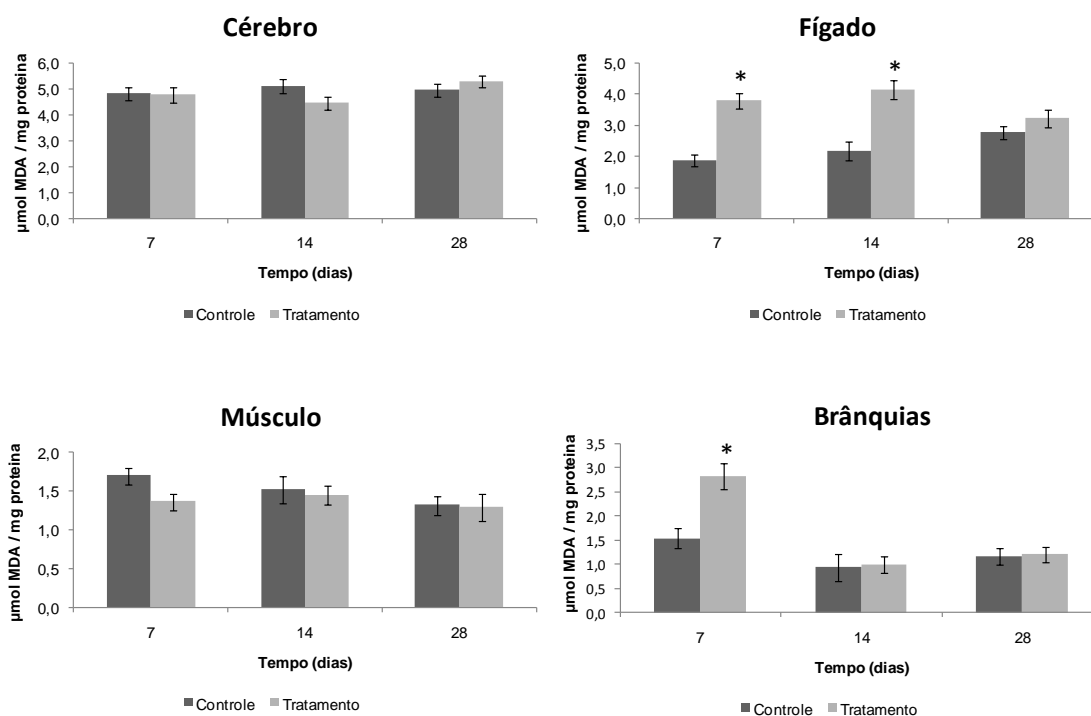


Figura 4 – Atividade de TBARS em cérebro, fígado, músculo e brânquias de *Cyprinus carpio* após 7, 14 e 28 dias de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N=10, para todos os grupos experimentais). * indicam diferença significativa do grupo controle em $p \leq 0,05$.

Não ocorreram alterações significativas de acetilcolinesterase (AChE) entre controle e tratamento quando realizado testes em cérebro. Porém, músculo apresentou alterações aos 7, 14 e 28 dias (figura 5).

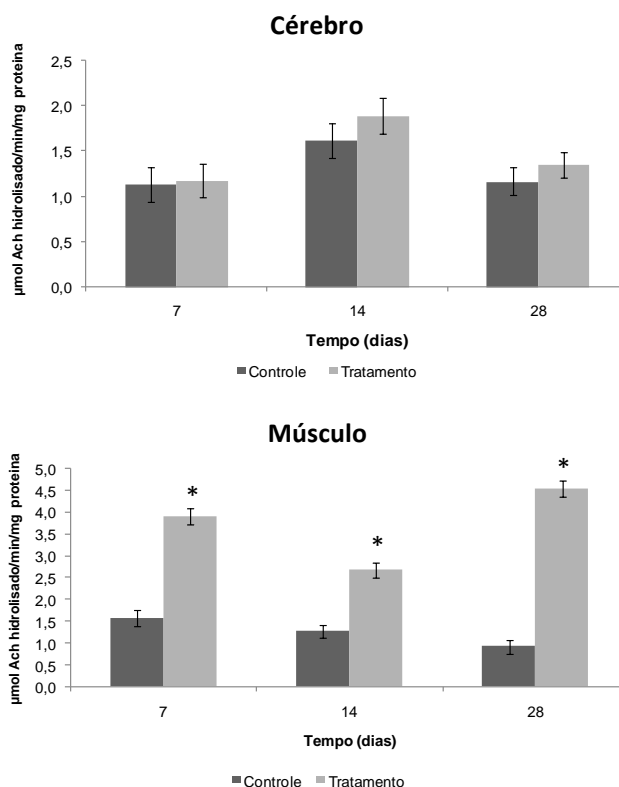


Figura 5 – Atividade de AChE em cérebro e músculo de *Cyprinus carpio* após diferentes tempos de exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas. Os dados representam a média \pm S.E.M. (N = 10, para todos os grupos experimentais). *indicam diferença significativa do grupo controle em $p \leq 0,05$.

4 DISCUSSÃO

Foram encontrados 7 princípios ativos no efluente da indústria de beneficiamento de batatas no qual os peixes foram expostos. Os princípios ativos encontrados foram: Azoxistrobina (fungicida), Clorpirifós (inseticida), Difenoconazol (Fungicida), Fenpropatrina (Inseticida/Acaricida), Flutolanil (Fungicida sistêmico), Tebuconozol (Fungicida) e Tiametoxam (inseticida), sendo a Fenpropatrina não indicada para a cultura da batata, e sendo um pesticida/acaricida altamente tóxico.

A variação na atividade das enzimas antioxidantes pode ser utilizada como indicadores do estresse oxidativo mediado por poluentes e sugeriu que as alterações nas enzimas antioxidativas em *Cyprinus carpio* durante o estresse sofrido pela exposição ao efluente contendo diversos agrotóxicos, podem afetar diferentes tecidos e podem apresentar padrões de resposta qualitativamente diferentes, bem como os processos de sensibilidade, acumulação e desintoxicação se manifestam

diferentemente (LI et al., 2009). Um fato importante que deve ser levado em consideração é que os peixes sofreram exposição a uma mistura de agrotóxicos e normalmente os dados sobre esse tipo de interação são escassos (BRILHANTE e CALDAS, 1999). O resíduo contém um conjunto de agrotóxicos que provocam uma sinergia diferenciada no ecossistema.

Notou-se que de maneira geral ocorreu sempre um aumento significativo dos níveis das enzimas analisadas, e não a inibição destas. Em geral, a elevação das atividades antioxidantes indica respostas adaptativas de organismos para neutralizar o efeito oxidativo das EROs geradas (HEGAZI et al., 2010). Também não ocorreram alterações no cérebro de *Cyprinus carpio* quando analisado TBARS e AChE. Em geral, populações de peixes expostas a níveis nocivos de poluição química tem demonstrado evolução adaptativa rápida da tolerância aos poluentes, ocorrendo em várias espécies de peixes (WILLIAMS e OLEKSIK, 2011). Na maioria dos casos, mecanismos de adaptação e suas consequências de aptidão são desconhecidos (HAMILTON et al. 2017), mas é admissível que compreendam processos envolvidos com a absorção, distribuição, metabolismo e ou excreção do produto químico alvo (VAN VELD e NACCI 2008).

Leatherland e Woo (2010) sugeriram que os peixes sob exposição a substâncias tóxicas irão alterar a homeostase e terão uma resposta compensadora (dentro do limite de tolerância) e restabelecer a homeostase ou ter uma resposta compensadora (além do intervalo de tolerância) com disfunção celular como o DNA, podendo neste caso, levar até a morte. No caso deste estudo, observou-se que em alguns casos, ocorreu uma resposta compensatória durante um período de tempo, e depois houve o restabelecimento do equilíbrio oxidativo.

Níveis alterados de superóxido dismutase não foram detectáveis em fígado. O sistema SOD-CAT fornece a primeira defesa contra a toxicidade do oxigênio (KOCHHANN et al. 2009), por isso, em nenhum desses testes foi possível detectar alteração de atividade quando testado fígado. O sistema foi eficiente na defesa antioxidante, não permitindo o desequilíbrio oxidativo nesse tecido. Além disso, SOD e CAT são altamente sensíveis e respondem mais rapidamente, protegendo assim os organismos do estresse oxidativo (RAO, 2006).

As alterações na atividade de CAT nas brânquias podem ser um bom indicativo da ativação do sistema antioxidante contra a toxicidade induzida pelos agrotóxicos presentes no efluente aos quais os peixes foram expostos, pois a CAT

protege os organismos contra danos oxidativos quando as EROs são parcialmente removidas (KOCHHANN et al., 2009). No entanto, o uso da atividade de CAT como biomarcador exclusivo de toxicidade não é aconselhado e é necessário observar a atividade de diversas enzimas para entender as respostas antioxidantes de peixes (VAN DER OOST et al., 2003).

A enzima catalase apresentou um aumento significativo em brânquias aos 7 e 14 dias de exposição. As brânquias são órgãos primários que são diretamente expostos a contaminantes transmitidos pela água (HUSAK et al., 2017), por isso elas foram mais afetadas que o fígado quando analisado CAT. O aumento observado nos níveis de catalase em brânquias nos peixes expostos ao efluente contendo diversos agrotóxicos indica um mecanismo de desintoxicação (ABHIJITH et al., 2016).

Já em fígado, esta enzima não apresentou alteração em peixes expostos ao efluente. Menezes et al. (2012) também não encontraram alteração na atividade da catalase hepática quando expôs *Cyprinus carpio* a 1 mg/L do herbicida quinclorac quando comparado com o controle. Clasen et al. (2014), também não observaram, em condições laboratoriais, alterações significativas na atividade da CAT ao expor carpas por 30 dias a 50 µg/L de carbofuran.

A falta de resposta da catalase no fígado observada após os 28 dias de exposição pode ser explicada pelo fluxo de radicais superóxido devido ao estresse oxidativo causado pela exposição aos agrotóxicos do efluente. A atividade das enzimas antioxidantes pode mudar sob estresse químico, dependendo da intensidade e da duração do estresse aplicado, bem como a susceptibilidade das espécies expostas (TONI et al., 2013)

Os resultados referentes aos níveis de TBARS podem indicar uma resposta compensatória do peixe para sobreviver após o estresse oxidativo induzido por pesticidas. Alguns efeitos foram observados no perfil oxidativo, indicando que mesmo baixas concentrações de inseticidas afetam os órgãos dos peixes e interrompem o metabolismo normal (CLASEN et al., 2014). Considerando que o TBARS aumentou em brânquias somente após 7 dias de exposição e depois os níveis não foram significativos, poderíamos sugerir que neste tecido houve uma resposta eficiente do sistema antioxidante para combater a peroxidação lipídica induzida pelos agrotóxicos presentes no resíduo no qual os peixes foram expostos. O aumento dos níveis de TBARS no fígado encontrado após 7 e 14 dias pode estar

diretamente relacionado com a presença de agrotóxicos na água e posteriormente, suas defesas antioxidantes conseguiram bloquear a peroxidação lipídica.

As diferenças observadas nos níveis de TBARS de cérebro, fígado, brânquias e músculo da carpa podem ser devidas à especificidade do tecido, considerando a sua susceptibilidade a danos oxidativos, bem como a eficiência do sistema de defesa antioxidante para combater espécies reativas produzidas pela exposição a pesticidas (TONI et al., 2013). Neste estudo, tanto o fígado quanto as brânquias pareciam ser mais sensíveis do que o músculo e cérebro, já que níveis elevados de TBARS já eram observados aos 7 dias de exposição aos efluentes, mas não detectados até 28 dias em nenhum dos tecidos. Isso demonstra que as defesas antioxidantes conseguiram frear o dano oxidativo depois dos 14 dias de exposição, por isso aos 28 dias nenhum tecido estava mais sendo afetado.

Após os 28 dias de exposição, não houve diferenças significativas quando testado o cérebro e músculo dos peixes. Menezes et al. (2012), também não verificaram alterações em cérebro de peixes expostos a 1 mg/L do herbicida quinclorac. Murussi et al. (2014), igualmente não verificaram alterações nos níveis de TBARS para o músculo quando expuseram carpas a 23 µg/L do herbicida Penoxsulam.

O aumento de TBARS persistiu no fígado por até 14 dias, enquanto que em brânquias, somente aos 7 dias houve aumento significativo dos níveis de TBARS no tratamento comparado ao controle. Estes resultados corroboram os encontrados por Menezes et al. (2012), quando expuseram *Cyprinus carpio* a 1 mg/L do herbicida quinclorac. Toni et al. (2011) também verificaram aumento significativo em fígado de *Cyprinus carpio* após exposição a 33,47 e 36,23 µg/L de tebuconazol por 7 dias em condições de laboratório. Ainda, Clasen et al. (2012), verificaram que os níveis de TBARS foram aumentados em tecidos do fígado, quando expuseram *Cyprinus carpio* à uma formulação comercial contendo 25% de fipronil. Resultados semelhantes foram encontrados em estudo realizado por Ferreira et al. (2010), onde foi detectado níveis de TBARS superiores em fígado de *R. quelen* exposto a tebuconazol quando comparado ao controle. Como o resíduo no qual os peixes desse experimento foram expostos também continha tebuconazol, o resultado se mostra similar.

A falta de efeitos observados na AChE cerebral pode estar associada a resposta da enzima de proteção nesse órgão (BONANSEA et al., 2016). Embora

existam diversos trabalhos que comprovem que o cérebro é o órgão mais afetado quando se fala em atividade colinérgica, quando em contato com agrotóxicos (PRETTO et al., 2010; MORAES et al., 2011; CLASEN et al., 2014; MURUSSI et al., 2014; BONIFACIO et al., 2016; TABASSUM et al., 2016;), isso não foi o encontrado nesse estudo. Apesar de terem sido encontrados uma grande variedade de pesticidas, estes não apresentaram altas concentrações segundo Council Directive (1980) e, talvez por isso a atividade da acetilcolinesterase em cérebro não tenha sido afetada. Moraes et al. (2011) encontraram resultados semelhantes em cérebro de *Cyprinus carpio* após exposição por 90 dias a um herbicida contendo imazethapyr e imazapic. Toni et al. (2011) também não verificaram alterações de AChE cerebral após expor *Cyprinus carpio* a tebuconazol.

Já em músculo, em todos os tempos do estudo houve aumentos significativos no tratamento, em relação ao controle. Este aumento pode ser devido à síntese da acetilcolinesterase pelo metabolismo de compensação, que resulta da presença de compostos anticolinesterásticos para compensar defeitos funcionais no sistema colinérgico (Yang et al., 2013).

5 CONCLUSÕES

A exposição ao efluente da indústria de beneficiamento de batatas ocasionou desequilíbrio oxidativo na maior parte dos órgãos analisados. A mistura de pesticidas encontrada nesse resíduo parece ser a responsável pelas alterações enzimáticas dos órgãos.

REFERÊNCIAS

ABHIJITH, B. D.; RAMESH, M.; POOPAL, R. K. Responses of metabolic and antioxidant enzymatic activities in gill, liver and plasma of *Catla catla* during methyl parathion exposure. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 77, p. 31-40, 2016.

AVILEZ, I.M.; HORI, T.S.F.; ALMEIDA, L.C.; HACKBARTH, A.; BASTOS NETO, J.C.; BASTOS, V.L.F.C.; MORAES, G. Effects of phenol in antioxidant metabolism in

matrinã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). **Comparative Biochemistry and physiology Part C** 148:136-142.2008.

ATLI, G., CANLI, E. G., EROGLU, A., CANLI, M. Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.126, p.30-37. 2016.

BONANSEA, R. I.; WUNDERLIN, D. A.; AMÉ, M. V. Behavioral swimming effects and acetylcholinesterase activity changes in *Jenynsia multidentata* exposed to chlorpyrifos and cypermethrin individually and in mixtures. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.129, p.311-319. 2016.

BONIFACIO, A. F.; CAZENAVE, J.; BACCHETTA, C.; BALLESTEROS, M. L.; DE LOS ÁNGELES BISTONI, M.; AMÉ, M. V.; BERTRAND, L.; HUED, A. C. Alterations in the general condition, biochemical parameters and locomotor activity in *Cnesterodon decemmaculatus* exposed to commercial formulations of chlorpyrifos, glyphosate and their mixtures. **Ecological Indicators**, v.67, p. 88-97. 2016.

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

BRILHANTE, O.M.; CALDAS, L.Q.A., coord. **Gestão e avaliação de risco em saúde ambiental** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1999.155 p. ISBN 85-85676-56-6 <<http://books.scielo.org>>

BUEGE, J.A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol.** v. 52. p.302-309. 1978.

CHANDRASEKARA, H. U.; PATHIRATNE, A. Influence of low concentrations of Trichlorfon on haematological parameters and brain acetylcholinesterase activity in common carp, *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Research**, v.36, p.144-149. 2005.

CLASEN, B., LORO, V. L., CATTANEO, R., MORAES, B., LÓPES, T., AVILA, L. A., ZANELLA, R., REIMCHE, G. B., BALDISSEROTTO, B. Effects of the commercial formulation containing fipronil on the non-target organism *Cyprinus carpio*: implications for rice–fish cultivation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.77, p.45–51. 2012.

CLASEN, B.; LEITEMPERGER, J.; MURUSSI, C.; PRETTO, A.; MENEZES, C.; DALABONA, F.; MARCHEZAN, E.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R.; LORO, V. L. Carbofuran promotes biochemical changes in carp exposed to rice field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.101, p.77-82. 2014.

CLASEN, B. E.; BECKER, A. G.; LÓPES, T.; MURUSSI, C. R.; ANTES, F. G.; HORN, R. C.; FLORES, É. M. M.; BALDISSEROTTO, B.; DRESSLER, V. L.; LORO, V. L. Triphenyltin hydroxide induces changes in the oxidative stress parameters of fish. **Ecotoxicology**, p. 1-5, 2017.

COLOMBI, J. S. **Avaliação da acetilcolinesterase como biomarcador em experimentos de contaminação *in vitro* com MeHg e HgCl₂ em *Hoplias malabaricus* (BLOCK, 1794)**. Monografia. Bacharel em Biociências e Biotecnologia, área de concentração Ciências Ambientais. Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF Campos dos Goytacazes / RJ. 2009.

COUNCIL DIRECTIVE. **Relating to the quality of water intended for human consumption**. European Communities, 1980. 19p. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/consleg/1980/L/01980L0778-19950101-n.pdf>> Acesso em 2 fev 2017.

DAUTREMEPUITS, C; PARIS-PALACIOS, S.; BETOULLE, S.; VERNET, G. Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C** v.137, p.325-333.2004.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, Jr. V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem Pharmacol**. v. 7, p.88-95. 1961.

EMBRAPA. **Sistema de Produção da Batata**. 2015. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1028425/1/Sistemad eProducaodaBatata.pdf>> Acesso em jun 2017.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Uso de agrotóxicos**. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fohgb6co02wyiv8065610dc2ls9ti.html>> Acesso em 28 jun 2017.

FERRARO, M. V. M. **Avaliação de três espécies de peixes – *Rhamdia quelen*, *Cyprinus carpio* e *Astyanax bimaculatus*, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios: cometa e dos micronúcleos**. Tese de Doutorado. Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2009.

FERREIRA, D., DA MOTTA, A. C., KREUTZ, L. C., TONI, C., LORO, V. L., & BARCELLOS, L. J. G. Assessment of oxidative stress in *Rhamdia quelen* exposed to agrichemicals. **Chemosphere**, v.79(9), p. 914-921. 2010.

HAMILTON, P. B.; ROLSHAUSEN, G.; WEBSTER, T. M. U.; TYLER, C. R. Adaptive capabilities and fitness consequences associated with pollution exposure in fish. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**. v.372(1712), 20160042. 2017.

HEGAZI, M.M.; ATTIA Z.I., ASHOUR, O.A. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia in chronic ammonia exposure. **Aquat.Toxicol.**, v.99, p. 118-125. 2010.

HUSAK, V. V.; MOSIICHUK, N. M.; STOREY, J. M.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. Acute exposure to the penconazole-containing fungicide Topas partially augments

antioxidant potential in goldfish tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.193, p.1-8. 2017.

KOCHHANN, D.; PAVANATO, M. A.; LLESUY, S. F.; CORREA, L. M.; RIFFEL, A. P. K.; LORO, V. L.; MESKO, M. F.; FLORES, É. M. M.; DRESSLER, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Bioaccumulation and oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to different thorium concentrations. **Chemosphere**, v.77(3), p.384-391. 2009.

LEATHERLAND, J.F.; WOO, P.T.K. **Fish Diseases and Disorders**, vol. 2, CAB International Canada. 2010.

LI, X.B.; HOU, X.L.; MAO, Q.; ZHAO, Y.L.; CHENG, Y.X.; WANG, Q. Toxic effects of copper on antioxidative and metabolic enzymes of the marine gastropod *Onchidium struma* Arch. **Environ. Contam.Toxicol.**, v.56. p. 776-784. 2009.

LOPES, C.A. E BUSO, J.A. **A Cultura da Batata**. Embrapa Hortaliças. Organizadores Carlos Alberto Lopes e José Amuri Buso – Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. 184 p. 16 cm – Coleção Plantar; 42. ISBN 85-7383-0670-0. 1999.

LÓPEZ-PÉREZ, G. C.; ARIAS-ESTÉVEZ, M.; LÓPEZ-PERIAGO, E.; SOTO-GONZÁLEZ, B.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Dynamics of pesticides in potato crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1797-1803, 2006.

MARTINEZ, C. B. R. Parâmetros bioquímicos de peixes para avaliação da qualidade da água. Universidade Estadual de Londrina. 2006

Mc CORD, J.M., FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein). **J. Biol. Chem.** v.244, p.6049–6055. 1969.

MENEZES, C. C.; LEITEMPERGER, J.; SANTI, A.; LÓPES, T.; VEIVERBERG, C. A.; PEIXOTO, S.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R.; BARBOSA, N. B. V.; LORO, V. L. The effects of diphenyl diselenide on oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* exposed to herbicide quinclorac (Facet®). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 81, p. 91-97, 2012.

MENEZES, C.; LEITEMPERGER, J.; TONI, C.; SANTI, A.; LÓPES, T.; BARBOSA, N. B. V.; NETO, J. R.; LORO, V. L. Comparative study on effects of dietary with diphenyl diselenide on oxidative stress in carp (*Cyprinus carpio*) and silver catfish (*Rhamdia* sp.) exposed to herbicide clomazone. **Environmental toxicology and pharmacology**, v.36(2), p.706-714. 2013.

MIRON, D. S.; CRESTANI, M.; SHETTINGER, M. R.; MORSCH, V. M.; BALDISSEROTTO, B.; TIerno, M. A.; MORAES, G.; VIEIRA, V. L. P. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 61(3), 398-403. 2005.

MORAES B. S., CLASEN B., LORO V. L., PRETTO A., TONI C., AVILA L. A., MARCHESAN E., MACHADO S. L. O., ZANELLA R., REIMCHE G. B. Toxicological response of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.74, p.328–335. 2011.

MURUSSI, C. R.; THORSTENBERG, M. L.; LEITEMPERGER, J.; COSTA, M.; CLASEN, B.; SANTI, A.; MENEZES, C.; ENGERS, V. K.; LORO, V. L. Toxic effects of penoxsulam herbicide in two fish species reared in southern Brazil. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v.92(1), p.81-84. 2014.

NELSON D. P.; KIESOW, L.A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25° C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solution in the UV). **Analytical Biochemistry**, v.49, p. 474-478. 1972.

NORMAN G.R, STREINER, D.L. Biostatistics: the bare essentials. **St. Louis: Mosby-Year Book**; 1994.

ORUÇ, E.Ö.; USTA, D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**,23, 48-55. 2007.

PRETTO, A.; LORO, V. L.; MENEZES, C.; MORAES, B. S.; REIMCHE, G. B.; ZANELLA, R.; DE ÁVILA, L. A. Commercial formulation containing quinclorac and metsulfuron-methyl herbicides inhibit acetylcholinesterase and induce biochemical alterations in tissues of *Leporinus obtusidens*. **Ecotoxicology and environmental safety**, 74(3), 336-341. 2011.

RAO, J. V. Sublethal effects of an organophosphorus insecticide (RPR-II) on biochemical parameters of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 4, p. 492-498, 2006.

REPETTO, M.; SEMPRINE, J.; BOVERIS, A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. **InTech**, <http://dx.doi.org/10.5772/45943>. 2012.

RODRIGUES, M.C.S. **Avaliação e adequação da lavagem no beneficiamento da batata**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola. 87 p. 2011.

SALVO, L. M.; SINHORINI, I. L.; MALUCELLI, B. E.; KLEMZ, C.; SANCHEZ, D. C. O.; NICARETTA, L.; MALUCELLI, M. I. C.; BACILA, M.; ASSIS, H. C. S. Effects of endosulfan sublethal concentrations on carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758): Morphometric, histologic, ultrastructural analyses and cholinesterase activity evaluation. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 87-94, 2008.

- TABASSUM, H.; KHAN, J.; SALMAN, M.; RAISUDDIN, S.; PARVEZ, S. Propiconazole induced toxicological alterations in brain of freshwater fish *Channa punctata* Bloch. **Ecological Indicators**, v.62, p.242-248. 2016.
- TONI, C.; LORO, V. L.; SANTI, A.; MENEZES, C. C.; CATTANEO, R.; CLASEN, B. E.; ZANELLA, R. Exposure to tebuconazol in rice field and laboratory conditions induces oxidative stress in carp (*Cyprinus carpio*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.153(1), p.128-132. 2011.
- TONI, C.; MENEZES, C.; CLASEN, B.; LEITEMPERGER, J.; PRETTO, A.; ADAIME, M. B.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R.; LORO, V. L. Oxidative stress in carp exposed to quinclorac herbicide under rice field condition. **Ecotoxicology and environmental safety**, 92, 27-31. 2013.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environ. Toxicol. Pharm.** v.13, p.57–149. 2003.
- VAN VELD, P.A.; NACCI, D.E. Toxicity resistance. In Toxicology of fishes (Ed.DiGIULIO, R.T; HINTON, D.E.), p. 597– 641. Boca Raton, **FL: CRC Press**. 2008.
- YANG, Y. X.; NIU, L. Z.; LI, S. N. Purification and studies on characteristics of cholinesterases from *Daphnia magna*. **J. Zhejiang Univ. Sci. B.** v.14(4), p.325–335. 2013.
- WILLIAMS, L. M.; OLEKSIK, M. F. Ecologically and evolutionarily important SNPs identified in natural populations. **Molecular Biology and Evolution**, v.28(6), p.1817-1826. 2011.
- ZANELLA, R., PRIMEL, E.G., GONÇALVES, F.F., KURZ, M.H.S., MISTURA, C.M. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic procedure for the determination of herbicide residues in surface and agricultural waters. **Journal of Separation Science**.v.26, p.935-938. 2003.
- ZHENG, Y.; LIU, Y.; GE, J.; WANG, X.; LIU, L.; BU, Z.; LIU, P. Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. **Molecular Vision**, v.16, p. 1467-1474. 2010.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo foram realizadas análises laboratoriais em tecidos do cérebro, fígado, músculo e brânquias, no intuito de identificar possíveis respostas bioquímicas em carpas (*Cyprinus carpio*). O experimento foi conduzido de forma controlada onde foram expostos a um efluente simulando uma situação de um ambiente natural. Paralelamente, foi realizada uma pesquisa específica em relação ao efluente, sendo necessário verificar quais eram as condições de lançamento dele. De acordo com a legislação ambiental, os efluentes oriundos da atividade de beneficiamento de batatas devem ser totalmente recirculados, ou seja, não devem ser lançados nos corpos hídricos. A razão pela qual há esse impedimento é decorrente dos possíveis componentes químicos de agrotóxicos que podem estar presente nos efluentes, cujas concentrações, se elevadas, podem causar prejuízos a fauna aquática. As análises em amostras do efluente indicaram a presença de vários princípios ativos encontrados nos agrotóxicos de uso cotidiano nas lavouras de batata.

O tipo de organismo selecionado para essa pesquisa esteve condicionada a uma maior utilização de peixes para o monitoramento ambiental, pois estes concentram os poluentes diretamente da água e da dieta, possibilitando a avaliação da transferência de poluentes através da rede alimentar (LANFRANCHI et al., 2006) e também pela semelhança genética com humanos (GERLAI, 2010).

Na etapa de avaliação dos resultados da exposição dos animais, por meio das análises que foram realizadas nos tecidos destes, foram observadas alterações nas enzimas dos indivíduos exposto. Nesse contexto, houve indicativo de que o efluente pode ter provocado reações adversas e, portanto, o mesmo pode ser considerado nocivo quando lançado em corpos hídricos. Além disso, foram realizadas análises físico-químicas que apontaram concentrações elevadas de sólidos e turbidez. Estudos como o realizado por Meyer et al. (2003) alertam que substâncias sintéticas com ação desreguladora geralmente persistem no ambiente, acumulam-se no solo e nos sedimentos, sendo facilmente transportadas para outras regiões e pode se acumular ao longo da cadeia trófica, expondo outros animais e prejudicando todo um ecossistema.

Assim sendo, autores como Guo et al. (2008) tem evidenciado a preocupação em relação a contaminação, cujos resultados da bioacumulação podem chegar aos

humanos já que os princípios ativos dos agrotóxicos podem permanecer na cadeia alimentar culminando em uma ameaça à saúde.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A legislação que abrange a atividade de beneficiamento de batatas não é muito restritiva e juntamente com a falta de fiscalização, abre espaço para o não cumprimento da mesma. Há a necessidade de avaliação das concentrações de agrotóxicos em resíduos lançados em corpos hídricos, juntamente com a maior atenção na qualidade físico-química destes resíduos.

O efluente da indústria de beneficiamento de batatas pode ser considerado tóxico, pois provocou alteração na maior parte das enzimas analisadas, indicando dano oxidativo causado pelos diversos agrotóxicos presentes neste resíduo, podendo chegar aos humanos quando lançados no ambiente.

8 RECOMENDAÇÕES

Recomenda-se a realização de mais análises bioquímicas para um melhor entendimento das interações do organismo exposto ao efluente e para serem comprovadas as alterações sofridas pelo organismo.

Ainda, dever-se-iam adotar os limites de concentrações de agrotóxicos das legislações internacionais, justa posto que no Brasil não existe tal regulamentação, e por se tratar de resoluções antigas, essa poderiam ser atualizadas.

REFERÊNCIAS

- ABBA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA BATATA. **Manejo de plantas daninhas e dessecação na cultura de batata**. 2003. Disponível em <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista07_018.htm> Acesso em 16 ago 2016.
- ABHIJITH, B. D.; RAMESH, M.; POOPAL, R. K. Responses of metabolic and antioxidant enzymatic activities in gill, liver and plasma of *Catla catla* during methyl parathion exposure. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 77, p. 31-40, 2016.
- AEBI, H. Catalase *in Vitro*. **Methods in Enzymology** 105:121-126. 1984.
- ALBUQUERQUE, A. F.; RIBEIRO, J. S.; KUMMROW, F.; NOGUEIRA, A. J. A.; MONTAGNER, C. C.; UMBUZEIRO, G. A. Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v.18(7), p.779-787. 2016.
- ALMEIDA, J.S.; MELETTI, P.C.; MARTINEZ, C.B.R. Acute effects of sediments taken from an urban stream on physiological and biochemical parameters of the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 140C: 356-363. 2005.
- ALVES, R. M; COSTA, A. L. S; VIANA, L. S.; PLETSCHE, M.; LOPEZ, A. M. Q.; MACHADO, S. S. **Avaliação da acetilcolinesterase de peixe da lagoa mundaú para uso como biomarcador de pesticidas**. 2007. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-665-783.htm>> Acesso em 04 fev. 2016.
- ALMROTH, B.C.; STURVE, J.; BERGLUND, A.; FÖRLIN, L. Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. **Aquatic Toxicology**. v.73, p. 171-180. 2005.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regularização de produtos – agrotóxicos. Monografias autorizadas**. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>> Acesso em out 2016.
- A RAZÃO. Reportagem do Jornal A Razão: **“Crime Ambiental: peixes morrem por envenenamento em Silveira Martins”**. 2013. Disponível em www.arazao.com.br/crime-ambiental-peixes-morrem-por-envenenamento-em-silveira-martins/. Acesso em 03 out. 2013.
- ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL. Batata doce e batata-inglesa. 2011. Disponível em: <http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/conteudo.asp?cod_menu_filho=819&cod_menu=817&tipo_menu=ECONOMIA&cod_conteudo=1502> Acesso em 10 ago 2016.

ATLI, G.; CANLI, M. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C** 145:282-287. 2007.

ATLI, G., CANLI, E. G., EROGLU, A., CANLI, M. Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.126, p.30-37. 2016.

AVILEZ, I.M.; HORI, T.S.F.; ALMEIDA, L.C.; HACKBARTH, A.; BASTOS NETO, J.C.; BASTOS, V.L.F.C.; MORAES, G. Effects of phenol in antioxidant metabolism in matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). **Comparative Biochemistry and physiology Part C** 148:136-142.2008.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. da M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: Rima; Intertox, 2004.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. D. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**. 2010.

BARROS, A. L. C. D. **Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição a baixa temperatura para a análise de agrotóxicos via UHPLC-ESI-MS/MS em águas superficiais em Ouro Branco/MG**. Dissertação (Mestrado Engenharia Ambiental). 133 p. 2014.

BERTOLETTI, E; GHERRARDI-GOLDSTEIN, E.; NIPPER, M.G. Toxicidade de efluentes industriais na Grande São Paulo. **Revista DAE**, v.49, N.155, p.63-70. 2008.

BONANSEA, R. I.; WUNDERLIN, D. A.; AMÉ, M. V. Behavioral swimming effects and acetylcholinesterase activity changes in *Jenynsia multidentata* exposed to chlorpyrifos and cypermethrin individually and in mixtures. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.129, p.311-319. 2016.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. **Dispõe sobre a pesquisa, 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**. In: Legislação federal de agrotóxicos e afins. Brasília (DF): Ministério da Agricultura e do Abastecimento; 1998. p. 7-13

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 31 de março de 2005. **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**. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. **Dispõe sobre as condições de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2011.

BRASILEIRO, A. L. S. A injúria da reperfusão miocárdica. **Socerj**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p.79-88, 1997.

CAMARGO, M.M.P.; MARTINEZ, C.B.R. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.21, p. 61-69. 2006.

CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J. E. P. **Piscicultura nos Trópicos**. São Paulo: Ed. Manole Ltda., 152p., 1986.

CATALA, A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 38, p. 1482-1495, ISSN: 1357-2725. 2006.

CEVS/SES – Centro Estadual de Vigilância em Saúde – Secretaria Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul. **Levantamento do Uso e da Criticidade dos Agrotóxicos Usados no Estado do Rio Grande do Sul** – Porto Alegre, 373 p.2010.

CHANDRASEKARA, H. U.; PATHIRATNE, A. Influence of low concentrations of Trichlorfon on haematological parameters and brain acetylcholinesterase activity in common carp, *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Research**, v.36, p.144-149. 2005.

CLASEN, B., LORO, V. L., CATTANEO, R., MORAES, B., LÓPES, T., AVILA, L. A., ZANELLA, R., REIMCHE, G. B., BALDISSEROTTO, B. Effects of the commercial formulation containing fipronil on the non-target organism *Cyprinus carpio*: implications for rice–fish cultivation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.77, p.45–51. 2012.

CLASEN, B.; LEITEMPERGER, J.; MURUSSI, C.; PRETTO, A.; MENEZES, C.; DALABONA, F.; MARCHEZAN, E.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R.; LORO, V. L. Carbofuran promotes biochemical changes in carp exposed to rice field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.101, p.77-82. 2014.

CLASEN, B. E.; BECKER, A. G.; LÓPES, T.; MURUSSI, C. R.; ANTES, F. G.; HORN, R. C.; FLORES, É. M. M.; BALDISSEROTTO, B.; DRESSLER, V. L.; LORO, V. L. Triphenyltin hydroxide induces changes in the oxidative stress parameters of fish. **Ecotoxicology**, p. 1-5, 2017.

COLOMBI, J. S. **Avaliação da acetilcolinesterase como biomarcador em experimentos de contaminação *in vitro* com MeHg e HgCl₂ em *Hoplias malabaricus* (BLOCK, 1794)**. Monografia. Bacharel em Biociências e Biotecnologia, área de concentração Ciências Ambientais. Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF Campos dos Goytacazes / RJ. 2009.

CONG, N.V., PHUONG, N.T. & BAYLEY, M. Brain cholinesterase response in the snakehead fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.71(2), p.314-318. 2008.

CORTES-DIAZ, M. J. A.; RODRÍGUEZ-FLORES, J.; CASTAÑEDA-PEÑALVO, G.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; ISLAS-FLORES, H.; DUBLÁN-GARCÍA, O.; GÓMEZ-OLIVÁN, L. M. Sublethal effects induced by captopril on *Cyprinus carpio* as determined by oxidative stress biomarkers. **Science of The Total Environment**, v.605, p.811-823. 2017.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M.; ESPINDOLA, E. L. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v.31(7), p.1820-1830. 2008.

DAUTREMEPUITS, C; PARIS-PALACIOS, S.; BETOULLE, S.; VERNET, G. Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C** v.137, p.325-333.2004.

de PAIVA MAGALHAES, D.; FERRAO-FILHO, A. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v.12(3), p. 3. 2008.

DENEER, J.W. Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. **Pest Management Science**, v.56, p.516-520.2000.

DIANZANI, M.; BARRERA, G. Pathology and physiology of lipid peroxidation and its carbonyl products. In: ÁLVAREZ, S.; EVELSON, P. (ed.), **Free Radical Pathophysiology**, p. 19-38, Transworld Research Network: Kerala, India, ISBN: 978-81-7895-311-3. 2008.

DUTTA, H. M; ARENDS, D.A. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. **Environmental Research**, v.91(3), p.157-162. 2003.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. MORO, G. V.; RESENDE, F. P.; ALVES, A. L.; HASHIMOTO, D. T.; VARELA, E. S.; TORATI, L. S. In: **Espécie de peixes para piscicultura**. Brasília – DF, 2013.

ESCHER, B.I.; BRAMAZ, N.; MUELLER, J.F; QUAYLE, P.; RUTISHAUSER, S.; VERMEIRSSSEN, E.L.M. Toxic equivalent concentrations (TEQs) for baseline toxicity and specific modes of action as a tool to improve interpretation of ecotoxicity testing of environmental samples. **Journal of Environmental Monitoring**, v.10, p. 612-621.2008.

FERREIRA, T. **Biomarcadores enzimáticos e ecotoxicidade por cobre em *Eisenia andrei* (Bouché 1972)**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Universidade Federal de Santa Maria. 68p. 2015.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. 2. Ed. Bridgewater: Oily Press, **Oily Press lipid Library**, v.18.p.391-405. 2005.

GALLAGHER, E.P.; GROSS, T.S.; SHEEHY, K.M. Decreased glutathione S-transferase expression and activity and altered sex steroids in lake Apopka brown bullheads (*Ameiurus nebulosus*). **Aquatic Toxicology**,v.55, p. 223-237. 2001.

GERLAI, R. High-throughput behavioral screens: the first step towards finding genes involved in vertebrate brain function using zebrafish. **Molecules**v.15, p. 2609–2622. 2010.

GUO, Y.; MENG, X.; TANG,H.; ZENG, E.Y. Tissue distribution of organochlorine pesticides in fish collected from the Pearl River Delta, China: implications for fishery input source and bioaccumulation. *Environ Pollut* v.155. p.150–156. 2008.

GUTIÉRREZ-GÓMEZ, A. A.; SAN JUAN-REYES, N.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; DUBLÁN-GARCÍA, O.; ISLAS-FLORES, H.; PÉREZ-ALVÁREZ, I.; GÓMEZ-OLIVÁN, L. M. 17 β -estradiol induced oxidative stress in gill, brain, liver, kidney and blood of common carp (*Cyprinus carpio*). **Electronic Journal of Biology**, v. 12(1). p.53-63.2016.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Nova York: Oxford University Press, v.1. 851p. 2007.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v.142(2), p. 231-55. 2004.

IBAMA. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil**. 2009. Disponível em:<http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/produtos_agrotoxicos_comercializados_brasil_2009.pdf> Acesso em 16 fev 2016.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Atlas de Saneamento – 2011**. Disponível em:<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/atlas_saneamento/default_zip.shtm>Acesso em 17 fev. 2016.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Lavoura Permanente e Lavoura Temporária**. 2013. Disponível em <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=432065&search=rio-grande-do-sul|silveira-martins|infograficos:-informacoes-completas>> Acesso em 07 mar 2016.

LANFRANCHI, A. L.; MENONE, M. L.; MIGLIORANZA, K. S.B.; JANIOT, L. J.; AIZPUN, J. E.; MORENO, V. J. Striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*): a biomonitor of organochlorine pesticides in estuarine and near-coastal zones. **Marine Pollution Bulletin**v.52, p.74–80. 2006.

LETENDRE, J.; CHOUQUET, B.; ROCHER, B.; MANDUZIO, H.; LEBOULENGER, F.; DURAND, F. Differential pattern of Cu/Zn superoxide dismutase isoforms in relation to tidal spatio-temporal changes in the blue mussel *Mytilus edulis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**. v.148, p.211-216. 2008.

LI, X.B.; HOU, X.L.; MAO, Q.; ZHAO, Y.L.; CHENG, Y.X.; WANG, Q. Toxic effects of copper on antioxidative and metabolic enzymes of the marine gastropod *Onchidium struma* Arch. Environ. Contam. Toxicol., v.56. p. 776-784. 2009.

LIEBEL, S. **Respostas Celulares de Hepatócitos de *Prochilodus lineatus* (Curimatá) após exposição à Cilindrospermopsina: Sistema de Resistência a Multixenobióticos e Ambiente Redox**. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 59 p. 2011.

LIJTEROFF, R.; LIMA, L.; PRIERI, B. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminação atmosférica em la ciudad de San Luis, Argentina. **Revista internacional de contaminación ambiental**, v. 25, n. 2, p. 111-120, 2009.

LINDE, A. R.; INACIO, A. F.; NOVO, L. A.; VIANA, T. A. P.; AIBUQUERQUE, C. Utilização de Bioindicadores como ferramentas de monitoramento e avaliação ambiental: o caso de recursos hídricos. **Mundo & Vida**. 2005.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V.S.; CIRIO, S.M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 469-484, out./dez. 2010.

LOPES, C.A. E BUSO, J.A. **A Cultura da Batata**. Embrapa Hortaliças. Organizadores Carlos Alberto Lopes e José Amuri Buso – Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. 184 p. 16 cm – Coleção Plantar; 42. ISBN 85-7383-0670-0. 1999.

LÓPEZ-PÉREZ, G. C.; ARIAS-ESTÉVEZ, M.; LÓPEZ-PERIAGO, E.; SOTO-GONZÁLEZ, B.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Dynamics of pesticides in potato crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1797-1803, 2006.

MABUCHI, K.; MIYA, M.; SENOU H.; SUZUKI, T.; NISHIDA, M. Complete mitochondrial DNA sequence of the Lake Biwa wild strain of common carp (*Cyprinus carpio* L.): further evidence for an ancient origin. **Aquaculture**, v. 257, p. 68-77, 2006.

MAPA - **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em outubro de 2015.

MARTINEZ, C. B. R. Parâmetros bioquímicos de peixes para avaliação da qualidade da água. Universidade Estadual de Londrina. 2006

MENEZES, C. C. **Efeito do disseleneto de difenila sobre a toxicidade induzida por herbicidas em peixes**. Tese (doutorado). Universidade Federal de Santa Maria-

RS. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica. 89p. 2013.

MEYER, A.; SARCINELLI, P.N.; ABREU-VILLAÇA, Y.; MOREIRA, J.C. Os agrotóxicos e sua ação como desregulares endócrinos. In: PERES, F., and MOREIRA, J.C., orgs. **É veneno ou é remédio?:** agrotóxicos, saúde e ambiente [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. p. 101-118. ISBN 85-7541-031-8. 2003.

MIKULA, P.; BLAHOVA, J.; KRUIKOVA, K.; HAVELKOVA, M.; NEMETHOVA, D.; HULAK, M.; SVOBODOVA, Z. Effects of the herbicide LASSO MTX (Alachlor 42% W/V) on biometric parameters and liver biomarkers in the common carp (*Cyprinus carpio*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.93, p.13–17. 2009.

MIRON, D. S; CRESTANI, M.; SHETTINGER, M. R.; MORSCH, V. M.; BALDISSEROTTO, B.; TIerno, M. A.; MORAES, G.; VIEIRA, V. L. P. 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(3), p. 398-403. 2005.

MODESTO, K.A.; MARTINEZ, C.B. R. Effects of Roundup Transorb on fish: Hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. **Chemosphere**.v.81, p.781-787. 2010 a.

MODESTO, K.A.; MARTINEZ, C.B.R. Roundap® cause oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**. v.78, p.294-299. 2010 b.

MONTEIRO, D.A.; ALMEIDA, J.A.; RANTIN, F.T.; KALININ, A.L. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). **Comparative Biochemistry and Physiology**,v.143 C, p.141-149. 2006.

MOORE, M. N.; DEPLEDGE, M. H.; READMAN, J. W.; PAUL LEONARD, D. R. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. **Mutation Research**, v.552, n.1-2, p.247-268. 2004.

MORAES, B. S.; CLASEN, B.; LORO, V. L.; PRETTO, A.; TONI, C.; AVILA, L. A.; MARCHESAN, E.; MACHADO, S. L. O.; ZANELLA, R.; REIMCHE, G. B. Toxicological response of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.74, p.328–335. 2011.

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. 1º Anuário brasileiro de pesca e aquicultura. 2014.

NUNES, R.C.A.; VIANA, R. S.; MACHADO NETO, N.B. Atividade enzimática da superóxido dismutase em resposta aos fitoreguladores em *Gerbera jamensoni*. **Comunicata Scientiae**, v.6(1), p. 83-8. 2015.

ORUÇ, E.Ö.; USTA, D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**,23, 48-55. 2007.

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.

PERSCH, T. S. P.; WEIMER, R. N.; FREITAS, B. S.; OLIVEIRA, G. T. Metabolic parameters and oxidative balance in juvenile *Rhamdia quelen* exposed to rice paddy herbicides: Roundup®, Primoleo®, and Facet®. **Chemosphere**, v.174, p.98-109. 2017.

REPETTO, M.; SEMPRINE, J.; BOVERIS, A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. **InTech**. 2012.

RESGALLA JUNIOR, C.; NOLDIN, J. A.; SANTOS, A. L.; SATO, G.; EBERHARDT, D. S. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticida utilizados na cultura do arroz irrigado sobre juvenis de carpa (*Cyprinus carpio*). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 12, p. 59-68. 2002.

RIO GRANDE DO SUL. CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE – CONSEMA, **Resolução nº 128**. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. 2006.

RODRIGUES, M.C.S. **Avaliação e adequação da lavagem no beneficiamento da batata**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola. 87 p. 2011.

RONCO, A.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P. **Em Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas - Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones**; Morales, G. C., ed.; Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo: Ottawa, cap. 1. 2004.

SANTOS, V. M. R. D.; DONNICI, C. L.; COSTA, J. B. N. D.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p.159-170, 2007.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.

SILVA, G. O.; PEREIRA, A.S; SOUZA, V.Q.; CARVALHO, F.I.F.; FRITSCH NETO, R. Correlações entre caracteres de aparência e rendimento e análise de trilha para aparência de batata. **Bragantia**, v. 66, n. 03, p. 381-388, 2007.

SIMONATO, J.D.; ALBINATI, A.C.L.; MARTINEZ, C.B.R. Effects of the water soluble fraction of diesel fuel oil on some functional parameters of the neotropical freshwater

fish *Prochilodus lineatus Valenciennes*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.76, p. 505-511. 2006.

STARA, A.; MACHOVA, J.; VELISEK, J. Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 33, p. 334-343, 2012.

TAGLIARI, K. C.; CECCHINI, R.; VAZ ROCHA, J. A.; VARGA, V. M. F. Mutagenicidade do Sedimento e Estresse Oxidativo Hepático em Peixes sob a Influência de Curtumes. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, 2006.

WANG, X.; XING, H.; JIANG, Y.; WU, H.; SUN, G.; XU, Q.; XU, S. Accumulation, histopathological effects and response of biochemical markers in the spleens and head kidneys of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. **Food and chemical toxicology**, v.62, p.148-158. 2013.

WEBER, D.; DAVIES, M. J.; GRUNE, T. Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: Focus on sample preparation and derivatization conditions. **Redox Biology**, v.5, p. 367–380. 2015.

YAN, S.; WANG, J.; ZHU, L.; CHEN, A.; WANG, J. Toxic effects of nitenpyram on antioxidant enzyme system and DNA in zebrafish (*Danio rerio*) livers. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.122, p.54-60. 2015.

YONAR, M. E.; YONAR, S. M.; URAL, M. Ş.; SILICI, S.; DÜŞÜKCAN, M. Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio* carp. **Food and chemical toxicology**, v.50(8), p.2703-2708. 2012.

ZANETTE, J., NUNES, F.F., MEDEIROS, I.D., SIEBERT, M.N., MATTOS, J.J., LÜCHMANN, K.H., MELO, C.M.R.; BAINY, A.C.D. Comparison of the antioxidant defense system in *Crassostrea rhizophorae* and *Crassostrea gigas* exposed to domestic sewage discharges. **Marine Environmental Researc.** v.66, p.196-198.2008.

ZHENG, Y.; LIU, Y.; GE, J.; WANG, X.; LIU, L.; BU, Z.; LIU, P. Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. **Molecular Vision**, v.16, p. 1467-1474. 2010.

APÊNDICE A

PRINCÍPIOS ATIVOS INDICADOS PARA A CULTURA DA BATATA

Princípio ativo	Classe	Aplicação	LRM (mg/kg)	
Acefato	Inseticida e acaricida	Foliar	0,2	
Anilazina	Fungicida	Foliar	1	
Abamectina	Acaricida, inseticida e nematicida	Foliar	0,005	
Azoxistrobina	Fungicida	Foliar	0,1	Grupo químico: Estrobilurina
Acetamiprido	Inseticida	Foliar	0,5	
Acibenzolar-S-metílico	Ativador de planta	Foliar	0,1	
Acetato de (Z)-11-hexadecenila	Feromônio sintético	Armadilha	ND	
Acetato de (Z)-9-tetradecenila	Feromônio sintético	Armadilha	ND	
Acetato de (E,Z,Z)-4,7,10-tridecatrienila	Feromônio sintético	Armadilha	ND	
Acetato de (E,Z)-4,7-tridecadienila	Feromônio sintético	Armadilha	ND	
Bifentrina	Inseticida, formicida e acaricida	Foliar	0,03	
Bifentrina	Inseticida, formicida e acaricida	Solo	0,03	
Bromuconazol	Fungicida	Foliar	0,1	
Benfuracarbe	Inseticida e nematicida	Sementes	0,05	
Benfuracarbe	Inseticida e nematicida	Solo	0,05	
Benalaxil	Fungicida	foliar	0,1	
Boscalida	Fungicida	Foliar	0,05	
Bentiavalicarbe Isopropílico	Fungicida	Foliar	0,01	
Captana (captan)	Fungicida	Foliar	1	
Carbaril	Inseticida	Foliar	0,1	
Carboxina	Fungicida	Solo	0,2	
Carbofurano	Inseticida, cupinicida, acaricida e	Solo	0,5	

	nematicida			
Casugamicina	Fungicida e bactericida	Foliar	0,05	
Casugamicina	Fungicida e bactericida	Pós-colheita	0,05	
Cimoxanil	Fungicida	Foliar	0,1	
Cipermetrina	Inseticida e formicida	Foliar	0,05	
Clorotalonil	Fungicida	Foliar	0,1	
Clorpirifós	Inseticida, formicida e acaricida	Foliar	1	Grupo químico: Organofosforado
Clorpirifós	Inseticida, formicida e acaricida	Solo	1	
Cartape	Inseticida e fungicida	Foliar	0,01	
Carbossulfano	Inseticida, acaricida e nematicida	Foliar	0,05	
Carbossulfano	Inseticida, acaricida e nematicida	solo	0,05	
Cletodim	Herbicida	Pós-emergência	0,5	
Clomazona	Herbicida	Pré-emergência	0,05	
Ciromazina	Inseticida	Foliar	0,1	
Clorfluazurom	Inseticida	Foliar	0,01	
Clorfenapir	Inseticida e acaricida	Foliar	0,05	
Ciprodinil	Fungicida	Foliar	0,05	
Carfentrazone-etílica	Herbicida	Dessecante	0,02	
Carfentrazone-etílica	Herbicida	Pós-emergência	0,02	
Cloretos de Benzalcônio	Fungicida e bactericida	Foliar	1	
Cloretos de Benzalcônio	Fungicida e bactericida	Sementes	1	
Cadusafós	Inseticida e nematicida	Solo	0,02	
Compostos a Base de Cobre	Fungicida e bactericida	Foliar	ND	
Cresoxim-metílico	Fungicida	Foliar	0,1	
Alfa-Cipermetrina	Inseticida	Foliar	0,01	
Alfa-Cipermetrina	Inseticida	Solo	0,01	
Beta-Cipermetrina	Inseticida	Foliar	0,02	
Zeta-Cipermetrina	Inseticida	Foliar	0,02	

Beta-Ciflutrina	Inseticida	Foliar	0,1
Lambda-Cialotrina	Inseticida	Foliar	0,05
Clotianidina	Inseticida	Foliar	0,03
Gama-Cialotrina	Inseticida	Foliar	0,01
Ciazofamida	Fungicida	Foliar	0,05
Clorantraniliprole	Inseticida	Foliar	0,01
Ciantraniliprole	Inseticida	Foliar	0,01
Ciantraniliprole	Inseticida	Solo (material propagativo)	0,01
Diquate	Herbicida	Dessecante	0,2
Difenoconazol	Fungicida	Foliar	0,1
Dimetomorfe	Fungicida	Foliar	0,03
Diafentiurom	Acaricida e inseticida	Foliar	0,01
Dimetenamida-P	Herbicida	Pré-emergência	0,01
1,4-Dimetoxibenzeno	Feromônio sintético	Armadilha	ND
Enxofre	Acaricida e fungicida	Foliar	ND
Etefom	Regulador de crescimento	Dessecante	0,1
Etoprofós	Nematicida e inseticida	Solo	0,05
Esfenvalerato	Inseticida biológico	Foliar	0,01
Espinosade	Inseticida	Foliar	0,01
Espinetoram	Inseticida	Foliar	0,01
Fenamifós	Nematicida	Solo	0,1
Fluasifope-P	Herbicida	Pós-emergência	0,02
Fenoxaprope-P	Herbicida	Pós-emergência	0,05
Flutriafol	Fungicida	Foliar	0,1
Formetanato	Inseticida e acaricida	Foliar	0,05
Fipronil	Inseticida, formicida e cupinicida	Solo	0,05
Flumioxazina	Herbicida	Pré-emergência	0,05

Grupo químico: Triazol

Fluazinam	Fungicida e acaricida	Foliar	0,1	
Fluazinam	Fungicida e acaricida	Solo	0,1	
Fludioxonil	Fungicida	Sementes	0,02	
Fostiazato	Inseticida e nematicida	Solo	0,5	
Famoxadona	Fungicida	Foliar	0,01	
Fenamidona	Fungicida	Foliar	0,02	
Fentina	Fungicida	Foliar	0,1	
Fluopicolida	Fungicida	Foliar	0,07	
Flutolanil	Fungicida	Sulco de plantio	0,03	Grupo químico: Carboxamida
Fluxapirroxade	Fungicida	Foliar	0,01	
Glufosinato	Herbicida e regulador de crescimento	Dessecante	0,05	
Glufosinato	Herbicida e regulador de crescimento	Pós-emergência	0,05	
Hidrazida Malêica	Regulador de crescimento	Foliar	50	
Imidacloprido	Inseticida	Foliar	0,05	
Iminoctadina	Fungicida	Foliar	0,1	
Indoxacarbe	Inseticida, cupinicida e formicida	Foliar	0,05	
Iprodiona	Fungicida	Foliar	0,02	
Iprovalicarbe	Fungicida	Foliar	0,05	
Isoxaflutol	Herbicida	Pré-emergência	0,01	
Linurom	Herbicida	Pré/Pós-emergência	1	
Lufenurom	Inseticida e acaricida	Foliar	0,02	
Mancozebe	Fungicida e acaricida	Foliar	1	
Mandipropamida	Fungicida Sistêmico	Foliar	0,01	
Melaleuca alternifolia	Fungicida e bactericida	Foliar	ND	
Metalaxil-M	Fungicida	Foliar	0,05	
Metam	Inseticida, formicida, fungicida,	Solo	1	

	nematicida e herbicida		
Metconazol	Fungicida	Foliar	0,05
Metiram	Fungicida	Foliar	1
Metiram	Fungicida	Sulco de plantio	1
Metomil	Inseticida e acaricida	Foliar	0,1
Metribuzim	Herbicida	Pré/Pós-emergência	0,1
Miclobutanil	Fungicida	Foliar	0,5
Milbemectina	Inseticida e acaricida	Foliar	0,01
Novalurom	Inseticida	Foliar	0,02
Paraquate	Herbicida	Dessecante	0,2
Paraquate	Herbicida	Pós-emergência	0,2
Pencicuum	Fungicida	Sementes	0,1
Pencicuum	Fungicida	Solo	0,1
Pendimetalina	Herbicida	Pré-emergência	0,1
Pimetrozina	Inseticida	Foliar	0,01
Piraclostrobina	Fungicida	Foliar	0,01
Piraclostrobina	Fungicida	Sulco de plantio	0,01
Piraflufem	Herbicida	Foliar	0,01
Piridafentona	Inseticida e acaricida	Foliar	0,1
Pirimetanil	Fungicida	Foliar	0,5
Pirimicarbe	Inseticida	Foliar	0,05
Procimidona	Fungicida	Foliar	0,5
Procimidona	Fungicida	Solo	0,5
Proxadiona cálcica	Regulador de crescimento	Foliar	0,05
Profenofós	Inseticida e acaricida	Foliar	0,05
Propamocarbe	Fungicida	Foliar	0,5
Protiofós	Inseticida e acaricida	Foliar	0,01
Quintozeno	Fungicida	Solo	0,2

Reynoutria Sachalinensis	Fungicida	Foliar	ND	
Saflufenacil	Herbicida	Dessecante	0,03	
Tiabendazol	Fungicida	Sementes	5	
Tiofanato-metílico	Fungicida	Sementes	0,1	
Tiofanato-metílico	Fungicida	Foliar	0,1	
Tiram	Fungicida	Solo	1	
Triazofós	Inseticida, acaricida e nematicida	Foliar	0,05	
Tebuconazol	Fungicida	Foliar	0,1	Grupo químico: Triazol
Teflubenzurom	Inseticida	Foliar	0,1	
Triflumurom	Inseticida	Foliar	0,1	
Tetraconazol	Fungicida	Foliar	0,01	
Tiametoxam	Inseticida	Foliar	0,02	Grupo químico: neonicotinóide
Tiametoxam	Inseticida	Sementes	0,02	
Tiametoxam	Inseticida	Solo	0,02	
Tiacloprido	Inseticida	Foliar	0,1	
Tifluzamida	Fungicida	Sementes	0,1	
Tifluzamida	Fungicida	Batata Solo	0,1	
Trifloxistrobina	Fungicida	Foliar	0,02	
Tebupirinfós	Inseticida	Solo	0,05	
Zoxamida	Fungicida	Foliar	0,1	

Sendo LRM = Limite máximo de resíduo