

TOXICIDADE AGUDA DE ALGUNS HERBICIDAS E INSETICIDAS UTILIZADOS EM LAVOURAS DE ARROZ IRRIGADO SOBRE O PEIXE *Danio rerio*

FERNANDO KOJIMA NAKAGOME*
JOSÉ ALBERTO NOLDIN**
CHARRID RESGALLA JR.***

Este trabalho teve como objetivo determinar a CL_{50} : 48h de alguns herbicidas e inseticidas utilizados na cultura do arroz irrigado e estimar os coeficientes de risco (análise de risco determinístico), usando como organismo-teste o peixe paulistinha (*Danio rerio*). Os herbicidas 2,4-D, metsulfurom-metílico, carfentrazone-etílica, bentazona, quincloraque, clomazona, oxadiazona, oxifluorfem, bispiribaque-sódico, pirazossulfurom-etílico apresentaram valores de CL_{50} : 48h em $mg.L^{-1}$ (ingrediente ativo) de: 237,1; >100,0; 2,5; 1150,0; 300,0; 13,8; 3,9; 1,2; >100,0; 67,56, respectivamente. Os inseticidas betaciflutrina, carbofurano, fipronil e lambdacialotrina apresentaram valores de CL_{50} : 48h em $mg.L^{-1}$ (ingrediente ativo) de: 0,004; 1,3; 0,2 e 0,002, respectivamente. Os resultados deste trabalho indicaram que os herbicidas oxifluorfem, oxadiazona e clomazona e os inseticidas lambdacialotrina, betaciflutrina, carbofurano e fipronil apresentam maior potencial de risco de impacto ecológico sobre o bioindicador *D. rerio*. Os herbicidas metsulfurom, pirazossulfuron, bispiribaque, bentazona e quincloraque revelaram risco mínimo a leve de impacto sobre peixes da espécie *D. rerio*.

PALAVRAS-CHAVES: AGROTÓXICO; ECOTOXICOLOGIA; GOAL; RONSTAR; AURORA; GAMIT; FACET; SIRIUS; 2,4-D; NOMINEE; ALLY; BASAGRAN; BULLDOCK; KARATE; STANDAK; FURADAN.

* Oceanógrafo, Mestrando em Zootecnia, Faculdade de Medicina, Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (FMVZ/UNESP), Botucatu, SP (e-mail: fernandonakagome@gmail.com).

** Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em Agronomia, Pesquisador da Estação Experimental de Itajaí (EPAGRI), SC (e-mail: noldin@epagri.sc.gov.br).

*** Oceanógrafo, Dr. em Fisiologia Geral, Professor do Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Universidade do Vale do ITAJAÍ (CTTMar/Univali), Itajaí, SC (e-mail: cresgalla@univali.br).

1 INTRODUÇÃO

O uso de diferentes tipos de agroquímicos na cultura de arroz irrigado está associado ao controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas, que acarretam prejuízos à produtividade desse importante cereal (SOSBAI, 2005). Devido às características do sistema de cultivo predominante em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul, cuja área cultivada com arroz irrigado equivale à cerca de 1,3 milhão de hectares (CONAB, 2006), existe o risco de contaminação e impacto ecológico provocado pela presença de resíduos desses produtos no ambiente. É inegável a necessidade de estudos para a avaliação dos efeitos que os agrotóxicos podem exercer sobre o ambiente e, conseqüentemente, sobre os organismos naturais ou não-alvo.

Em particular, os peixes são organismos de topo da cadeia trófica aquática e os mais investigados sob os pontos de vista comercial e social. No Brasil, diversos estudos já foram realizados para avaliar a toxicidade de agroquímicos sobre esse grupo de vertebrados. Destaca-se o trabalho de HELFRICH et al. (1996) que utilizaram a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) como organismo-teste e FRELLO (1998) que testou o barrigudinho (*Poecilia reticulata*). JONSSON e MAIA (1998) investigaram o Lambari (*Hyphessobrycon scholzei*), SEUS (2002) utilizou juvenis de jundiá (*Rhamdia* sp) e RESGALLA JR. et al. (2002) avaliaram carpa-comum (*Cyprinus carpio*). As informações obtidas nestes trabalhos mostram a ação tóxica dos inseticidas, muitas vezes, em concentrações próximas das utilizadas nas lavouras, enquanto que os herbicidas evidenciaram maior segurança em seu uso. Entretanto, existe defasagem no número de compostos ativos investigados em relação ao seu uso rotineiro nas lavouras e de organismos-testes utilizados nas avaliações de risco dos agrotóxicos.

O objetivo deste trabalho foi determinar a Concentração Letal Mediana (CL_{50} ; 48h) de alguns agroquímicos utilizados na cultura de arroz irrigado sobre a espécie paulistinha (*Danio rerio*), além de estimar os seus coeficientes de risco (análise de risco determinístico).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os testes foram realizados conforme a norma NBR 15088 da ABNT (2004), referente ao método de ensaio agudo com o paulistinha *Danio rerio*, sendo conduzidos no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar da Universidade do Vale do Itajaí (Univali). Foram testados os herbicidas 2,4-D (U 46 D-Fluid 2,4-D – 720 g i.a. L⁻¹), metsulfurom-metilico (Ally – 600 g i.a. kg⁻¹), carfentrazone-etílico (Aurora 400 CE – 400 g i.a. L⁻¹), bentazona (Basagran 600 – 600 g i.a. L⁻¹), quincloraque (Facet PM – 500 g i.a. kg⁻¹), clomazona (Gamit – 500 g i.a. L⁻¹), oxadiazona (Ronstar 250 BR – 250 g i.a. L⁻¹), oxifluorfem (Goal BR - 240 g i.a. L⁻¹), bispiribaque-sódico (Nominee 400 SC - 400 g i.a. L⁻¹), pirazossulfurom-etílico (Sírius – 250 g i.a. L⁻¹), e os inseticidas betaciflutrina (Bulldock 125 SC – 125 g i.a. L⁻¹), carbofurano (Furadan 50 G – 50 g i.a. kg⁻¹), fipronil (Standak 250 FS – 250 g i.a. L⁻¹) e lambdacialotrina (Karate 50 EC – 50 g i.a. L⁻¹), além do dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) como substância de referência para o teste de sensibilidade da espécie utilizada.

Os organismos-teste, juvenis de paulistinha com peso médio de 0,3 g, foram adquiridos de fornecedor local (Itajaí) e aclimatados à água de diluição na temperatura de 20 ± 2°C durante 24 horas antes do início do ensaio. Seis concentrações de cada agrotóxico foram selecionadas a partir de testes preliminares. Para cada teste foram utilizados frascos-controle para validação do experimento que constou na manutenção dos organismos em água de diluição. Os frascos-teste (3 L), sem replicação, continham 10 organismos e 2,5 L da solução-teste, sendo mantidos em incubadoras com temperatura de 23 ± 2°C e fotoperíodo de 12:12 horas. A duração dos testes foi de 48 horas em sistema estático, sendo registrada a letalidade ao seu término.

Os dados foram analisados segundo recomendações da USEPA (2002), utilizando-se o

programa *Trimmed Spearman-Kärber* (TSK) para a obtenção da $CL_{50};48h$ (Concentração Letal Mediana de 48 horas).

Classificou-se a toxicidade dos agroquímicos (mínima a super-extrema), segundo o critério proposto por HELFRICH et al. (1996), com base nos valores de CL_{50} , em $mg.L^{-1}$: mínima = >100; leve = 11 a 100; moderada = 1,1 a 10; alta = 0,11 a 1,0; extrema = 0,01 a 0,1; e super-extrema = <0,01.

As $CL_{50}; 48h$ dos compostos analisados foram comparadas com suas respectivas concentrações estimadas no ambiente para a obtenção dos coeficientes de risco determinístico. Para isto, considera-se a dose recomendada pelo fabricante (Tabela 1) e a diluição em lâmina d'água de 10 cm, comumente utilizada nas lavouras de arroz irrigado. Os coeficientes de risco estimados foram: 1. Índice de segurança de SOLOMON (1997), que é a razão entre a CL_{50} e a concentração estimada. Valores resultantes superiores a 20 indicam ausência de risco ecológico; 2. Índice de risco da USEPA (1999), que é a razão entre a concentração estimada e a CL_{50} . Valores resultantes inferiores a 0,1 indicam ausência de risco ecológico; e 3. Índice de KOKTA e ROTHERT (1992), que é a comparação entre os valores de CL_{50} com a concentração estimada multiplicada por 10. Se o valor de CL_{50} for superior a concentração X 10 não existe risco ecológico.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TESTE DE SENSIBILIDADE

Foram realizados três (3) testes de toxicidade com juvenis de paulistinha, utilizando-se como substância de referência o dicromato de potássio, intercaladamente, entre os experimentos com os agroquímicos. O valor médio da $CL_{50}; 48h$ obtido foi de 42,33 $mg.L^{-1}$ com desvio-padrão de 15,34 e coeficiente de variação (CV) de 36,23%. Esse resultado enquadra-se nos limites de variabilidade de 45% do CV proposto pela USEPA (2002).

3.2 VALORES DE $CL_{50}; 48h$ E ANÁLISE DE RISCO PARA OS AGROQUÍMICOS

Os valores de $CL_{50}; 48h$ dos produtos e ingredientes ativos utilizados nos testes com o peixe paulistinha estão apresentados no Quadro 1. Levando-se em consideração o critério proposto por HELFRICH et al. (1996), a toxicidade dos herbicidas para o peixe paulistinha variou de mínima à moderada e a dos inseticidas variou de moderada à super-extrema.

Para os produtos metsulfurom e bispiribaque não foram estimados os valores de CL_{50} , já que nos experimentos realizados não se observou efeito sobre os organismos até a concentração de 100 $mg.L^{-1}$ de ingrediente ativo.

Os índices de risco ecológico determinístico dos agroquímicos foram calculados para a obtenção de parâmetros mais criteriosos na avaliação da periculosidade desses sobre organismos não-alvos. Esses índices podem representar a toxicidade real dos agroquímicos porque em seus cálculos são consideradas as concentrações de aplicação dos produtos e, conseqüentemente, valores máximos de resíduos no meio.

O Quadro 2 apresenta, em ordem decrescente, o risco ecológico dos produtos avaliados. A periculosidade e o risco ecológico foram confirmados para os inseticidas lambdialotrina, betaciflutrina, carbofurano, fipronil e os herbicidas oxifluorfem, oxadiazona e clomazona. Essa classificação alerta para os cuidados a serem tomados no manuseio, estocagem e, principalmente, no manejo da água de irrigação das lavouras de arroz irrigado após a aplicação desses agroquímicos.

QUADRO 1 - AGROQUÍMICOS, VALORES DE CL₅₀; 48 HORAS PARA OS PRODUTOS COMERCIAIS (P.C.) E INGREDIENTES ATIVOS (I.A.), INTERVALOS DE CONFIANÇA E TOXICIDADE SEGUNDO A CLASSIFICAÇÃO DE HELFRICH et al. (1996)

Produto comercial	Nome comum	CL ₅₀ (p.c.)	CL ₅₀ (i.a.) (mg.L ⁻¹)	Intervalo de Confiança (IC 95%) (i.a.)	Toxicidade	
Herbicidas	U46 D-Fluid 2,4-D	2,4-D	353,55 µL.L ⁻¹	237,13	-	mínima
	Ally	metsulfurom	> 100,00 mg.L ⁻¹	> 100,00	-	minima
	Aurora	carfentrazone	6,2 µL.L ⁻¹	2,48	-	moderada
	Basagran	bentazona	1,92 mL.L ⁻¹	1150,00	± 150,00	mínima
	Facet	quincloraque	0,6 g.L ⁻¹	300,00	-	mínima
	Gamit	clomazona	27,57 µL.L ⁻¹	13,78	-	leve
	Goal	oxifluorfen	4,92 µL.L ⁻¹	1,18	± 0,21	moderada
	Nominee	bispiribaque	> 250,00 µL.L ⁻¹	> 100,00	-	mínima
	Sírius	pirazossulfuron	0,27 mL.L ⁻¹	67,46	± 17,46	leve
	Ronstar	oxadiazona	15,78 µL.L ⁻¹	3,95	± 2,52	moderada
Inseticidas	Bulldock	betaciflutrina	31,22 nL.L ⁻¹	3,90 µg.L ⁻¹	± 0,66	super-extrema
	Furadan	carbofurano	26,86 mg.L ⁻¹	1,34	-	moderada
	Karate	lambdaciialotrina	38,8 µL.L ⁻¹	1,94 µg.L ⁻¹	±0,54	super-extrema
	Standak	fipronil	0,71 µL.L ⁻¹	0,18	-	alta

QUADRO 2 - VALORES DE CL₅₀; 48 HORAS PARA *Danio rerio* E CONCENTRAÇÃO ESTIMADA PARA OS INGREDIENTES ATIVOS E OS COEFICIENTES DE RISCO DETERMINÍSTICOS SEGUNDO DIFERENTES AUTORES

Produtos	CL ₅₀ ; 48h	Concentração estimada ¹	Índice de segurança ² (SOLOMON, 1997)	Coefficiente de risco ³ (USEPA, 1999)	Concentração estimada x 10 (KOKTA e ROTHERT, 1992)
Lambdaciialotrina	1,94 µg.L ⁻¹	50,00 µg.L ⁻¹	0,0388 *	25,773 *	CL ₅₀ < 500 µg.L ⁻¹ *
Betaciflutrina	3,9 µg.L ⁻¹	6,25 µg.L ⁻¹	0,62 *	1,603 *	CL ₅₀ < 62,5 µg.L ⁻¹ *
Carbofurano	1,34 mg.L ⁻¹	1,00 mg.L ⁻¹	1,34 *	0,746 *	CL ₅₀ < 10,0 µg.L ⁻¹ *
Oxifluorfen	1,18 mg.L ⁻¹	0,36 mg.L ⁻¹	3,28 *	0,305 *	CL ₅₀ < 3,6 mg.L ⁻¹ *
Oxadiazona	3,95 mg.L ⁻¹	1,00 mg.L ⁻¹	3,95 *	0,253 *	CL ₅₀ < 10,0 mg.L ⁻¹ *
Fipronil	0,18 mg.L ⁻¹	40,00 µg.L ⁻¹	4,50 *	0,222 *	CL ₅₀ < 0,4 mg.L ⁻¹ *
Clomazona	13,78 mg.L ⁻¹	0,70 mg.L ⁻¹	19,69 *	0,051	CL ₅₀ > 7,0 mg.L ⁻¹
Carfentrazone etílica	2,48 mg.L ⁻¹	60,00 µg.L ⁻¹	41,33	0,024	CL ₅₀ > 0,6 mg.L ⁻¹
2,4 D	237,13 mg.L ⁻¹	0,72 mg.L ⁻¹	329,35	0,003	CL ₅₀ > 7,2 mg.L ⁻¹
Quincloraque	0,3 g.L ⁻¹	0,38 mg.L ⁻¹	800,00	0,001	CL ₅₀ > 3,75 mg.L ⁻¹
Bentazona	1150,00 mg.L ⁻¹	0,96 mg.L ⁻¹	1197,92	8,35 x 10 ⁻⁴	CL ₅₀ > 9,6 mg.L ⁻¹
Bispiribaque	> 100,00 mg.L ⁻¹	50,00 µg.L ⁻¹	> 2000,00	< 5,00 x 10 ⁻⁴	CL ₅₀ > 0,5 mg.L ⁻¹
Pirazossulfuron	67,46 mg.L ⁻¹	20,00 µg.L ⁻¹	3373,00	2,96 x 10 ⁻⁴	CL ₅₀ > 0,2 mg.L ⁻¹
Metsulfurom metílico	> 100,00 mg.L ⁻¹	2,00 µg.L ⁻¹	> 50000,00	< 2,00 x 10 ⁻⁵	CL ₅₀ > 20,0 µg.L ⁻¹

¹RODRIGUES e ALMEIDA (2005); ²Índice de segurança = CL₅₀/concentração estimada; ³Coefficiente de risco = concentração estimada/CL₅₀; *Risco de impacto ecológico.

Apesar de diferenças nos tempos de exposição entre os experimentos e modelos de organismos-teste utilizados, comparações de sensibilidade são necessárias para avaliar o risco dos agroquímicos e o seu poder de seletividade frente a diferentes espécies não-alvo. Os valores de CL_{50} obtidos por FLECK (2000), FRELLO (1998), SEUS (2002) e RESGALLA Jr. et al. (2002) para alguns dos agroquímicos testados evidenciam que o *D. rerio* apresenta sensibilidade similar a da truta arco-iris (*Salmo gairdneri*), a do barrigudinho (*Poecilia reticulata*), a do jundiá (*Rhamdia* sp) e a da carpa-comum (*Cyprinus carpio*). Em relação aos valores de CE_{50} (Concentração Efetiva Mediana) para o Cladóceros *D. magna*, o paulistinha demonstrou maior sensibilidade frente aos herbicidas e maior resistência aos inseticidas (NAKAGOME et al., 2006).

Os agroquímicos normalmente apresentam grau de risco ecológico dependente do modelo biológico utilizado, ou seja, a sensibilidade do tipo de organismo-teste varia amplamente com o tipo de tóxico utilizado nos experimentos. Neste estudo, *D. rerio* apresentou maior sensibilidade frente aos inseticidas que normalmente atuam no sistema nervoso dos animais. Para os herbicidas, os resultados apontaram baixa seletividade de alguns produtos. Apesar dos herbicidas atuarem em biomoléculas específicas de vegetais, como o ácido indol-3-acético (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005), três produtos apresentaram alta periculosidade. Em ordem decrescente de risco ecológico os herbicidas oxifluorfem, oxadiazona e clomazona poderiam ser substituídos por outros com maiores índices de segurança.

Uso conjugado de produtos, comum em muitas práticas culturais, pode alterar sua toxicidade original mesmo para produtos com baixo risco ecológico como, pirazossulfuron e quincloraque. Experimentos adicionais com esses produtos conjugados resultaram em valores de CL_{50} ; 48h de 50,79 e 50,77 $mg.L^{-1}$ para quincloraque e pirazossulfuron (com base em seus ingredientes ativos), respectivamente. Esses resultados sugerem ações aditivas entre os produtos, fato também destacado por NAKAGOME, NOLDIN e RESGALLA JR. (2006).

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho sugerem que os herbicidas oxifluorfem, oxadiazona e clomazona e os inseticidas lambdacialotrina, betaciflutrina, carbofurano e fipronil são agroquímicos que apresentam maior potencial de riscos de impacto ecológico sobre o bioindicador *D. rerio*. Os herbicidas metsulfurom metílico, pirazossulfurom, bispiribaque, bentazona e quincloraque apresentam risco entre mínimo e leve de impacto sobre peixes da espécie *D. rerio*.

ABSTRACT

ACUTE TOXICITY OF SOME HERBICIDES AND ISECTICIDES USED IN PADDY RICE ON THE FISH *Danio rerio*

The purpose of this research was to determine the LC_{50} , 48h of some herbicides and insecticides, commonly used in paddy rice, and to estimate the risk coefficient (deterministic analysis) classifying the pesticides toxicity using the fish *Danio rerio* as a test organism. The herbicides 2,4-D, metsulfuron-methyl, carfentrazone-ethyl, bentazon, quinclorac, clomazone, oxadiazon, oxyfluorfen, bispyribac-sodium, pyrazosulfuron-ethyl were evaluated and presented in LC_{50} , 48h ($mg a.i.L^{-1}$) the values of 237.1; >100.0; 2.5; 1150.0; 300.0; 13.8; 3.9; 1.2; >100.0; 67.56 respectively. As for the insecticides betaciflutrin, carbofuran, fipronil and lambdacialotrin the values were of 0.004; 1.3; 0.2 and 0.002, respectively. The results suggest that the herbicides oxyfluorfen, oxadiazon and clomazone and the insecticides lambdacialotrin, betaciflutrin, carbofuran and fipronil are the chemicals with the highest ecological impact risk to the bioindicator *D. rerio*. Herbicides metsulfuron, pyrazosulfuron, bispyribac, bentazon and quinclorac present low to light risk to the fish *D. rerio*.

KEY-WORDS: PESTICIDE; GOAL; RONSTAR; AURORA; GAMIT; FACET; SIRIUS; 2,4-D; NOMINEE; ALLY; BASAGRAN; STANDAK; KARATE; BULLDOCK; FURADAN; ECOTOXICOLOGY.

REFERÊNCIAS

- 1 ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15088**: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. São Paulo, 2004. 19 p.
- 2 CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Estimativa de safras 2005/2006**. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em: outubro, 2006.
- 3 FLECK, N.G. **Controle de plantas daninhas na cultura do arroz irrigado através da aplicação de herbicidas com ação seletiva**. Porto Alegre: Ed. do Autor, 2000. 32 p.
- 4 FRELLO, C.P. **Avaliação da toxicidade aguda do pesticida carbofuran utilizando reativos biológicos *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna***. Florianópolis, 1998. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina.
- 5 HELFRICH, L.A.; WEIGMANN, D.L.; HIPKINS, P.; STINSON, E.R. **Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems**. 1996. Disponível em: www.ext.vt.edu/pubs/waterquality/420-013/420-013.pdf. Acesso em: abril, 2003.
- 6 JONSSON, C.M.; MAIA, A.H.N. Toxicidade aguda do herbicida clomazone no peixe *Hyphessobrycon scholzei*: avaliação da concentração letal mediana e de alterações no conteúdo de nutrientes. **Pesticidas**: revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 8, p. 101-110, 1998.
- 7 KOKTA, C.; ROTHERT, H.A. Hazard and risk assessment scheme for evaluating effects on earthworms: the approach in the Federal Republic of Germany. In: GREIG-SMITH, P.W.; BECKER, H.; EDWARDS, P.J.; HEIMBACH, F. (eds.). **Ecotoxicology of earthworm**. Andover: Intercept, 1992. p.169-176.
- 8 NAKAGOME, F.K.; NOLDIN, J.A.; RESGALLA JR., C. Toxicidade aguda e análise de risco de herbicidas e inseticidas utilizados na lavoura do arroz irrigado sobre o cladóceros *Daphnia magna*. **Pesticidas**: revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 16, p.93-100, 2006.
- 9 RESGALLA JR., C.; NOLDIN, J.A.; SANTOS, A.L.; SATO, G.; EBERHARDT, D.S. Toxicidade aguda de herbicidas e inseticidas utilizados na cultura de arroz irrigado sobre juvenis de carpa (*Cyprinus carpio*). **Pesticidas**: revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 12, p. 59-68, 2002.
- 10 RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 5. ed. Londrina: Ed. dos Autores, 2005. 592 p.
- 11 SEUS, L.G. **Toxicidade aguda e crônica em alevinos de jundiá (*Rhamdia sp.*) submetidos aos principais herbicidas utilizados na lavoura de arroz irrigado no RS**. Pelotas, 2002. 73 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia de Produção), Universidade Federal de Pelotas.
- 12 SOLOMON, K.R. Advances in the evaluation of the toxicological risks of herbicides to the environment. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 21. Caxambu, **Palestras...** Caxambu, MG: SBPCPD, 1997. p.163-172.
- 13 SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz Irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Santa Maria, 2005. 159 p.
- 14 USEPA. Environmental Protection Agency. **ECOFRAM Aquatic Report**, 1999. Disponível em: <http://www.epa.gov>. Acesso em: dezembro, 2003.
- 15 USEPA. Environmental Protection Agency. **EPA-821-R-02-013**: short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters of freshwater organisms. 4th ed. Washington, 2002.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa/Fundagro/Prodetab, conv. 1020003/0056-6, pelo apoio financeiro e administrativo, o qual viabilizou a realização deste trabalho de pesquisa.