

## **Ecotoxicidade de agrotóxicos para algas de água doce**

*Ecotoxicity of pesticides for algae freshwater*

*Ecotoxicidad de los plaguicidas para algas de agua Dulce*

### **Bruna Ragassi**

Mestranda do PPGE, UNESP – Ilha Solteira/SP, Brasil.  
bruna\_ragassi@hotmail.com

### **Juliana Heloisa Pinê Américo-Pinheiro**

Professora Doutora do PPGE, UNESP – Ilha Solteira/SP, Brasil.  
americo.ju@gmail.com

### **Osmar Pereira da Silva Junior**

Mestrando do PPGE, UNESP – Ilha Solteira/SP, Brasil.  
jucaportugues@hotmail.com

## RESUMO

Os agrotóxicos são substâncias químicas que possuem efeitos letais para determinados seres vivos. Uma vez no ambiente, os agrotóxicos contaminam o solo e o ambiente aquático. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica ressaltando os principais aspectos relacionados à ecotoxicidade dos agrotóxicos para organismos do fitoplâncton de água doce. O uso de algas como indicador biológico é importante porque, como produtores primários, elas se situam na base da cadeia alimentar e qualquer alteração na dinâmica de suas comunidades pode afetar os níveis tróficos superiores do ecossistema. Dentre as vantagens em se utilizar algas em testes de toxicidade podemos destacar sua grande sensibilidade às alterações ocorridas no meio ambiente e o seu ciclo de vida relativamente curto, o que possibilita a observação de efeitos tóxicos em várias gerações. As algas verdes e unicelulares de água doce, frequentemente utilizadas em testes de toxicidade são: *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* e *Pseudokirchneriella subcapitata*. Portanto, os testes de toxicidade são indispensáveis para prever os possíveis efeitos toxicológicos que os contaminantes causam nos organismos e no ambiente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Toxicidade. *Chlorella vulgaris*. *Pseudokirchneriella subcapitata*.

## ABSTRACT

Agrochemicals are chemicals that have lethal effects on certain living things. Once in the environment, pesticides contaminate the soil and the aquatic environment. The present work aimed to carry out a literature review highlighting the main aspects related to the ecotoxicity of agrochemicals to freshwater phytoplankton organisms. The use of algae as a biological indicator is important because, as primary producers, they are at the bottom of the food chain and any change in the dynamics of their communities can affect the upper trophic levels of the ecosystem. Among the advantages of using algae in toxicity tests we can highlight its great sensitivity to the changes in the environment and its relatively short life cycle, which allows the observation of toxic effects in several generations. The green and unicellular freshwater algae frequently used in toxicity tests are: *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* and *Pseudokirchneriella subcapitata*. Therefore, toxicity tests are indispensable to predict the possible toxicological effects that contaminants cause on organisms and the environment.

**Keywords:** Toxicity. *Chlorella vulgaris*. *Pseudokirchneriella subcapitata*.

## RESUMEN

Los agrotóxicos son sustancias químicas que tienen efectos letales para determinados seres vivos. Una vez en el ambiente, los agrotóxicos contaminan el suelo y el ambiente acuático. El presente trabajo tuvo como objetivo realizar una revisión bibliográfica ressaltando los principales aspectos relacionados a la ecotoxicidad de los agrotóxicos para organismos del fitoplancton de agua dulce. El uso de algas como indicador biológico es importante porque, como productores primarios, se sitúan en la base de la cadena alimentaria y cualquier cambio en la dinámica de sus comunidades puede afectar los niveles tróficos superiores del ecosistema. Entre las ventajas en utilizar algas en pruebas de toxicidad podemos destacar su gran sensibilidad a las alteraciones ocurridas en el medio ambiente y su ciclo de vida relativamente corto, lo que posibilita la observación de efectos tóxicos en varias generaciones. Las algas verdes y unicelulares de agua dulce, frecuentemente utilizadas en pruebas de toxicidad son: *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* y *Pseudokirchneriella subcapitata*. Por lo tanto, las pruebas de toxicidad son indispensables para predecir los posibles efectos toxicológicos que los contaminantes causan en los organismos y en el medio ambiente.

**PALABRAS CLAVE:** Toxicidad. *Chlorella vulgaris*. *Pseudokirchneriella subcapitata*.

## 1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são moléculas utilizadas em ambientes domésticos, industriais urbanos, mas seu uso é predominantemente agrícola, objetivando aumentar a produção e controlar as formas de vida consideradas indesejáveis, que representam prejuízos para a agricultura (SOUZA, 2006). Entretanto, o uso intensivo dessas substâncias na agricultura tem preocupado a comunidade científica devido ao risco que essas substâncias podem causar aos organismos vivos por meio da contaminação dos diferentes compartimentos do ambiente (REGITANO, 2002).

Segundo Ferraz (1996), os recursos hídricos agem como integradores dos processos biogeoquímicos de qualquer região, sendo assim, quando os agrotóxicos são introduzidos no ambiente, os recursos hídricos, sejam superficiais ou subterrâneos, são o seu principal destino final. Portanto, o monitoramento das águas (superficiais e subterrâneas) é de grande importância, principalmente, nas regiões que constituem fonte primária de água potável e em áreas próximas a regiões agrícolas, nas quais os agrotóxicos podem contaminar os sistemas hidrológicos (SOUZA, 2006).

Por não serem completamente seletivos, os agrotóxicos afetam espécies não-alvo que estão presentes no ambiente, por exemplo quando são aplicados na lavoura, seja por via aérea, ou misturados ao solo ou sementes, parte desses compostos atingirá seu objetivo, enquanto o restante poderá atingir organismos aquáticos e terrestres que não são alvos de controle. Esses produtos químicos podem causar efeitos adversos como a redução do número de espécies, alteração na reprodução, alteração comportamental e magnificação biológica (WARE, 1980).

A Ecotoxicologia é uma ciência que estuda as rotas dos contaminantes no ambiente e os efeitos ecológicos que causam nos indivíduos, populações, comunidades e ecossistemas (SILVA, 2005). Para minimizar os riscos ambientais que os agrotóxicos causam, é importante o conhecimento sobre utilização adequada e medidas de controle da contaminação ambiental, avaliando-se os níveis de resíduos, a biomagnificação nos componentes dos ecossistemas (MACHADO NETO, 1991) e os possíveis efeitos ecotoxicológicos desses contaminantes.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica ressaltando os principais aspectos relacionados à ecotoxicidade dos agrotóxicos para organismos do fitoplâncton de água doce.

## 2 AGROTÓXICOS

Os agrotóxicos são substâncias químicas, naturais ou sintéticas, utilizadas para prevenir a ação, controlar ou eliminar seres vivos considerados prejudiciais às culturas agrícolas como insetos, microrganismos causadores de doença em plantas, ervas daninhas e nematoides (RIBEIRO et al, 2007).

O principal uso dos agrotóxicos está associado às atividades agrícolas, mas podem ser empregados em residências e jardins públicos, no controle de plantas daninhas nas áreas

industriais, rodovias e ferrovias e no combate a vetores transmissores de doenças, em campanhas de saúde pública (BARCELÓ; HENNION, 1997).

De acordo com Peixoto (2007), existem 3 tipos principais de agrotóxicos:

- Os fungicidas, que são utilizados para controlar ou eliminar a ação de fungos que atacam geralmente as plantas, sendo muito comum na agricultura convencional a utilização de fungicidas sintéticos e por ser um produto muito tóxico e perigoso, apresenta sérios riscos ao ser humano e ao meio ambiente;
- Os herbicidas, que são produtos utilizados para o controle de plantas daninhas e cujo uso é eficaz com rápida ação e custos mínimos, no entanto podem apresentar toxicidade para os seres vivos quando utilizado de forma inadequada e;
- Os inseticidas, que são utilizados para controle de insetos em geral, com ação expandida para larvas e ovos principalmente. Esse é o tipo mais comum encontrado em residências e indústrias.

### 2.1 Classes toxicológicas e toxicidade dos agrotóxicos

A classificação dos agrotóxicos é obtida de acordo com resultados de estudos e ensaios realizados em laboratório, visando estabelecer um limite chamado de dosagem letal para 50% dos organismos (DL50) (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012). Com isso, os pesticidas podem ser classificados em quatro classes distintas (Tabela 1), de acordo com as cores dos rótulos (NOBREGA, 2014):

- Classe I: Rótulo Vermelho – são os compostos químicos extremamente tóxicos, de grande risco a saúde humana e ao meio ambiente. Como exemplos, tem-se o grupo dos clorados e dos clorofosforados.
- Classe II: Rótulo Amarelo – de toxicidade alta para os seres humanos. Incluem os carbamatos como exemplos.
- Classe III: Rótulo Azul – são substâncias consideradas de toxicidade mediana para a saúde humana. Como exemplo, os organofosforados.
- Classe IV: Rótulo Verde – são os produtos pouco tóxicos para os seres humanos. Os piretróides são exemplos.

Tabela 1. Classificação dos agrotóxicos de acordo com a classe toxicológica

Classe Toxicológica	Toxicidade	DL50	Faixa Colorida
I	Extremamente Tóxico	$\leq 5\text{mg/kg}$	Vermelho
II	Altamente Tóxico	Entre $5\text{mg/kg}$ e $50\text{mg/kg}$	Amarelo
III	Medianamente Tóxico	Entre $50\text{mg/kg}$ e $500\text{mg/kg}$	Azul
IV	Pouco Tóxico	Entre $500\text{mg/kg}$ e $5000\text{mg/kg}$	Verde

Fonte: World Health Organization (1990), Nascimento; Melnyk (2016)

Para a avaliação e a classificação do potencial de periculosidade ambiental de um agrotóxico são realizados estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos (NASCIMENTO; MELNYK, 2016). Em geral, os efeitos toxicológicos são determinados pela injeção ou administração oral da substância nos organismos, observando seus possíveis efeitos na saúde dos mesmos (NASCIMENTO; MELNYK, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda uma classificação, podendo ser atualizada periodicamente, que considera três fatores: 1- a dose letal média (DL50) do agrotóxico formulado, que considera a quantidade da substância tóxica que produz uma mortalidade de 50% dos animais de prova, em condições controladas por um tempo de 24 horas (a DL50 é expressa em miligrama do composto por quilograma de peso do animal); 2- a forma de contato com o agrotóxico que pode ser oral ou dérmica e 3- o tipo de formulação, podendo ser sólida ou líquida (MARASCHIN, 2003).

## **2.2 Dinâmica dos agrotóxicos no ambiente**

Certas práticas agrícolas, como o uso excessivo e inadequado de agrotóxicos, a destruição da vegetação, a não preservação das matas ciliares, são responsáveis por grande parte dos problemas com os recursos hídricos (ROSA, 1998).

Segundo Spadotto (2006), vários processos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos podem influenciar o comportamento dessas substâncias no ambiente. Nesse sentido, o destino dessas moléculas é influenciado por processos de retenção (adsorção, absorção e sorção), de transformação (degradação biótica e abiótica), de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e por interação desses processos.

A percolação dos agrotóxicos através do perfil do solo, além de afetar os cursos d'água superficiais, podem alcançar o lençol freático, cuja descontaminação apresenta grande dificuldade (EDWARDS, 1973).

Dependendo das características físico-químicas, o resíduo do agrotóxico, uma vez na água, pode se depositar no sedimento do fundo ou ser absorvido por seres vivos (SILVA; SANTOS, 2007).

## **3 TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA**

A toxicidade de uma substância a um organismo vivo pode ser considerada como a capacidade de lhe causar dano grave ou morte, sendo indispensável à interação do agente químico com o organismo (HOBOLD, 2007).

O ensaio de toxicidade aguda pode ser definido como aquele que avalia os efeitos, em geral fortes e rápidos, sofridos pelos organismos expostos ao agente químico, em curto período de tempo (ARAGÃO; ARAUJO, 2006). Testes de toxicidade aguda são experimentos de baixo custo e curta duração, que proporcionam rápidas respostas na estimativa dos efeitos tóxicos letais de produtos químicos sobre organismos aquáticos (RUBINGER, 2009).

O principal objetivo de um teste de toxicidade aguda é determinar as concentrações letais médias (CL50) em um curto período de tempo, que geralmente varia entre 24 a 96 horas (GHERARDI-GOLDSTEIN, 1990).

Um teste de toxicidade crônica é um método usado para determinar a concentração da substância para que produza um efeito adverso em um organismo teste após um extenso período de tempo (PANKRATZ, 2001). Os testes de toxicidade crônica são experimentos de longa duração, que visam ao estudo dos efeitos não letais nos organismos aquáticos, são geralmente avaliados por meio da detecção de alterações crônicas, tais como: distúrbios fisiológicos, alterações no crescimento e reprodução dos organismos (RUBINGER, 2009).

#### **4 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE ORGANISMOS - TESTE**

O primeiro princípio básico na escolha de organismos-teste refere-se à sensibilidade: é preciso que a espécie seja sensível a uma diversidade de agentes químicos, sendo esta relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo, assim, boa exatidão e reprodutibilidade dos resultados (RUBINGER, 2009). Portanto, torna-se necessário o conhecimento prévio da biologia da espécie, como reprodução, hábitos alimentares, fisiologia e comportamento, tanto para o cultivo quanto para a realização dos testes. Além disso, o uso de espécies de pequeno porte e ciclo de vida não muito longo se mostra ideal aos estudos ecotoxicológicos em laboratório (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006).

De acordo com Rand e Petroceli (1985) a espécie utilizada no teste deve ser sensível e ecologicamente representativa do ambiente. Knie e Lopes (2004) afirmam que os critérios mais usuais de seleção de testes ecotoxicológicos envolvem a identificação de organismos que sejam desde o ponto de vista ecossistêmico, representantes típicos dos grupos mais importantes da biocenose aquática, levando em consideração os diferentes níveis tróficos.

Para Domingues e Bertolotti (2006), um critério importante é a disponibilidade de organismos. Espécies presentes em épocas restritas e em pequeno número devem ser desconsideradas em favor daquelas abundantes e disponíveis ao longo do ano.

Os métodos de ensaio de toxicidade normalizados por entidades de padronização de ensaios são aqueles que apresentam maior difusão no meio científico, das quais se destacam a Sociedade Americana para Materiais e Testes-ASTM; o Instituto Alemão para Normalização-DIN; a Agência Canadense de Meio Ambiente- Environment Canada; a Organização Internacional para Padronização - ISO; a Organização para cooperação e desenvolvimento econômico-OECD e a Agência Americana de Proteção Ambiental-USEPA (RUBINGER, 2009).

A utilização de testes padronizados é vantajosa principalmente porque permite a seleção de um ou mais testes uniformes e úteis para uma variedade de laboratórios, facilita a comparação dos dados contribuindo para aumentar a utilização dos dados publicados e permite a reprodução dos testes (COSTA et al, 2003). No Brasil, os órgãos responsáveis pelo desenvolvimento de protocolos de testes de toxicidade são a Associação Brasileira de Normas

Técnicas (ABNT) e a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) também tem padronizado testes de toxicidade. (COSTA et al, 2003).

## 5 ALGAS

As algas são seres unicelulares ou pluricelulares, apresentando algumas semelhanças com as plantas superiores, exemplos dessas similaridades é a presença de pigmentos fotossintéticos, que tem a capacidade de transformar energia solar em biomassa, de produzir oxigênio e ter uma função ativa no ciclo de nutrientes, servindo de alimento organismos do zooplâncton e peixes (BRITO, 2011).

O uso de algas como indicador biológico é importante porque, como produtores primários, elas se situam na base da cadeia alimentar e qualquer alteração na dinâmica de suas comunidades pode afetar os níveis tróficos superiores do ecossistema. Dentre as vantagens em se utilizar algas em testes de toxicidade podemos destacar sua grande sensibilidade às alterações ocorridas no meio ambiente e o seu ciclo de vida relativamente curto, o que possibilita a observação de efeitos tóxicos em várias gerações. (REGINATTO, 1998)

O efeito de inibição sobre uma população de algas, após um intervalo de tempo, é determinado comparando-se o crescimento observado na presença de agente tóxico com o crescimento normal observado em um sistema livre de agente tóxico, o qual é chamado de controle, nestes testes, a temperatura e a luminosidade devem ser rigorosamente controladas porque podem afetar significativamente o crescimento das algas (COSTA *et al*, 2003).

As algas verdes e unicelulares de água doce *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* e *Pseudokirchneriella subcapitata* são frequentemente utilizadas em testes de toxicidade porque crescem rapidamente e suas culturas são facilmente mantidas em laboratório (SHAW; CHADWICK, 1998).

## 6 TOXICIDADE DOS AGROTÓXICOS PARA ALGAS

Segundo Rubinger (2009), os métodos de ensaio mais utilizados em testes de toxicidade usando algas como organismo teste são:

a) Teste de inibição de crescimento algal para *Chlorella vulgaris* (toxicidade aguda) que consiste na exposição de uma cultura de uma espécie específica de alga a várias concentrações do agente químico, por um período de exposição de 72 horas. Esse tipo de teste permite determinar a concentração efetiva inicial média – CE(I)50, 72h da substância teste. O organismo - teste, em geral, utilizado neste método de ensaio é a *Chlorella vulgaris*.

b) Teste toxicidade crônica por método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Este teste constitui um ensaio para a avaliação da toxicidade crônica de amostras de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas para as microalgas *Chlorella vulgaris*,

*Scenedesmus subspicatus* e *Pseudokirchneriella subcapitata*. O método permite também determinar se a amostra exerce um efeito algicida ou algistático sobre as células. O método de ensaio biológico consiste na exposição de organismos-teste a várias diluições da amostra, por um período de 96h. O efeito tóxico é determinado pela inibição do crescimento da biomassa de algas nos recipientes - teste comparado com o controle, sob as mesmas condições de ensaio.

c) Teste de inibição do crescimento e da fluorescência de *Scenedesmus subspicatus*. Este ensaio é de natureza crônica. O efeito tóxico neste método é determinado a partir da comparação da reprodução das algas nas diluições-teste em relação ao controle onde não há presença da amostra. O método de ensaio biológico consiste na exposição de uma suspensão com densidade conhecida do organismo-teste, juntamente com um meio nutriente, a diversas diluições da amostra, por um período de 96h sob condições definidas. O efeito que se espera é a redução da fluorescência das algas sob presença da substância teste. Assim, é possível determinar a concentração efetiva inicial média- CE(I)50, 96h em que a substância teste impede o desenvolvimento das algas.

Prestes *et al* (2011) estudaram o efeito ecotoxicológico (inibição de crescimento) de formulações de fungicidas à base de piraclostrobin e epoxiconazol, isoladamente e em formulação conjugada, sobre a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* mediante determinação da Concentração Efetiva Média (CE 50 -72 h) dos princípios ativos de cada uma das formulações. Foram encontrados valores de CE 50 - 72 h de 5,57 mg/L para a formulação à base de piraclostrobin, de 1,14 mg/L para a formulação à base de epoxiconazol e de 0,20 mg/L para a formulação conjugada. O piraclostrobin, por sua vez, obteve menor toxicidade à alga em relação aos dados encontrados na literatura, o epoxiconazol apresentou resultados semelhantes e a mistura mostrou maior toxicidade.

Ma *et al* (2002) estudaram a inibição da fotossíntese por herbicidas na alga *Chlorella vulgaris* mediante determinação da Concentração Efetiva Média (CE 50 -96 h). Foram encontrados valores de CE 50- 96h de 89,12 mg/L para o herbicida bromoxynil, 2,17 mg/l para o simazine, 0,12 mg/L para o cyanazine, 0,41mg/L para o atrazine, 0,05 mg/L para o prometryne, 0,0002 mg/L para o paraquat e 0,0043mg/L para o diuron. O teste de toxicidade aguda concluiu que esses herbicidas apresentaram alta toxicidade para a alga *C. vulgaris*.

Ma *et al* (2007) compararam o efeito toxicológico (sensibilidade) de seis agrotóxicos para as algas *Chlorella vulgaris* e *Pseudokirchneriella subcapitata* mediante determinação da Concentração Efetiva Média (CE 50 -96 h). Os valores estão apresentados na Tabela 1.

Para maneb e fluazinam, a alga *C. vulgaris* mostrou ser mais sensível em relação à alga *P. subcapitata*. Para os demais agrotóxicos, a maior sensibilidade foi para a alga *P. subcapitata* (MA *et al.*, 2007). A ecotoxicidade do herbicida topamezone para *C. vulgaris* foi verificada no estudo de Zhao *et al.* (2017), no qual o teste de inibição do crescimento da *C. vulgaris* revelou que o topamezone foi extremamente tóxico e reduziu efetivamente a população em 69,5% a uma concentração de 45mg/L.

**Tabela 1: Concentração Efetiva Média (CE 50 - 96 h) de agrotóxicos para as algas *Chlorella vulgaris* e *Pseudokirchneriella subcapitata*.**

Agrotóxico	Alga	CE 50 - 96h (mg/L)
Maneb	<i>Chlorella vulgaris</i>	0,11
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	1,34
Zineb	<i>Chlorella vulgaris</i>	1,2
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	0,38
Propineb	<i>Chlorella vulgaris</i>	0,16
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	0,16
Mancozeb	<i>Chlorella vulgaris</i>	1,75
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	0,68
Fluazinam	<i>Chlorella vulgaris</i>	0,08
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	0,12
Bromoxynil Octanoato	<i>Chlorella vulgaris</i>	5,72
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	4,43

Fonte: Ma et al. (2007)

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os agrotóxicos são contaminantes que atingem os ecossistemas aquáticos e apresentam toxicidade para algas. A utilização desses organismos como bioindicadores de agrotóxicos em ambientes aquáticos é relevante, pois as algas são produtores primários e são a base da cadeia alimentar aquática. Assim, qualquer alteração na dinâmica dessas comunidades pode afetar níveis tróficos superiores do ecossistema. Dentre as vantagens de se utilizar algas em testes de ecotoxicidade podemos destacar sua grande sensibilidade às alterações ocorridas no meio ambiente e o seu ciclo de vida relativamente curto, o que possibilita a observação de efeitos tóxicos em várias gerações. Portanto, os testes de toxicidade com algas são indispensáveis para prever os possíveis efeitos ecotoxicológicos que os contaminantes causam nos organismos e no ambiente.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado do primeiro autor.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado do terceiro autor.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. 2006. Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos. Cap. 6, p: 117 – 152. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações**. ZAGATO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A.. A Química dos Agrotóxicos. **Química e Sociedade: Química Nova na Escola**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.10-15, fev. 2012.

BRITO, N. R. B.. **Efeito de metais pesados na alga *Pseudokirchneriella subcapitata***. Dissertação de Mestrado – Instituto Superior de Engenharia do Porto, 2011.

COSTA, C. R. *et al.*. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão de métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 182-183, 2003.

DOMINGUES, D.F. e BERTOLETTI, E. Seleção, manutenção e cultivo de organismos Aquáticos. Cap. 7, p: 153 – 184. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações**. ZAGATO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.

EDWARDS, C. A.. **Persistent pesticides in the environment**. Second Edition, USA: CRC Press, 170 p. 1973.

FERRAZ, E.S.B. A bacia hidrográfica como unidade de estudo, estrutura e processos (apresentação). In: **WORKSHOP DO PROJETO PIRACENA**, 2, Piracicaba, 1996. Anais... Piracicaba: CENA, 1996. p.7.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E. *et al.* **Procedimentos para Utilização de Testes de Toxicidade no Controle de Efluentes Líquidos**, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB): São Paulo, 1990

HOBOLD, V. **Avaliação de metodologias para análise toxicológica utilizando algas do tipo *Scenedesmus subspicatus* e *Daphnia magna***. Trabalho de conclusão de curso – Curso de Engenharia Ambiental, Universidade do extremo sul catarinense, Criciúma, 2007.

KNIE, J.L.W. ; LOPES, E. W. B. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA / GTZ, 2004. 289p, 2004.

MA J. *et al.* Differential Response of Green Algal Species *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa* to Six Pesticides. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 16, n. 6, p. 847-851, 2007.

MA J. *et al.* Toxicity of 40 Herbicides to the Green Alga *Chlorella vulgaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.51, p. 128-132, 2002.

MACHADO NETO, J. G. **Ecotoxicologia de Agrotóxicos**. Jaboticabal, FCAV - FUNEP, São Paulo, 49 p. 1991.

MARASCHIN, L.. **Avaliação do grau de contaminação por pesticidas na água dos principais rios formadores do pantanal mato-grossense**. Dissertação de Mestrado- Instituto De Saúde Coletiva, Universidade Federal De Mato Grosso, Cuiabá, 2003.

NASCIMENTO, L., MELNYK, A.. A química dos pesticidas no meio ambiente e na saúde. **Mangaio Acadêmico**, v. 1, n.1, jan/jun, 2016.

NOBREGA, H. F.. **Pesticidas: Classificação, Propriedades, Toxicidade, Problemas e Soluções**. 2014. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/artigos/pesticidas-classificacao-propriedades-toxicidade-problemas-e-solucoes/121404/>>. Acesso em: 27 maio 2017.

PANKRATZ, Tom M. **Environmental engineering dictionary and directory**. Thomas M. Pankratz. Lewis Publishers, Boca Raton; Florida. 337p. 2001.

PEIXOTO, S. C.. **Estudo da estabilidade a Campo dos Pesticidas Carbofurano e Quincloraque em Água de Lavoura de Arroz Irrigado empregando SPE e HPLC-DAD**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Departamento de Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007. Piracicaba: ESALQ. 108p..

PRESTES, E. B.; JONSSON, C. M.; CASTRO, V. L. S. S.. Avaliação da toxicidade de piraclostrobin, epoxiconazol e sua mistura em alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 21, p. 39-46, jan./dez. 2011.

RAND, G.M. E PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and applications**. 662p. 1985.

REGINATTO, V.. **Avaliação do ensaio de toxicidade com a alga *Scenedesmus subspicatus* para o estudo de efluentes industriais**- Tese de Doutorado- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

REGITANO, J. B. Propriedades Físico-Químicas dos Defensivos e Seu Destino no Ambiente. In: SIMPÓSIO SOBRE DINÂMICA DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NO SOLO, 2002. SIMPÓSIO SOBRE DINÂMICA DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NO SOLO. **Anais...** Piracicaba, ESALQ-USP, 2002. 96p.

RIBEIRO, M.L. *et al.*. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

ROSA, A. V.. **Agricultura e meio ambiente**. Ed. Atual, São Paulo, 95p, 1998.

RUBINGER, C. F.. **Seleção de métodos biológicos para a avaliação toxicológica de efluentes industriais**. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

SHAW, I. C.; CHADWICK, J.; **Principles of Environmental Toxicology**, Taylor & Francis: Philadelphia, 1998.

SILVA, A. M. da. **Avaliação ecotoxicológica do agrotóxico permetrina através de ensaios de toxicidade com invertebrados aquáticos**. Dissertação de Mestrado – Tecnologia Nuclear, São Paulo, 2005.

SILVA, J. M. da & SANTOS, J. R. dos. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecol. Bras**, p. 565-573, 2007.

SOUZA, V.. **Avaliação da contaminação de águas por resíduos de pesticidas em área de cultura de algodão: região de primavera de leste – MT**. Tese de Doutorado – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

SPADOTTO, C. A. **Avaliação de riscos ambientais de agrotóxicos em condições brasileiras**. Documentos 58. EMBRAPA:CNPMA, Jaguariúna, 20p., 2006.

WARE, G. W. Effect of pesticides on non-target organisms. **Residue Reviews**, New York, n. 76, p. 173-201, 1980.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO. Public health impact of pesticides used in agriculture, Genebra: **World Health Organization**, 1990.

ZHAO, F. *et al.* Evaluation of the toxicity of herbicide topamezone to *Chlorella vulgaris*: Oxidative stress, cell morphology and photosynthetic activity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 129-135, 2017.