



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

BRUNO YURI FRANCOLINO

**AVALIAÇÃO DE CURTO PRAZO DOS EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DA  
ATRAZINA SOBRE O NEMATOIDE MARINHO DE VIDA-LIVRE *LITODITIS  
MARINA* (BASTIAN, 1865) SUDHAUS, 2011 (RHABDITIDA: RHABDITIDAE)**

RECIFE

2022

BRUNO YURI FRANCOLINO

**AVALIAÇÃO DE CURTO PRAZO DOS EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DA  
ATRAZINA SOBRE O NEMATOIDE MARINHO DE VIDA-LIVRE *LITODITIS  
MARINA* (BASTIAN, 1865) SUDHAUS, 2011 (RHABDITIDA: RHABDITIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Centro de Biociências, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

**Área de Concentração:** Biologia Animal

**Orientador:** Prof<sup>o</sup> Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos

RECIFE

2022

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Francolino, Bruno Yuri

Avaliação de curto prazo dos efeitos letais e subletais da Atrazina sobre o nematoide marinho de vida-livre *Litoditis marina* (BASTIAN, 1865) Sudhaus, 2011 (Rhabditida: Rhabditidae) / Bruno Yuri Francolino - 2022.

112 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Pragas agrícolas – Controle. 2. Herbicidas. 3. Nematoda – Pesquisa.  
I. Santos, Giovanni Amadeu Paiva dos (orientador). II. Título.

632.9

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-044-2022

BRUNO YURI FRANCOLINO

**AVALIAÇÃO DE CURTO PRAZO DOS EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DA  
ATRAZINA SOBRE O NEMATOIDE MARINHO DE VIDA-LIVRE *LITODITIS  
MARINA* (BASTIAN, 1865) SUDHAUS, 2011 (RHABDITIDA: RHABDITIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal. Área de concentração: Biologia Animal.

Aprovado em: 16/02/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Professor Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos - UFPE (Orientador)

---

Professor Dr. Paulo Sérgio Martins de Carvalho - UFPE (Titular Interno)

---

Professor Dr. Rosemberg Fernandes de Menezes - UFPB (Titular Externo)

---

Professor Dr. Leonardo Fernandes Fraceto - ICTS - UNESP (Titular Externo)

Com todo carinho, aos meus pais, familiares e amigos que sempre me apoiaram, dando forças ao longo dessa jornada e que sempre me incentivaram a seguir batalhando pelos meus sonhos.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por ter me concedido o dom da vida e por estar aqui presente escrevendo esta dissertação.

À minha mãe maravilhosa, que sempre me motivou, sempre cuidou e se preocupou comigo; te amo demais, mãe!!! Sem você eu não seria a pessoa na qual me tornei hoje.

Ao meu pai, que sempre me propiciou do bom e do melhor, principalmente na educação; por ir lutar todos os dias, trabalhando duro para ofertar um futuro melhor à sua família; te amo, papai!!

Ao meu Orientador Giovanni, por me acolher em seu laboratório, por sempre estimular os seus alunos a correrem em busca do conhecimento, e por ter ajudado na correção deste trabalho. E também a Tom Moens e Yirina, por colaborarem nesse projeto!!

À toda minha família que eu amo demais e aos meus amigos de curso: Geyse, Myrella (Best), Harlan, Scarlet, Mariane, Mariana, Wellington, Hugo, Fernanda, Heitor, Geo, Neno e todos da minha turma da graduação e pós-graduação, agradeço por sempre estarem comigo em todos os momentos; amo demais vocês!!!!

Aos amigos que fiz durante essa jornada na faculdade: Luís, Herbene (Bene), Ton, Jaqueline, Thaís, Gabi, Dudu, Tainá, Laís, Camila. Vocês moram no meu coração!!!!

Aos meus companheiros do laboratório LACIMME: Daniel, Amanda, Raianne, Débora, Letícia, Renan, Flávia, João, Vitória. Obrigado por sempre alegrarem meus dias de trabalho e também por compartilharem seus conhecimentos e experiências.

Ao meu namorado Lucas Marques, por estar sempre comigo em todos os momentos. Te amo muitíssimo!!!!!!!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento durante o mestrado (Código Financeiro 001), pois realizar o mestrado seria inviável sem apoio financeiro.

Ao Laboratório de Biologia Marinha da Universidade de Ghent na Bélgica, por contribuir com as culturas de *Litoditis marina* que foram usadas neste trabalho.

“O sonho de um homem nunca tem fim!”

Marshall D. Teach, Barba Negra - Capítulo 225 (One Piece, obra de Eiichirō Oda).

## RESUMO

Os herbicidas organoclorados são amplamente utilizados em muitos lugares do mundo apesar de possuírem propriedades tóxicas para muitos organismos, incluindo humanos, e de sua alta persistência ambiental em águas e sedimentos. Com intuito de avaliar adequadamente os efeitos dos contaminantes ao longo dos níveis tróficos em comunidades aquáticas, as respostas de diferentes organismos modelo devem ser investigadas. Particularmente para ambientes bentônicos marinhos, relativamente poucos organismos modelo estão disponíveis para a avaliação em condições laboratoriais controladas de efeitos letais e subletais. Dentre os agrotóxicos existentes, o herbicida atrazina é bastante utilizado em diversas culturas. Este herbicida atinge facilmente os lençóis freáticos através da lixiviação e apresenta também um alto potencial de escoamento superficial, ou seja, é facilmente carregado do solo pelas águas, podendo culminar atingindo ambientes aquáticos e conseqüentemente causar efeitos tóxicos em diferentes níveis da fauna. Nesta dissertação foi investigado o uso de duas espécies crípticas do nematoide de vida-livre *Litoditis marina*, como organismo modelo para testes de curto prazo dos impactos do herbicida atrazina sobre parâmetros populacionais e de história de vida de *L. marina* PmIII no primeiro artigo; já no segundo artigo, foi averiguado os efeitos da interação entre o herbicida atrazina e variação de salinidade, sobre a sobrevivência de *L. marina* PmII. Facilidade de cultivo, curto tempo de geração e alta fecundidade tornam *L. marina* PmII e PmIII candidatos adequados para avaliar os efeitos de contaminantes, gerando assim uma avaliação rápida dos impactos ambientais, além de investigações mais detalhadas dos mecanismos por trás desses efeitos. Como resultado do primeiro artigo, a concentração letal para 50% dos organismos testados (CL50) da atrazina para *L. marina* PmIII adulto foi de  $3,3 \pm 0,5$  mg/L após exposição de 120 h, sugerindo uma sensibilidade maior desta espécie em comparação com outras espécies modelo de invertebrados aquáticos, principalmente crustáceos. Os efeitos subletais foram observados em concentrações de atrazina a partir de 0,8 mg/L. Esses efeitos subletais foram amplamente consistentes entre os diferentes traços de história de vida e parâmetros populacionais, mas a fecundidade e as abundâncias máximas de jovens e adultos foram as variáveis de resposta mais sensíveis. Portanto, é sugerido que uma avaliação adequada dos efeitos subletais da atrazina em *L. marina* PmIII requer uma combinação de diferentes características de história de vida e parâmetros em nível populacional. Foi concluído que *L. marina* PmIII é uma espécie modelo adequada para ser utilizada em pesquisas ecotoxicológicas abrangendo efeitos letais e subletais, contribuindo para a avaliação de risco ambiental em

sistemas marinhos e estuarinos. Como resultado do segundo artigo, a CL50 da atrazina para adultos de *L. marina* PmII em 120 h de exposição na salinidade 15 foi de  $0,66 \pm 0,01$  mg/L, sendo 10,4 vezes menor do que a CL50 de 120 h da salinidade 30 ( $6,88 \pm 0,64$  mg/L). Foi concluído que a atrazina teve uma toxicidade maior na menor salinidade (15), causando um efeito prejudicial na sobrevivência de *L. marina* PmII.

**Palavras-chave:** Herbicida; Ecotoxicologia; Nematoda; História de vida; Salinidade.

## ABSTRACT

Organochlorine herbicides are widely used in many parts of the world despite their toxic properties for many organisms, including humans, and their high environmental persistence in waters and sediments. In order to adequately assess the effects of contaminants across trophic levels in aquatic communities, the responses of different model organisms must be investigated. Particularly for marine benthic environments, relatively few model organisms are available for the evaluation under controlled laboratory conditions of lethal and sublethal effects. Among the existing pesticides, the herbicide atrazine is widely used in several crops. This herbicide easily reaches the groundwater through leaching and also has a high potential for surface runoff, that is, it is easily carried from the soil by the waters, reaching aquatic environments and consequently causing toxic effects at different levels of the fauna. In this dissertation, we investigated the use of two cryptic species of the free-living nematode *Litoditis marina*, as a model organism for short-term testing of the impacts of the herbicide atrazine on population and life history parameters of *L. marina* PmIII in the first article; in the second article, the effects of the interaction between the herbicide atrazine and salinity variation on the survival of *L. marina* PmII were investigated. Ease of cultivation, short generation time and high fecundity make *L. marina* PmII and PmIII suitable candidates to assess the effects of contaminants, thus generating a rapid assessment of environmental impacts, in addition to more detailed investigations of the mechanisms behind these effects. As a result of the first article, the lethal concentration for 50% of the organisms tested (LC50) of atrazine for adult *L. marina* PmIII was  $3.3 \pm 0.5$  mg/L after 120 h exposure, suggesting a higher sensitivity of this species. compared to other model species of aquatic invertebrates, mainly crustaceans. Sublethal effects were observed at atrazine concentrations from 0.8 mg/L. These sublethal effects were largely consistent across different life history traits and population parameters, but fecundity and peak abundances of juveniles and adults were the most sensitive response variables. Therefore, it is suggested that an adequate assessment of the sublethal effects of atrazine in *L. marina* PmIII requires a combination of different life history characteristics and parameters at the population level. It was concluded that *L. marina* PmIII is a suitable model species to be used in ecotoxicological research covering lethal and sublethal effects, contributing to the assessment of environmental risk in marine and estuarine systems. As a result of the second article, the atrazine LC50 for *L. marina* PmII adults at 120 h exposure at salinity 15 was  $0.66 \pm 0.01$  mg/L, 10.4 times lower than the LC50 of 120 h of salinity 30 ( $6.88 \pm 0.64$  mg/L). It was concluded

that atrazine had greater toxicity at lower salinity (15), causing a detrimental effect on the survival of *L. marina* PmII.

**Keywords:** Herbicide; Ecotoxicology; Nematode; Life history; Salinity.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Ilustração da molécula do herbicida atrazina, demonstrando o anel aromático hexamérico, simétrico, constituído por três átomos de carbono, três átomos de azoto em posições alternadas e possui um átomo de cloro ligado ao anel aromático. .... 22
- Figura 2** – Alguns dos processos que afetam o destino ambiental dos agrotóxicos: Fotodegradação, adsorção, dessorção, deriva pelo vento, volatilização, precipitação, escoamento superficial, lixiviação, degradação química e degradação biológica. .... 25
- Figura 3** – Placas de Petri identificadas (A) e tracejadas no fundo para facilitar as contagens dos nematoides (B). .... 48
- Figura 4** – Foto de uma lâmina, mostrando três indivíduos adultos da espécie *Litoditis marina* PmIII. A seta preta sinaliza a espícula do macho (órgão reprodutor). .... 48
- Figura 5** – Mortalidade média de nematoides (média  $\pm$  erro padrão de três repetições por tratamento) após a exposição de *Litoditis marina* PmIII a diferentes concentrações de atrazina em função do tempo de exposição. .... 51
- Figura 6** – Variação média da abundância da população de *Litoditis marina* PmIII ao longo do tempo (em horas) nas diferentes concentrações de atrazina 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 mg/L: (A) ovos, (B) juvenis, (C) adultos, (D) população total. .... 55
- Figura 7** – Regressão de decaimento exponencial da população de *Litoditis marina* PmIII vs concentração de atrazina. O "X" vermelho é a estimativa do modelo da concentração de atrazina que produziria uma inibição do aumento da população em 50%. .... 57
- Figura 8** – *Litoditis marina* PmIII expostos ao tratamento de 1,6 mg/L, apresentando deformidades (seta vermelha). .... 63
- Figura 9** – Mortalidade média de nematoides (média  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições por tratamento) após a exposição de *Litoditis marina* PmII a diferentes concentrações de atrazina e salinidades, em função do tempo de exposição. (A) Salinidade 15, (B) Salinidade 20, (C) Salinidade 25, (D) Salinidade 30. .... 74

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – CL50 do herbicida atrazina em diferentes organismos invertebrados listados em ordem alfabética.....	35
<b>Quadro 2</b> – Mortalidade média de nematoides (média $\pm$ desvio padrão de quatro repetições por tratamento) após a exposição de <i>Litoditis marina</i> PmII a diferentes salinidades ao longo de 5 dias.....	73
<b>Quadro 3</b> – Concentrações de efeito letal do herbicida atrazina que causou mortalidade de 20% (CL20 – mg/L) em <i>Litoditis marina</i> PmII. Os dados são médias $\pm$ desvio padrão de quatro repetições por tratamento. ....	75
<b>Quadro 4</b> – Concentrações de efeito letal do herbicida atrazina que causou mortalidade de 50% (CL50 – mg/L) em <i>Litoditis marina</i> PmII. Os dados são médias $\pm$ desvio padrão de quatro repetições por tratamento. As diferenças significativas foram marcadas com letras minúsculas e maiúsculas para os testes principais do PERMANOVA para Salinidade e Tempo respectivamente. O asterisco indica que houve diferença significativa nas comparações entre os pares da interação entre salinidade e tempo.....	76

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Concentrações de efeito letal do herbicida atrazina que causou mortalidade de 20% (CL20) ou 50% (CL50) em *Litoditis marina* PmIII. Os dados são médias  $\pm$  erro padrão de três repetições por tratamento. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ )..... 51
- Tabela 2** – Características da história de vida de *Litoditis marina* PmIII exposta a diferentes concentrações de atrazina. São mostrados a média e o erro padrão de três repetições por tratamento. Aqui é apresentado: Fecundidade (número de descendentes F1 por fêmea até a maturidade sexual de F1); tempos de desenvolvimento (todos expressos em dia): Tempo de Deposição de Ovos (EggDepT), Tempo de Desenvolvimento Embrionário (EDT), Tempo de Desenvolvimento Pós-embrionário (PDT) e Tempo de desenvolvimento total (TDT). Os asteriscos próximos aos valores dos parâmetros indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle ( $p < 0,05$ )..... 52
- Tabela 3** – Abundâncias populacionais máximas de *Litoditis marina* PmIII em função das diferentes concentrações de atrazina. O tempo indica o momento em que as abundâncias máximas foram atingidas. Médias  $\pm$  erros padrão foram obtidas das repetições de cada tratamento e os asteriscos indicam diferenças significativas com o controle ( $p < 0,05$ ). ..... 54
- Tabela 4** – Concentrações de efeito (média  $\pm$  erro padrão; em mg/L) de atrazina que causaram uma mudança de 20% (CE20) ou 50% (CE50) nas características de história de vida e parâmetros populacionais do nematoide marinho *Litoditis marina* PmIII, no experimento de exposição de 10 dias. Para uma descrição dos parâmetros e como eles foram determinados, consulte as seções 3.1.2.3.2 e 3.1.2.4..... 56
- Tabela 5** – Razão sexual de *Litoditis marina* PmIII (calculada como o número médio de mulheres dividido pelo número médio de homens) em diferentes concentrações de atrazina. Os tratamentos marcados com asterisco foram significativamente diferentes do controle ( $p < 0,05$ ). Os dados são médias  $\pm$  erro padrão de três repetições por tratamento. .... 57

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C – graus Celsius

= – Igual

> – Maior que

± – Mais ou menos

≤ – Menor ou igual a

< – Menor que

% – Porcentagem

µg/L – Micrograma por litro

µL – Microlitro

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASW – Água artificial marinha

*B. calyciflorus* – *Brachionus calyciflorus*

B:N – Proporção de Bactoagar e Nutriagar

*C. elegans* – *Caenorhabditis elegans*

*C. silvestrii* – *Ceriodaphnia silvestrii*

CE50 – Concentração de efeito (concentração do composto que causa efeito em 50% da população)

CEO – Menor concentração de efeito observado

CENO – Concentração de efeito não observado

CL20 – Concentração letal que mata 20% da população

CL50 – Concentração letal que mata 50% da população

cm<sup>3</sup>g<sup>-1</sup> – Centímetros cúbicos/grama

*D. magna* – *Daphnia magna*

DDT – Dicloro-Difenil-Tricloroetano

DL50 – Dose letal que acomete 50% da população

*E. affinis* – *Eurytemora affinis*

*E. coli* – *Escherichia coli*

EC20 – Concentração que causa efeito em 20% da população

EC50 – Concentração que causa efeito em 50% da população

EDT – Tempo de desenvolvimento embrionário

EggDepT – Tempo de deposição de ovos

EP – Erro padrão

F1 – Primeira geração filial

Fd – Fecundidade

g/mol – Grama por mol

h – Horas

H – Constante da lei de Henry

kg/ha – Quilograma por hectare

Koc – Coeficiente de partição do contaminante na fração orgânica do solo

Kow – Coeficiente de partição octanol-água

L – Litro

*L. marina* – *Litoditis marina*

*M. flabelligera* – *Macrothrix flabelligera*

*M. minuta* – *Moina minuta*

MC – Fator de correção de Monte Carlo

Mc – Mortalidade corrigida

mg/kg – Miligrama por quilograma

mg/L – Miligrama por litro

mL – Mililitro

mm – Milímetro

Mo – Mortalidade observada

mol/L – Mol por litro

Mt – Mortalidade no controle

*N. carpocapsae* – *Neoaplectana carpocapsae*

*N. bibionis* – *Neoaplectana bibionis*

PDT – Tempo de desenvolvimento pós-embrionário

pH – Potencial hidrogeniônico

sp. – Espécie não identificada

*T. platyurus* – *Thamnocephalus platyurus*

TDT – Tempo de desenvolvimento total

TRIS-HCl – Solução tampão tris (hidroximetil) aminometano. Em geral, inicia-se a preparação desse tampão com base Tris (reagente em pó) que é dissolvida em água, e em seguida o valor de pH é ajustado com adição de HCl (ácido clorídrico).

US EPA – United States Environmental Protection Agency

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	20
1.1 OBJETIVOS .....	22
<b>1.1.1 Objetivo geral</b> .....	22
<b>1.1.2 Objetivos específicos</b> .....	22
1.1.2.1 Artigo 1.....	22
1.1.2.2 Artigo 2.....	22
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	24
2.1 CONTAMINAÇÃO DOS AMBIENTES POR AGROTÓXICOS .....	24
2.2 INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE SEDIMENTOS E DAS CARACTERÍSTICAS DOS AGROTÓXICOS NA CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS .....	26
2.3 HERBICIDAS .....	28
2.4 ATRAZINA .....	30
2.5 EFEITOS DA ATRAZINA EM DIFERENTES ORGANISMOS .....	33
2.6 INFLUÊNCIA DA SALINIDADE NA TOXICIDADE DE CONTAMINANTES .....	36
2.7 NEMATOIDES COMO BIOINDICADORES E OS TESTES DE TOXICIDADE .....	37
<b>3 RESULTADOS</b> .....	40
3.1 ARTIGO 1 – EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DE CURTO PRAZO DA ATRAZINA NO NEMATOIDE <i>LITODITIS MARINA</i> : RUMO A UM MODELO DE NEMATOIDE PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE MARINHA? .....	40
<b>3.1.1 Introdução</b> .....	43
<b>3.1.2 Materiais e métodos</b> .....	46
3.1.2.1 Cultivo dos nematoides .....	46
3.1.2.2 Preparação das concentrações de atrazina .....	46
3.1.2.3 Testes de toxicidade da atrazina.....	46
3.1.2.3.1 Avaliação dos efeitos letais.....	46
3.1.2.3.2 Avaliação dos efeitos subletais .....	49

3.1.2.4 Análises estatísticas .....	50
<b>3.1.3 Resultados</b> .....	50
3.1.3.1 Efeitos letais da atrazina em <i>L. marina</i> PmIII .....	50
3.1.3.2 Efeitos subletais da atrazina em <i>L. marina</i> PmIII .....	52
<b>3.1.4 Discussão</b> .....	58
3.1.4.1 Efeitos das concentrações letais da atrazina sobre <i>L. marina</i> PmIII.....	58
3.1.4.2 Respostas dos traços de história de vida e abundância populacional à atrazina .....	60
3.1.4.3 Efeito da atrazina sobre o parâmetro de proporção sexual .....	62
3.1.4.4 Outros efeitos observados em <i>L. marina</i> PmIII devido à exposição pela atrazina.....	62
<b>3.1.5 Conclusão</b> .....	63
3.2 ARTIGO 2 – AVALIAÇÃO DE CURTO PRAZO DOS EFEITOS LETAIS DA ATRAZINA EM DIFERENTES SALINIDADES PARA O NEMATOIDE <i>LITODITIS</i> <i>MARINA</i> (BASTIAN, 1865) SUDHAUS, 2011 (RHABDITIDA: RHABDITIDAE) .....	65
<b>3.2.1 Introdução</b> .....	68
<b>3.2.2 Materiais e métodos</b> .....	70
3.2.2.1 Cultivo de <i>L. marina</i> PmII.....	70
3.2.2.2 Preparação das concentrações de atrazina.....	70
3.2.2.3 Avaliação dos efeitos letais da atrazina.....	71
3.2.2.4 Análises estatísticas.....	72
<b>3.2.3 Resultados</b> .....	72
3.2.3.1 Mortalidade de <i>Litoditis marina</i> PmII perante exposição de diferentes tratamentos salinos.....	72
3.2.3.2 Mortalidade de <i>Litoditis marina</i> PmII perante exposição da atrazina com interação de diferentes salinidades.....	73
3.2.3.3 Letalidade da atrazina com a interação do fator salinidade para o nematoide <i>Litoditis</i> <i>marina</i> PmII.....	74

<b>3.2.4 Discussão</b> .....	76
3.2.4.1 Mortalidade de <i>Litoditis marina</i> PmII expostos a diferentes salinidades e suas interações com o herbicida atrazina.....	78
3.2.4.2 Letalidade do herbicida atrazina com interação do fator salinidade para o nematoide <i>Litoditis marina</i> PmII.....	80
<b>3.2.5 Conclusão</b> .....	82
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	84
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	85

## 1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são utilizados pela necessidade de aumentar a produção agrícola e assim suprir a crescente demanda populacional por alimentos, devido ao fato desses produtos minimizarem as perdas nos cultivos. Contudo, quando esses insumos são utilizados em um longo período de tempo e em ampla escala, podem trazer danos imensuráveis ao meio ambiente (CANUTO *et al.*, 2010). O uso de agrotóxicos segue tendências sazonais de consumo, sendo empregados na maioria das vezes durante os períodos chuvosos, levando a uma maior probabilidade de carreamento para os corpos hídricos (ARMAS *et al.*, 2007). E uma vez que os agrotóxicos são bastante utilizados na agricultura, sua atividade biocida eleva a probabilidade de impactos negativos em organismos não-alvo, como por exemplo a biota aquática (SÁNCHEZ-BAYO; GOKA, 2006; TREMOLADA *et al.*, 2004; GOLOMBIESKI *et al.*, 2008).

Em função do modelo de agricultura adotado no Brasil e em outros países, o uso de agrotóxicos tornou-se intensivo e amplamente utilizado, trazendo inúmeros problemas de contaminação ao meio ambiente e aos organismos de diferentes níveis tróficos. Embora a agricultura seja uma poluição difusa, geralmente é apontada como sendo um dos maiores contribuidores da contaminação aquática, no qual inúmeros produtos químicos são lançados no ambiente (ONGLEY, 1996). Os principais contaminantes de proveniência agrícola são os resíduos de fertilizantes e os agrotóxicos (ARIAS *et al.*, 2007). Dentre os agrotóxicos existentes, o herbicida atrazina (Figura 1) é muito utilizado em diversas culturas anuais e perenes (RODRIGUES; ALMEIDA, 1998). A atrazina possui coeficiente de partição do contaminante na fração orgânica do solo (Koc) de  $100 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$  (BARANOWSKA *et al.*, 2008), por esse motivo, este herbicida atinge facilmente os lençóis freáticos através da lixiviação. A atrazina apresenta também um alto potencial de escoamento superficial, ou seja, é facilmente carregada do solo pelas águas (REICHENBERGER *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2018) podendo atingir os ambientes aquáticos e consequentemente causar efeitos tóxicos em diferentes níveis da fauna (DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2020).

A toxicidade de um composto químico pode depender do tempo de exposição, da suscetibilidade do organismo, das características químicas do agente e de fatores ambientais como: temperatura, pH, teor de oxigênio dissolvido na água, salinidade, entre outros (TOMITA; BEYRUTH, 2002). Uma pesquisa utilizando náuplios do Copepoda *Eurytemora affinis*, mostrou que a toxicidade da atrazina aumentou com a diminuição da salinidade. Em 96 horas (h) a menor salinidade (5) obteve efeito letal 26 vezes maior do que na maior salinidade (25)

(HALL *et al.*, 1994). A atrazina também é responsável por afetar os traços de vida de organismos como o Cladocera *Daphnia pulicaria* (DODSON *et al.*, 2009).

Diferentes organismos podem ser utilizados como biomodelos para averiguar níveis de poluição ambiental. Os nematoides em especial são considerados bons indicadores de poluição por possuírem características como: grande abundância de indivíduos, curto tempo de geração e vivem em contato direto com o substrato (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). O nematoide de vida-livre *Litoditis marina* pertencente à família Rhabditidae, consiste em pelo menos 10 espécies crípticas (SUDHAUS, 2011), três das quais (PmI, PmII e PmIII) são encontradas em algas marinhas, arquipélagos e depósitos de zonas costeiras de áreas temperadas (DERYCKE *et al.*, 2005). Essas são espécies consideradas adequadas para serem utilizadas em testes ecotoxicológicos, pois apresentam características como: fácil cultivo em laboratório, curto tempo de geração, além de já terem sido utilizadas em outros estudos sobre toxicologia (MONTEIRO *et al.*, 2018a). Além disso, é notado que muitos estudos com atrazina são feitos utilizando espécies dulcícolas como organismos teste, porém existe também o risco de contaminação dos ambientes marinhos e estuarinos pela atrazina, levando a necessidade de usar organismos teste que vivem nesses habitats para avaliar os efeitos causados pelo herbicida atrazina nessas áreas. Dessa forma, *Litoditis marina* se torna um excelente organismo para avaliar os efeitos da atrazina, tanto em ambientes marinhos como também estuarinos, pois *L. marina* suporta variações de salinidade (DE MEESTER *et al.*, 2015) e regiões estuarinas variam a salinidade de acordo com a proximidade do mar.

Sendo assim, PmII e PmIII foram escolhidas para testar os efeitos toxicológicos da atrazina no presente estudo com intuito de mensurar os efeitos letais e subletais da atrazina, ou seja, se irá haver mortalidade ou prejuízo nos traços de vida da espécie críptica PmIII de *L. marina*. Também foi averiguado se os efeitos tóxicos da atrazina serão potencializados ou atenuados pela interação com estresse halino, observando o efeito dessa relação sobre a sobrevivência da espécie críptica *L. marina* PmII.

**Figura 1** – Ilustração da molécula do herbicida atrazina, demonstrando o anel aromático hexamérico, simétrico, constituído por três átomos de carbono, três átomos de azoto em posições alternadas e possui um átomo de cloro ligado ao anel aromático.



Fonte – (JAVARONI; LANDGRAF; REZENDE, 1999).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Averiguar os efeitos letais e subletais da atrazina sobre a espécie críptica *Litoditis marina* PmIII e analisar este herbicida com interação de quatro salinidades distintas, observando se ocorrerá a potencialização de efeitos tóxicos e consequentemente podendo causar mortalidade acentuada na espécie críptica *Litoditis marina* PmII.

### 1.1.2 Objetivos específicos

#### 1.1.2.1 Artigo 1

- A. Encontrar o valor da concentração de atrazina que causa letalidade em 20% (CL20) e 50% (CL50) da população de PmIII ao longo de 5 dias de exposição.
- B. Mensurar os efeitos da atrazina sobre os parâmetros populacionais e história de vida do nematoide PmIII.

#### 1.1.2.2 Artigo 2

- C. Analisar os efeitos letais da atrazina na espécie críptica PmII de *Litoditis marina*, em quatro salinidades (15, 20, 25 e 30) com adição de cinco concentrações diferentes do herbicida.
- D. Encontrar o valor da CL20 e da CL50 do herbicida atrazina, por tempo de exposição no nematoide PmII nas diferentes salinidades.

- E. Comparar as curvas dose resposta para letalidade em diferentes salinidades, e através disso averiguar se houve a potencialização ou atenuação da toxicidade do herbicida atrazina frente a variação de salinidade.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CONTAMINAÇÃO DOS AMBIENTES POR AGROTÓXICOS

O uso de agrotóxicos representa atualmente um grave problema global, pois além de afetarem negativamente o meio ambiente essas substâncias também podem causar problemas à saúde humana como: esterilidade masculina; reações alérgicas; distúrbios neurológicos, respiratórios, pulmonares, cardíacos, no sistema imunológico, no sistema endócrino; promovem o desenvolvimento de câncer, fibrose pulmonar, doença de Parkinson, dentre outros agravos à saúde humana (CARNEIRO *et al.*, 2015; RANI *et al.*, 2020).

Os agrotóxicos são usados pela necessidade de aumentar a produção agrícola, protegendo a plantação de infestações por pragas e assim suprindo a crescente demanda populacional por alimentos, uma vez que ajudam a minimizar as perdas na produção, ou seja, a quantidade da colheita plantada estando em boas condições para o consumo é maior, dessa forma sendo mais lucrativo para os agricultores fazerem uso de defensivos agrícolas em suas lavouras. Contudo, quando esses insumos são utilizados em um período longo de tempo e em ampla escala podem trazer danos imensuráveis ao meio ambiente (CANUTO *et al.*, 2010; RAJMOHAN; CHANDRASEKARAN; VARJANI, 2020).

O uso de agrotóxicos segue tendências sazonais de consumo, sendo empregados muitas vezes durante os períodos chuvosos, o que leva a uma maior probabilidade de carreamento dos compostos para os corpos hídricos (ARMAS *et al.*, 2007). E uma vez que os agrotóxicos são amplamente usados nas atividades agrícolas, sua função biocida eleva as chances de ocasionar impactos negativos em espécies não-alvo, como por exemplo em organismos aquáticos (SÁNCHEZ-BAYO; GOKA, 2006; GOLOMBIESKI *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2021).

Os agrotóxicos quando aplicados no solo podem ser degradados por vias químicas, fotólise ou ação de microrganismos. No entanto, as moléculas que possuem uma alta persistência podem permanecer no ambiente sem sofrer qualquer tipo de alteração. Essas moléculas podem ser adsorvidas nas partículas do solo, serem lixiviadas e alcançarem os lençóis subterrâneos ou atingirem as águas superficiais (Figura 2). Nos ambientes aquáticos, os pesticidas podem sofrer adsorção ou dessorção das partículas de sedimentos. Já no ar, as moléculas na forma de gás ou de vapor podem ser transportadas por muitos quilômetros, chegando a afetar áreas muito distantes da região na qual foram aplicadas (SANCHES *et al.*, 2003).

**Figura 2** – Alguns dos processos que afetam o destino ambiental dos agrotóxicos: Fotodegradação, adsorção, dessorção, deriva pelo vento, volatilização, precipitação, escoamento superficial, lixiviação, degradação química e degradação biológica.



Fonte – Adaptado de (REBELO; CALDAS, 2014).

Os ambientes aquáticos são os principais escoadouros dos defensivos agrícolas, tanto é que a contaminação das águas superficiais tem sido documentada em todo o mundo constituindo uma das maiores preocupações ambientais (BRITTO *et al.*, 2012; KONSTANTINOU; HELA; ALBANIS, 2006; ESTEVES *et al.*, 2018; DE SOUZA *et al.*, 2020). Um estudo verificou a contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos nos municípios de Lucas do Rio Verde e Campo Verde, no estado do Mato Grosso, situado entre os maiores produtores de milho, soja e algodão do Brasil. Resultados dessas análises mostraram a presença de resíduos de diferentes agrotóxicos nas amostras de águas superficiais e de chuva coletadas nos dois municípios; nas amostras de água de chuva coletadas foi detectado atrazina nos valores de 0,00021 a 0,07543 mg/L, metil paration (0,00071 mg/L), malationa (0,00437 e 0,00708 mg/L), metolacloro (0,00011 a 0,00449 mg/L), endosulfan alfa e beta (0,0005 a 0,02964 mg/L), flutriafol (0,00027 a 0,00151 mg/L) e endosulfan S (0,0020 a 0,00759 mg/L) (MOREIRA *et al.*, 2012).

O impacto da atividade agrícola na qualidade dos recursos hídricos na bacia hidrográfica do rio Ribeira do Iguape, localizada na região sudeste do estado de São Paulo, foi avaliado e os agrotóxicos que foram analisados pertencem à classe das triazinas (atrazina e simazina) dos carbomatos (aldicarbe, carbofurano, carbaril) e da nitroanilina (trifluralina). O maior valor encontrado para o aldicarbe foi de 0,00215 mg/L, o carbofurano apresentou valores variando entre 0,00010 a 0,00224 mg/L e o carbaril de 0,00001 a 0,00092 mg/L. Para os herbicidas triazínicos foram encontrados valores maiores que 0,00002 mg/L para a atrazina e variando de 0,00001 a 0,00026 mg/L para simazina. Para a trifluralina foi encontrado valores de 0,00010 a 0,00206 mg/L (MARQUES *et al.*, 2007).

Estudo realizado em lagos e rios da Grécia mostrou que as classes de pesticidas mais detectadas nos ambientes avaliados envolvem herbicidas que são amplamente utilizados nas plantações de milho, arroz e algodão. Foi detectado a presença de inseticidas organofosforados e inseticidas organoclorados que são proibidos de serem usados devido à sua persistência no meio aquático. Os compostos mais frequentemente encontrados foram atrazina, simazina, alacloro e metolacloro (KONSTANTINO; HELA; ALBANIS, 2006). Amostras de sedimentos do lago Kasumigaura localizado na região de Gunma no Japão, demonstraram que herbicidas e inseticidas aplicados diretamente nas plantas tiveram como destino final o solo e águas superficiais (FUSHIWAKI; URANO, 2001). Uma pesquisa em águas subterrâneas na Nova Zelândia feita com intuito de detectar contaminantes orgânicos emergentes, mostrou que os herbicidas foram o grupo de pesticidas mais frequentemente detectados em águas subterrâneas, com 98 detecções de 17 herbicidas diferentes e seus metabólitos. Destes, 80 detecções foram de herbicidas do grupo das triazinas, sendo a terbutilazina o pesticida mais frequentemente detectado (36 detecções) (CLOSE; HUMPHRIES; NORTHCOTT, 2021).

## 2.2 INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE SEDIMENTOS E DAS

### CARACTERÍSTICAS DOS AGROTÓXICOS NA CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS

O tipo de sedimento e composição dos agrotóxicos, juntamente com suas características, são fatores que devem ser levados em consideração no caso da contaminação dos corpos d'água. Quando os compostos orgânicos e inorgânicos atingem os ambientes aquáticos uma parte significativa é ligada aos materiais particulados preexistentes que se encontram suspensos no ambiente; e posteriormente esses compostos tendem a se depositarem nos sedimentos (SANTAROSSA, 2017). A ligação ao material particulado no meio aquático ocorre por meio de processos como adsorção física e química (complexação, quelação e precipitação)

(ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006). Esses processos, juntamente com o processo de desorção, regulam a disponibilidade das moléculas em ambiente aquático (RIBEIRO *et al.*, 2007). A sorção é um fenômeno decorrente da interação de substâncias, sendo um processo complexo e pode ocorrer através de: pontes de hidrogênio, forças eletrostáticas, forças de Van der Waals, ligações covalentes e interações hidrofóbicas (WEBER; PETER, 1982; MARTIN-NETO; VIERIA; SPOSITO, 1994). Esses são os principais mecanismos contribuidores da adesão ou atração dos compostos à superfície do sedimento. Outra característica a ser considerada no processo sortivo dos agrotóxicos ao sedimento é a solubilidade da molécula em água. A solubilidade é o reflexo da polaridade das moléculas, ou seja, quanto maior é a polaridade mais solúvel em água são as moléculas (SCHREIBER, 2012).

O comportamento dos agrotóxicos nos sedimentos é influenciado por características físicas e químicas dos compostos como: solubilidade, coeficiente de partição ( $K_{oc}$ ), constantes de dissociação ( $pK_a$  ou  $pK_b$ ), constante da Lei de Henry ( $H$ ), coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), pressão de vapor e tempo de meia vida (DE OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011; MANCUSO; NEGRISOLI; PERIM, 2011). O pH do sedimento é um dos fatores relevantes na avaliação da capacidade sortiva dos agrotóxicos, pois quando o pH do sedimento apresenta valores que estão próximos ou acima do  $pK_a$  ou  $pK_b$  da molécula, a capacidade de sorção dos agrotóxicos no sedimento acaba sendo reduzida, fazendo com que as moléculas dos agrotóxicos fiquem mais disponíveis na superfície (REGITANO, 2002; CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2008).

Os contaminantes presentes nos sedimentos podem ser disponibilizados para a coluna d'água devido a mudanças em parâmetros como: potencial redox, pH ou ação de microrganismos. Assim, a qualidade das águas superficiais é afetada pela qualidade dos sedimentos submersos, devido aos processos de equilíbrio dinâmico estabelecido entre a água e o sedimento (POSSAVATZ *et al.*, 2014). As características dos sedimentos como: estrutura, textura, teor de umidade, teores de matéria orgânica, comunidade microbiana, capacidade de troca de cátions, pH, relevo, equilíbrio nutricional, área superficial específica e porosidade, afetam o grau de fluxo preferencial e transporte de moléculas nos sedimentos (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2008). A elevação do pH da solução no sedimento beneficia o desenvolvimento de cargas negativas que repelem as moléculas aniônicas dos herbicidas ácidos. Para os herbicidas básicos, ocorre uma menor afinidade de suas formas moleculares com a matriz do sedimento (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2008). No solo, a dissipação dos herbicidas ocorre por diferentes processos, com velocidades distintas e influenciadas por:

propriedades físico-químicas da molécula, atributos do solo, condições ambientais ou interação desses fatores (VIVIAN *et al.*, 2007a; KRAEMER *et al.*, 2009; DE OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Um exemplo de como a composição do sedimento interfere no acúmulo dos agrotóxicos é mostrado na pesquisa realizada em uma região do Estado de São Paulo, que possui um intenso cultivo de cana-de-açúcar. Nessa localidade foi detectado a presença de herbicidas no sedimento de fundo da sub-bacia hidrográfica do Rio Corumbataí; os herbicidas analisados nas amostras de água foram as triazinas (ametrina, atrazina e simazina), hexazinona, glifosato e clomazona. Foram observados níveis quantificáveis de ametrina, atrazina e simazina variando de 0,0007 a 0,0029 mg/L, 0,0006 a 0,0027 mg/L e 0,0003 a 0,0006 mg/L em água, respectivamente; já no sedimento, foram detectados apenas a ametrina e o glifosato. Os resíduos de ametrina foram encontrados em níveis quantificáveis e os de glifosato em concentrações inferiores a 0,0010 mg/L. A explicação para essas baixas concentrações dos herbicidas encontradas no sedimento desse rio é a sua composição arenosa que não propicia o acúmulo dos agrotóxicos na forma adsorvida (ARMAS *et al.*, 2007). Outro exemplo de como a composição do sedimento interfere no acúmulo dos agrotóxicos é mostrado em um trabalho, no qual foi observado que adsorção do herbicida atrazina ao sedimento argilo-siltoso foi aproximadamente duas vezes maior que na areia (HALL *et al.*, 1995a).

Em relação a agrotóxicos em meios de cultivo, um estudo analisou a forma de administração de pesticidas em moscas *Drosophila melanogaster*, e foi visto que a ingestão de ágar gelificado apresenta várias limitações, como a incerteza quanto à biodisponibilidade e quantidade de pesticidas ingeridos pelo organismos modelo. Neste estudo foi desenvolvido um novo método de exposição das moscas a pesticidas chamado de alimentação líquida contínua, método no qual distribui com sucesso alimentos para as moscas em concentrações muito mais altas (SOARES *et al.*, 2017). Outros estudos fizeram o uso de meio ágar como microcosmo para avaliar a toxicidade de contaminantes (LIRA *et al.*, 2011; PONTES *et al.*, 2021).

### 2.3 HERBICIDAS

A qualidade da produção agrícola sempre foi intensamente prejudicada pelo aparecimento de seres indesejáveis, tais como insetos e ervas daninhas. Desta forma, tornou-se necessária a utilização dos agrotóxicos de diversas classes químicas no combate aos organismos que afetam as plantações (COUTINHO *et al.*, 2005). Para aplicação das substâncias químicas nas culturas é utilizado diferentes métodos como nebulização ou pulverização; no caso da aplicação via gasosa, existem severas restrições devido às dificuldades em se confinar e

recuperar o gás emitido, pois de maneira geral são de elevada toxicidade aos humanos (PIRES; CALDAS; RECENA, 2005; COLEONE *et al.*, 2017). A classe dos herbicidas é destaque mundial entre os praguicidas mais utilizados (JARDIM; ANDRADE; QUEIROZ, 2009; TANG *et al.*, 2021). Os herbicidas são usados como forma de eliminar ou impedir o crescimento/desenvolvimento de ervas daninhas, pelo fato dessas plantas atrapalharem o crescimento da cultura principal (CONSTANTIN, 2011; SILVA; COSTA, 2012). Essas substâncias podem ser classificadas de acordo com a atividade exercida (contato ou sistêmicos), modo de uso (pré-emergentes ou pós-emergentes), mecanismo de ação sobre a planta e seletividade, podendo ser não-seletivos (destroem todas as plantas) e seletivos (atacam unicamente a praga, preservando a lavoura) (DOS SANTOS; RIBEIRO, 2019).

O prejuízo causado pelas ervas daninhas ao agronegócio brasileiro chega a valores de aproximadamente 9 bilhões de reais por ano (ADEGAS *et al.*, 2017), por isso o uso de herbicidas nas plantações é bastante comum. No ano de 2013, o Brasil movimentou cerca de 3,74 bilhões de dólares através das vendas de herbicidas, o que representa cerca de 54% da quantidade total de praguicidas vendidos, totalizando um valor de 487.743 mil toneladas do produto (FERREIRA; VEGRO; CAMARGO, 2014). Em termos de quantidade total de ingredientes-ativos, foram consumidos no Brasil 81,8 mil toneladas de herbicidas no ano de 2000 e as culturas agrícolas nas quais mais se utilizou esses produtos foram: soja (39,8%), milho (23,5%), cana-de-açúcar (12,9%), café (4,4%) e arroz irrigado (3,7%). Em 2020, os herbicidas representaram uma porcentagem de 48% do total de agrotóxicos aplicados no Brasil, os fungicidas e inseticidas correspondem cada um aproximadamente 20% e as demais classes de agrotóxicos a 10% (SINDIVEG, 2020). Pela elevada quantidade total de herbicidas utilizados, algumas culturas requerem maior atenção por ocuparem extensas áreas no Brasil, como é o caso da soja, do milho e da cana-de-açúcar (SPADOTTO, 2002; SPADOTTO *et al.*, 2004).

O Brasil tem realce por ser o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), cuja produção ultrapassou 657 mil toneladas na safra de 2020/2021 (UNICA, 2021), o que coloca o país em uma posição notória no cenário internacional da comercialização de álcool e açúcar. Na cultura da cana-de-açúcar, o método químico de controle de plantas daninhas tem sido preferido pelos produtores, em razão de ter menores custos, maior eficiência, alcançar grandes extensões de áreas agrícolas e disponibilidade de registro de diversos produtos (VIVIAN *et al.*, 2007b; MONQUERO *et al.*, 2008a, 2008b). Em áreas onde as plantas daninhas devem ser controladas por longos períodos, como é o caso da cana-de-açúcar, surge a necessidade de utilização de herbicidas que possuam ação residual prolongada (VELINI;

NEGRISOLI, 2000; CARVALHO; CAVAZZANA; JÚNIOR, 2005). Nessa cultura, a maioria dos herbicidas utilizados, é recomendada na aplicação em pré-emergência ou pós-emergência inicial, de modo que o destino de grande parte das moléculas é o solo (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2008).

De um modo geral, os herbicidas que são utilizados no solo possuem grande risco de culminarem nos lençóis freáticos, isso tende a ocorrer devido ao fluxo superficial. Além disso, a ocorrência de uma maior aplicação do produto em épocas de chuvas aumenta a probabilidade de contaminação das águas (ARMAS *et al.*, 2007). Um estudo realizado em áreas agrícolas da região de Iguatu no estado do Ceará, mostrou que dentre os agrotóxicos usados o herbicida atrazina apresentou um alto potencial de poluição em águas superficiais (PINHEIRO *et al.*, 2017). Avaliação da presença de agrotóxicos em água, durante o ciclo da cultura de fumo, foi feita na região da microbacia hidrográfica do Arroio Lino, localizada na cidade de Agudo no estado do Rio Grande do Sul. Como resultado, foram encontrados resíduos de atrazina em cinco dos seis pontos analisados nas três etapas de coleta (plantio, aterramento e colheita do fumo), os resultados obtidos variaram de 0,00019 a 0,00063 mg/L (BORTOLUZZI *et al.*, 2006). Outro estudo avaliou a contaminação de águas estuarinas, e como resultado foi observado que os herbicidas mais comumente encontrados foram atrazina, simazina, alacloro, metolacoloro e molinato nas localizações: Delta do Ebro na costa leste da Espanha, Delta do Ródano no sul da França, o rio Pó na Itália/norte do Mar Adriático, os golfos Thermaikos e Amvrakikos na Grécia e o Delta do rio Nilo no Egito (READMAN *et al.*, 1993).

#### 2.4 ATRAZINA

Os herbicidas do grupo das triazinas representam cerca de 30% de todos os pesticidas usados mundialmente (CABRAL *et al.* 2003). A atrazina, cuja denominação química é 2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s triazina ( $C_8H_{14}ClN_5$ ) (Figura 1) é um dos mais importantes herbicidas do grupo das triazinas. É amplamente utilizado em larga escala em todos os continentes, sendo comum à sua utilização no controle de ervas daninhas (plantas que nascem espontaneamente em local e momento indesejados, podendo interferir negativamente na agricultura). Este herbicida atua inibindo o processo de fotossíntese, provocando a morte das plantas daninhas que são consideradas pragas para a agricultura (COUTINHO *et al.*, 2005).

A atrazina é classificada como um herbicida sistêmico seletivo, ou seja, é absorvido pelas folhas; possui um peso molecular igual a 215,69 g/mol, sendo solúvel em água e em alguns solventes orgânicos como: éter, acetona, benzeno, clorofórmio, etanol e acetato de etila.

É um composto polar, fracamente básico e sua estabilidade pode ser explicada pela configuração eletrônica de seu anel heterocíclico (KEARNEY; KAUFMAN, 1975). É classificado como moderadamente tóxico (classe III) no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (STURZA, 2017). O uso da atrazina foi banido em vários países como Itália (HUANG *et al.*, 2009), Dinamarca (GLAESNER *et al.*, 2014), Finlândia e Alemanha (VONBERG *et al.*, 2014). Porém, o uso do herbicida atrazina ainda é permitido e utilizado em larga escala na agricultura americana e brasileira (ACKERMAN; WHITED; KNIGHT, 2014; US EPA, 2020).

Considerando o incremento das fronteiras agrícolas, o aumento da produção de alimentos e o fato da atrazina ser efetiva no controle de plantas daninhas em grandes culturas, tem-se observado um grande aumento no seu uso a cada ano (OLIVEIRA, 2015). No Brasil, a atrazina é usada em diversas culturas anuais e perenes, tais como: milho, cana-de-açúcar, sorgo, café, cacau, banana, chá, abacaxi, sisal e seringueira (RODRIGUES; ALMEIDA, 1998). Os estados que mais utilizam desse composto são: Mato Grosso do Sul, seguido por São Paulo e Mato Grosso (BOMBARDI, 2017). A atrazina ocupou o 4º posto considerando ingredientes ativos de agrotóxicos que foram mais comercializados no Brasil em 2012; os valores chegaram a mais de 27,1 mil toneladas, correspondendo a 5,6% do total de princípios ativos comercializados no país nesse ano; já em 2018, a atrazina também ficou no 4º posto entre os 10 ingredientes ativos mais comercializados no Brasil, apresentando um valor de 28,7 mil toneladas (IBAMA, 2019). A atrazina foi encontrada em concentrações até 27 vezes maiores em corpos d'água do Brasil (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016) do que na Suíça (MOSCHET *et al.*, 2014). O nível máximo de contaminação para atrazina em corpos d'água tem sido estabelecido nos padrões de potabilidade. Na Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), o valor máximo permitido para atrazina é de 0,002 mg/L, já no Canadá, foi estabelecido o valor de 0,005 mg/L (COELHO; BERNARDO, 2017).

A atrazina tem como principal rota de desaparecimento a hidrólise química e biodegradação por microbiota fúngica. É facilmente observada no monitoramento de águas subterrâneas próximas a lavouras que a utilizam, podendo estar em contato com riachos, lagos e lagoas que apresentem ligação com os lençóis freáticos, além disso seus resíduos e metabólitos podem ser encontrados nesses locais após longo tempo de aplicação (WILSON *et al.*, 1987; BAGNATI *et al.*, 1988; COUTINHO *et al.*, 2005). Em um sistema água-solo a atrazina apresenta uma moderada adsorção à matéria orgânica e argila, elevada persistência em solos, hidrólise lenta e um alto potencial de escoamento superficial (DORES; DE-

LAMONICA-FREIRE, 2001; SILVA; AZEVEDO, 2008). Devido a este comportamento, seus resíduos podem contaminar o solo, águas subterrâneas, pequenos córregos e águas de abastecimento público (DO CARMO *et al.*, 2013). Além disso, a atrazina possui uma solubilidade em água de 33,0 mg/L, coeficiente de partição ( $K_{oc}$ ) de  $100 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$  (considerado um valor baixo) e coeficiente de partição octanol-água ( $\log K_{ow}$ ) de 2,75 (BARANOWSKA *et al.*, 2008); tempo de meia vida no solo em torno de 146 dias, na água em torno de 742 dias e no ar varia de 14 a 109 dias (ATSDR, 2003; SASS; COLANGELO, 2006). Considerando esses valores, a atrazina apresenta um alto potencial de lixiviação e escoamento superficial o que caracteriza a sua capacidade de contaminação das águas subterrâneas e superficiais.

Um trabalho observou que a lixiviação da atrazina correspondeu a aproximadamente 7% do total do herbicida que foi aplicado (3 kg/ha) nos experimentos de microcosmos; já nos estudos de campo, encontraram a presença de atrazina em uma profundidade de 50 centímetros do solo, indicando lixiviação do composto (CORREIA *et al.*, 2007). Em uma compilação de dados, a atrazina foi detectada com frequência de 78,1% em amostras de águas superficiais nos Estados Unidos, apresentando valores médios de 0,002 mg/L e com concentração máxima de 0,201 mg/L (KOLPIN; BARBASH; GILLIOM, 1998; GILLIOM *et al.*, 2006; ELIAS; BERNOT, 2014). Altos níveis de atrazina foram registrados em amostras de água em Lousiana e Iowa e em amostras de águas subterrâneas dos Estados da Pensilvânia, Nebraska, Wisconsin e Maryland (HOWARD *et al.*, 1990). Em Ontario no Canadá, um estudo constatou a presença de atrazina em poços de água para consumo, alguns apresentaram índices de 0,0042 mg/L de atrazina (BELLUCK; BENJAMIN; DATSON, 1991).

Considerando o aumento da produção agrícola no estado do Tocantins (Brasil) e da utilização de agrotóxicos para tal produção, um determinado trabalho investigou os níveis de resíduos de agrotóxicos em diferentes compartimentos ambientais (solo, sedimento e amostras de água) do rio Formoso. Como resultado, o maior valor encontrado foi o de atrazina (0,000286 mg/L) em amostra de água (GUARDA *et al.*, 2020). Um estudo analisou vários trabalhos científicos publicados entre os anos de 2000 e 2017 referentes a presença da atrazina em águas no Brasil, como resultado foi visto que em 35 deles apresentaram frequências de detecção de 8% para águas superficiais e 12% para águas subterrâneas, onde houve duas ocorrências de valores superiores ao valor máximo permitido para água de consumo que é de 0,002 mg/L; os maiores valores foram de 0,0104 mg/L em São Paulo e 0,00484 mg/L em Goiás (DIAS *et al.*, 2018). Em 174 amostras de água, que foram coletadas em 44 locais de 24 córregos que drenam

21 plantações florestais de eucaliptos na Tasmânia, foi detectado a presença de atrazina nas concentrações variando de 0,00001 a 53 mg/L (DAVIES; COOK; BARTON, 1994).

## 2.5 EFEITOS DA ATRAZINA EM DIFERENTES ORGANISMOS

Vários efeitos de disrupção endócrina foram relatados sobre a atrazina. Este herbicida mostrou reduzir o número de células germinativas em peixes teleósteos, anfíbios, répteis e mamíferos, além disso induziu feminização parcial e/ou completa em peixes, anfíbios e répteis (HAYES *et al.*, 2011). A exposição à atrazina interrompe o desenvolvimento testicular, resultando em lesões (perda de tecido testicular) em todas as classes de vertebrados, exceto em aves (SPANÒ *et al.*, 2004; HAYES *et al.*, 2010; VICTOR-COSTA *et al.*, 2010). Efeitos tóxicos da atrazina também são descritos para organismos da fauna edáfica, como anelídeos e colêmbolos (JÄNSCH *et al.*, 2006; FRAMPTON *et al.*, 2009). Também existem relatos de impactos negativos causados pela atrazina sobre a microbiota presente nos solos, ou seja, considerando que a atividade microbiana é fundamental para a dinâmica de matéria orgânica e para a ciclagem de nutrientes nesses ambientes, tais efeitos podem ameaçar a sustentabilidade dos solos (SINGH *et al.*, 2018; HUANG *et al.*, 2020; FERNANDES *et al.*, 2020).

Já nos ecossistemas aquáticos a atrazina pode causar impactos em diferentes tipos de animais como por exemplo: moluscos, crustáceos, peixes, anfíbios, répteis e diversos outros organismos (PARADEDA, 2011; SHENOY; 2012; DE SOUZA, 2013; OMRAN; SALAMA, 2016). Vários trabalhos avaliaram os mais diversos tipos de efeitos causados pela atrazina em diferentes espécimes. A atrazina em concentrações de 0,001 mg/L, causou genotoxicidade ao mexilhão verde *Perna viridis* (JUHEL *et al.*, 2017). Em um estudo feito com copépodes harpacticóides expostos a atrazina por um tempo de 96 h, encontrou valores da CL50 de 7,58 mg/L em *Robertsonia propínqua* e valores de CL50 para *Quinquelaophonte* sp. de 20,8 mg/L de atrazina. Machos de *Quinquelaophonte* sp. também mostraram um aumento da sensibilidade à atrazina em comparação com as fêmeas, havendo um declínio na população dos indivíduos machos (STRINGER *et al.*, 2012). Palma *et al.* (2008) submeteram as espécies Anostraca *Thamnocephalus platyurus* e Cladóceros *Daphnia magna* a concentrações de atrazina (20, 40, 60, 80 e 100 mg/L). Como resultado, a concentração que causa efeito em 50% da população (EC50) foram de: 36,7 mg/L (24 h) para *T. platyurus* e 35,5 mg/L (48 h) para *D. magna*.

Efeitos da atrazina foram observados sobre o metabolismo intermediário, os níveis de lipoperoxidação, os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, a atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, e alguns parâmetros reprodutivos do Amphipoda

*Hyallolella* sp., quando expostos a diferentes concentrações do herbicida atrazina (0,0010; 0,0015 e 0,0020 mg/L). Como resultado, foi observado que os parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo foram alterados. Nos animais expostos as diferentes concentrações do pesticida, ocorreu mobilização das reservas de triglicerídeos, lipídios, glicerol, proteínas, glicogênio, arginina e fosfato, assim como diminuição nos níveis de colesterol, sendo estas acompanhadas de um aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e da atividade das enzimas Superóxido Dismutase e Catalase. Parâmetros reprodutivos analisados neste estudo também foram afetados pela exposição ao herbicida atrazina, onde devido a diminuição da formação de pares reprodutivos, não foram observados nenhuma fêmea ovígera e nem ovos (PARADEDA, 2011).

Densidades masculinas dos Copépodes *Paronychocamptus wilsoni* e *Enhydrosoma baruchi* foram significativamente reduzidas pela exposição à atrazina (BEJARANO *et al.*, 2005). Em exposições de 10 dias (0,025 mg/L de atrazina) sobre o copépode *Eurytemora affinis*, foi observado um atraso de 4 dias no desenvolvimento das larvas náuplios em relação ao controle, ou seja, 8 dias de maturação no total (FORGET-LERAY *et al.*, 2005). Outros estudos encontraram valores da CL50 de 13,2 mg/L para os náuplios de *E. affinis* (HALL *et al.*, 1994) e uma CL50 de 0,1532 mg/L para fêmeas ovígeras do Copépode *Tigriopus brevicornis* (FORGET *et al.*, 1998). A atrazina influenciou fortemente a razão sexual do Cladóceros *Daphnia pulicaria*, onde nas concentrações entre 0,01 e 0,5 mg/L a quantidade de machos foi maior do que em relação aos tratamentos dos controles (DODSON *et al.*, 2009). Em relação à produção de descendentes, o herbicida atrazina em concentrações de 0,5; 5 e 15 mg/L foi tóxica para embriões do Cladóceros *D. magna*, sendo observados anormalidades na carapaça (PALMA *et al.*, 2009a).

Diferentes concentrações de atrazina nos valores de 2,25; 4,5; 9; 18 e 36 mg/L foram testadas no Cladóceros *Moina minuta*. O valor médio obtido para a CE50 da atrazina (concentração do composto no qual 50% do efeito é observado (PEIXOTO *et al.*, 2015)) no tempo de 48 h, foi de 9,4 mg/L. Ao comparar a CE50 obtida em *M. minuta* com diferentes organismos aquáticos expostos ao herbicida atrazina, observa-se que esta espécie foi na maior parte das vezes mais sensível ao herbicida atrazina do que outras espécies (MOREIRA; MANSANO; ROCHA, 2013). Moreira *et al.* (2014) realizaram testes letais usando concentrações nominais de atrazina nos valores de 2,25; 4,5; 9; 18; 36 e 72 mg/L para *Ceriodaphnia silvestrii* e *Macrothrix flabelligera*, as mesmas concentrações mais a concentração de 144 mg/L foi utilizada para *D. magna*. Como resultado, os testes de toxicidade

mostraram que as duas espécies que ocorrem nos corpos d'água do Brasil foram mais sensíveis do que *D. magna*. As concentrações efetivas de atrazina (CE50 - 48 h) para *M. flabelligera*, *C. silvestrii* e *D. magna*, foram:  $12,37 \pm 2,67$  mg/L,  $14,30 \pm 1,55$  mg/L e  $50,41 \pm 2,64$  mg/L, respectivamente. Outro trabalho avaliou a toxicidade aguda da atrazina na espécie de Cladóceros *Pseudosida ramosa* e obtiveram uma CL50 (48 h) de 20,9 mg/L (FREITAS; ROCHA, 2012).

Estudo feito com girinos da espécie *Physalaemus cuvieri*, mostrou que a atividade natatória dos girinos foi afetada ao se aplicar concentrações subletais de atrazina (STURZA, 2017). Outro estudo utilizando moluscos bivalves límnicos *Anodontites trapesialis* e *Corbicula fluminea*, o herbicida atrazina mostrou ser altamente acumulativo para esses organismos, sendo sua concentração na massa visceral desses invertebrados de níveis 30 vezes maiores que a água, onde se encontravam expostos por um período de 48 h (JACOMINI *et al.*, 2006). Ensaio de letalidade realizado com a atrazina em um período de 24 h usando o rotífero *Brachionus calyciflorus* como organismo teste, obteve como resultado uma CL50 no valor de 39,2 mg/L (Quadro 1). Na concentração de 5,12 mg/L a atrazina começou a mostrar efeitos sobre a população de *B. calyciflorus* havendo uma redução da mesma. A taxa de eclosão dos ovos também foi afetada, onde concentrações de atrazina de 0,32 mg/L a 5,12 mg/L reduziram significativamente a taxa de eclosão em comparação com o controle. O CENO (concentração testada que quando comparada com o controle, não tem efeito estatisticamente significativo, dentro de um determinado tempo de exposição) e a menor concentração de efeito observado (CEO) para atrazina, sobre a taxa de eclosão dos ovos foram de 0,08 mg/L e 0,32 mg/L, respectivamente (LU *et al.*, 2012).

**Quadro 1** – CL50 do herbicida atrazina em diferentes organismos invertebrados listados em ordem alfabética.

ESPÉCIES	CL50	REFERÊNCIAS
<i>Anodonta imbecilis</i> (Mollusca- Bivalve)	> 60 mg/L (24 h)	(JOHNSON; KELLER; ZAM, 1993)
<i>Brachionus calyciflorus</i> (Rotifera)	39,2 mg/L (24 h)	(LU <i>et al.</i> , 2012)
<i>Carcinus maenas</i> (Caranguejo)	> 10 mg/L (48 h)	(PORTMANN; WILSON, 1971)
<i>Chironomus riparius</i> (Diptera)	18,9 mg/L (240 h)	(TAYLOR; MAUND; PASCOE, 1991)
<i>Crangon crangon</i> (Camarão)	10 – 30 mg/L (48 h)	(PORTMANN, 1972)
<i>Daphnia carinata</i> (Cladocera)	60,6 mg/L (48 h)	(HE <i>et al.</i> , 2012)
<i>Daphnia magna</i> (Cladocera)	> 1.000 mg/L (48 h)	(WAN <i>et al.</i> , 2006)

<i>Daphnia pulex</i> (Cladocera)	33 mg/L (48 h)	(MARTIN, 1987)
<i>Diporeia</i> spp. (Amphipoda)	> 3 mg/L (96 h)	(RALSTON-HOOPER <i>et al.</i> , 2009)
<i>Eriocheir sinensis</i> (Caranguejo)	50 mg/L (96 h)	(LI <i>et al.</i> , 2006)
<i>Gammarus fasciatus</i> (Amphipoda)	5,7 mg/L (48 h)	(MACEK <i>et al.</i> , 1976)
<i>Gammarus pulex</i> (Amphipoda)	14,9 mg/L (96 h)	(TAYLOR; MAUND; PASCOE, 1991)
<i>Glossiphonia complanata</i> (Annelida)	6,3 mg/L (28 dias)	(STREIT; PETER, 1978)
<i>Hyalella azteca</i> (Amphipoda)	33,0 mg/L (96 h)	(WAN <i>et al.</i> , 2006)
<i>Litoditis marina</i> PmII (Nematoda)	3,54 mg/L (120 h)	Presente estudo
<i>Litoditis marina</i> PmIII (Nematoda)	3,33 mg/L (120 h)	Presente estudo
<i>Mysidopsis bahia</i> (Mysida- Camarão)	0,92 mg/L (96 h)	(WARD; BALLANTINE, 1985)
<i>Neopanope texana</i> (Decapoda)	> 1.000 mg/L (96 h)	(MACEK, 1973)
<i>Palaemonetes pugio</i> (Camarão)	9 mg/L (96 h)	(WARD; BALLANTINE, 1985)
<i>Pseudosida ramosa</i> (Cladocera)	20,9 mg/L (48 h)	(FREITAS; ROCHA, 2012)
<i>Quinquelaophonte</i> sp. (Copepoda)	20,8 mg/L (96 h)	(STRINGER <i>et al.</i> , 2012)
<i>Robertsonia propinqua</i> (Copepoda)	7,58 mg/L (96 h)	(STRINGER <i>et al.</i> , 2012)
<i>Uca pugilator</i> (Caranguejo)	> 29 mg/L (96 h)	(WARD; BALLANTINE, 1985)

## 2.6 INFLUÊNCIA DA SALINIDADE NA TOXICIDADE DE CONTAMINANTES

Muitos estudos realizados em laboratório nos quais abordam a letalidade dos compostos químicos sobre os organismos, se baseiam em experimentos de curto prazo (LAWTON *et al.*, 2006; MANSANO *et al.*, 2018; FRANCOLINO *et al.*, 2021; LAMMERTYN *et al.*, 2021). O impacto dos agrotóxicos e da interação dos mesmos com fatores ambientais (pH, radiação solar, salinidade, temperatura), podem agravar a letalidade desses compostos, principalmente em indivíduos que passam por um longo tempo de exposição (exposição crônica) e nas espécies que apresentam caracteres morfológicos e comportamentais específicos (RELYEA, 2005).

Middaugh e Floyd (1978) utilizaram o Cádmio em diferentes salinidades (5, 10, 15 e 30), na espécie de crustáceo *Palaemonetes pugio*, e foi visto que houve um aumento da mortalidade larval nas salinidades mais baixas. Outro estudo realizado com Cádmio, usando a espécie de crustáceo *Callinectes sapidus*, tendo como resultado um aumento da toxicidade para juvenis nas salinidades mais baixas, além disso a CL50 no tempo de 96 h foi de 0,32; 4,7 e 11,6

mg/L em salinidades de 1, 15 e 35, respectivamente (FRANK; ROBERTSON, 1979). A avaliação da influência salina na toxicidade crônica do Chumbo para o peixe *Atherinops affinis*, mostrou que o aumento da salinidade diminuiu a toxicidade do Chumbo (REYNOLDS, 2017). O aumento da salinidade também influenciou na diminuição da toxicidade do metal pesado Cádmio em larvas do crustáceo *Amphibalanus amphitrite* (PIAZZA *et al.*, 2016).

Um trabalho realizado para averiguar a toxicidade do metal pesado Zinco em diferentes salinidades, foi utilizado juvenis do Polychaeta *Nereis diversicolor* como organismo teste, ao final do experimento foi observado que a toxicidade máxima do contaminante ocorreu em salinidades mais baixas. A CL50 de 96 h foi de 6, 16, 42 e 35 mg/L em salinidades de 5; 10; 17,5 e 30, respectivamente (FERNANDEZ; JONES, 1990a). Amphipoda *Corophium volutator* apresentou uma redução significativa no tempo médio de sobrevivência de adultos na associação entre o Zinco e salinidade, tendo como CL50 de 96 h valores de 5,6; 16; 18; 22 e 34 mg/L a 15 °C nas salinidades de 5, 10, 15, 25 e 35, respectivamente (BRYANT *et al.*, 1985). Juvenis da água-viva *Cassiopea* sp. foram expostos a concentrações de atrazina e três níveis de salinidade (17, 25 e 35), e como resultado observaram que as medusas expostas à combinação de alta atrazina e menor salinidade morreram (KLEIN; PITT; CARROLL, 2016).

## 2.7 NEMATOIDES COMO BIOINDICADORES E OS TESTES DE TOXICIDADE

A nematofauna encontra-se incluída no grupo da meiofauna que é um conjunto de metazoários, composto de aproximadamente trinta Filos zoológicos (GIERE, 2009). A comunidade meiofaunal foi classificada levando em consideração o hábitat e a dimensão dos organismos pertencentes a este grupo (0,044 a 0,5 milímetros) (MARE, 1942). A meiofauna é um componente fundamental dos bentos costeiros, no qual contribuem significativamente para a transferência de energia nos níveis tróficos (DANOVARO *et al.*, 2007; KRAMER; BELLWOOD; BELLWOOD, 2013). Além disso, os membros dessa comunidade podem ser uma ferramenta útil para estudos de impactos humanos, pois respondem de forma rápida às mudanças que ocorrem no meio ambiente (KENNEDY; JACOBY, 1999; GIERE, 2009).

Os organismos meiofaunais em geral e os nematoides em particular, são considerados bons indicadores de poluição por diversas razões que incluem: a sua abundância populacional, elevada diversidade de táxons, o curto tempo de geração, possuir desenvolvimento bentônico direto (HEIP; VINCX; VRANKEN, 1985; GIERE, 1993). São os metazoários mais diversos e numericamente dominantes nos ambientes marinhos, ocorrem em qualquer tipo de sedimento, em diferentes condições climáticas e em ambientes com elevadas concentrações de poluentes

(FLEEGER; CHANDLER, 1983; KENNEDY; JACOBY, 1999). Além disso, os nematoides vivem em contato direto com os componentes dissolvidos na água através de sua cutícula permeável (PLATT; WARWICK, 1980; VRANKEN *et al.*, 1986). Outra vantagem de se utilizar os nematoides em estudos de impactos ambientais, é que mesmo com pequenos volumes de unidades amostrais dos sedimentos é possível obter informações com significância estatística (PLATT; WARWICK, 1980).

Os nematoides são animais adequados para serem usados em testes de toxicidade laboratorial (SOCHOVÁ; HOFMAN; HOLOUBEK, 2006; HÄGERBÄUMER *et al.*, 2015), também são excelentes bioindicadores (WILSON; KAKOULI-DUARTE, 2009) de qualidade ecológica, como é mostrado no estudo feito em ecossistemas costeiros do Mar Mediterrâneo, onde os resultados revelaram que os nematoides representam uma assembleia (grupo de espécies filogeneticamente relacionadas que pertencem a mesma comunidade) altamente informativa (MORENO *et al.*, 2011). A especificidade alimentar, o elevado número de espécies e a elevada abundância em todos os habitats onde ocorre decomposição, indicam que a estrutura da comunidade de nematoides possuem um elevado conteúdo de informação, além disso possuem todo ciclo de vida em contato direto com o sedimento; todas essas características fazem com que esses organismos respondam de forma rápida a alterações que ocorrem nos ambientes (BONGERS; BONGERS, 1998).

Indivíduos da espécie do nematoide *Caenorhabditis elegans* foram expostos aos pesticidas clorpirifós, imibaclopride, buprofezina, cialotrina e glifosato. Após a exposição por 24 h, tanto a frequência de curvatura do corpo quanto a frequência de nematoides expostos a clorpirifós, imibaclopride e cialotrina diminuíram de forma dependente da concentração. O tempo de geração dos nematoides expostos à buprofezina em 24 h aumentou significativamente de forma dependente da concentração. Quando os indivíduos foram expostos à cialotrina por 72 h, a frequência de curvatura do corpo desses nematoides diminuiu acentuadamente. O tempo de geração e o tamanho dos nematoides expostos à buprofezina foram reduzidos de forma dependente da concentração. O comportamento dos nematoides foi sensível aos pesticidas com propriedades neurotóxicas, enquanto os pesticidas que afetam o crescimento dos insetos modificaram o sistema reprodutivo de *C. elegans* (RUAN *et al.*, 2009). Trabalho realizado com nove soluções aquosas de substâncias utilizadas na manutenção de gramado, foram testadas quanto à compatibilidade com nematoides entomopatogênicos, ou seja, nematoides que parasitam insetos. Os fungicidas clorotalonil, benomil, pentacloronitrobenzeno e o herbicida dicamba não foram tóxicos para as espécies *Neoaplectana carpocapsae* Weiser, *N. bibionis*

Bovien e *Heterorhabditis* sp. Os inseticidas carbamato carbaryl e bendiocarb foram altamente tóxicos para *Heterorhabditis* sp., mas eram menos tóxicos para *N. carpocapsae* e *N. bibionis* (ZIMMERMAN; CRANSHAW, 1990).

Os testes de toxicidade sejam eles letais ou subletais, e a determinação da faixa de sensibilidade dos organismos-teste são realizados por várias razões, porém o principal objetivo é gerar dados com intuito de prever os efeitos que as substâncias químicas e efluentes complexos (despejo de líquido gerado nas diversas etapas de um processo produtivo industrial) podem provocar nas comunidades como um todo, e também nos organismos (afetando determinadas espécies de forma mais prejudicial do que outras) (WINNER, 1988; MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). A ecotoxicologia aquática investiga os efeitos dos compostos químicos e xenobióticos (compostos químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico) sobre os organismos aquáticos, tendo ênfase nos efeitos adversos ou danosos. Inúmeros testes ecotoxicológicos são realizados para mensurar as concentrações e a duração da exposição a estes agentes químicos que produzem um efeito pré-determinado, ou seja, um teste toxicológico é desenvolvido para analisar o grau de resposta produzida por um nível específico de estímulo (RAND; PETROCELLI, 1985; DE OLIVEIRA; KLEINE; VAZ, 2020).

Os estudos em ecotoxicologia aquática podem ser qualitativos ou quantitativos em relação aos efeitos tóxicos causados nos organismos aquáticos. Os efeitos tóxicos podem incluir a letalidade (mortalidade) e efeitos subletais (efeitos a longo prazo) como: alterações no crescimento, desenvolvimento, reprodução, respostas farmacocinéticas, bioquímica, respostas fisiológicas e comportamentais (CHAPMAN; LONG, 1983; CHAPMAN *et al.*, 1991; DILLON; MOORE; GIBSON, 1993; ABESSA; SOUSA; TOMMASI, 2006). Os efeitos tóxicos podem ser expressos através de critérios mensuráveis como: número de indivíduos mortos, porcentagem de ovos eclodidos, alterações no tamanho e no peso dos animais (biomassa), porcentagens de inibição de enzimas, incidências de tumores e anomalias (TOMITA, 2004; CARVALHO; PIVOTO, 2011; LUNA; SALES; SILVA, 2011).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 ARTIGO 1

##### EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DE CURTO PRAZO DA ATRAZINA NO NEMATOIDE *LITODITIS MARINA*: RUMO A UM MODELO DE NEMATOIDE PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE MARINHA?

##### RESUMO

Os pesticidas organoclorados ainda são amplamente utilizados em muitas regiões do mundo, apesar de suas propriedades tóxicas para muitos organismos, incluindo humanos, e de sua alta persistência ambiental em águas e sedimentos. A fim de avaliar adequadamente os efeitos dos contaminantes ao longo dos níveis tróficos em comunidades aquáticas, as respostas de diferentes organismos modelo devem ser investigadas. Particularmente para ambientes bentônicos marinhos, relativamente poucos organismos modelo estão disponíveis para a avaliação em condições laboratoriais controladas de efeitos letais e subletais. No presente estudo foi investigado o uso de uma espécie críptica do nematoide de vida-livre *Litoditis marina* como organismo modelo para testes de curto prazo dos impactos do contaminante, usando neste caso o herbicida atrazina. Sua facilidade de cultivo, curto tempo de geração e alta fecundidade tornam *L. marina* PmIII um bom candidato para avaliar os efeitos dos contaminantes para uma avaliação rápida dos impactos ambientais, além de investigações mais detalhadas dos mecanismos por trás desses efeitos. A CL50 da atrazina para *L. marina* PmIII adulto foi de  $3,3 \pm 0,5$  mg/L após uma exposição de 5 dias, sugerindo uma sensibilidade comparativamente maior desta espécie em comparação com outras espécies modelo de invertebrados aquáticos, principalmente crustáceos. Esta CL50 obteve um resultado menor que a metade do valor após uma exposição de 4 dias, e foi aproximadamente 22 vezes menor do que a CL50 de 48 h, demonstrando a importância de realizar testes de letalidade pelo maior tempo de exposição possível. Os efeitos subletais foram observados em concentrações de atrazina muito mais baixas e abrangeram, a partir de 0,8 mg/L, comprometimento de características de história de vida (fecundidade reduzida, deposição de ovos prolongados e alteração nos tempos de desenvolvimento) e parâmetros populacionais (abundância de juvenis e adultos, proporção sexual dos adultos). Esses efeitos subletais foram amplamente consistentes entre os diferentes traços de história de vida e parâmetros populacionais, mas a fecundidade e as abundâncias máximas de jovens e adultos foram as variáveis de resposta mais sensíveis. Portanto, é sugerido que uma avaliação adequada dos efeitos subletais do contaminante em *L. marina* requer uma combinação de diferentes características de história de vida e parâmetros em nível populacional.

Foi concluído que *L. marina* PmIII é uma espécie modelo adequada para ser utilizada em pesquisas ecotoxicológicas abrangendo efeitos letais e subletais, desse modo, contribuindo para a avaliação de risco ambiental em sistemas marinhos e estuarinos.

**Palavras-chave:** Herbicida; Organoclorado; Traço de história de vida; Resposta da população; Bentos marinhos; Ecotoxicologia.

## ABSTRACT

Organochlorine pesticides are still widely used in many regions of the world, despite their toxic properties to many organisms, including humans, and their high environmental persistence in waters and sediments. In order to properly assess contaminant effects across trophic levels in aquatic communities, the responses of different model organisms should be investigated. Particularly for marine benthic environments, relatively few model organisms for the assessment under controlled laboratory conditions of both lethal and sublethal effects are available. Here we investigate the use of a cryptic species of the free-living nematode *Litoditis marina* as a model organism for short-term tests of the impacts of contaminant, using the case of the herbicide atrazine. Its ease of culturing, short generation time and high fecundity render *L. marina* PmIII a good candidate to assess contaminant effects for both a rapid assessment of impacts and more detailed investigations of the mechanisms behind those effects. The LC50 of atrazine to adult *L. marina* PmIII was  $3.3 \pm 0.5$  mg/L after a 5-day exposure, suggesting a comparatively higher sensitivity of this species compared to other aquatic invertebrate model species, mainly crustaceans. This LC50 was less than half the value after a 4-day exposure and was 22-fold lower than the 48 h LC50, demonstrating the importance of performing lethality tests for as long an exposure time as possible. Sublethal effects were observed at much lower atrazine concentrations and encompassed, from 0.8 mg/L onwards, impairment of life-history traits (reduced fecundity and extended egg deposition and development times) and population parameters (abundances of juveniles and adults, adult sex ratio). These sublethal effects were broadly consistent among different life-history traits and population parameters, but fecundity and the maximum abundances of juveniles and adults were the most sensitive response variables. We therefore suggest that an adequate assessment of sublethal contaminant effects on *L. marina* requires a combination of different life-history traits and population-level parameters. We conclude that *L. marina* PmIII is a suitable model species for ecotoxicological research encompassing both lethal and sublethal effects, and can as such contribute to environmental risk assessment in marine and estuarine systems.

**Keywords:** Herbicide; Organochlorine; Life-history trait; Population response; Marine benthos; Ecotoxicology.

### 3.1.1 Introdução

O pesticida atrazina é um herbicida solúvel em água, amplamente utilizado para combater ervas daninhas em plantações de milho, sorgo, cacau e cana-de-açúcar (SMITH; RICHARD JR; SANTO, 2008). O mesmo foi proibido na Europa desde 2003 devido à sua contaminação e persistência ubíqua da água (BETHSASS; COLANGELO, 2013), mas ainda é amplamente utilizado no Canadá, EUA, América Latina, África e Austrália (ACKERMAN; WHITED; KNIGHT, 2014; PAN, 2019; ASSAD; RESHI; RASHID, 2020). A atrazina possui coeficiente de partição do contaminante na fração orgânica do solo ( $K_{oc}$ ) de  $100 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$  (BARANOWSKA *et al.*, 2008), portanto apresenta alto potencial de lixiviação e escoamento superficial, podendo atingir rios, estuários e lençóis freáticos (GRAYMORE; STAGNITTI; ALLINSON, 2001; JI *et al.*, 2016). Mesmo vários anos após sua proibição, a atrazina, como muitos organoclorados, ainda está entre os pesticidas mais encontrados em corpos d'água, atestando sua alta persistência no meio ambiente, principalmente em sedimentos (JABLONOWSKI; SCHÄFFER; BURAUUEL, 2011). Por conseguinte, os organismos bentônicos podem estar sujeitos a uma exposição de longo prazo a níveis baixos/moderados de atrazina, juntamente com exposições agudas episódicas a altas concentrações.

As concentrações ambientais de atrazina em sistemas aquáticos estão normalmente na faixa de  $\mu\text{g/L}$  ou inferior (GRAYMORE; STAGNITTI; ALLINSON, 2001; DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2020), níveis que demonstraram causar efeitos adversos a uma variedade de organismos aquáticos pertencentes a diferentes níveis tróficos. A atrazina e outras triazinas afetam a própria base de muitas cadeias alimentares, ou seja, os produtores primários, bem como seus pastadores e os predadores desses pastadores. Triazinas em concentrações tão baixas quanto  $0,001 \text{ mg/L}$  (DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2020) a  $0,0039 \text{ mg/L}$  (VONK; KRAAK, 2020) podem impactar negativamente o fitoplâncton interferindo na sua fotossíntese e metabolismo de carbono (YANG *et al.*, 2019). O fitoplâncton exposto à atrazina, por sua vez, teve mais efeitos adversos sobre a viabilidade da descendência em *Daphnia magna* do que a exposição direta do cladóceros a este contaminante (RELIGIA *et al.*, 2019), demonstrando que a atrazina se acumula em produtores primários e é provável que seja transferida pela bioacumulação através da cadeia alimentar. Mas os efeitos de toxicidade direta sobre herbívoros e predadores também são proeminentes: o copépode *Robertsonia propinqua* e os cladóceros de água doce *Daphnia pulicaria* e *Pseudosida ramosa* tiveram uma sobrevivência juvenil reduzida (a  $1,5 \text{ mg/L}$  de atrazina; 96 h de exposição; HACK *et al.*, 2008), uma mudança

na proporção sexual (em concentrações de atrazina de 0,005 a 0,01 mg/L; exposição de 72 h; DODSON *et al.*, 2009) e uma diminuição na fertilidade e fecundidade (0,8 a 3,2 mg/L) em experimentos de longo prazo, após exposição à atrazina nas concentrações mencionadas (FREITAS; ROCHA, 2010). Mais acima na cadeia alimentar, a fecundidade dos caranguejos foi impactada negativamente após 96 h de exposição e o desenvolvimento de peixes (medaka japonesa) retardado em concentrações  $\leq 0,01$  mg/L em exposição de longo prazo (ALVAREZ; FUIMAN, 2005; PAPOULIAS *et al.*, 2014). Entre outros mecanismos potenciais de toxicidade, a atrazina pode causar disrupção endócrina em concentrações tão baixas quanto 0,0025 mg/L (HAYES *et al.*, 2010) e uma diminuição na produção total de ovos de 0,005 a 0,5 mg/L (PAPOULIAS *et al.*, 2014) em organismos modelos vertebrados.

Comunidades de nematoides são consideradas bons indicadores de efeitos de contaminantes em solos e sedimentos por causa de sua ubiquidade, alta abundância, diversidade local e sensibilidade a vários contaminantes, juntamente com sua incapacidade de escapar de perturbações locais (BONGERS; FERRIS, 1999; HÖSS; WILLIAMS, 2009; PEN-MOURATOV; SHUKUROV; STEINBERGER, 2010; MONTEIRO *et al.*, 2014). Como consequência, uma infinidade de estudos monitorou os impactos dos distúrbios ambientais, avaliando mudanças na composição da comunidade de nematoides. Testes ecotoxicológicos com espécies-modelo em condições laboratoriais controladas podem fornecer informações importantes para complementar tal monitoramento em nível de comunidade, permitindo uma avaliação mais rápida dos efeitos de potenciais estressores, assim como também o estabelecimento das relações de concentração-resposta para aumentar a compreensão sobre o modo de ação dos contaminantes (KAMMENGA *et al.*, 1996; COOPER *et al.*, 2007; HÖSS; WELTJE, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2018b). As espécies modelo comumente usadas em testes de toxicidade com nematoides incluem *C. elegans* (LEUNG *et al.*, 2008; HÖSS; SCHLOTTMANN; TRAUNSPURGER, 2011; HÖSS *et al.*, 2012) e espécies dos gêneros *Panagrellus*, *Plectus* e *Acrobeloides* para solos terrestres e águas doces (KAMMENGA *et al.*, 1996; SHERRY; SCOTT; DUTKA, 1997; HÖSS; WILLIAMS, 2009; MARTINEZ *et al.*, 2012). Em ambientes marinhos, a pesquisa sobre efeitos de contaminantes usou espécies modelo das famílias Monhysteridae e Rhabditidae (VRANKEN; VANDERHAEGHEN; HEIP, 1985; VRANKEN; TIRE; HEIP, 1988; LIRA *et al.*, 2011; SALEM *et al.*, 2016). Características atraentes de todas essas espécies incluem um curto tempo de geração, facilidade de cultivo e robustez para manipulação em laboratório (HÖSS; WILLIAMS, 2009).

O nematoide de vida-livre *Litoditis marina* é cosmopolita e pertence a família Rhabditidae, sendo composta por um complexo de espécies que consiste em pelo menos 10 espécies crípticas (DERYCKE *et al.*, 2008); são organismos bacterívoros e abundam em habitats organicamente enriquecidos, como depósitos de macroalgas em decomposição (MOENS; VINCX, 2000a). As diferentes espécies crípticas frequentemente exibem respostas ligeiramente diferentes às variações ambientais, por exemplo: temperatura e salinidade (DE MEESTER *et al.*, 2011, 2015) e contaminantes como metais pesados e frações de óleo solúvel em água (LIRA *et al.*, 2011; MONTEIRO *et al.*, 2018a, 2018b). Embora os últimos estudos tenham sugerido que *L. marina* pode ser um candidato a modelo adequado de nematoide usado para avaliar a contaminação de sedimentos em habitats estuarinos/marinhos, uma combinação de características de história de vida e respostas em nível de população usadas como parâmetros nos estudos citados, exige muito trabalho e pode, portanto, ser um fator limitante no design do teste (ou seja, número de tratamentos e repetições). Além disso, uma avaliação adequada da robustez desses parâmetros para testes de toxicidade com *L. marina* se beneficiaria muito de estudos com diferentes tipos de contaminantes.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi explorar ainda mais a adequação do nematoide *L. marina* PmIII como uma espécie modelo em estudos ecotoxicológicos, proporcionando um teste sensível e fácil de usar, através de um organismo modelo que representa um filo com importantes características funcionais e papéis estruturais em ecossistemas bentônicos estuarinos e marinhos (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). O herbicida atrazina foi selecionado como contaminante por ser um pesticida de grande preocupação ambiental e um dos herbicidas mais usados em todo o mundo. Testes de toxicidade de curto prazo foram conduzidos para avaliar: 1) concentrações de efeito letal em função do tempo de exposição e 2) concentrações subletais para determinar de forma mais abrangente as diferenças na robustez e sensibilidade em variáveis de resposta, incluindo características de história de vida (fecundidade, tempo de deposição de ovos, tempo de desenvolvimento embrionário e pós-embrionário) e parâmetros em nível de população (abundância de ovos, juvenis, adultos e proporção sexual).

### 3.1.2 Materiais e métodos

#### 3.1.2.1 Cultivo dos nematoides

Uma cultura laboratorial de *L. marina* PmIII foi estabelecida a partir de uma única fêmea grávida do pântano salgado de Paulina no alcance polialino do estuário Schelde, sudoeste da Holanda (51°21' N, 3°49' E). A cultura contém várias cepas bacterianas não identificadas que provavelmente se originam do habitat do nematoide e que servem como alimento. O meio de cultura consistiu de uma mistura de bacto-ágar e ágar nutriente (proporção B:N de 4:1) na concentração final de 1%, preparado em água do mar artificial (ASW) com salinidade de 25 (MOENS; VINCX, 1998). O pH do ágar foi tamponado a 7,5 - 8,0 usando TRIS-HCl a uma concentração final de 0,005 mol/L. Placas de Petri (Lisa em poliestireno com medidas de 90 x 15 mm) foram preenchidas com 12 mL do meio de cultura. Como alimento aos nematoides no meio de cultivo, foram adicionados 50 µL de uma suspensão da bactéria *Escherichia coli* K12 com densidade celular de  $3 \times 10^9$ /mL, pois essa concentração dispõe melhores condições para o crescimento populacional de nematoides (DOS SANTOS *et al.*, 2008). Cada placa de Petri foi selada com ParaFilm e armazenada em uma incubadora a 18 °C (variação: 17 a 19 °C) no escuro. Posteriormente subculturas foram preparadas a cada 15 dias pela transferência de cinco machos e cinco fêmeas (adultos) para novas placas de Petri contendo meio de ágar fresco e comida.

#### 3.1.2.2 Preparação das concentrações de atrazina

O herbicida Herbitrin 500 BR (ADAMA Br S/A), que contém 500.000 mg/L do princípio ativo (atrazina), foi utilizado em todos os testes de toxicidade. Uma solução estoque de 50.000 mg/L foi preparada em água destilada, e diluições seriadas foram feitas para preparar cinco concentrações para o teste letal, variando de 10 a 1.000 mg/L e outras cinco concentrações para o teste subletal, variando de 5 a 80 mg/L. Quando 0,1 mL destas concentrações foram homogeneizadas com 4,9 mL de ágar, as concentrações finais obtidas nas placas para o teste letal variaram de 0,2 a 20 mg/L, já para o teste subletal variaram de 0,1 a 1,6 mg/L.

#### 3.1.2.3 Testes de toxicidade da atrazina

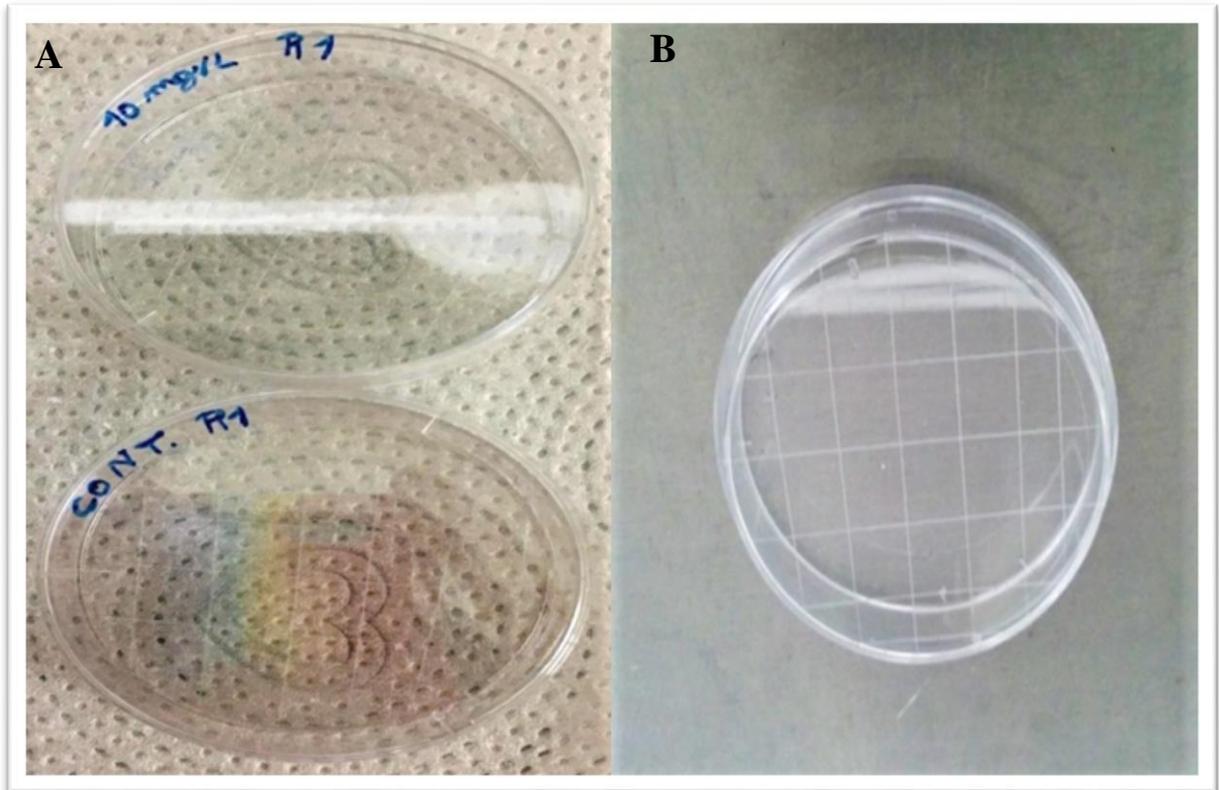
##### 3.1.2.3.1 Avaliação dos efeitos letais

Os nematoides foram expostos a concentrações de atrazina de 0,2; 1,0; 2,0; 10 e 20 mg/L, escolhidas para abranger uma faixa de efeito entre 0% a 100% de mortalidade

(SOLOMON *et al.*, 1996). O experimento foi realizado em placas de Petri (60 x 15 mm) na qual foram identificadas e tracejadas no fundo (Figura 3A e 3B) para facilitar a contagem dos indivíduos; posteriormente foram adicionados 5 mL do meio bacto-ágar estéril 1% com salinidade e valores de pH iguais aos do meio de cultura, além disso foi realizada a adição de colesterol liquiform (100 µg/L) ao bacto-ágar após ser esterilizado, pois nematoides são incapazes de sintetizar esteroides quando sua única fonte de alimento são bactérias (VANFLETEREN, 1980). Em seguida, um volume de 100 µL das respectivas soluções de atrazina foi completamente misturado com 4,9 mL do meio ágar, exceto o controle. Três réplicas foram preparadas para cada tratamento das concentrações de atrazina e também para o controle. O alimento (*E. coli* K12) foi adicionado após o ágar ter solidificado e os nematoides terem sido inoculados nas placas. Não foram feitas mais adições alimentares durante as incubações/exposições experimentais. Embora seja incomum adicionar alimentos em testes letais, existem essencialmente duas rotas principais pelas quais os nematoides absorvem os poluentes: pela ingestão e pela cutícula (HOWELL, 1983; HÖSS; SCHLOTTMANN; TRAUNSPURGER, 2011; SÁVOLY *et al.*, 2013), portanto foi decidido incluir ambos nesse ensaio. A ingestão dos nematoides muitas vezes requer um estímulo na forma de partículas alimentares adequadas (PAPE *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2014), e é por isso que foi escolhido adicionar comida nos ensaios de efeito letal apenas no dia 0 do experimento.

Adultos móveis ( $50 \pm 2$ ) de *L. marina* PmIII (Figura 4) foram aleatoriamente (sem distinção de gênero) colhidos de culturas de estoque, lavados uma vez em ASW com uma salinidade de 25 e posteriormente inoculados nas placas experimentais. Nematoides vivos e mortos foram quantificados a cada 24 h por um período de 5 dias sob um estereomicroscópio. A duração de cinco dias foi um compromisso entre o objetivo de observar a mortalidade no maior tempo possível, e o fato de que após 5 dias os primeiros indivíduos que nasceram dentro das placas experimentais começariam a se tornar adultos. Portanto, em incubações após um período de 5 dias seria impossível reconhecer os animais de teste que foram inoculados inicialmente nas placas.

**Figura 3** – Placas de Petri identificadas (A) e tracejadas no fundo para facilitar as contagens dos nematoides (B).



**Figura 4** – Foto de uma lâmina, mostrando três indivíduos adultos da espécie *Litoditis marina* PmIII. A seta preta sinaliza a espícula do macho (órgão reprodutor).



### 3.1.2.3.2 Avaliação dos efeitos subletais

O desenho experimental, os meios de cultura e as condições de incubação para avaliação dos efeitos subletais da atrazina seguiram o mesmo protocolo do teste de letalidade, exceto para as concentrações de teste (0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 mg/L) e número de organismos inoculados por réplica (6 machos e 6 fêmeas). A escolha das concentrações subletais foram baseadas no resultado do experimento da CL50 e de um experimento piloto que foi realizado para obter uma primeira ideia sobre as concentrações que poderiam produzir efeitos subletais. As observações e contagens de diferentes estágios de vida foram realizadas a cada 24 h por 10 dias, fornecendo os dados de entrada para avaliar os efeitos imediatos da exposição da atrazina na história dos traços de vida, sendo esses: fecundidade (Fd), tempo de deposição de ovos (EggDepT), tempo de desenvolvimento embrionário (EDT), tempo de desenvolvimento pós-embrionário (PDT) e tempo de desenvolvimento total (TDT), e nas seguintes respostas em nível de população: abundância de ovos, juvenis, adultos, total (= todos os estágios de vida vermiforme do nematoides), bem como a proporção sexual de adultos.

Fecundidade foi o número de descendentes produzidos por fêmea da geração parental (F0) durante o intervalo do início do experimento até a maturação de sua primeira progênie em adultos. O tempo de deposição dos ovos (EggDepT) foi o tempo entre a inoculação dos adultos F0 e a deposição dos ovos, sendo calculado como a intercepção do eixo X das regressões da abundância de ovos ao longo do tempo durante os primeiros 4 dias de incubação. O tempo de desenvolvimento embrionário (EDT) foi o tempo desde a deposição do ovo até a eclosão dos ovos, e foi calculado como a diferença entre as intercepções do eixo X das regressões do número de ovos e juvenis ao longo do tempo. Da mesma forma, o tempo de desenvolvimento pós-embrionário (PDT) foi a diferença entre as intercepções do eixo X das regressões das abundâncias de jovens e adultos ao longo do tempo. O tempo total de desenvolvimento (TDT) foi a soma do tempo de desenvolvimento embrionário e pós-embrionário. A razão sexual foi calculada como o número médio de fêmeas adultas dividido pelo número médio de machos adultos da geração F1 (a primeira geração filial, isto é, a progênie da geração parental) por réplica; valores de razão sexual  $< 1$  significam que a população é dominada por machos e o contrário ( $> 1$ ) a população é dominada por fêmeas (MOENS; VINCX, 2000b). Além disso, foi determinado a abundância máxima de ovos, juvenis, adultos e nematoides totais como uma indicação da capacidade de carga dos microcosmos.

#### 3.1.2.4 Análises estatísticas

A mortalidade em função do tempo de exposição foi traçada para as diferentes concentrações de atrazina usando o programa Sigmaplot V.12.5. Para determinar se as diferentes concentrações de atrazina afetaram significativamente a mortalidade dos nematoides, foi realizada a análise do Modelo Linear Misto Geral (GLMM) sob uma ANOVA de medidas repetidas com o teste post-hoc de Dunnett (usando o software STATISTICA 7). Além disso, foi usado a análise probit (FINNEY, 1952) no Microsoft Excel 2016 para estimar a concentração de atrazina que causou letalidade de 20% e 50% da população (CL20 e CL50, respectivamente) (GAD, 2014) durante o tempo total experimental (5 dias). Os valores CL20 e CL50 expressos na seção de resultados são os valores médios obtidos nas repetições.

As diferenças nas características de história de vida e parâmetros populacionais entre os tratamentos foram analisadas usando ANOVA paramétrica de uma via; dados sobre fecundidade, EggDepT, EDT, PDT, TDT, razão sexual e abundância máxima de ovos foram transformados em raiz quadrada e dados sobre abundância máxima de juvenis e abundância total máxima foram transformados em raiz quarta para ajustar-se aos pressupostos de distribuição normal dos dados e homogeneidade das variações. As comparações dos pares posteriores entre os tratamentos e o controle foram analisadas usando o teste de Dunnett para o experimento de efeitos letais.

As concentrações de efeito a 20% e 50% (EC20 e EC50, respectivamente) foram calculadas para todas as características de história de vida e parâmetros populacionais. Para isso, foi traçado curvas do modelo logístico com os valores percentuais de inibição obtidos para todas as concentrações de atrazina (0,1 a 1,6 mg/L) e tratamento controle. As curvas do modelo foram então testadas para o melhor ajuste dos valores ( $R > 90\%$ ), e a equação de cada curva permitiu determinar as concentrações de atrazina que causaram efeitos em 20% e 50% da população, para cada uma das características do histórico de vida e parâmetros populacionais analisados aqui. Todas as análises foram feitas usando Sigmaplot 12.5.

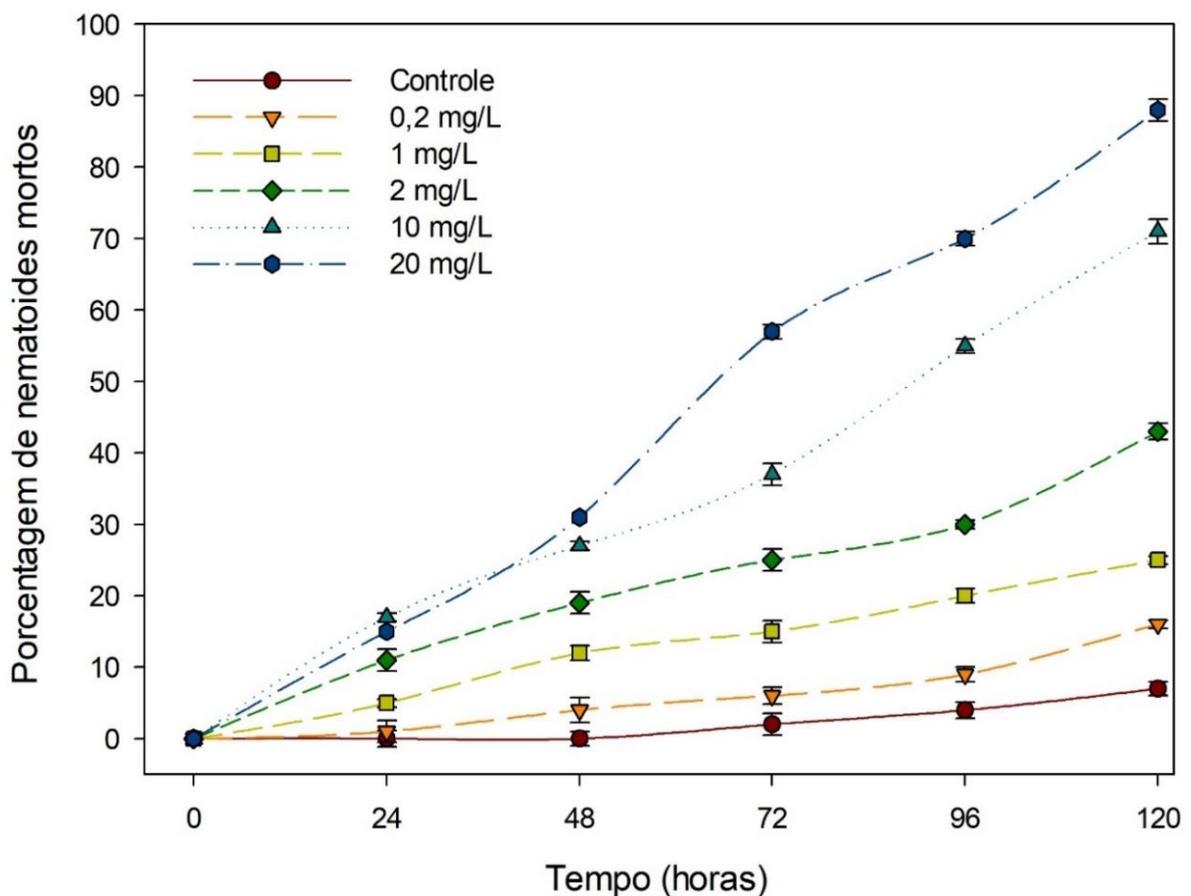
### 3.1.3 Resultados

#### 3.1.3.1 Efeitos letais da atrazina em *L. marina* PmIII

A mortalidade de *L. marina* foi significativamente dependente da concentração de atrazina ( $F = 671$ ;  $p < 0,0001$ ), tempo de exposição ( $F = 677$ ;  $p < 0,0001$ ) e da interação desses dois fatores ( $F = 72$ ;  $p < 0,0001$ ). A mortalidade após 5 dias excedeu 70% nas concentrações

de atrazina de 10 e 20 mg/L, e 40% a 2 mg/L (Figura 5). Todas as concentrações de atrazina produziram uma mortalidade de nematoides significativamente maior do que o controle sem atrazina ( $p \leq 0,0057$ ). A CL50 após 5 dias de exposição foi de  $3,3 \pm 0,5$  mg/L, sendo vinte vezes menor do que a CL50 após 2 dias ( $72,30$  mg/L  $\pm 7,26$ ) e também menor que a metade da CL50 após 4 dias ( $7,73$  mg/L  $\pm 0,30$ ) (Tabela 1). A dependência do tempo de exposição da CL50 ( $F = 21,46$ ;  $p < 0,00005$ ) e CL20 ( $F = 28,95$ ;  $p < 0,00005$ ) foi altamente significativa, mas foi consideravelmente mais pronunciada para a CL50 do que para a CL20 (Tabela 1).

**Figura 5** – Mortalidade média de nematoides (média  $\pm$  erro padrão de três repetições por tratamento) após a exposição de *Litoditis marina* PmIII a diferentes concentrações de atrazina em função do tempo de exposição.



**Tabela 1** – Concentrações de efeito letal do herbicida atrazina que causou mortalidade de 20% (CL20) ou 50% (CL50) em *Litoditis marina* PmIII. Os dados são médias  $\pm$  erro padrão de três repetições por tratamento. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

Tempo	CL20 $\pm$ EP	CL50 $\pm$ EP
24 h	$7,89 \pm 2,39^a$	$116,72 \pm 86,43^a$

<b>48 h</b>	4,19 ± 0,18 <sup>a, b</sup>	72,30 ± 7,26 <sup>a, b</sup>
<b>72 h</b>	2,08 ± 0,04 <sup>b, c</sup>	16,47 ± 1,27 <sup>b, c</sup>
<b>96 h</b>	1,27 ± 0,04 <sup>c, d</sup>	7,73 ± 0,30 <sup>c</sup>
<b>120 h</b>	0,70 ± 0,07 <sup>d</sup>	3,33 ± 0,31 <sup>c</sup>

### 3.1.3.2 Efeitos subletais da atrazina em *L. marina* PmIII

A Fd (fecundidade) foi significativamente afetada pelas concentrações de atrazina ( $F = 49,55$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabela 2). Sendo o menor valor ( $12,44 \pm 0,64$ ) no tratamento com atrazina de 1,6 mg/L, diferindo significativamente do controle ( $p \leq 0,001$ ) (Tabela 2). Além disso, uma redução significativa da fecundidade em relação ao controle também foi observada para os tratamentos com 0,4 e 0,8 mg/L de atrazina ( $p \leq 0,005$ ). Por outro lado, a fecundidade nas duas concentrações mais baixas de atrazina (0,1 e 0,2 mg/L) foram maiores do que o controle, porém não excedeu significativamente o mesmo, isto sugere que a atrazina em baixas concentrações beneficiou a fecundidade de *L. marina* PmIII, enquanto em concentrações mais altas este parâmetro foi prejudicado pelo herbicida.

O EggDepT (tempo de deposição dos ovos) foi afetado pela atrazina ( $F = 8,41$ ;  $p < 0,001$ ); a maior concentração causou um atraso significativo neste parâmetro ( $p = 0,002$ ) em comparação com o controle. Por outro lado, EggDepT não foi afetado pelas concentrações de atrazina nos valores de 0,1 a 0,8 mg/L ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2** – Características da história de vida de *Litoditis marina* PmIII exposta a diferentes concentrações de atrazina. São mostrados a média e o erro padrão de três repetições por tratamento. Aqui é apresentado: Fecundidade (número de descendentes F1 por fêmea até a maturidade sexual de F1); tempos de desenvolvimento (todos expressos em dia): Tempo de Deposição de Ovos (EggDepT), Tempo de Desenvolvimento Embrionário (EDT), Tempo de Desenvolvimento Pós-embrionário (PDT) e Tempo de desenvolvimento total (TDT). Os asteriscos próximos aos valores dos parâmetros indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle ( $p < 0,05$ ).

<b>Tratamento</b>	<b>Fd</b>	<b>EggDepT</b>	<b>EDT</b>	<b>PDT</b>	<b>TDT</b>
<b>Controle</b>	147,17 ± 14,31	1,40 ± 0,05	1,03 ± 0,12	4,90 ± 0,21	5,93 ± 0,12
<b>0,1 mg/L</b>	178,66 ± 16,35	1,40 ± 0,05	1,10 ± 0,06	4,53 ± 0,12	5,63 ± 0,07
<b>0,2 mg/L</b>	181,66 ± 11,71	1,50 ± 0,0	0,90 ± 0,12	5,03 ± 0,09	5,93 ± 0,19
<b>0,4 mg/L</b>	80,18 ± 13,20*	1,23 ± 0,03	1,30 ± 0,12	4,70 ± 0,47	6,00 ± 0,21

<b>0,8 mg/L</b>	69,11 ± 9,49*	1,93 ± 0,13	0,63 ± 0,09*	5,80 ± 0,26	6,43 ± 0,19
<b>1,6 mg/L</b>	12,44 ± 0,64*	2,66 ± 0,46*	1,33 ± 0,19	7,00 ± 0,53*	8,33 ± 0,38*

A concentração de atrazina também afetou significativamente o EDT (tempo de desenvolvimento embrionário) ( $F = 5,35$ ;  $p = 0,008$ ). A única diferença significativa foi entre 0,8 mg/L de atrazina (menor EDT;  $0,63 \pm 0,09$  dias) e o controle ( $1,03 \pm 0,12$  dias) ( $p < 0,05$ ). O EDT comparativamente curto a 0,8 mg/L de atrazina ( $0,63 \pm 0,09$  dias) pode compensar o segundo EggDepT mais longo encontrado ( $1,93 \pm 0,13$  dias) nesta mesma concentração de atrazina (Tabela 2). Todas as demais concentrações de atrazina apresentaram valores de EDT superiores a concentração de 0,8 mg/L, porém não foram observadas diferenças significativas com o controle ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

Foi observado um efeito significativo da atrazina no PDT (tempo de desenvolvimento pós-embrionário) ( $F = 8,07$ ;  $p = 0,0015$ ), semelhante ao do TDT (tempo de desenvolvimento total) ( $F = 15,86$ ;  $p < 0,0001$ ). A maior concentração de atrazina testada (1,6 mg/L) rendeu o maior PDT ( $7,00 \pm 0,53$  dias) e TDT ( $8,33 \pm 0,38$  dias) de PmIII, com tempos de desenvolvimento significativamente mais longos quando comparados ao controle ( $4,90 \pm 0,21$  dias e  $5,93 \pm 0,12$  dias, respectivamente;  $p < 0,003$ ). Nenhuma das concentrações mais baixas de atrazina produziu um PDT e TDT que fosse significativamente diferente do controle ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

Os parâmetros populacionais de *L. marina* PmIII diferiram entre os tratamentos (Tabela 3). O número de ovos foi significativamente reduzido no tratamento com 1,6 mg/L de atrazina ( $p = 0,009$ ), onde a abundância máxima de ovos alcançada ( $69,00 \pm 22,50$ ) foi sete vezes menor e ademais atrasada em 72 h em relação ao controle (Tabela 3; Figura 6A). Além disso, as abundâncias de nematoides juvenis, adultos e totais também sofreram reduções significativas ( $p \leq 0,05$ ) nos tratamentos com 0,8 e 1,6 mg/L de atrazina quando comparados com o controle (Tabela 3; Figura 6B, 6C e 6D). A abundância populacional total máxima também foi atrasada por 48 h em comparação com o controle (Tabela 3).

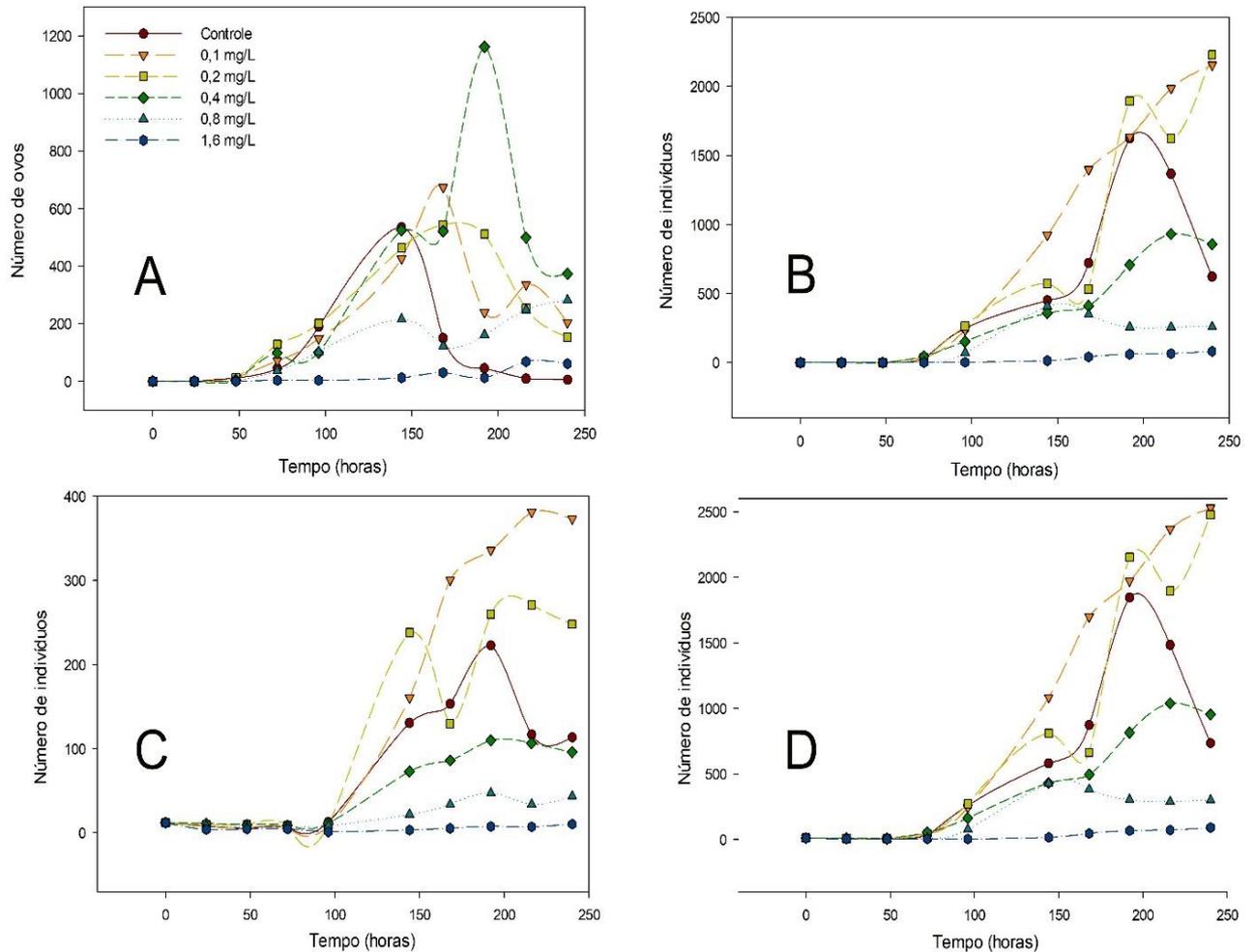
Surpreendentemente, na segunda maior concentração de atrazina (0,8 mg/L), as abundâncias máximas de juvenis e totais de nematoides foram obtidas 48 h antes do controle. Embora os tratamentos com 0,1; 0,2 e 0,4 mg/L de atrazina tenham apresentado abundâncias máximas de nematoides superiores ao tratamento controle (exceto abundância juvenil máxima

e total com 0,4 mg/L de atrazina), essas diferenças não foram significativas ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3** – Abundâncias populacionais máximas de *Litoditis marina* PmIII em função das diferentes concentrações de atrazina. O tempo indica o momento em que as abundâncias máximas foram atingidas. Médias  $\pm$  erros padrão foram obtidas das repetições de cada tratamento e os asteriscos indicam diferenças significativas com o controle ( $p < 0,05$ ).

Tratamento	Máxima abundância de ovos	Tempo (h)	Máxima abundância de juvenis	Tempo (h)	Máxima abundância de adultos	Tempo (h)	Máxima abundância total de nematoides	Tempo (h)
<b>Controle</b>	535,67 $\pm$ 255,30	144	1.622,67 $\pm$ 395,92	192	222,67 $\pm$ 22,58	192	1.845,33 $\pm$ 377,51	192
<b>0,1 mg/L</b>	674,00 $\pm$ 116,26	168	2.156,00 $\pm$ 615,80	240	381,33 $\pm$ 42,35	216	2.529,30 $\pm$ 719,38	240
<b>0,2 mg/L</b>	543,33 $\pm$ 73,56	168	2.229,33 $\pm$ 670,34	240	270,67 $\pm$ 90,22	216	2.477,30 $\pm$ 717,13	240
<b>0,4 mg/L</b>	1.161,33 $\pm$ 288,90	192	932,00 $\pm$ 150,87	216	110,00 $\pm$ 20,82	192	1.038,70 $\pm$ 159,38	216
<b>0,8 mg/L</b>	281,33 $\pm$ 61,98	240	407,67 $\pm$ 154,43*	144	47,33 $\pm$ 6,96*	192	429,67 $\pm$ 159,32*	144
<b>1,6 mg/L</b>	69,00 $\pm$ 22,50*	216	81,67 $\pm$ 16,90*	240	10,33 $\pm$ 5,46*	240	92 $\pm$ 2,63*	240

**Figura 6** – Variação média da abundância da população de *Litoditis marina* PmIII ao longo do tempo (em horas) nas diferentes concentrações de atrazina 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 mg/L: (A) ovos, (B) juvenis, (C) adultos, (D) população total.



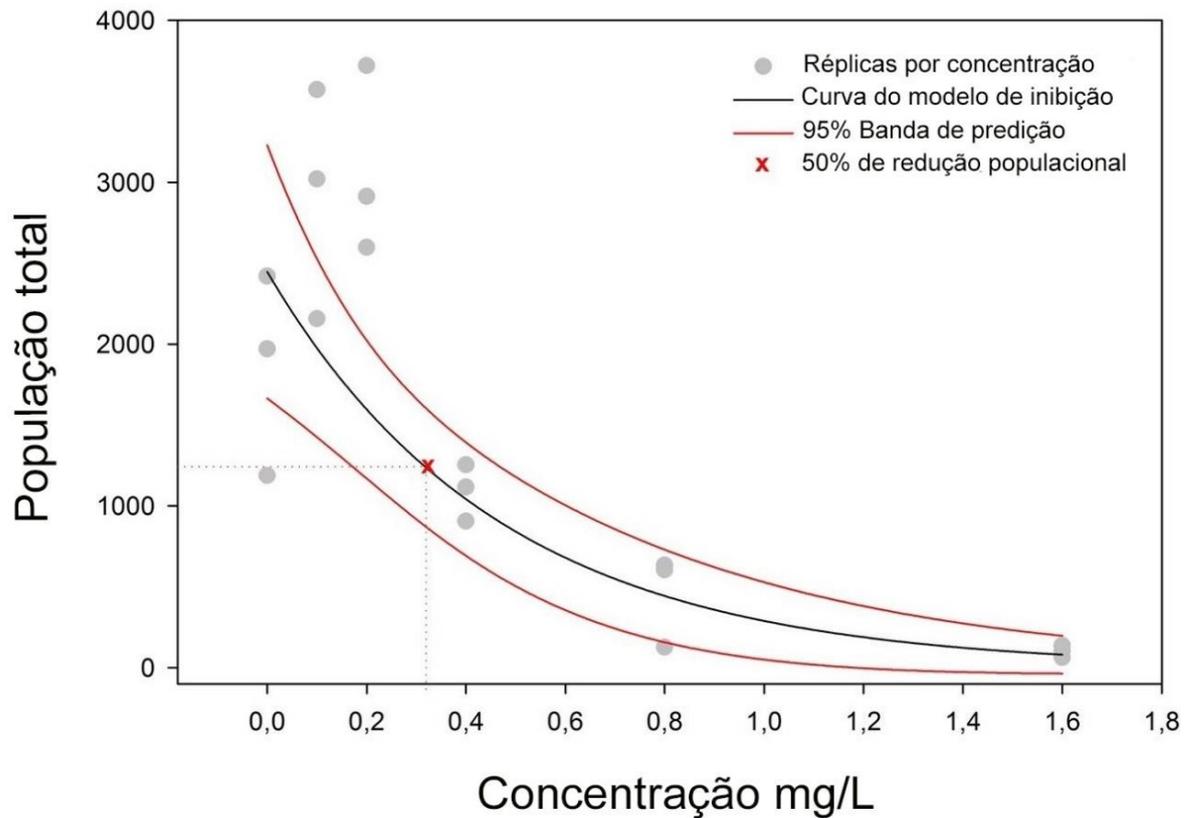
As concentrações de efeito estimadas que causaram uma mudança de 50% (CE50) nas características da história de vida ou abundância da população variaram de 0,29 mg/L para abundância máxima em adultos a 1,81 mg/L para TDT. As concentrações que causaram uma mudança de 20% (CE20) variaram de 0,16 mg/L para abundância máxima em adultos a 0,64 mg/L para TDT (Tabela 4). Em geral, fecundidade e abundância populacional mostraram-se características consideravelmente mais sensíveis do que os diferentes tempos de desenvolvimento.

**Tabela 4** – Concentrações de efeito (média  $\pm$  erro padrão; em mg/L) de atrazina que causaram uma mudança de 20% (CE20) ou 50% (CE50) nas características de história de vida e parâmetros populacionais do nematoide marinho *Litoditis marina* PmIII, no experimento de exposição de 10 dias. Para uma descrição dos parâmetros e como eles foram determinados, consulte as seções 3.1.2.3.2 e 3.1.2.4.

<b>Parâmetros</b>	<b>CE20 (mg/L)</b>	<b>CE50 (mg/L)</b>
<b>Fd</b>	0,20 $\pm$ 0,04	0,46 $\pm$ 0,06
<b>EggDepT</b>	0,37 $\pm$ 0,17	1,07 $\pm$ 0,59
<b>EDT</b>	0,41 $\pm$ 0,18	1,35 $\pm$ 0,63
<b>PDT</b>	0,48 $\pm$ 0,16	1,51 $\pm$ 0,71
<b>TDT</b>	0,64 $\pm$ 0,19	1,81 $\pm$ 0,52
<b>Máxima abundância de juvenis</b>	0,19 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,66
<b>Máxima abundância de adultos</b>	0,16 $\pm$ 0,06	0,29 $\pm$ 0,01
<b>Máxima abundância total de nematoides</b>	0,19 $\pm$ 0,03	0,32 $\pm$ 0,03

Uma regressão exponencial do aumento da população (calculada como a soma dos incrementos diários na abundância da população ao longo de toda a duração do experimento, ou seja, 10 dias) vs concentração de atrazina, permitiu estimar que uma inibição de 50% do crescimento da população é esperada em uma concentração de atrazina de 0,325 mg/L (Figura 7).

**Figura 7** – Regressão de decaimento exponencial da população de *Litoditis marina* PmIII vs concentração de atrazina. O "X" vermelho é a estimativa do modelo da concentração de atrazina que produziria uma inibição do aumento da população em 50%.



A proporção sexual da primeira geração filial (F1) foi tendenciosa para mulheres no controle e na maioria dos tratamentos com atrazina, conforme indicado por proporções sexuais bem acima de 1. Apenas a concentração mais alta de atrazina (1,6 mg/L) desviou significativamente desta tendência ( $p = 0,004$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5** – Razão sexual de *Litoditis marina* PmIII (calculada como o número médio de mulheres dividido pelo número médio de homens) em diferentes concentrações de atrazina. Os tratamentos marcados com asterisco foram significativamente diferentes do controle ( $p < 0,05$ ). Os dados são médias  $\pm$  erro padrão de três repetições por tratamento.

Tratamento	Proporção sexual
Controle	1,497 $\pm$ 0,129
0,1 mg/L	1,667 $\pm$ 0,060

0,2 mg/L	1,626 ± 0,012
0,4 mg/L	1,307 ± 0,083
0,8 mg/L	1,406 ± 0,148
1,6 mg/L	0,942 ± 0,080*

---

### 3.1.4 Discussão

Um dos objetivos das políticas ambientais é a conservação e manejo de áreas que proporcionem boas condições para uma grande diversidade de espécies. Os nematoides são indicadores potencialmente úteis para definir prioridades de manejo em habitats valiosos porque reagem rapidamente às perturbações ambientais, refletindo assim os impactos que atuam sobre esses ecossistemas (BONGERS; FERRIS, 1999). Além disso, eles estão envolvidos em processos essenciais do ecossistema como: decomposição de matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, transferência trófica de produtores primários e decompositores para níveis tróficos mais elevados (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018).

#### 3.1.4.1 Efeitos das concentrações letais da atrazina sobre *L. marina* PmIII

Membros da família Rhabditidae, à qual pertence *L. marina*, são comumente considerados como altamente tolerantes à poluição e vários outros tipos de distúrbios, sendo essa um atributo que pode estar relacionada com características de sua história de vida (BONGERS; FERRIS, 1999; LIRA *et al.*, 2011; HEATON *et al.*, 2020). No entanto, estudos argumentaram contra uma relação próxima entre história de vida e sensibilidade à poluição, bem como demonstraram que Rhabditidae não estão necessariamente entre os nematoides mais tolerantes (KAMMENGA; VAN GESTEL; BAKKER, 1994; MONTEIRO *et al.*, 2018a). Como exemplo, as espécies crípticas de *Litoditis marina* PmIII exibiram uma sensibilidade relativamente alta a compostos orgânicos de um óleo que são solúveis em água (MONTEIRO *et al.*, 2018a). Aqui, demonstramos que *L. marina* PmIII foi tão sensível ou até mais sensível do que outras espécies modelo aquáticas ao herbicida atrazina. Para comparação, primeiro foi averiguado os valores de CL50 de 24 e 48 h, porque a maioria dos estudos de efeito letal com outras espécies aquáticas usaram tempos de incubação curtos. A CL50 de *L. marina* PmIII foi a metade da CL50 do Cladocera *Daphnia magna* após 24 h, embora seja semelhante após uma

exposição de 48 h (WAN *et al.*, 2006). A CL50 de 96 h de *L. marina* PmIII foi a metade da CL50 do Amphipoda *Hyaella azteca* (WAN *et al.*, 2006) e mais de quatro vezes menor do que a do Copépode *Robertsonia propinqua* (HACK *et al.*, 2008). Além disso foi: 1,7; 2,7 e 3,8 vezes menor do que os valores da CL50 do caranguejo *Carcinus maenas* (PORTMANN; WILSON, 1971), Copépode *Quinquelaophonte* sp. (STRINGER *et al.*, 2012) e caranguejo *Uca pugilator*, respectivamente (WARD; BALLANTINE, 1985).

Em contraste, a CL50 de 48 h (72 mg/L) de *L. marina* PmIII excedeu ligeiramente a do Cladocera *D. carinata* (CL50 = 60 mg/L) (HE *et al.*, 2012). Em geral, esses resultados sugerem que *L. marina* PmIII é mais sensível ao modo de ação da atrazina e/ou tem mecanismos de desintoxicação menos eficientes que os crustáceos aquáticos. A atrazina é um desregulador endócrino (VANDENBERG *et al.*, 2012) que afeta a expressão de uma série de genes em nematoides rhabditídeos (GARCÍA-ESPIÑEIRA; TEJEDA-BENITEZ; OLIVERO-VERBEL, 2018), entre os quais são: genes ligados ao neurodesenvolvimento (MCVEY *et al.*, 2016), estresse oxidativo (BACK *et al.*, 2010) e expressão de proteínas de choque térmico (ANBALAGAN *et al.*, 2013).

Enquanto a maioria dos estudos que apresentam valores de CL50 o fazem com base em tempos de incubação relativamente curtos (24, 48 ou no máximo 96 h) (WAN *et al.*, 2006; HACK *et al.*, 2008; FREITAS; ROCHA, 2010; HE *et al.*, 2012), neste trabalho foi estendido o tempo de exposição do organismo modelo *L. marina* PmIII para 120 h. A dependência do tempo de exposição da CL50 da atrazina a *L. marina* PmIII foi altamente pronunciada e continuou ao longo de todo o período de teste (5 dias). A CL50 após 48 h de exposição à atrazina foi cerca de 22 vezes maior do que após 5 dias de exposição; em seguida a esse tempo de exposição, a CL50 obtida foi menor que a metade do valor encontrado após 4 dias, enfatizando a importância de um tempo de exposição suficientemente longo para determinar a verdadeira sensibilidade de uma espécie a um contaminante. Curiosamente, enquanto a CL20 da atrazina também diminuiu continuamente com o tempo de exposição, a expressão desse declínio foi menor quando comparado a CL50; os valores da CL20 em média caíram pouco menos de 50% por dia e no geral, a CL20 de 48 h foi 6 vezes maior do que após 120 h de exposição, em comparação com uma diferença de 22 vezes maior para a CL50 neste mesmo tempo.

Uma fonte potencial de viés ao comparar as concentrações de efeito entre as espécies é a sensibilidade diferencial dos diferentes estágios de vida, como exemplo: náuplios do Copépode *R. propinqua* foram consideravelmente mais sensíveis à atrazina do que os adultos

(HACK *et al.*, 2008). Da mesma forma, foi sugerido que os dois primeiros estágios juvenis de nematoides exibem uma maior sensibilidade a diferentes contaminantes do que os adultos (KAMMENGA *et al.*, 1996), mas esse nem sempre é o caso e pode diferir entre os contaminantes (LIRA *et al.*, 2011). Dada a falta de conhecimento sobre o modo preciso de ação da atrazina em vários invertebrados, só é possível especular sobre as diferenças de sensibilidade específicas da idade.

#### 3.1.4.2 Respostas dos traços de história de vida e abundância populacional à atrazina

Nas duas menores concentrações subletais de atrazina avaliadas, o herbicida apresentou um efeito estimulante na máxima abundância total de nematoides, porém este efeito não obteve diferença estatística em relação ao controle (Tabela 3). Neste caso, a concentração de 0,1 mg/L a máxima abundância total cresceu em valores de (1,37x) e na concentração de 0,2 mg/L cresceu (1,34x) mais do que no controle. Aumentos também ocorreram nos valores de população total (Figura 6D) nas duas menores concentrações subletais de atrazina o que levanta uma possibilidade de haver um efeito de hormese, no qual concentrações subletais de substâncias tóxicas promovem uma adaptação do organismo a exposições subsequentes (indução de efeitos benéficos, como aumento do crescimento da população em baixas doses de agentes prejudiciais) (STEBBING, 1982; ZHAO; WANG, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2018a). Outra pesquisa realizada com atrazina sugeriu um efeito de hormese para o Amphipoda *Hyallolela azteca* (RALSTON-HOOPER *et al.*, 2010a, 2010b).

Além de seus efeitos na sobrevivência de *L. marina* PmIII, a atrazina também impactou negativamente a fecundidade e a abundância populacional e causou atraso na maturação em concentrações subletais. Em geral, a fecundidade, assim como as abundâncias máximas de *L. marina* PmIII, mostraram-se parâmetros consideravelmente mais sensíveis do que os diferentes tempos de desenvolvimento. Abundâncias máximas e fecundidade são características de população e história de vida bastante simples, respectivamente, que podem ser facilmente determinadas e requerem conhecimento especializado limitado, tornando-as variáveis de resposta particularmente adequadas para avaliação de risco ambiental para este organismo modelo. A resposta de *L. marina* PmIII perante à atrazina está de acordo com uma redução da abundância de insetos adultos aquáticos (HENRY; WESNER, 2018) e uma diminuição da fecundidade de Cladóceros (PALMA *et al.*, 2009b; FREITAS; ROCHA, 2010) no qual também foram expostos à atrazina.

Nas três concentrações subletais menores (0,1; 0,2 e 0,4 mg/L) o herbicida estimulou a postura de ovos, onde a espécie respondeu ao estresse com abundância crescente (r - estratégia) (BUTENKO *et al.*, 2017), aumentando o número de descendentes através da produção de mais ovos. Já nas maiores concentrações de atrazina (0,8 e 1,6 mg/L), houve uma queda no número de ovos colocados em relação ao controle (Figura 6A). Outros estudos também mostraram os efeitos da atrazina sobre a postura de ovos em diferentes organismos. Um macho e quatro fêmeas do peixe *Oryzias latipes* foram expostos a diferentes concentrações de atrazina (0,0005; 0,005 e 0,05 mg/L), e como resultado, a produção total de ovos foi menor em todos os grupos expostos à atrazina em comparação com os controles; os decréscimos na produção de ovos nos tratamentos com atrazina foram significativos no dia 24 de exposição (PAPOULIAS *et al.*, 2014). O caracol *Stagnicola elodes* apresentou baixa produção de ovos frente ao herbicida atrazina em concentrações de 0,03 e 0,1 mg/L (BAXTER *et al.*, 2011).

Em comparação com a fecundidade e abundância máxima de nematoides adultos, juvenis e totais, os diferentes tempos de desenvolvimento exibiram uma resposta menos sensível à atrazina. Além disso, esses tempos de desenvolvimento exibiram inconsistências, o que pode ser explicado pelas respostas parcialmente opostas observadas para o tempo de desenvolvimento embrionário e pós-embrionário. Uma vez que não foi determinado o tamanho dos juvenis J1 recém-eclodidos, não se pode excluir que uma eclosão mais rápida a 0,8 mg/L de atrazina resultou em J1 ligeiramente menor e menos desenvolvido, o que por sua vez poderia explicar seu tempo de desenvolvimento pós-embrionário um pouco mais longo. Da mesma forma, a atrazina retardou o desenvolvimento nos Copépodes *Eurytemora affinis* (FORGET-LERAY *et al.*, 2005) e *Tigriopus japonicas* (YOON *et al.*, 2019). Por outro lado, em *Drosophila melanogaster* as larvas puparam e metamorfosearam mais cedo quando expostas à atrazina (MARCUS; FIUMERA, 2016). No atual estudo, foi observado um aumento no tempo de desenvolvimento pós-embrionário em cerca de 40% para *L. marina* PmIII a 1,6 mg/L de atrazina, mas não em concentrações mais baixas. Efeitos semelhantes no tempo de desenvolvimento pós-embrionário e total foram observados para *L. marina* exposta a metais pesados (VRANKEN *et al.*, 1985; LIRA *et al.*, 2011). As abundâncias mais baixas de adultos com 0,8 e 1,6 mg/L (Figura 6C) de atrazina são provavelmente o resultado dos efeitos combinados de: efeitos induzidos pelo herbicida na fecundidade, mortalidade e maturação retardada em adultos.

### 3.1.4.3 Efeito da atrazina sobre o parâmetro de proporção sexual

Dada a sua atividade desreguladora endócrina (HAYES *et al.*, 2010), efeitos da atrazina na proporção sexual de invertebrados que foram expostos podem ser esperados. No presente estudo, mudança de uma população com tendência feminina para uma população quase equilibrada por gênero ocorreu apenas na concentração de atrazina subletal mais alta testada (1,6 mg/L), essa apresentando um maior número de machos na população. Razões sexuais moderadamente a fortemente enviesadas por fêmeas têm sido comumente observadas em populações de *L. marina* (DOS SANTOS *et al.*, 2008), e mudanças para populações adultas dominadas por machos podem ser indicativas de condições de estresse; tal mudança foi, por exemplo, observada em salinidades próximas aos extremos inferiores de sua faixa de tolerância (MOENS; VINCX, 2000a, 2000b). Se isso resulta de uma menor sensibilidade ao estresse em machos, de uma estratégia ecológica em favor dos machos ou de um efeito endócrino da atrazina, ainda não foi determinado. Um efeito da atrazina na proporção sexual semelhante ao de PmIII foi observado no Cladóceros *D. pulicaria* exposto a concentrações de atrazina entre 0,005 e 0,01 mg/L (DODSON *et al.*, 2009) e no Hymenoptera *Trichogramma bruni*, mas o oposto foi encontrado em *T. pretiosum* (LEITE *et al.*, 2015), demonstrando que os efeitos da atrazina na proporção sexual podem ser altamente específicos da espécie e dependentes do contexto.

### 3.1.4.4 Outros efeitos observados em *L. marina* PmIII devido à exposição pela atrazina

Foram observados alguns indivíduos de *Litoditis marina* PmIII apresentando deformidades (Figura 8) como: aumento da cutícula, faringe protuberante e caroços na região caudal. Esses indivíduos apareceram por volta do sexto dia nas placas contaminadas, principalmente na concentração de 1,6 mg/L, porém o que foi visualizado não foi avaliado estatisticamente. Também foi possível observar uma baixa motilidade dos indivíduos nas primeiras 24 h, ademais ao decorrer do experimento foi observado o aparecimento de ovos deformados na concentração subletal mais alta; estes efeitos também não foram analisados estatisticamente. Em relação à baixa motilidade e deformidades visualizadas em *L. marina* PmIII na concentração subletal mais alta (1,6 mg/L), outros estudos mostraram que a atrazina pode causar esses efeitos em diferentes organismos.

Um trabalho feito com concentrações de atrazina variando de 0 à 20 mg/L, expondo embriões, larvas e adultos de Anfíbios anuros em laboratório, mostrou que tratamentos com

atrazina não tiveram efeitos na velocidade de nado nas larvas de *Rana pipiens*. No entanto, houve um aumento dependente da dose nas larvas deformadas de todas as três espécies de Anura avaliadas (*Rana pipiens*, *Rana sylvatica* e *Bufo americanus*) com o aumento da concentração de atrazina (ALLRAN; KARASOV, 2001). Larvas do Anura *Physalaemus gracilis* foram submetidas à concentrações subletais de atrazina as quais não afetaram o desenvolvimento das larvas, mas foram observados efeitos sobre a mobilidade e aparecimento de malformações como: contrações espasmódicas, malformações na boca e no intestino. Na concentração de atrazina de 25 mg/L, ocorreu mobilidade reduzida em 10,5% das larvas e contrações espasmódicas foram observadas em 55,2% (RUTKOSKI *et al.*, 2018). A atrazina em uma concentração de 5 e 15 mg/L, causou várias anormalidades em larvas do caranguejo estuarino *Neohelice granulata*, incluindo hidrópsia, corpo hiperpigmentado e atrofia dos olhos (ÁLVAREZ *et al.*, 2015). Em outro trabalho foi observado um aumento de 88,4% nas anomalias dos ovos do caracol *Biomphalaria alexandrina* expostos à 0,33 mg/L de atrazina (BARKY *et al.*, 2012).

**Figura 8** – *Litoditis marina* PmIII expostos ao tratamento de 1,6 mg/L, apresentando deformidades (seta vermelha).



### 3.1.5 Conclusão

Na busca por espécies modelos adequadas que permitam testar efeitos letais e subletais de contaminantes em organismos bentônicos marinhos, sua facilidade de manuseio, curto tempo de geração e alta fecundidade tornam particularmente as espécies do complexo críptico de *L. marina* boas candidatas para avaliar os impactos ambientais. Além disso, o presente estudo

fornece mais evidências de que os nematoides rabditídeos não são excepcionalmente tolerantes a contaminantes. De fato, com base nas concentrações letais (CL), *L. marina* PmIII foi mais sensível à atrazina do que a maioria das outras espécies modelo de invertebrados aquáticos, principalmente crustáceos. Estas concentrações letais foram altamente dependentes do tempo de exposição ao longo do experimento de 5 dias. A atrazina também causou efeitos subletais em *L. marina* PmIII. Estes foram amplamente consistentes entre os diferentes traços de história de vida e parâmetros populacionais, mas a fecundidade e as abundâncias máximas de juvenis, adultos e população total de nematoides foram as variáveis de resposta mais sensíveis. Portanto, os efeitos subletais em *L. marina* podem ser avaliados de forma mais eficiente com base em uma combinação de fecundidade, abundância total de nematoides bem como de adultos, este último integrando o resultado combinado de fecundidade, tempo de desenvolvimento e sobrevivência. Sua facilidade de cultura e manuseio, assim como sua sensibilidade a vários contaminantes orgânicos e a possibilidade de combinar testes de efeitos letais e avaliação detalhada de respostas subletais, em uma variedade de características de história de vida e parâmetros populacionais durante um período de tempo razoavelmente curto, tornam *L. marina* PmIII uma espécie modelo promissora para avaliação de risco ecológico em águas marinhas e salobras. O presente trabalho sugere estudos posteriores para investigar deformações encontradas na maior concentração subletal testada, e também para averiguar a baixa mobilidade que foi apresentada nesta mesma concentração durante os primeiros dias de experimento. Também recomenda mais estudos utilizando diferentes variedades de agrotóxicos além da atrazina, utilizando outras espécies de nematoides ou organismos modelos, para averiguar os efeitos causados por esses contaminantes que acabam por afetar com bastante relevância diversos tipos de ambientes.

### 3.2 ARTIGO 2

AVALIAÇÃO DE CURTO PRAZO DOS EFEITOS LETAIS DA ATRAZINA EM DIFERENTES SALINIDADES PARA O NEMATOIDE *LITODITIS MARINA* (BASTIAN, 1865) SUDHAUS, 2011 (RHABDITIDA: RHABDITIDAE)

#### RESUMO

Os agrotóxicos organoclorados são amplamente utilizados em diferentes regiões do mundo, apesar de possuírem propriedades tóxicas para muitos organismos, inclusive humanos, e sua alta persistência em ambientes aquáticos e em sedimentos. O impacto dos agrotóxicos e suas interações com outros fatores ambientais como salinidade e temperatura, podem agravar a letalidade desses compostos. E sabendo que experimentos de curta duração são comumente usados para abordar os efeitos letais de compostos químicos em organismos marinhos, o presente estudo tem como objetivo investigar a influência da salinidade na toxicidade do herbicida atrazina, utilizando uma espécie críptica do nematoide de vida livre *Litoditis marina* como organismo modelo para testes de curta duração. Sua facilidade de cultivo, curto tempo de geração, alta fecundidade e além de poder viver em regiões estuarinas com variação de salinidade, fazem de *L. marina* um biomodelo adequado para avaliar possíveis efeitos derivados da interação salinidade-atrazina. Quatro salinidades (15, 20, 25 e 30) combinadas com cinco concentrações diferentes de atrazina (0,2; 1,0; 2,0; 10 e 20 mg/L) foram testadas em *L. marina* PmII para avaliar se os efeitos dessas interações aumentam ou reduzem a toxicidade letal do herbicida ao longo de 5 dias de exposição. Quatro réplicas foram preparadas para cada concentração de atrazina e para o controle. A mortalidade em função do tempo de exposição foi plotada para diferentes concentrações de atrazina; e para determinar se diferentes concentrações letais de atrazina afetaram significativamente a mortalidade do nematoide, foi realizada análise não paramétrica Permanova. Além disso, a análise probit foi usada para estimar CL20 e CL50. Como resultado, os valores das concentrações letais de atrazina para o nematoide *L. marina* PmII foram significativamente dependentes do tempo de exposição, da salinidade e da interação desses dois fatores. A CL50 do herbicida atrazina para *L. marina* PmII em 120 h de exposição na salinidade 15 foi de  $0,66 \pm 0,01$  mg/L, sendo 10,4 vezes menor que a CL50 de 120 h na salinidade 30 ( $6,88 \pm 0,64$  mg/L); a CL20 da atrazina para *L. marina* PmII em 120 h de exposição na salinidade 15 foi de  $0,15 \pm 0,02$  mg/L, sendo 9,2 vezes menor que a CL20 de 120 h na salinidade 30 ( $1,39 \pm 0,20$  mg/L). Conclui-se que a atrazina apresentou maior toxicidade em menor salinidade (15), causando um efeito prejudicial na sobrevivência de *L. marina* PmII. Os resultados, juntamente com os observados em outros estudos, indicam um

possível efeito tampão ambiental em mares e oceanos para diferentes tipos de contaminantes, devido à presença de uma complexidade de sais, não ocorrendo assim em ambientes estuarinos com menor salinidade.

**Palavras-chave:** Herbicida; Ecotoxicologia; Nematoda; Toxicidade; Mortalidade.

## ABSTRACT

Organochlorine pesticides are widely used in different regions of the world, despite the fact that they have toxic properties for many organisms, including humans, and their high persistence in aquatic environments and in sediments. The impact of pesticides and their interactions with other environmental factors such as salinity and temperature can aggravate the lethality of these compounds. And knowing that short-term experiments are commonly used to address the lethal effects of chemical compounds on marine organisms, the present study aims to investigate the salinity influence on the toxicity of the herbicide atrazine, using a cryptic species of the free-living nematode *Litoditis marina* as a model organism for short-term tests. Its easiness of cultivation, short generation time, high fecundity and besides being able to live in estuarine regions with salinity variation, make *L. marina* a suitable biomodel to evaluate possible effects derived from the interaction salinity-atrazine. Four different salinities (15, 20, 25 and 30) combined together with five different concentrations of atrazine (0.2; 1.0; 2.0; 10 and 20 mg/L) were on *L. marina* PmII to evaluate whether the effects of this interactions enhance or reduces the lethal toxicity of the herbicide over 5 days of exposure. Four replicates were prepared for each atrazine concentration and for the control. Mortality as a function of exposure time was plotted for different concentrations of atrazine; and to determine whether different lethal concentrations of atrazine significantly affected nematode mortality, nonparametric Permanova analysis was performed. In addition, probit analysis was used to estimate LC20 and LC50. As a result, the values of lethal concentrations of atrazine for the nematode *L. marina* PmII were significantly dependent on exposure time, salinity and the interaction of these two factors. The LC50 of the atrazine herbicide for *L. marina* PmII in 120 h of exposure at salinity 15 was  $0.66 \pm 0.01$  mg/L, being 10.4 times lower than the LC50 of 120 h at salinity 30 ( $6.88 \pm 0.64$  mg/L); the CL20 of atrazine for *L. marina* PmII in 120 h of exposure at salinity 15 was  $0.15 \pm 0.02$  mg/L, being 9.2 times lower than the CL20 of 120 h at salinity 30 ( $1.39 \pm 0.20$  mg/L). It was concluded that atrazine had greater toxicity at lower salinity (15), causing a detrimental effect on the survival of *L. marina* PmII. Our results as observed in other studies, indicate a possible environmental buffering effect in seas and oceans for different types of the contaminants, due to the presence of a complexity of salts, not being like that in estuarine environments with lower salinity.

**Keywords:** Herbicide; Ecotoxicology; Nematode; Toxicity; Mortality.

### 3.2.1 Introdução

Em função do modelo de agricultura adotado por diversos lugares como países do continente Americano (Estados Unidos, Brasil e Argentina) o uso de agrotóxicos tornou-se intensivo e amplamente difundido, trazendo dessa forma inúmeros problemas de contaminação ao meio ambiente e aos organismos de diferentes níveis tróficos. Em relação à contaminação de ambientes aquáticos, a agricultura é apontada como sendo um dos maiores contribuidores da causa, onde inúmeros produtos químicos são lançados nesses ambientes (ONGLEY, 1996). Os mais relevantes contaminantes de origem agrícola são os resíduos de fertilizantes e os agrotóxicos (ARIAS *et al.*, 2007). Dentre os agrotóxicos existentes, a atrazina é comumente utilizada em diferentes tipos de plantações como: sorgo, milho, café, cacau e cana-de-açúcar, sendo frequentemente pulverizada nas folhas. Por meio da própria aplicação do composto ou através dos meios de irrigação e precipitações das chuvas, o herbicida atrazina acaba chegando ao solo e além disso pode culminar contaminando rios, mares, estuários e conseqüentemente causar efeitos tóxicos em diferentes níveis da fauna (DO CARMO *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2018; DESTRO *et al.*, 2021; DIONNE *et al.*, 2021; HUANG *et al.*, 2021; JIANG *et al.*, 2021).

A atrazina possui baixo valor de Koc (BARANOWSKA *et al.*, 2008) e por esse motivo este herbicida acaba alcançando facilmente os lençóis freáticos através da lixiviação. A atrazina apresenta também um alto potencial de escoamento superficial, ou seja, é facilmente carregada do solo pelas águas, chegando a atingir rios, mares e estuários, sendo os estuários ecossistemas que abrigam uma grande biodiversidade que pode ser comprometida pelo contaminante (MEDEIROS, 2017; BRAIN; ANDERSON; HANSON, 2021a; TRIASSI *et al.*, 2022). Brain, Anderson e Hanson (2021b) buscaram contribuir com dados adicionais de toxicidade de atrazina em invertebrados usando as espécies modelo: ostra oriental *Crassostrea virginica* e camarão *Americamysis bahia*. Esses autores investigaram os efeitos letais na sobrevivência e crescimento da ostra oriental, e os efeitos letais e subletais na sobrevivência, reprodução e crescimento do camarão. Como resultado, nenhuma mortalidade de ostras foi observada após 96 h de exposição a concentração de 17 mg/L, mas o crescimento da concha foi reduzido em 0,55% a 16% em tratamentos de 1,0; 9,2 e 17 mg/L. Já no camarão, foi observado taxas de mortalidade de 5 a 70% em um período de 96 h nos tratamentos de 1,7; 2,4; 3,6 e 6,4 mg/L, a CL50 (96 h) foi de 5,4 mg/L. Em um experimento de seis semanas a atrazina demonstrou ser altamente tóxica para o Oligochaeta *Enchytraeus albidus*, sendo obtido uma CL50 e CE50 nos valores de 12 mg/kg de solo e 2 mg/kg de solo, respectivamente (NOVAIS; SOARES; AMORIM, 2010).

A toxicidade de um composto químico depende de fatores como: tempo de exposição, da concentração, da suscetibilidade do organismo, das características químicas do agente e de fatores ambientais, como salinidade, temperatura, pH, teor de oxigênio dissolvido na água, entre outros (BRADLEY; SPRAGUE, 1985a, 1985b; TOMITA; BEYRUTH, 2002; COSTA *et al.*, 2008). A salinidade é um dos fatores abióticos que podem alterar os efeitos da toxicidade de contaminantes nos organismos. Uma pesquisa utilizando náuplios do copépode *Eurytemora affinis*, mostrou que a toxicidade da atrazina aumentou com a diminuição da salinidade. Em 96 h, os valores letais obtidos foram de 0,5; 2,6 e 13,2 mg/L, nas salinidades de 5, 15 e 25, respectivamente (HALL *et al.*, 1994). Todavia uma maior exposição (8 dias), utilizando a mesma espécie de copépode nas salinidades de 5, 15 e 25, os valores subletais obtidos foram de 14,6; 20,9 e 5,01 mg/L, respectivamente (HALL *et al.*, 1995b).

Diferentes organismos podem ser utilizados como biomodelos para avaliar níveis de contaminação ambiental. Os nematoides em particular, são considerados bons indicadores de contaminação por possuir características como: grande abundância de indivíduos, elevada diversidade de taxa e curto tempo de geração (FLEEGER; CHANDLER, 1983; KENNEDY; JACOBY, 1999). O nematoide de vida-livre *Litoditis marina*, que pertence à família Rhabditidae, consiste em pelo menos dez espécies crípticas (DERYCKE *et al.*, 2008; SUDHAUS, 2011), três das quais (PmI, PmII e PmIII) frequentemente são encontradas em algas marinhas, arquipélagos e depósitos na zona costeira da Bélgica e Holanda (DERYCKE *et al.*, 2005). Além do mais o gênero *Litoditis* tem distribuição cosmopolita e ampla utilização em experimentos laboratoriais (FRANCOLINO *et al.*, 2021; XIE; ZHANG; ZHANG, 2021), e na Família Rhabditidae está incluso a espécie *Caenorhabditis elegans* que é considerada o metazoário mais utilizado em modelos experimentais na modernidade (HÖSS; SCHLOTTMANN; TRAUNSPURGER, 2011; HÖSS *et al.*, 2012; HEATON *et al.*, 2022).

Essa espécie de nematoide marinho é considerada adequada para ser utilizada em testes ecotoxicológicos (MONTEIRO *et al.*, 2018a), além disso também conseguem viver em regiões estuarinas que apresentam variação de salinidade, onde este fator abiótico oscila de acordo com a maré dos oceanos nesses habitats (MIRANDA; CASTRO; KJERFVE, 2002). *Litoditis marina* PmII suporta variações de salinidade (DE MEESTER *et al.*, 2015), portanto, juntando essa característica com o fato de ser um biomodelo adequado para ser utilizado em testes ecotoxicológicos, e sabendo que a salinidade é um fator abiótico que interfere nas moléculas de compostos químicos, então *L. marina* PmII foi selecionada para testar os efeitos letais da

atrazina sob influência de diferentes salinidades, observando se os efeitos tóxicos do herbicida serão influenciados pela variação de salinidade.

### **3.2.2 Materiais e métodos**

#### **3.2.2.1 Cultivo de *L. marina* PmII**

As culturas iniciais de laboratório da espécie *L. marina* PmII, foi estabelecida a partir de espécimes coletados em macroalgas que estavam em estado de decomposição na costa belga na região de Blankenberge (51°19'14.0" N, 3°08'22.7" E). As culturas iniciais continham várias cepas bacterianas não identificadas que provavelmente tem origem proveniente do habitat do nematoide e que servem como alimento (cultura agnobiótica). O meio de cultura consistiu de uma mistura de bacto-ágar e ágar nutriente (proporção B:N de 4:1) na concentração final de 1%, preparado em água do mar artificial (ASW) com salinidade de 25 (MOENS; VINCX, 1998). O pH do ágar foi tamponado a 7,5 - 8,0 usando TRIS-HCl a uma concentração final de 0,005 mol/L. Placas de Petri Lisa em poliestireno com medidas de 90 x 15 mm foram preenchidas com 12 mL do meio de cultura. Nos meios de culturas iniciais e subsequentes, como alimento aos nematoides foram adicionados ao meio de cultivo 50 µL de uma suspensão bacteriana de *E. coli* K12 com densidade celular de  $3 \times 10^9$ /mL, pois essa concentração dispõe melhores condições para o crescimento populacional dos nematoides (DOS SANTOS *et al.*, 2008). Cada placa de Petri foi selada com ParaFilm e armazenada em uma incubadora a 18 °C (variação: 17 a 19 °C) no escuro. Posteriormente subculturas (culturas subsequentes) foram preparadas a cada 15 dias pela transferência de cinco machos e cinco fêmeas (adultos) para cada nova placa de Petri.

#### **3.2.2.2 Preparação das concentrações de atrazina**

O herbicida Herbitrin 500 BR (ADAMA Br S/A), que contém 500.000 mg/L do princípio ativo (atrazina), foi usado nos testes de toxicidade. Uma solução estoque concentrada no valor de 50.000 mg/L foi preparada em água destilada, e posteriormente diluições seriadas foram realizadas para preparar cinco concentrações que foram utilizadas no teste de letalidade, variando de 10 a 1.000 mg/L. Quando 0,1 mL destas concentrações foram homogeneizadas com 4,9 mL de ágar, as concentrações finais obtidas nas placas de Petri para o teste letal variaram de 0,2 a 20 mg/L.

### 3.2.2.3 Avaliação dos efeitos letais da atrazina

Os nematoides foram expostos a concentrações de atrazina nos valores de 0,2; 1,0; 2,0; 10 e 20 mg/L, que foram escolhidas para abranger uma faixa de efeito entre 0% a 100% de mortalidade (SOLOMON *et al.*, 1996). O experimento foi realizado em placas de Petri (60 x 15 mm) na qual foram identificadas e tracejadas no fundo para facilitar a contagem dos indivíduos; posteriormente foram adicionados 5 mL do meio bacto-ágar estéril 1% com valores de pH iguais aos do meio de cultura (variando apenas os valores de salinidades dos ágaros utilizados, sendo esses de 15, 20, 25 e 30) para os tratamentos sem adição da atrazina, além disso foi realizada a adição de colesterol liquiform (100 µg/L) ao bacto-ágar após ser esterilizado, pois nematoides são incapazes de sintetizar esteroides quando sua única fonte de alimento são bactérias (VANFLETEREN, 1980). Já os tratamentos de interação do herbicida atrazina com as diferentes salinidades, o procedimento foi realizado de forma similar ao citado anteriormente, a diferença foi que um volume de 0,1 mL das respectivas soluções de atrazina foi completamente misturado com 4,9 mL do meio bacto-ágar.

Quatro réplicas foram preparadas para cada concentração de atrazina e para o controle. Como fonte suplementar de alimento, *E. coli* K12 foi adicionado nas placas após o ágar ter solidificado e os nematoides terem sido inoculados. Não foram feitas mais adições alimentares de bactéria durante as incubações/exposições experimentais. Embora seja incomum adicionar alimentos em testes letais, existem essencialmente duas rotas principais na qual os nematoides absorvem os poluentes que é através da ingestão e da cutícula (HOWELL, 1983; HÖSS; SCHLOTTMANN; TRAUNSPURGER, 2011; SÁVOLY *et al.*, 2013), portanto foi decidido incluir ambos nesse ensaio. A ingestão dos nematoides muitas vezes requer um estímulo na forma de partículas alimentares adequadas (PAPE *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2014), e é por isso que foi escolhido adicionar comida nos ensaios de efeito letal.

Adultos móveis ( $50 \pm 2$ ) de *L. marina* PmII foram aleatoriamente (sem distinção de gênero) colhidos de culturas de estoque, lavados uma vez em ASW com suas respectivas salinidades que seriam avaliadas (15, 20, 25 e 30) e posteriormente foram inoculados nas placas experimentais. Nematoides vivos e mortos foram quantificados a cada 24 h por um período de 5 dias sob um estereomicroscópio. A duração experimental de 5 dias foi realizada com o objetivo de observar a mortalidade durante um período gestacional, sendo o maior tempo possível de experimentação sem auto geração de adultos da F1, ou seja, o fato de que após 5 dias os primeiros indivíduos que nasceram dentro das placas experimentais começariam a se

tornar adultos. Portanto, em incubações de mais de 5 dias seria impossível reconhecer os animais de teste que foram inoculados inicialmente nas placas.

#### 3.2.2.4 Análises estatísticas

A análise probit é um método para analisar dados de sensibilidade (BLISS, 1934, 1935; FINNEY, 1952), e foi feita no Microsoft Excel 2016 para estimar a concentração de atrazina que causou letalidade de 20% e 50% da população (CL20 e CL50, respectivamente) (GAD, 2014) durante o tempo total experimental de 5 dias. Previamente, os valores de mortalidade foram corrigidos utilizando a fórmula de Abbott (1925), sendo essa descrita como:  $Mc (\%) = \%Mo - \%Mt \times 100 / 100 - \%Mt$ , onde  $Mc$  é a mortalidade corrigida,  $Mo$  é a mortalidade observada e  $Mt$  é a mortalidade no controle. Posteriormente, os valores do Probit como eixo y e o Log de 10 das concentrações de atrazina como eixo x é utilizado na equação  $Y = Ax + B$ , onde Y é o probit de 20% ou 50% de letalidade, A é a interceptação e B é a inclinação, com isso o valor de x da equação é achado e o antilog de x expressará o resultado da CL20 ou CL50. Os valores da CL20 e CL50 expressos na seção de resultados são os valores médios obtidos nas repetições experimentais. Este processo foi realizado para todos os tratamentos das diferentes salinidades. Para determinar se as diferentes salinidades afetaram significativamente a mortalidade dos nematoides causada pela atrazina, foi realizado a análise não paramétrica univariada Permanova de medidas repetidas no software PRIMER 6 + PERMANOVA Add on, seguindo o desenho experimental *split plot ANOVA*, onde o fator *réplica* foi adicionado como variável randômica devido ao seu caráter dependente em relação as variáveis Salinidade e Tempo. Todas as análises onde o número de permutações possíveis foram inferiores a 50 permutações foi utilizado o fator de correção de Monte Carlo (MC). A figura de mortalidade em função do tempo de exposição (Figura 9) foi plotada para as diferentes concentrações de atrazina usando o programa Sigmaplot V.12.5.

### 3.2.3 Resultados

#### 3.2.3.1 Mortalidade de *Litoditis marina* PmII perante exposição de diferentes tratamentos salinos

No quadro 2 é possível observar que os diferentes tratamentos não causaram valores altos de mortalidade nos indivíduos adultos de *Litoditis marina* PmII, e não houve diferença significativa entre os tratamentos salinos (Pseudo-F > 2,35;  $p > 0,09$ ), quando comparados com a salinidade de 25 que é a média usada nas culturas da espécie em questão. Também não houve

diferença significativa na interação do tempo com os tratamentos salinos (Pseudo-F > 5,88;  $p > 0,99$ ). Nos primeiros dois dias de exposição não houve mortalidade de nematoides em nenhum dos tratamentos, começando a ocorrer mortalidade em todos os tratamentos a partir do terceiro dia experimental com valores de mortalidade média entre 0,50 a 1,00 (valores em percentagem: 1% a 2%). No quinto dia de exposição os valores de mortalidade obtidos ficaram entre 3 a 3,75 indivíduos mortos em média (valores em percentagem: 6% a 7,5%).

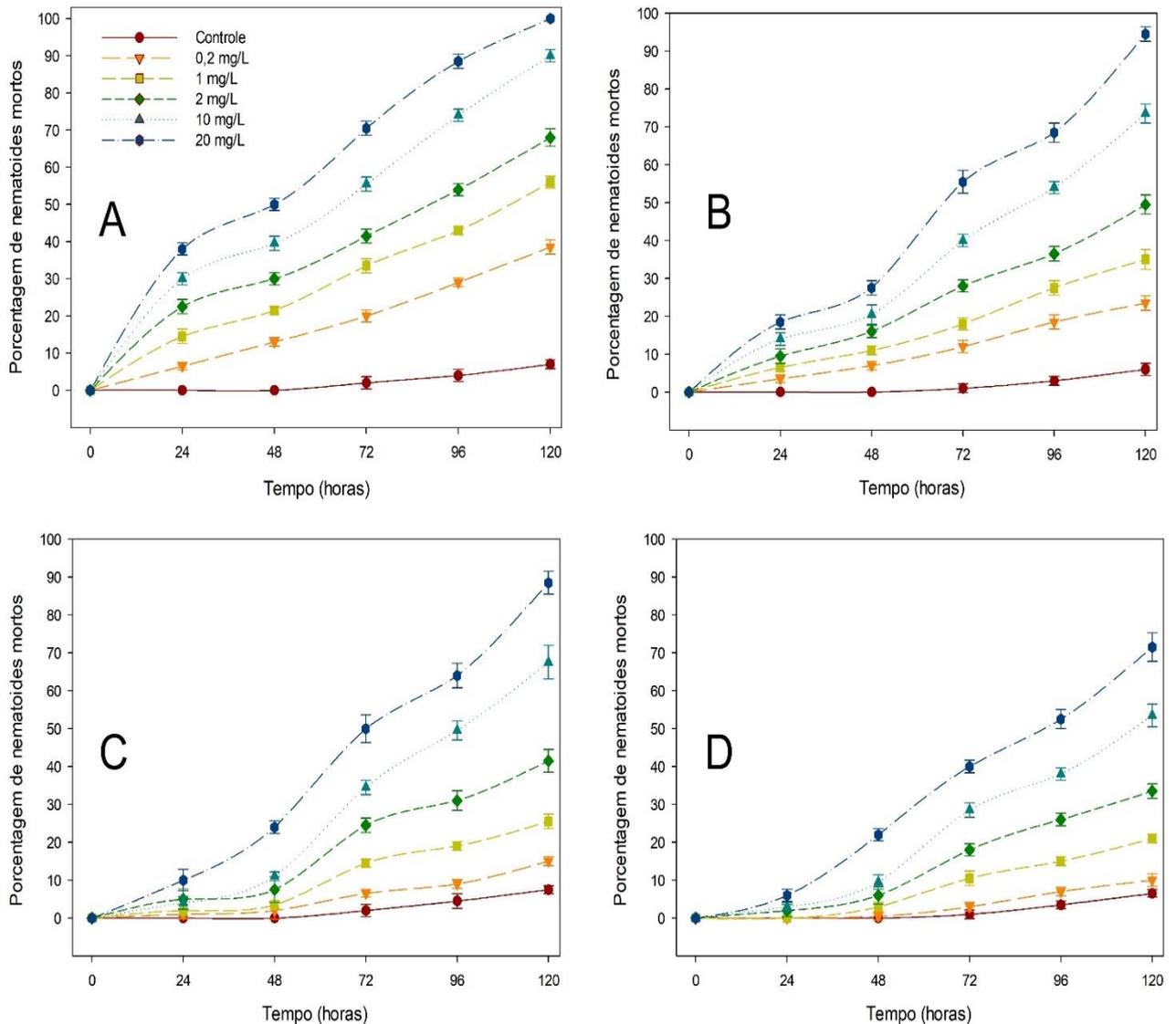
**Quadro 2** – Mortalidade média de nematoides (média  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições por tratamento) após a exposição de *Litoditis marina* PmII a diferentes salinidades ao longo de 5 dias.

SALINIDADE	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
15	0	0	1,00 $\pm$ 0,81	2,00 $\pm$ 0,81	3,50 $\pm$ 0,57
20	0	0	0,50 $\pm$ 0,57	1,50 $\pm$ 0,57	3,00 $\pm$ 0,81
25	0	0	1,00 $\pm$ 0,81	2,25 $\pm$ 0,95	3,75 $\pm$ 0,50
30	0	0	0,50 $\pm$ 0,57	1,75 $\pm$ 0,50	3,25 $\pm$ 0,50

### 3.2.3.2 Mortalidade de *Litoditis marina* PmII perante exposição da atrazina com interação de diferentes salinidades

Na figura 9 é possível observar que a menor concentração testada de atrazina (0,2 mg/L) na menor salinidade (15) atingiu um valor máximo de mortalidade igual a 38,5% após o final do tempo experimental (5 dias), no mesmo período de tempo as demais salinidades obtiveram valores de mortalidades inferiores a 24%. Neste mesmo tempo experimental também é notado o contraste do efeito da atrazina (Pseudo-F = 636,54;  $p = 0,001$ ), onde a menor salinidade de 15 na concentração de 0,2 mg/L alcançou valores 1,63; 2,56 e 3,85 vezes a mais no efeito da mortalidade dos nematoides (todos diferiram significativamente  $p$  (MC) = 0,001) quando comparado com as salinidades de 20, 25 e 30 respectivamente. Na maior concentração de atrazina (20 mg/L), a mortalidade no final do tempo experimental apresentou valores de 100%; 94,5%; 88,5% e 71,5% nas salinidades de 15, 20, 25 e 30 respectivamente, ou seja, a salinidade de 15 alcançou valores de 1,05; 1,12 e 1,39 vezes a mais no efeito da mortalidade nos nematoides (todos diferiram significativamente  $p$  (MC)  $\leq 0,003$ ) do que as salinidades de 20, 25 e 30 respectivamente.

**Figura 9** – Mortalidade média de nematoídes (média  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições por tratamento) após a exposição de *Litoditis marina* PmII a diferentes concentrações de atrazina e salinidades, em função do tempo de exposição. (A) Salinidade 15, (B) Salinidade 20, (C) Salinidade 25, (D) Salinidade 30.



### 3.2.3.3 Letalidade da atrazina com a interação do fator salinidade para o nematoíde *Litoditis marina* PmII

Os valores das concentrações letais da atrazina para o nematoíde *Litoditis marina* PmII, tanto para CL20 quanto para a CL50, foram significativamente dependentes do: tempo de exposição (Pseudo-F > 736,53;  $p < 0,001$ ), da salinidade (Pseudo-F > 220,75;  $p < 0,001$ ) e da interação desses dois fatores (Pseudo-F > 51,79;  $p < 0,001$ ).

Em relação às salinidades, a CL20 do herbicida atrazina para nematoídes adultos de *Litoditis marina* PmII no final do tempo experimental na menor salinidade (15) foi de  $0,15 \pm$

0,02 mg/L, sendo este valor 2,2; 4,9 e 9,2 vezes menor (todos diferiram significativamente  $p = 0,0001$ ) do que as salinidades 20, 25 e 30 respectivamente. A maior salinidade testada (30) obteve uma CL20 de  $33,27 \pm 2,99$  mg/L em 24 h de exposição, sendo este valor 1,4; 1,6 e 16,6 vezes maior (todos diferiram significativamente  $p = 0,0001$ ) que a CL20 das salinidades 25, 20 e 15 respectivamente (Quadro 3).

Em relação ao tempo, a CL20 da atrazina para nematoides adultos de *Litoditis marina* PmII na salinidade 15 no primeiro dia de exposição (24 h) foi de  $2,00 \pm 0,27$  mg/L, sendo este valor 2,77; 5,40; 7,40 e 13,33 vezes maior (todos diferiram significativamente  $p$  (MC)  $\leq 0,0003$ ) do que a CL20 de 48, 72, 96 e 120 h respectivamente. Já na salinidade 30 o valor da CL20 no início do tempo experimental (24 h) foi de  $33,27 \pm 2,99$  mg/L, sendo este valor 2,65; 7,42; 14,34 e 23,93 vezes maior (todos diferiram significativamente  $p$  (MC) = 0,0001) do que a CL20 de 48, 72, 96 e 120 h respectivamente (Quadro 3).

Não houve diferença estatística significativa na CL20 entre os tempos 72 h e 96 h na salinidade 25 ( $p$  (MC)  $> 0,1$ ), também não houve diferença significativa entre as salinidades 25 e 30 em 48 h ( $p$  (MC)  $> 0,7$ ) e em 72 h nessas mesmas salinidades ( $p$  (MC)  $> 0,05$ ).

**Quadro 3** – Concentrações de efeito letal do herbicida atrazina que causou mortalidade de 20% (CL20 – mg/L) em *Litoditis marina* PmII. Os dados são médias  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições por tratamento.

SALINIDADE	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
15	$2,00 \pm 0,27$	$0,72 \pm 0,12$	$0,37 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,04$	$0,15 \pm 0,02$
20	$20,63 \pm 0,52$	$7,08 \pm 2,31$	$1,00 \pm 0,17$	$0,47 \pm 0,08$	$0,34 \pm 0,02$
25	$23,62 \pm 1,72$	$11,98 \pm 2,73$	$2,26 \pm 0,77$	$1,47 \pm 0,39$	$0,74 \pm 0,12$
30	$33,27 \pm 2,99$	$12,54 \pm 0,70$	$4,48 \pm 1,68$	$2,32 \pm 0,41$	$1,39 \pm 0,20$

Em relação às salinidades, a CL50 do herbicida atrazina para nematoides adultos de *Litoditis marina* PmII no final do tempo experimental na salinidade 15 foi de  $0,66 \pm 0,01$  mg/L, sendo 10,4 vezes menor do que a CL50 da salinidade 30; 5,3 vezes menor que a salinidade 25 e 2,8 vezes menor que a salinidade 20 (todos diferiram significativamente  $p = 0,0001$ ). A maior salinidade testada (30) obteve uma CL50 de  $100,22 \pm 5,65$  mg/L em 24 h de exposição, sendo este valor 1,4 vezes maior que a CL50 da salinidade 25; 1,7 vezes maior que a CL50 da salinidade 20 e 2,9 vezes maior que a CL50 da salinidade 15 (todos diferiram significativamente  $p = 0,0001$ ) (Quadro 4).

Em relação ao tempo, a CL50 da atrazina para nematoides adultos de *Litoditis marina* PmII na salinidade 15 em 24 h de exposição foi de  $33,78 \pm 4,48$  mg/L, sendo este valor 1,5; 6,96; 19 e 51,1 vezes maior (todos diferiram significativamente  $p$  (MC)  $\leq 0,0021$ ) do que a CL50 de 48, 72, 96 e 120 h respectivamente. Já na salinidade 30 o valor da CL50 em 24 h de exposição foi de  $100,22 \pm 5,65$  mg/L, sendo este valor 2,13; 4,55; 5,75 e 14,5 vezes maior (todos diferiram significativamente  $p$  (MC) = 0,0001) do que a CL50 de 48, 72, 96 e 120 h respectivamente (Quadro 4).

**Quadro 4** – Concentrações de efeito letal do herbicida atrazina que causou mortalidade de 50% (CL50 – mg/L) em *Litoditis marina* PmII. Os dados são médias  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições por tratamento. As diferenças significativas foram marcadas com letras minúsculas e maiúsculas para os testes principais do PERMANOVA para Salinidade e Tempo respectivamente. O asterisco indica que houve diferença significativa nas comparações entre os pares da interação entre salinidade e tempo.

SALINIDADE	24 h (A)	48 h (B)	72 h (C)	96 h (D)	120 h (E)
15 (a)	$33,78 \pm 4,48^*$	$22,40 \pm 1,35^*$	$4,85 \pm 0,52^*$	$1,77 \pm 0,22^*$	$0,66 \pm 0,01^*$
20 (b)	$56,29 \pm 0,75^*$	$30,03 \pm 1,33^*$	$14,72 \pm 1,30^*$	$6,53 \pm 0,36^*$	$1,84 \pm 0,18^*$
25 (c)	$71,33 \pm 8,98^*$	$33,38 \pm 0,84^*$	$17,04 \pm 0,06^*$	$10,00 \pm 0,42^*$	$3,54 \pm 0,29^*$
30 (d)	$100,22 \pm 5,65^*$	$46,84 \pm 1,50^*$	$22,02 \pm 2,96^*$	$17,41 \pm 1,19^*$	$6,88 \pm 0,64^*$

### 3.2.4 Discussão

Por tratar-se de um herbicida seletivo, a atrazina afeta de modo mais forte o organismo específico que são as ervas daninhas, porém acaba afetando também uma diversidade de organismos não-alvo. Ademais a atrazina é muito utilizada em diferentes tipos de plantações por ser um dos herbicidas mais eficazes e baratos do mundo, consequentemente é usado com maior frequência do que qualquer outro herbicida e por possuir um elevado potencial de contaminação, lixiviação e escoamento superficial, os riscos desse herbicida afetar os organismos aquáticos se torna eminente (SIGUA; ISENSEE; SADEGHI, 1993; GRAYMORE; STAGNITTI; ALLINSON, 2001; JABLONOWSKI; SCHÄFFERAND; BURAUUEL, 2011; SUN *et al.*, 2019; ALMASI *et al.*, 2020). Além disso, a taxa de consumo mundial da atrazina é estimada entre 70 a 90 milhões de quilos por ano (DERAKHSHAN *et al.*, 2016; HOU *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2018), pois repetitivas aplicações são realizadas nos campos de cultivo (NWXANI *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2018). São diversas formas pelas quais a atrazina pode entrar em contato com os ambientes, entre elas estão o transporte atmosférico, a pulverização e escoamentos no solo (GALOPPO *et al.*, 2020), isto faz com que o herbicida alcance os lençóis freáticos e consequentemente cause contaminação de uma gama de espécies (DE

ALBUQUERQUE *et al.*, 2020). O tempo de meia vida da atrazina no solo é de 30 a 400 dias (BOOPATHY, 2017), em sedimentos estuarinos fica em torno de 15 a 20 dias (JONES *et al.*, 1982), enquanto na água esse tempo é estimado entre 100 (HOU *et al.*, 2017) a 742 dias (por causa de sua alta mobilidade e persistência nesse meio) e isso pode acabar causando maiores implicações aos organismos aquáticos (ATSDR, 2003; SASS; COLANGELO, 2006).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) relatou que o nível máximo permitido de atrazina em água é de 3 µg/L ou 0,003 mg/L, pois concentrações ambientalmente relevantes desse herbicida apresentaram toxicidade para membros pertencentes a base da cadeia trófica (FLOOD; BURKHOLDER; COPE, 2018; SUN *et al.*, 2020) e também causaram danos a diferentes tipos de organismos (CHENG *et al.*, 2020; DESTRO *et al.*, 2021). Outras pesquisas tem encontrado concentrações de atrazina nos ambientes aquáticos brasileiros acima dos níveis permitidos pelo governo do país (máximo permitido em corpos d'água de 2 µg/L ou 0,002 mg/L) (LANCHOTE; BONATO, 2000; DORES *et al.*, 2006); valores vinte vezes maiores do que o permitido foram encontrados em águas superficiais e em bacias hidrográficas próximo de áreas agrícolas, concentrações cem vezes maiores do nível permitido foram observadas em riachos, e concentrações até mil vezes maiores que o permitido foram encontrados em poços de água em locais de agricultura (ARMAS *et al.*, 2007; DOS SANTOS *et al.*, 2015; PÉREZ-IGLESIAS, 2015; PÉREZ-IGLESIAS *et al.*, 2019). Além disso, a atrazina pode ser transportada por mais de 1.000 quilômetros do local de aplicação através das chuvas ou escoamento, portanto já foi detectada em áreas remotas onde o composto nunca foi utilizado (ROHR; MCCOY, 2010).

Sabendo desses limites impostos por agências ambientais para detecção do herbicida atrazina nos ambientes, conhecendo o fato da atrazina ser um composto que foi banido em diversos países (GLAESNER *et al.*, 2014; VONBERG *et al.*, 2014; WHITE, 2016) e mesmo assim ainda é frequentemente usado na agricultura de muitos países (ACKERMAN; WHITED; KNIGHT, 2014; PAN, 2019; ASSAD; RESHI; RASHID, 2020), além disso seus metabólitos/resíduos tem potencial de persistirem em campos e águas superficiais por muitos anos (BETHSASS; COLANGELO, 2013; NOUSIAINEN *et al.* 2015). E compreendendo que um dos objetivos das políticas ambientais trata da conservação e manejo de áreas que proporcionem condições adequadas de vida para uma grande diversidade de espécies. Devido a estes fatos citados anteriormente, neste trabalho foi escolhido usar os nematoides como bioindicadores potencialmente úteis para definir prioridades de manejo em habitats que são importantes para vários organismos (FRANCOLINO *et al.*, 2021), pois os mesmos reagem

rapidamente às perturbações ambientais pelo fato de possuírem todo ciclo de vida em contato direto com os sedimentos e substratos, refletindo assim os impactos que atuam sobre os ecossistemas no qual habitam (BONGERS; FERRIS, 1999).

#### 3.2.4.1 Mortalidade de *Litoditis marina* PmII expostos a diferentes salinidades e suas interações com o herbicida atrazina

A alteração da salinidade em ambientes estuarinos devido ao aumento do nível do mar e alterações nos padrões de precipitação como consequência das mudanças climáticas, tem o potencial de influenciar as interações dos poluentes aquáticos, bem como alterar sua toxicidade (DELORENZO, 2015; KIBRIA *et al.*, 2021). Do ponto de vista das propriedades químicas, a concentração iônica pode aumentar o coeficiente de partição octanol/água e assim diminuir a solubilidade de um composto em água (SARANJAMPOUR; VEBROSKY; ARMBRUST, 2017). Biologicamente, a fisiologia dos organismos acaba sendo alterada em diferentes salinidades. Esses fatos destacam a necessidade de compreender a influência da salinidade na toxicidade de contaminantes ao avaliar o risco para diversas espécies aquáticas (ROSENBERG; COSTLOW, 1976; MIDDAUGH; FLOYD, 1978; KWOK; LEUNG, 2005; VALENCIA-CASTAÑEDA *et al.*, 2018; HUTTON *et al.*, 2021), o que leva a importância da realização deste trabalho. Ademais, muitos estudos feitos em laboratório nos quais abordam os efeitos dos compostos químicos sobre os organismos, se baseiam em experimentos de curto prazo por demonstrarem repostas rápidas as alterações ambientais, como por exemplo: poluição e efeitos de variações na salinidade (FERNANDEZ; JONES, 1990b; RUSSO; LAGADIC, 2004; LAWTON *et al.*, 2006; ACHIORNO; VILLALOBOS; FERRARI, 2008; GUSTAFSON; BELDEN; BOLEK, 2015; BRAIN *et al.*, 2018; MANSANO *et al.*, 2018; FRANCOLINO *et al.*, 2021; LAMMERTYN *et al.*, 2021), assim como foi realizado no atual estudo.

O impacto dos agrotóxicos e da interação dos mesmos com outros fatores ambientais (pH, radiação solar, salinidade, temperatura) podem agravar a letalidade desses compostos, principalmente em indivíduos que passam por um longo tempo de exposição e em espécies que exibem caracteres morfológicos e comportamentais específicos (RELYEA, 2005). Estudos realizados com o herbicida atrazina em diferentes salinidades, mostraram que esse fator não influenciou na degradação da mesma (HALL JR *et al.*, 1992; FORTIN *et al.*, 2008), ponto relevante para o presente trabalho, no qual a atrazina foi testada em combinação com diferentes salinidades, onde estas variaram de 15 a 30. Além disso, é esperado que o fator de biodisponibilidade também não seja influenciado pela salinidade, uma vez que exista uma

pequena diferença aritmética na energia de interação que é produzida pela mudança geométrica na concentração molar do sal (KOSOWER, 1968; HALL JR; ANDERSON; AILSTOCK, 1997). Experimentos conduzidos entre 128 e 130 dias de duração foram feitos para determinar a influência da salinidade na perda de atrazina da coluna d'água, como resultado a atrazina não exibiu uma perda significativa após 128 dias em nenhuma das condições de teste (concentrações de atrazina variando de 0,005 a 5 mg/L e salinidades entre 5 a 35) (HALL *et al.*, 1995a). Então, caso as concentrações de atrazina sejam testadas no mesmo valor em diferentes salinidades, não haverá grandes perdas da atrazina. Ou seja, o potencial tóxico da atrazina nos organismos quando avaliados em diferentes salinidades, pode ter associação molecular ou relação com a fisiologia do animal, no qual pode acabar absorvendo (causando implicações ao organismo) ou mitigando a toxicidade do contaminante (WIEGAND *et al.*, 2001), e não ter relação com a biodisponibilidade do composto nos ambientes (HALL JR *et al.*, 1992; HALL JR; ANDERSON; AILSTOCK, 1997).

Foi relatado que a salinidade influencia a solubilidade em água de produtos químicos orgânicos que entram nos ecossistemas marinhos (LAWTON *et al.*, 2006). No entanto, poucos estudos estão disponíveis na literatura sobre os impactos da influência da salinidade para produtos químicos como a atrazina, que podem culminar chegando na água do mar e afetar os seres vivos presentes nesse ambiente. Em um trabalho, os pesticidas atrazina, fipronil, bifentrina e cipermetrina, bem como o constituinte do petróleo bruto dibenzotiofeno, juntamente com três de seus derivados, foram selecionados como compostos modelo para demonstrar o impacto da salinidade na solubilidade e coeficiente de partição Kow, onde este é a razão entre as concentrações dos solutos água e octanol. O coeficiente de partição octanol/água foi medido em água destilada-desionizada e água do mar artificial. Todos os compostos tiveram solubilidade diminuída e valores de Kow aumentados em água do mar artificial em comparação com água destilada-desionizada, ou seja, a salinidade aparenta diminuir a solubilidade em água e aumentar o coeficiente de partição desses compostos examinados (SARANJAMPOUR; VEBROSKY; ARMBRUST, 2017). À vista disso, no presente estudo as moléculas da atrazina podem ter tido mais afinidade com as moléculas de lipídeos presentes no organismo *L. marina* PmII devido a variação da salinidade, e através disso ter ocasionado o fato da maior mortalidade ser observada nos tratamentos com menor salinidade.

A toxicidade da mistura de dois pesticidas sendo eles clorpirifós e DDT, foram testados no Copépode *Microarthridion littorale* sob três salinidades, como resultado foi observado

interação significativa no efeito dos pesticidas com interação da salinidade na sobrevivência dos copépodes após 24 h; a maior toxicidade foi observada na menor salinidade (3) que apresentou apenas 4,05% de sobrevivência dos indivíduos (STATON *et al.*, 2002). Juvenis da água-viva *Cassiopea* sp. foram expostos a três concentrações de atrazina (0,00001; 0,002 e 0,02 mg/L) e três níveis de salinidade (17, 25 e 35). As medusas que foram expostas à combinação de alta atrazina e menor salinidade morreram, mostrando um efeito prejudicial maior da atrazina para essa espécie na menor salinidade (KLEIN; PITT; CARROLL, 2016), assim como foi observado nos resultados do presente estudo, onde nematoides adultos de *Litoditis marina* PmII apresentaram maior valor de mortalidade perante o herbicida atrazina na menor salinidade avaliada (Figura 9A), e menor valor de mortalidade na maior salinidade (Figura 9D). Já nos tratamentos somente com variação da salinidade sem adição da atrazina no presente estudo, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, ou seja, as diferentes salinidades avaliadas não causaram valores significativos de mortalidade em nematoides adultos de *L. marina* PmII (Quadro 2), semelhante ao estudo realizado por De Mesteeer *et al.* (2015), no qual diferentes salinidades (15 e 25) não afetaram os parâmetros da espécie críptica *L. marina* PmII, sendo estes: desenvolvimento populacional em um período de 5 dias, tempo mínimo de desenvolvimento juvenil e fecundidade instantânea.

#### 3.2.4.2 Letalidade do herbicida atrazina com interação do fator salinidade para o nematoide

##### *Litoditis marina* PmII

Os testes de toxicidade e a determinação da faixa de sensibilidade dos organismos-teste são realizados por várias razões, porém o principal objetivo é gerar dados com intuito de prever os efeitos que as substâncias químicas e efluentes complexos podem provocar nos organismos e nas comunidades como um todo (WINNER, 1988; LAITANO *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2021). A ecotoxicologia aquática investiga os efeitos dos compostos químicos e xenobióticos sobre os organismos aquáticos, tendo ênfase nos efeitos adversos ou danosos. Inúmeros testes ecotoxicológicos são realizados para mensurar as concentrações e a duração da exposição dos agentes químicos, na qual podem vir a causar determinados efeitos nos organismos (RAND; PETROCELLI, 1985).

Alguns trabalhos tem mostrado o efeito letal que o herbicida atrazina causa em organismos aquáticos (FRANCOLINO *et al.*, 2021). Estudo realizado com duas espécies de copépodes expostos a atrazina obtiveram uma CL20 (96 h) de 2,65 mg/L para *Robertsonia propinqua* e 10,6 mg/L para *Quinquelaophonte* sp. (STRINGER *et al.*, 2012). *Daphnia magna*

exposta a atrazina por um período de 24 h apresentou uma CL20 de 37,71 mg/L (LE *et al.*, 2017). Esses valores quando comparados com a CL20 da atrazina para *L. marina* PmII, nos respectivos tempos e em todas as salinidades avaliadas neste estudo (Quadro 3), é notado que a espécie de nematoide foi mais sensível a atrazina do que essas espécies de copépodes e Cladocera.

Diferentes trabalhos mostram que a diminuição da salinidade aumenta a toxicidade de diversos contaminantes, principalmente os metais pesados (HALL; ANDERSON, 1995; DERYCKE *et al.*, 2007). Trabalho realizado com o metal pesado Zinco mostrou que houve uma redução significativa do tempo médio de sobrevivência de adultos do Molusco *Macoma balthica* em salinidades mais baixas. A CL50 (96 h) foi de 60, 180 e 250 mg/L a 15 °C nas salinidades de 15, 25 e 35, respectivamente (BRYANT *et al.*, 1985). Esse mesmo metal pesado em combinação com diferentes salinidades causou letalidade para juvenis do Polychaeta *Nereis diversicolor*, ao final do estudo foi observado que a toxicidade máxima do contaminante ocorreu em salinidades mais baixas, onde a CL50 (96 h) foi de 6, 16, 42 e 35 mg/L em salinidades de 5, 10, 17,5 e 30, respectivamente (FERNANDEZ; JONES, 1990a). A salinidade mais baixa (6,3) também aumentou a toxicidade do óleo diesel para o bivalve marinho *Mytilus edulis* (TEDENGREN; KAUTSKY, 1987).

Baixa salinidade (5 e 15) aumentou a toxicidade letal dos pesticidas dimetoato e clorpirifós em pós-larvas e juvenis do camarão *Litopenaeus vannamei* (PAWAR *et al.*, 2020); essa mesma espécie de camarão quando exposta aos pesticidas Beta-cipermetrina e Acefato em salinidades de 5 e 20, mostraram ser mais sensíveis aos contaminantes em menor salinidade (WANG *et al.*, 2013). A salinidade também demonstrou influenciar a toxicidade de dispersantes químicos (Finasol e Corexit) em camarões *Palaemonetes pugio*, com aumento da toxicidade ocasionado pela baixa salinidade (DELORENZO *et al.*, 2016). A toxicidade do biocida Tributilestanho para larvas do caranguejo *Uca pugilator* também foi influenciada negativamente pela diminuição da salinidade, onde a CL50 (48 h) na salinidade 30 foi de 1,4 mg/L; já na menor salinidade (10) a CL50 (48 h) foi de 0,05 mg/L (WRIGHT; ROOSENBERG, 1982). Estudo feito com o intuito de determinar a influência de três salinidades distintas (5, 15 e 25) sobre a toxicidade da atrazina para náuplios do copépode *Eurytemora affinis*, obteve como resultados valores de CL50 (96 h) de 0,5 mg/L; 2,6 mg/L e 13,2 mg/L nas salinidades de 5, 15 e 25 respectivamente (HALL *et al.*, 1994), ou seja, uma maior toxicidade letal da atrazina encontrada na menor salinidade avaliada, corroborando com os resultados encontrados no atual trabalho (Quadro 4).

Levando em consideração o controle laboratorial na qual a espécie é cultivada (salinidade 25) como referencial (Figura 9C), e que os tratamentos com variações de salinidade e ausência de atrazina não causaram mortalidade significativa em *L. marina* PmII (Quadro 2), é possível notar que a salinidade 30 causou um menor efeito tóxico da atrazina sobre a sobrevivência dos nematoides, onde possivelmente a salinidade aumentada dificultou a absorção da atrazina para a espécie em questão (BLANCHARD; GROSELL, 2005). Já o contrário foi observado quando a salinidade foi reduzida, na qual os tratamentos com menores salinidades (15 e 20) aumentaram o efeito tóxico letal da atrazina, causando maior mortalidade nos nematoides adultos de *L. marina* PmII (Quadro 3 e Quadro 4). Com isso, o pensamento de haver sinergismo potencializador entre salinidade e atrazina foi descartado (presença simultânea dos dois fatores sobre o organismo, provocaria um efeito maior do que a soma de seus efeitos isolados (OLIVEIRA, 1986; FOLT *et al.*, 1999; TAO *et al.*, 1999; SCHULER *et al.*, 2005; MEHLER; SCHULER; LYDY, 2008)), visto que quanto maior a presença de salinidade menor foi o efeito tóxico da atrazina nesse estudo. Sendo assim, a presença de alta salinidade mostrou atenuar os efeitos letais da atrazina, esse equivale a um efeito inversamente proporcional, pois quanto menor a salinidade maior foi a toxicidade do contaminante perante o nematoide *L. marina* PmII.

Isso gera um alerta, na qual a atenção é focada em lugares como rios e estuários, por serem ambientes aquáticos que apresentam baixa salinidade e alguns deles encontrarem-se próximos a lavouras que fazem o uso do herbicida atrazina, onde o escoamento desse composto culmina sendo frequente e em maior quantidade, conseqüentemente maiores concentrações são encontradas nesses locais (DAVIES; COOK; BARTON, 1994; ALBUQUERQUE *et al.*, 2016) e espécies acabam sendo afetadas (SOLOMON *et al.*, 1996; WAN *et al.*, 2006; FREITAS; ROCHA, 2012; LU *et al.*, 2012).

### 3.2.5 Conclusão

Na procura por espécies modelos apropriadas, as quais permitam testar diversos efeitos causados por contaminantes em organismos bentônicos marinhos; sua facilidade de cultivo, curto tempo de geração e alta fecundidade, tornam as espécies do complexo críptico de *Litoditis marina* candidatas adequadas para avaliar os impactos que ocorrem nos ambientes. Ademais, o presente trabalho fornece mais evidências de que os nematoides rabditídeos não são excepcionalmente tolerantes a contaminantes. Com base nos resultados deste estudo, tendo em vista as concentrações letais (CL20 e CL50), *L. marina* PmII apresentou ser mais sensível à

atrazina do que a maioria das outras espécies modelo de invertebrados aquáticos. Estas concentrações letais foram dependentes do tempo de exposição ao longo do experimento (120 h), da salinidade e da interação desses dois fatores. A maior toxicidade da atrazina foi observada na menor salinidade (15), onde esta causou um efeito prejudicial sobre a sobrevivência do nematoide *L. marina* PmII, e o contrário foi observado na maior salinidade (30), na qual os tratamentos dessa interação apresentaram menor toxicidade da atrazina. Os resultados deste trabalho juntamente com outros resultados bibliográficos, podem indicar que devido a presença de uma complexidade de sais, os oceanos culminam sendo ambientes tamponadores para diversos tipos de contaminantes, reduzindo a toxicidade dos mesmos. Porém, poucos trabalhos são encontrados na literatura sobre a relação entre salinidade e atrazina e seus efeitos tóxicos sobre os organismos invertebrados; além disso, vários trabalhos demonstraram efeitos tóxicos da atrazina sobre diversas espécies, pois trata-se de um herbicida que apresenta um alto potencial de lixiviação e escoamento superficial, o que caracteriza a sua capacidade de contaminação de ambientes aquáticos e conseqüentemente podendo causar danos em organismos não-alvo. Com isso o presente estudo sugere a elaboração de estudos posteriores, para analisar os possíveis efeitos tóxicos que a interação entre salinidade e atrazina podem causar em diferentes espécies.

#### 4 CONCLUSÃO

A primeira parte da dissertação fornece mais evidências de que os nematoides rhabditídeos não são amplamente tolerantes aos contaminantes. Com base nas concentrações letais (CL) deste estudo e comparando os resultados com os demais trabalhos bibliográficos, *Litoditis marina* PmIII mostrou ser mais sensível à atrazina do que a maioria das outras espécies modelo de invertebrados aquáticos usadas pela literatura. Estas concentrações letais foram altamente dependentes do tempo de exposição. O herbicida atrazina também causou diferentes efeitos subletais em *L. marina* PmIII, estes foram amplamente consistentes entre os diferentes traços de história de vida e parâmetros populacionais, mas a fecundidade e as abundâncias máximas de juvenis, adultos e população total de nematoides foram as variáveis de resposta com maior sensibilidade. Portanto, os efeitos subletais em *L. marina* podem ser avaliados de forma mais eficiente tendo como base uma combinação de fecundidade, abundância total de nematoides bem como de adultos, este último integrando o resultado combinado de fecundidade, tempo de desenvolvimento e sobrevivência. Sua facilidade de cultura e manuseio, assim como sua sensibilidade a vários contaminantes orgânicos e a possibilidade de combinar testes de efeitos letais e avaliação detalhada de respostas subletais, em uma variedade de características de história de vida e parâmetros populacionais durante um período de tempo curto como foi observado neste estudo, tornam *L. marina* PmIII uma espécie modelo promissora para avaliação de risco ecológico em águas marinhas e salobras. Na segunda parte da dissertação foi observado que trabalhos limitados são encontrados pela literatura sobre a relação entre o fator abiótico salinidade e o herbicida atrazina, e seus possíveis efeitos tóxicos sobre os organismos invertebrados. No presente estudo, os tratamentos apenas de salinidade não causaram mortalidade significativa; já os tratamentos com interação do fator abiótico e herbicida atrazina, houve uma toxicidade maior na menor salinidade testada (15), isso culminou causando um efeito prejudicial sobre a sobrevivência da espécie críptica *Litoditis marina* PmII, ao contrário da maior salinidade avaliada (30) na qual a mortalidade observada foi bem menor. Este resultado juntamente com outros trabalhos encontrados na literatura, podem indicar que devido a presença de uma complexidade de sais, os oceanos culminam sendo ambientes tamponadores para diferentes tipos de contaminantes e conseqüentemente perfazem reduzindo a toxicidade dos mesmos. Por fim, esta dissertação deixa como sugestão a elaboração de estudos posteriores, para analisar os possíveis efeitos que a interação entre salinidade e atrazina podem causar em diferentes espécies, além disso sugere também estudos subsequentes para entender como funciona o modo de ação da atrazina em invertebrados aquáticos.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ABESSA, D. M.; SOUSA, E. C.; TOMMASI, L. R. Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos. **Revista de Geologia**, v. 19, n. 2, p. 253-261, 2006. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Denis-Abessa/publication/237496638\\_Utilizacao\\_de\\_testes\\_de\\_toxicidade\\_na\\_avaliacao\\_da\\_qualidade\\_de\\_sedimentos\\_marinhos/links/0c96053873c7cdffa4000000/Utilizacao-de-testes-de-toxicidade-na-avaliacao-da-qualidade-de-sedimentos-marinhos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Denis-Abessa/publication/237496638_Utilizacao_de_testes_de_toxicidade_na_avaliacao_da_qualidade_de_sedimentos_marinhos/links/0c96053873c7cdffa4000000/Utilizacao-de-testes-de-toxicidade-na-avaliacao-da-qualidade-de-sedimentos-marinhos.pdf). Acesso em: 22 dez. 2021.
- ACHIORNO, C. L.; VILLALOBOS, C. de; FERRARI, L. Toxicity of the herbicide glyphosate to *Chordodes nobilii* (Gordiida, Nematomorpha). **Chemosphere**, v. 71, n. 10, p. 1816-1822, 1 may 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.02.001>. Acesso em: 12 dez. 2019.
- ACKERMAN, F.; WHITED, M.; KNIGHT, P. Would banning atrazine benefit farmers? **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 20, n. 1, p. 61-70, 14 jan. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1179/2049396713Y.0000000054>. Acesso em: 30 set. 2019.
- ADEGAS, F. S. *et al.* Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. **Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2017. 11 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1074026>. Acesso em: 15 out. 2019.
- ALBUQUERQUE, A. F. *et al.* Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 18, n. 7, p. 779-787, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C6EM00268D>. Acesso em: 19 out. 2019.
- ALLRAN, J. W.; KARASOV, W. H. Effects of atrazine on embryos, larvae, and adults of anuran amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 769-775, 1 apr. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620200411>. Acesso em: 14 out. 2019.
- ALMASI, H. *et al.* Spatial distribution, ecological and health risk assessment and source identification of atrazine in Shadegan international wetland, Iran. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111569, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111569>. Acesso em: 23 nov. 2021.
- ALVAREZ, M. Del C.; FUIMAN, L. A. Environmental levels of atrazine and its degradation products impair survival skills and growth of red drum larvae. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 3, p. 229-241, 10 sept. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.05.014>. Acesso em: 14 out. 2019.
- ÁLVAREZ, N. B. *et al.* The adverse effect of the herbicide atrazine on the reproduction in the intertidal varunid crab *Neohelice granulata* (Dana, 1851). **Regional Studies in Marine Science**, v. 1, p. 1-6, 1 mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2014.12.001>. Acesso em: 29 out. 2019.
- ANBALAGAN, C. *et al.* Use of transgenic GFP reporter strains of the nematode *Caenorhabditis elegans* to investigate the patterns of stress responses induced by pesticides and by organic extracts from agricultural soils. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 1, p. 72-85, 2013.

Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10646-012-1004-2>. Acesso em: 18 out. 2019.

ARIAS, A. R. *et al.* Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100011>. Acesso em: 23 out. 2019.

ARMAS, E. D. *et al.* Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, out. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500013>. Acesso em: 13 out. 2019.

ASSAD, R.; RESHI, Z. A.; RASHID, I. Global Environmental Regulations for Management of Pesticides. *In: Bioremediation and Biotechnology*. BHAT, R. A., HAKEEM, K. R., DERVASH, M. A. (Eds.), Springer, Cham, Switzerland, v. 2, p. 259-270, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-40333-1\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-40333-1_15). Acesso em: 2 fev. 2021.

ATSDR. Agency for toxic substances disease registry. **Toxicological profile for Atrazine**, Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2003. Disponível em: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=338&tid=59>. Acesso em: 20 abr. 2021.

BACK, P. *et al.* Effects of sod gene overexpression and deletion mutation on the expression profiles of reporter genes of major detoxification pathways in *Caenorhabditis elegans*. **Experimental Gerontology**, v. 45, n. 7-8, p. 603-610, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.01.014>. Acesso em: 25 abr. 2021.

BAGNATI, R. *et al.* Screening of 21 pesticides in water by single extraction with C18 silica bonded phase columns and HRGC-MS. **Chemosphere**, v. 17, n. 1, p. 59-65, 1988. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(88\)90044-6](https://doi.org/10.1016/0045-6535(88)90044-6). Acesso em: 29 abr. 2021.

BARANOWSKA, I. *et al.* ELISA and HPLC methods for atrazine and simazine determination in trophic chains samples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 2, p. 341-348, 1 june 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.06.012>. Acesso em: 10 out. 2019.

BARKY, F. A. *et al.* Influence of Atrazine and Roundup pesticides on biochemical and molecular aspects of *Biomphalaria alexandrina* snails. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 1, p. 9-18, 1 sept. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.05.012>. Acesso em: 11 out. 2020.

BASTIAN, H. C. Monograph on the Anguillulidae, or Free Nematoids, Marine, Land, and Freshwater; with Descriptions of 100 New Species. **Transactions of the Linnean Society of London**, v. 25, n. 2, p. 73-184, 1 nov. 1865. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1096-3642.1865.tb00179.x>. Acesso em: 1 nov. 2019.

BAXTER, L. R. *et al.* Atrazine does not affect algal biomass or snail populations in microcosm communities at environmentally relevant concentrations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 7, p. 1689-1696, 1 july 2011. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.552>. Acesso em: 22 out. 2020.

BEJARANO, A. C. *et al.* Atrazine effects on meiobenthic assemblages of a modular estuarine mesocosm. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 11, p. 1398-1404, 1 nov. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.012>. Acesso em: 15 set. 2021.

- BELLUCK, D. A.; BENJAMIN, S. L.; DATSON, T. Groundwater Contamination by Atrazine and Its Metabolites Risk Assessment, Policy, and Legal Implications. **Pesticide Transformation Products**, p. 254-273, 1991. Disponível em: <https://doecity.com/pesticide-transformation-products-acs-publications-american-5f106d81bef0e.html>. Acesso em: 20 abr. 2021.
- BETHSASS, J.; COLANGELO, A. European Union bans atrazine, while the United States negotiates continued use. **International journal of occupational and environmental health**, v. 12, n. 3, p. 260-267, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1179/oeh.2006.12.3.260>. Acesso em: 28 abr. 2021.
- BLANCHARD, J.; GROSELL, M. Effects of salinity on copper accumulation in the common killifish (*Fundulus heteroclitus*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 24, n. 6, p. 1403-1413, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1897/04-373R.1>. Acesso em: 11 dez. 2021.
- BLISS, C. I. The calculation of the dosage-mortality curve. **Annals of Applied Biology**, v. 22, n. 1, p. 134-167, 1935. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1935.tb07713.x>. Acesso em: 13 dez. 2021.
- BLISS, C. I. The method of probits. **Science**, v. 79, n. 2037, p. 38-39, 1934. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.79.2037.38>. Acesso em: 13 dez. 2021.
- BOMBARDI, L. M. Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia. São Paulo, FFLCH-USP, 296 p., 2017. Disponível em: <https://conexaoagua.mpf.mp.br/arquivos/agrotoxicos/05-larissa-bombardi-atlas-agrotoxico-2017.pdf>. Acesso em: 1 out. 2021.
- BONGERS, T.; BONGERS, M. Functional diversity of nematodes. **Applied soil ecology**, v. 10, n. 3, p. 239-251, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00123-1). Acesso em: 1 fev. 2020.
- BONGERS, T.; FERRIS, H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 14, n. 6, p. 224-228, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01583-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01583-3). Acesso em: 3 fev. 2020.
- BOOPATHY, R. Anaerobic degradation of atrazine. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 626-630, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.002>. Acesso em: 9 dez. 2021.
- BORTOLUZZI, E. C. *et al.* Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 881-887, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662006000400015>. Acesso em: 19 abr. 2021.
- BRADLEY, R. W.; SPRAGUE, J. B. Accumulation of zinc by rainbow trout as influenced by pH, water hardness and fish size. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 4, n. 5, p. 685-694, 1985a. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620040512>. Acesso em: 26 abr. 2021.
- BRADLEY, R. W.; SPRAGUE, J. B. The influence of pH, water hardness, and alkalinity on the acute lethality of zinc to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, n. 4, p. 731-736, 1985b. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/f85-094>. Acesso em: 26 abr. 2021.

BRAIN, R. A.; ANDERSON, J. C.; HANSON, M. L. Acute and early life-stage toxicity of atrazine in sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 218, p. 112303, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112303>. Acesso em: 30 set. 2021.

BRAIN, R. A.; ANDERSON, J. C.; HANSON, M. L. Toxicity of Atrazine to Marine Invertebrates Under Flow-Through Conditions—Eastern Oyster (*Crassostrea virginica*) and Mysid Shrimp (*Americamysis bahia*). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 4, p. 1-14, 2021b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05075-6>. Acesso em: 30 set. 2021.

BRAIN, R. A. *et al.* Extended fish short term reproduction assays with the fathead minnow and Japanese medaka: No evidence of impaired fecundity from exposure to atrazine. **Chemosphere**, v. 205, p. 126-136, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.068>. Acesso em: 30 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria MS Nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <file:///C:/Users/Windows%2010/Downloads/portaria-no-2-914-de-12-de-dezembro-de-2011.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2021.

BRITTO, F. B. *et al.* Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 43, n. 2, p. 390-398, jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902012000200024>. Acesso em: 25 nov. 2019.

BRYANT, V. *et al.* Effect of temperature and salinity on the toxicity of nickel and zinc to two estuarine invertebrates. **Marine Ecology Progress Series**, v. 24, p. 139-153, 1985. Disponível em: <https://www.int-res.com/articles/meps/24/m024p139.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2021.

BUTENKO, K. O. *et al.* Forest fires alter the trophic structure of soil nematode communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 109, p. 107-117, 1 June 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.02.006>. Acesso em: 22 out. 2019.

CANUTO, T. G. *et al.* Estimativa do risco potencial de contaminação por pesticidas de águas superficiais e subterrâneas do município de Tianguá-CE, com aplicação do método de goss e índice de GUS. *In: XVI Congresso Brasileiro De águas Subterrâneas e XVII Encontro Nacional De Perfuradores De Poços*, 2010. 20 p. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/23083>. Acesso em: 19 out. 2019.

CARNEIRO, F. F. *et al* (Org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015. 624 p. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/26221/2/Livro%20EPSJV%20013036.pdf>. Acesso em: 9 mar. 2020.

CARVALHO, F. T.; CAVAZZANA, M. A.; JÚNIOR, W. G. Eficácia do herbicida flazasulfuron no controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar e seus efeitos no crescimento e produtividade da cultura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 1, p. 78-88, 2005. Disponível em: <http://rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/12/39>. Acesso em: 11 mar. 2020.

CARVALHO, N. L.; PIVOTO, T. S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância

- agronômica. **Revista Monografias Ambientais**, v. 2, n. 2, p. 176-192, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/223613082315>. Acesso em: 20 out. 2021.
- CHAPMAN, P. M. *et al.* Evaluation of effects associated with an oil platform, using the sediment quality triad. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 10, n. 3, p. 407-424, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620100313>. Acesso em: 23 out. 2021.
- CHAPMAN, P. M.; LONG, E. R. The use of bioassays as part of a comprehensive approach to marine pollution assessment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 14, n. 3, p. 81-84, 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(83\)90305-3](https://doi.org/10.1016/0025-326X(83)90305-3). Acesso em: 15 out. 2021.
- CHENG, Y. *et al.* Combined effects of mulch film-derived microplastics and atrazine on oxidative stress and gene expression in earthworm (*Eisenia fetida*). **Science of the Total Environment**, v. 746, p. 141280, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141280>. Acesso em: 6 out. 2021.
- CHRISTOFFOLETI, P. J. *et al.* (Org.). **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar**. 1. ed. Piracicaba: CP, v. 2, 2008. 72 p. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5262125/mod\\_resource/content/1/Livro%20Herbicidas%20no%20Solo.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5262125/mod_resource/content/1/Livro%20Herbicidas%20no%20Solo.pdf). Acesso em: 19 abr. 2021.
- CLOSE, M. E.; HUMPHRIES, B.; NORTHCOTT, G. Outcomes of the first combined national survey of pesticides and emerging organic contaminants (EOCs) in groundwater in New Zealand 2018. **Science of The Total Environment**, v. 754, p. 142005, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142005>. Acesso em: 29 abr. 2021.
- COELHO, E. R.; BERNARDO, L. D. Presença e remoção de atrazina, desetilatraxina, desisopropilatraxina e desetilhidroxiatraxina em instalação piloto de ozonização e filtração lenta. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 4, p. 789-796, 3 ago. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-41522017147638>. Acesso em: 18 out. 2019.
- COLEONE, A. C. *et al.* Validação de método analítico e de extração do malation em água e solo após nebulização de combate ao *Aedes aegypti*. **Revista Ambiente & Água**, v. 12, p. 426-434, 2 maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1993>. Acesso em: 7 dez. 2019.
- CONSTANTIN, J. Métodos de manejo. **Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba: Ominipax**, p. 67-78, 2011. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4210561/mod\\_resource/content/2/10%20-%20Leitura%20metodos%20de%20controle%201.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4210561/mod_resource/content/2/10%20-%20Leitura%20metodos%20de%20controle%201.pdf). Acesso em: 11 dez. 2019.
- COOPER, R. L. *et al.* Atrazine and reproductive function: mode and mechanism of action studies. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 80, n. 2, p. 98-112, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bdrb.20110>. Acesso em: 5 set. 2020.
- CORREIA, F. V. *et al.* Atrazine sorption and fate in a Ultisol from humid tropical Brazil. **Chemosphere**, v. 67, n. 5, p. 847-854, 1 mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.034>. Acesso em: 29 set. 2019.
- COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química nova**, v. 31, p. 1820-1830, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>. Acesso em: 21 jan. 2022.

COUTINHO, C. F. *et al.* Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 15, p. 65-72, 2005. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/pesticidas/article/viewFile/4469/3518>. Acesso em: 26 set. 2019.

DANOVARO, R. *et al.* Trophic importance of subtidal metazoan meiofauna: Evidence from in situ exclusion experiments on soft and rocky substrates. **Marine Biology**, v. 152, n. 2, p. 339-350, 24 aug. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0696-y>. Acesso em: 20 out. 2019.

DAVIES, P. E.; COOK, L. S.; BARTON, J. L. Triazine herbicide contamination of Tasmanian streams: sources, concentrations and effects on biota. **Marine and Freshwater Research**, v. 45, n. 2, p. 209-226, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/MF9940209>. Acesso em: 20 abr. 2021.

DE ALBUQUERQUE, F. P. *et al.* An overview of the potential impacts of atrazine in aquatic environments: Perspectives for tailored solutions based on nanotechnology. **Science of The Total Environment**, v. 700, p. 134868, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134868>. Acesso em: 10 jan. 2021.

DELORENZO, M. E. *et al.* Effects of salinity on oil dispersant toxicity in the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 134, p. 256-263, 1 dec. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.09.008>. Acesso em: 30 out. 2020.

DELORENZO, M. E. Impacts of climate change on the ecotoxicology of chemical contaminants in estuarine organisms. **Current Zoology**, v. 61, n. 4, p. 641-652, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/czoolo/61.4.641>. Acesso em: 18 nov. 2021.

DE MEESTER, N. *et al.* Salinity effects on the coexistence of cryptic species: A case study on marine nematodes. **Marine Biology**, v. 158, n. 12, p. 2717-2726, 17 dec. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1769-5>. Acesso em: 12 out. 2019.

DE MEESTER, N. *et al.* Temperature and salinity induce differential responses in life histories of cryptic nematode species. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 472, p. 54-62, 1 nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2015.07.002>. Acesso em: 12 out. 2019.

DE OLIVEIRA, L. A. *et al.* Using electromagnetic induction technology to identify atrazine leaching potential at field scale. **Geoderma**, v. 375, p. 114525, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114525>. Acesso em: 15 nov. 2020.

DE OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. *In: Biologia e Manejo de Plantas Daninhas*. DE OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.), Curitiba, Brasil: Omnipax, 2011. 348 p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/904895/1/Comportamentoherbicidas.pdf>. Acesso em: 26 out. 2019.

DE OLIVEIRA, T. M.; KLEINE, T.; VAZ, C. (Eds.). **Toxicologia Aquática com Microcrustáceos**. 1 ed. Curitiba: Editora Appris, 2020. 89 p.

DERAKHSHAN, Z. *et al.* New technologies in atrazine removal from environment with emphasis on biodegradation: a review. **Toloo-e-Behdasht**, v. 15, n. 3, p. 221-246, 2016. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20163370154>. Acesso em: 21 nov. 2020.

DERYCKE, S. *et al.* Effects of sublethal abiotic stressors on population growth and genetic

diversity of *Pellioiditis marina* (Nematoda) from the Westerschelde estuary. **Aquatic Toxicology**, v. 82, n. 2, p. 110-119, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.02.002>. Acesso em: 9 dez. 2021.

DERYCKE, S. *et al.* Mitochondrial DNA variation and cryptic speciation within the free-living marine nematode *Pellioiditis marina*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 300, p. 91-103, 16 sept. 2005. Disponível em: doi:10.3354/meps300091. Acesso em: 13 out. 2019.

DERYCKE, S. *et al.* Phylogeography of the *Rhabditis (Pellioiditis) marina* species complex: Evidence for long-distance dispersal, and for range expansions and restricted gene flow in the northeast Atlantic. **Molecular Ecology**, v. 17, n. 14, p. 3306-3322, 1 July 2008. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-294X.2008.03846.x>. Acesso em: 13 out. 2019.

DE SOUZA, R. M. *et al.* Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 135, p. 22-37, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035>. Acesso em: 7 abr. 2021.

DE SOUZA, R. R. **Efeitos da atrazina na composição química e morfologia de cascas de ovos de *Podocnemis expansa* (testudines, podocnemididae) incubadas artificialmente.** 2013. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013. Disponível em: <http://repositorio.ufu.br/handle/123456789/13089>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DESTRO, A. L. *et al.* Effects of subchronic exposure to environmentally relevant concentrations of the herbicide atrazine in the neotropical fish *Astyanax altiparanae*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111601, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111601>. Acesso em: 18 jun. 2021.

DIAS, A. C. *et al.* Ocorrência de Atrazina em águas no Brasil e remoção no tratamento da água: revisão sistemática. **Revista Internacional de Ciências**, v. 8, n. 2, p. 234-253, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.12957/ric.2018.34202>. Acesso em: 21 jan. 2020.

DILLON, T. M.; MOORE, D. W.; GIBSON, A. B. Development of a chronic sublethal bioassay for evaluating contaminated sediment with the marine polychaete worm *Nereis (Neanthes) arenaceodentata*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 12, n. 3, p. 589-605, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620120318>. Acesso em: 27 jan. 2021.

DIONNE, E. *et al.* Chronic toxicity of technical atrazine to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) during a full life-cycle exposure and an evaluation of the consistency of responses. **Science of The Total Environment**, v. 755, p. 142589, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142589>. Acesso em: 27 jun. 2021.

DO CARMO, D. A. *et al.* Comportamento ambiental e toxicidade dos herbicidas atrazina e simazina. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 1, p. 133-143, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1073>. Acesso em: 27 jun. 2021.

DODSON, S. I. *et al.* Low exposure concentrations of atrazine increase male production in *Daphnia pulicaria*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 7, p. 1568-1573, 1 July 2009. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.5620180732>. Acesso em: 12 out. 2019.

DORES, E. F.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso - análise preliminar. **Química Nova**, v. 24, n. 01, p. 27-36, 2001. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422001000100007>. Acesso em: 20 abr. 2021.

DORES, E. F. *et al.* Multiresidue determination of herbicides in environmental waters from Primavera do Leste Region (Middle West of Brazil) by SPE-GC-NPD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 5, p. 866-873, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/hM8wPXnbKbvhg4cYC8xQ48m/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 2 dez. 2021.

DOS SANTOS, C. A.; RIBEIRO, J. C. (Org.). **Desafios e Sustentabilidade no Manejo de Plantas**. Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. 79 p. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Camila-Pinho-3/publication/333863887\\_ESTRESSE\\_EM\\_PLANTAS\\_PELA\\_APLICACAO\\_DE\\_HERBICIDAS/links/5ea18ed0458515ec3aff8e79/ESTRESSE-EM-PLANTAS-PELA-APLICACAO-DE-HERBICIDAS.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Camila-Pinho-3/publication/333863887_ESTRESSE_EM_PLANTAS_PELA_APLICACAO_DE_HERBICIDAS/links/5ea18ed0458515ec3aff8e79/ESTRESSE-EM-PLANTAS-PELA-APLICACAO-DE-HERBICIDAS.pdf). Acesso em: 18 jun. 2021.

DOS SANTOS, E. A. *et al.* Atrazine levels in the Jaboticabal water stream (São Paulo State, Brazil) and its toxicological effects on the pacu fish *Piaractus mesopotamicus*. **Arhiv za higijenu rada i toksikologiju**, v. 66, n. 1, p. 73-81, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/aiht-2015-66-2571>. Acesso em: 14 dez. 2021.

DOS SANTOS, G. A. *et al.* Differential effects of food availability on population growth and fitness of three species of estuarine, bacterial-feeding nematodes. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 355, n. 1, p. 27-40, 8 feb. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.11.015>. Acesso em: 19 out. 2019.

ELIAS, D.; BERNOT, M. J. Effects of atrazine, metolachlor, carbaryl and chlorothalonil on benthic microbes and their nutrient dynamics. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e109190, 2014. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0109190>. Acesso em: 22 abr. 2021.

ESTEVEVES, C. S. *et al.* Riscos ambientais do uso de agrotóxicos na produção de hortaliças no município de Itabaiana, Sergipe. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 1, n. 1, 29 maio. 2018. Disponível em: <http://www.seer.ufal.br/index.php/era/article/view/5133>. Acesso em: 4 nov. 2019.

FERNANDES, A. F. *et al.* Impact of atrazine exposure on the microbial community structure in a Brazilian tropical latosol soil. **Microbes and environments**, v. 35, n. 2, p. ME19143, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME19143>. Acesso em: 7 fev. 2022.

FERNANDEZ, T. V.; JONES, N. V. Studies on the toxicity of zinc and copper applied singly and jointly to *Nereis diversicolor* at different salinities and temperatures. **Tropical Ecology**, v. 31, n. 1, p. 47-55, 1990b.

FERNANDEZ, T. V.; JONES, N. V. The influence of salinity and temperature on the toxicity of zinc to *Nereis diversicolor*. **Tropical Ecology**, v. 31, n. 1, p. 40-46, 1990a.

FERREIRA, C. R.; VEGRO, C. L.; CAMARGO, M. L. Defensivos agrícolas: Comercialização recorde em 2013 e expectativas de acréscimo nas vendas em 2014. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v. 9, p. 1-5, 2014.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. 3rd ed., Cambridge University Press, London, UK, 1952. 333 p.

FLEEGER, J. W.; CHANDLER, G. T. Meiofauna responses to an experimental oil spill in a Louisiana salt marsh. **Marine Ecology Progress Series**, v. 11, p. 257-264, 24 mar. 1983. Disponível em: <http://www.int-res.com/articles/meps/11/m011p257.pdf>. Acesso em: 20 out.

2019.

FLOOD, S.; BURKHOLDER, J.; COPE, G. Assessment of atrazine toxicity to the estuarine phytoplankter, *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta), under varying nutrient conditions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 11409-11423, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1310-1>. Acesso em: 3 out. 2021.

FOLT, C. L. *et al.* Synergism and antagonism among multiple stressors. **Limnology and oceanography**, v. 44, n. 3part2, p. 864-877, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.3\\_part\\_2.0864](https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.3_part_2.0864). Acesso em: 10 dez. 2021.

FORGET-LERAY, J. *et al.* Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* (Poppe). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 3, p. 288-294, 1 mar. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.008>. Acesso em: 10 out. 2020.

FORGET, J. *et al.* Mortality and LC50 values for several stages of the marine copepod *Tigriopus brevicornis* (Muller) exposed to the metals arsenic and cadmium and the pesticides atrazine, carbofuran, dichlorvos, and malathion. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 40, n. 3, p. 239-244, 1 july 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1686>. Acesso em: 11 out. 2020.

FORTIN, M. G. *et al.* Effects of salinity on sublethal toxicity of atrazine to mummichog (*Fundulus heteroclitus*) larvae. **Marine environmental research**, v. 65, n. 2, p. 158-170, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2007.09.007>. Acesso em: 11 dez. 2021.

FRANCOLINO, B. Y. *et al.* Short-term lethal and sublethal atrazine effects on *Litoditis marina*: towards a nematode model for marine toxicity assessment? **Ecological Indicators**, v. 126, p. 107642, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107642>. Acesso em: 15 out. 2021.

FRANK, P. M.; ROBERTSON, P. B. The Influence of Salinity on Toxicity of Cadmium and Chromium to the Blue Crab, *Callinectes sapidus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 74-78, 1979. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF01685389.pdf>. Acesso em: 12 out. 2019.

FRAMPTON, G. K. *et al.* Effects of pesticides on soil invertebrates in laboratory studies: a review and analysis using species sensitivity distributions. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 25, n. 9, p. 2480-2489, 9 dec. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1897/05-438R.1>. Acesso em: 2 out. 2021.

FREITAS, E. C.; ROCHA, O. Acute and chronic effects of atrazine and sodium dodecyl sulfate on the tropical freshwater cladoceran *Pseudosida ramosa*. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 5, p. 1347-1357, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0888-1>. Acesso em: 5 out. 2020.

FREITAS, E. C.; ROCHA, O. Acute toxicity tests with the tropical cladoceran *Pseudosida ramosa*: The importance of using native species as test organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 2, p. 241-249, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9541-2>. Acesso em: 8 out. 2019.

FUSHIWAKI, Y.; URANO, K. Adsorption of Pesticides and Their Biodegraded Products on Clay Minerals and Soils. **JOURNAL OF HEALTH SCIENCE**, v. 47, n. 4, p. 429-432, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/jhs.47.429>. Acesso em: 4 nov. 2019.

GAD, S. C. LD50/LC50 (Lethal Dosage 50/Lethal Concentration 50). *In: Reference Module in Biomedical Sciences: Encyclopedia of Toxicology*. 3rd ed., WEXLER, P. (Ed.), Cary, NC, USA: Elsevier Inc., p. 58-60, 2014. Disponível em: [10.1016/B978-0-12-386454-3.00867-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00867-8). Acesso em: 22 out. 2019.

GALOPPO, G. H. *et al.* Long-term effects of in ovo exposure to an environmentally relevant dose of atrazine on the thyroid gland of *Caiman latirostris*. **Environmental research**, v. 186, p. 109410, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109410>. Acesso em: 23 nov. 2021.

GARCÍA-ESPIÑEIRA, M.; TEJEDA-BENITEZ, L.; OLIVERO-VERBEL, J. Toxicity of atrazine-and glyphosate-based formulations on *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 156, p. 216-222, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.075>. Acesso em: 20 dez. 2020.

GIERE, O. **Meiobenthology: the microscopic fauna in aquatic sediments**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1993.

GIERE, O. **Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments**. 2nd ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 2009.

GILLIOM, R. J. *et al.* **Pesticides in the nation's streams and ground water, 1992–2001**. Virginia: U.S. Geological Survey Circular 1291, 2006. 172 p.

GLAESNER, N. *et al.* Ageing of atrazine in manure amended soils assessed by bioavailability to *Pseudomonas sp.* strain ADP. **Biodegradation**, v. 25, n. 2, p. 217-225, 4 apr. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10532-013-9654-1>. Acesso em: 3 nov. 2019.

GOLOMBIESKI, J. I. *et al.* Cladocera, Copepods and Rotifers in rice-fish culture handled with metsulfuron-methyl and azimsulfuron herbicides and carbofuran insecticide. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2097-2102, nov. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000800001>. Acesso em: 27 out. 2019.

GRAYMORE, M.; STAGNITTI, F.; ALLINSON, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. **Environment International**, v. 26, n. 7-8, p. 483-495, 1 june 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00031-9). Acesso em: 27 out. 2019.

GUARDA, P. M. *et al.* Analysis of triazines, triazoles, and benzimidazoles used as pesticides in different environmental compartments of the Formoso River and their influence on biodiversity in Tocantins. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 9, p. 783-793, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1784667>. Acesso em: 20 abr. 2021.

GUSTAFSON, K. D.; BELDEN, J. B.; BOLEK, M. G. The effects of the herbicide atrazine on freshwater snails. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 5, p. 1183-1197, 14 july 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1469-x>. Acesso em: 3 out. 2021.

HACK, L. A. *et al.* Zinc sulfate and atrazine toxicity to the marine harpacticoid copepod *Robertsonia propinqua*. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 42, n. 1, p. 93-98, mar. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00288330809509939>. Acesso em: 28 out. 2019.

HÄGERBÄUMER, A. *et al.* Experimental studies with nematodes in ecotoxicology: an overview. **Journal of nematology**, v. 47, n. 1, p. 11-27, mar. 2015. Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25861113>. Acesso em: 29 out. 2019.

HALL, L. W.; ANDERSON, R. D. The influence of salinity on the toxicity of various classes of chemicals to aquatic biota. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 25, n. 4, p. 281-346, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10408449509021613>. Acesso em: 6 set. 2021.

HALL, L. W. *et al.* Influence of Salinity on Atrazine Toxicity to a Chesapeake Bay Copepod (*Eurytemora affinis*) and Fish (*Cyprinodon variegatus*). **Estuaries**, v. 17, n. 1B, p. 181-186, mar. 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1352567>. Acesso em: 2 out. 2021.

HALL, L. W. *et al.* The influence of salinity and sediment on the loss of atrazine from the water column. **Chemosphere**, v. 31, n. 3, p. 2919-2944, 1 aug. 1995a. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00155-2](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00155-2). Acesso em: 1 out. 2021.

HALL, L. W. *et al.* The influence of salinity on the chronic toxicity of atrazine to an estuarine copepod: Implications for development of an estuarine chronic criterion. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 28, n. 3, p. 344-348, abr. 1995b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00213112>. Acesso em: 1 out. 2021.

HALL JR, L. W.; ANDERSON, R. D.; AILSTOCK, M. S. Chronic toxicity of atrazine to sago pondweed at a range of salinities: implications for criteria development and ecological risk. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 33, n. 3, p. 261-267, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s002449900252>. Acesso em: 7 out. 2021.

HALL JR, L. W. *et al.* The effects of salinity on the degradation of atrazine. **Report, Ciba-Geigy Corporation**, Greensboro, NC, USA, 1992.

HAYES, T. B. *et al.* Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 10, p. 4612-4617, 9 mar. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0909519107>. Acesso em: 30 set. 2019.

HAYES, T. B. *et al.* Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: Consistent effects across vertebrate classes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 127, n. 1-2, p. 64-73, 1 out. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.03.015>. Acesso em: 30 set. 2019.

HE, H. *et al.* Acute toxicity of butachlor and atrazine to freshwater green alga *Scenedesmus obliquus* and cladoceran *Daphnia carinata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 91-96, 1 june 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.02.009>. Acesso em: 17 out. 2019.

HEATON, A. *et al.* Interspecific variation in nematode responses to metals. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 39, n. 5, p. 1006-1016, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32072668/>. Acesso em: 21 jul. 2020.

HEATON, A. *et al.* Variation in copper sensitivity between laboratory and wild strains of *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, v. 287, p. 131883, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131883>. Acesso em: 18 jan. 2022.

HEIP, C.; VINCX, M.; VRANKEN, G. **The ecology of marine nematodes**. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, 1985.

HENRY, B. L.; WESNER, J. S. Severing ties: different responses of larval and adult aquatic insects to atrazine and selenium. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 15, p. 8848-8857, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01791>. Acesso em: 10 fev.

2020.

HÖSS, S. *et al.* Interlaboratory comparison of a standardized toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872). **Environmental toxicology and chemistry**, v. 31, n. 7, p. 1525-1535, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.1843>. Acesso em: 18 fev. 2020.

HÖSS, S.; SCHLOTTMANN, K.; TRAUNSPURGER, W. Toxicity of ingested cadmium to the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Environmental science & technology**, v. 45, n. 23, p. 10219-10225, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es2027136>. Acesso em: 15 fev. 2020.

HÖSS, S.; WELTJE, L. Endocrine disruption in nematodes: effects and mechanisms. **Ecotoxicology**, v. 16, n. 1, p. 15-28, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0108-y>. Acesso em: 15 fev. 2020.

HÖSS, S.; WILLIAMS, P. L. Ecotoxicity testing with nematodes. *In*: **Nematodes as environmental indicators**. KAKOULI-DUARTE, T.; WILSON, M. J. (Eds.), CABI, p. 208-224, 2009.

HOU, X. *et al.* Ascorbic acid induced atrazine degradation. **Journal of hazardous materials**, v. 327, p. 71-78, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.12.048>. Acesso em: 9 dez. 2021.

HOWARD, P. H. *et al.* **Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Volume II: Solvents**. Chelsea, MI (US): Lewis Publishers, 1 jan. 1990. Disponível em: <https://www.osti.gov/biblio/5929763>. Acesso em: 19 out. 2019.

HOWELL, R. Heavy metals in marine nematodes: Uptake, tissue distribution and loss of copper and zinc. **Marine Pollution Bulletin**, v. 14, n. 7, p. 263-268, July 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(83\)90170-4](https://doi.org/10.1016/0025-326X(83)90170-4). Acesso em: 25 out. 2019.

HUANG, H. *et al.* Effect of two organic amendments on atrazine degradation and microorganisms in soil. **Applied Soil Ecology**, v. 152, p. 103564, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103564>. Acesso em: 8 out. 2021.

HUANG, H. *et al.* Influence of *Glomus etunicatum*/*Zea mays* mycorrhiza on atrazine degradation, soil phosphatase and dehydrogenase activities, and soil microbial community structure. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 4, p. 726-734, 1 apr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.01.009>. Acesso em: 3 nov. 2019.

HUANG, M. *et al.* The effect of atrazine on intestinal histology, microbial community and short chain fatty acids in *Pelophylax nigromaculatus* tadpoles. **Environmental Pollution**, v. 288, p. 117702, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117702>. Acesso em: 9 out. 2021.

HUTTON, S. J. *et al.* Salinity Alters Toxicity of Commonly Used Pesticides in a Model Euryhaline Fish Species (*Menidia beryllina*). **Toxics**, v. 9, n. 5, p. 114, 20 may 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxics9050114>. Acesso em: 5 out. 2021.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2019. Disponível em: [http://ibama.gov.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=594&Itemid=546](http://ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594&Itemid=546). Acesso em: 29 set. 2020.

JABLONOWSKI, N. D.; SCHÄFFER, A.; BURAUDEL, P. Still present after all these years:

persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 2, p. 328-331, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0431-y>. Acesso em: 15 dez. 2020.

JACOMINI, A. E. *et al.* Bioaccumulation of atrazine in freshwater bivalves *Anodonta trapesialis* (Lamarck, 1819) and *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 51, n. 3, p. 387-391, 21 oct. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0238-x>. Acesso em: 28 set. 2019.

JARDIM, I. C.; ANDRADE, J. de A.; QUEIROZ, S. C. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global-Um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, p. 996-1012, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400031>. Acesso em: 25 set. 2019.

JAVARONI, R. C.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. Comportamento dos herbicidas atrazina e alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 58-64, fev. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000100012>. Acesso em: 26 out. 2019.

JÄNSCH, S. *et al.* Effects of pesticides on soil invertebrates in model ecosystem and field studies: a review and comparison with laboratory toxicity data. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 25, n. 9, p. 2490-2501, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1897/05-439R.1>. Acesso em: 28 out. 2019.

JI, Q. *et al.* Atrazine and malathion shorten the maturation process of *Xenopus laevis* oocytes and have an adverse effect on early embryo development. **Toxicology in Vitro**, v. 32, p. 63-69, 1 apr. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.12.006>. Acesso em: 21 jul. 2019.

JIANG, L. *et al.* NMR Based Metabolomics Study on Sea Anemones *Exaiptasia diaphana* (Rapp, 1829) under Atrazine Exposure. **Molecular Omics**, v. 17, 1012-1020, 2021. Disponível em: 10.1039/D1MO00223F. Acesso em: 7 out. 2021.

JOHNSON, I. C.; KELLER, A. E.; ZAM, S. G. A method for conducting acute toxicity tests with the early life stages of freshwater mussels. *In: Environmental Toxicology and Risk Assessment*. LANDIS, W.; HUGHES, J.; LEWIS, M. (Eds.), West Conshohocken, PA: ASTM International, p. 381-396, 1 jan. 1993. Disponível em: [https://www.astm.org/DIGITAL\\_LIBRARY/STP/PAGES/STP19253S.htm](https://www.astm.org/DIGITAL_LIBRARY/STP/PAGES/STP19253S.htm). Acesso em: 3 out. 2021.

JONES, T. W. *et al.* Degradation of atrazine in estuarine water/sediment systems and soils. **Journal of Environmental Quality**, v. 11, n. 4, p. 632-638, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/jeq1982.00472425001100040015x>. Acesso em: 8 dez. 2021.

JUHEL, G. *et al.* Use of a suite of biomarkers to assess the effects of carbamazepine, bisphenol A, atrazine, and their mixtures on green mussels, *Perna viridis*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 2, p. 429-441, 2017. Disponível em: <https://doi.wiley.com/10.1002/etc.3556>. Acesso em: 23 out. 2019.

KAMMENGA, J. E. *et al.* A toxicity test in artificial soil based on the life-history strategy of the nematode *Plectus acuminatus*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 15, n. 5, p. 722-727, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620150517>. Acesso em: 27 out. 2019.

KAMMENGA, J. E.; VAN GESTEL, C. A.; BAKKER, J. Patterns of sensitivity to cadmium

and pentachlorophenol among nematode species from different taxonomic and ecological groups. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 27, n. 1, p. 88-94, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00203892>. Acesso em: 27 out. 2019.

KEARNEY, P. C.; KAUFMAN, D. D. **Herbicides: chemistry, degradation and mode of action**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Incorporated, 1975. 453 p.

KENNEDY, A. D.; JACOBY, C. A. Biological Indicators of Marine Environmental Health: Meiofauna – A Neglected Benthic Component? **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 54, n. 1, p. 47-68, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1005854731889>. Acesso em: 16 out. 2019.

KIBRIA, G. *et al.* Climate change impacts on pollutants mobilization and interactive effects of climate change and pollutants on toxicity and bioaccumulation of pollutants in estuarine and marine biota and linkage to seafood security. **Marine Pollution Bulletin**, v. 167, p. 112364, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112364>. Acesso em: 2 dez. 2021.

KLEIN, S. G.; PITT, K. A.; CARROLL, A. R. Reduced salinity increases susceptibility of zooxanthellate jellyfish to herbicide toxicity during a simulated rainfall event. **Environmental Pollution**, v. 209, p. 79-86, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.012>. Acesso em: 21 jun. 2021.

KOLPIN, D. W.; BARBASH, J. E.; GILLIOM, R. J. Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the United States: Initial results from the National Water-Quality Assessment Program. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 5, p. 558-566, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es970412g>. Acesso em: 20 abr. 2021.

KONSTANTINOOU, I. K.; HELA, D. G.; ALBANIS, T. A. The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. **Environmental Pollution**, v. 141, n. 3, p. 555-570, 1 June 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.07.024>. Acesso em: 18 out. 2019.

KOSOWER, E. M. **An introduction to physical organic chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 1968. 293 p.

KRAEMER, A. F. *et al.* Destino ambiental dos herbicidas do grupo das imidazolinonas: revisão. **Planta daninha**, v. 27, n. 3, p. 629-639, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pd/a/dh4JcwgkLQwb4YwQKy64H7y/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 23 out. 2019.

KRAMER, M. J.; BELLWOOD, O.; BELLWOOD, D. R. The trophic importance of algal turfs for coral reef fishes: the crustacean link. **Coral Reefs**, v. 32, n. 2, p. 575-583, 26 June 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1009-1>. Acesso em: 23 out. 2019.

KWOK, K. W.; LEUNG, K. M. Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): Effects of temperature and salinity. **Marine Pollution Bulletin**, v. 51, n. 8-12, p. 830-837, 1 Jan. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.02.036>. Acesso em: 28 out. 2019.

LAITANO, K. dos S. *et al.* Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 43-47, 2006. Disponível em: <https://ecotoxbrasil.org.br/upload/bec93b60316f7bae12b3d8d284ee90a8-testes%20de%20toxicidade%20com%20daphnia.pdf>. Acesso em: 19 Jan. 2022.

- LAMMERTYN, S. *et al.* Biomarkers response and population biological parameters in the earthworm *Eisenia fetida* after short term exposure to atrazine herbicide. **Ecological Indicators**, v. 121, p. 107173, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107173>. Acesso em: 1 out. 2021.
- LANCHOTE, V. L.; BONATO, P. S. HPLC screening and GC-MS confirmation of triazine herbicides residues in drinking water from sugar cane area in Brazil. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 118, n. 3-4, p. 329-337, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1005147405509>. Acesso em: 12 out. 2019.
- LAWTON, J. C. *et al.* Toxicity of atrazine to the juvenile hard clam, *Mercenaria mercenaria*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, n. 3, p. 388-394, 1 nov. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.08.001>. Acesso em: 15 out. 2019.
- LE, V. Q. *et al.* Proteomic profiles of *Daphnia magna* exposed to lead (II) acetate trihydrate and atrazine. **Genes & Genomics**, v. 39, n. 8, p. 887-895, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13258-017-0551-6>. Acesso em: 6 jan. 2022.
- LEITE, G. L. *et al.* Effects of atrazine-based herbicide on emergence and sex ratio of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 899-902, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1653/024.098.0313>. Acesso em: 26 out. 2019.
- LEUNG, M. C. *et al.* *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. **Toxicological sciences**, v. 106, n. 1, p. 5-28, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn121>. Acesso em: 29 out. 2019.
- LI, K. *et al.* Acute toxicity of the pesticides chlorpyrifos and atrazine to the Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 6, p. 918-924, dec. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-006-1231-4>. Acesso em: 15 nov. 2020.
- LIRA, V. F. *et al.* Effects of barium and cadmium on the population development of the marine nematode *Rhabditis (Pellioiditis) marina*. **Marine Environmental Research**, v. 72, n. 4, p. 151-159, 1 oct. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2011.07.003>. Acesso em: 27 out. 2019.
- LU, Z. *et al.* Effects of atrazine and carbaryl on growth and reproduction of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 27, n. 4, p. 527-537, dec. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02705060.2012.675758>. Acesso em: 16 jun. 2021.
- LUNA, A. J.; SALES, L. T.; SILVA, R. F. **Agrotóxicos: Responsabilidade de Todos** (Uma abordagem da questão dentro do paradigma do desenvolvimento sustentável). Jaboticabal: UNESP, p. 19, 2011.
- MACEK, K. J. *et al.* **Chronic toxicity of atrazine to selected aquatic invertebrates and fishes**. Washington, DC, USA: Ecological Research Series 600/ 3-76-047, may 1976. 50 p.
- MACEK, K. J. The acute toxicity of atrazine to the mud crab, *Neopanope texana*. **Report Archive 4785**. Ciba-Geigy Corporation, Greensboro, NC, USA, 1973.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO-FILHO, A. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 3, 2008. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27395>. Acesso em: 25 jan. 2022.
- MANCUSO, M. A.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo

("Carryover"). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 10 ago. 2011. Disponível em: <http://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/106>. Acesso em: 13 out. 2019.

MANSANO, A. S. *et al.* Acute and chronic toxicity of diuron and carbofuran to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 14, p. 13335-13346, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8274-9>. Acesso em: 29 set. 2019.

MARCUS, S. R.; FIUMERA, A. C. Atrazine exposure affects longevity, development time and body size in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Insect Physiology**, v. 91-92, p. 18-25, 1 aug. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.06.006>. Acesso em: 23 out. 2019.

MARE, M. F. A study of a marine benthic community with special reference to the micro-organisms. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 25, n. 3, p. 517-554, 11 oct. 1942. Disponível em: [doi:10.1017/S0025315400055132](https://doi.org/10.1017/S0025315400055132). Acesso em: 19 out. 2019.

MARQUES, M. N. *et al.* Avaliação do impacto da agricultura em áreas de proteção ambiental, pertencentes à bacia hidrográfica do rio Ribeira de Iguape, São Paulo. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1171-1178, 2007. Disponível em: <https://www.ipen.br/biblioteca/2007/12325.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2021.

MARTIN, J. R. Influence of suspended solids on the toxicity of atrazine to *Daphnia pulex*. 1987. Doctoral dissertation - Memphis State University, USA.

MARTINEZ, J. G. *et al.* Effects of cadmium on the fitness of, and interactions between, two bacterivorous nematode species. **Applied Soil Ecology**, v. 56, p. 10-18, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.001>. Acesso em: 18 abr. 2020.

MARTIN-NETO, L.; VIEIRA, E. M.; SPOSITO, G. Mechanism of atrazine sorption by humic acid: a spectroscopic study. **Environmental science & technology**, v. 28, n. 11, p. 1867-1873, 1994. Disponível em: [https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es00060a017?casa\\_token=vK8mFIMep6EAAAAA:6B2TfsGf8FewaUTRLti48XP9yzNWuQtj-sTE8u80OQgdq5\\_B4-7SJLY3jaO9Fbm8YBE0rxXbGX2BQJ27vA](https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es00060a017?casa_token=vK8mFIMep6EAAAAA:6B2TfsGf8FewaUTRLti48XP9yzNWuQtj-sTE8u80OQgdq5_B4-7SJLY3jaO9Fbm8YBE0rxXbGX2BQJ27vA). Acesso em: 2 abr. 2021.

MCVEY, K. A. *et al.* Exposure of *C. elegans* eggs to a glyphosate-containing herbicide leads to abnormal neuronal morphology. **Neurotoxicology and teratology**, v. 55, p. 23-31, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2016.03.002>. Acesso em: 22 abr. 2020.

MEDEIROS, J. P. **Influência da salinidade na dispersão, diversidade de peixes e na pesca no estuário do rio Apodi/Mossoró (RN)**. 2017. 38 p. Monografia (graduação em geografia bacharelado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 8 dez. 2017. Disponível em: <https://monografias.ufrn.br/jspui/handle/123456789/3621>. Acesso em: 21 out. 2019.

MEHLER, W. T.; SCHULER, L. J.; LYDY, M. J. Examining the joint toxicity of chlorpyrifos and atrazine in the aquatic species: *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas* and *Chironomus tentans*. **Environmental Pollution**, v. 152, n. 1, p. 217-224, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.04.028>. Acesso em: 10 dez. 2021.

MIDDAUGH, D. P.; FLOYD, G. The Effect of Prehatch and Posthatch Exposure to Cadmium on Salinity Tolerance of Larval Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio*. **Estuaries**, v. 1, n. 2, p. 123, june 1978. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1351602>. Acesso em: 4 out.

2020.

MIRANDA, L. B.; CASTRO, B. M.; KJERFVE, B. **Princípios de oceanografia física de estuários**. São Paulo: EDUSP, 2002. 414 p.

MOENS, T.; VINCX, M. On the cultivation of free-living marine and estuarine nematodes. **Helgoländer Meeresuntersuchungen**, v. 52, n. 2, p. 115-139, June 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02908742>. Acesso em: 11 out. 2019.

MOENS, T.; VINCX, M. Temperature and salinity constraints on the life cycle of two brackish-water nematode species. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 243, n. 1, p. 115-135, 1 Jan. 2000b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00113-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00113-6). Acesso em: 29 out. 2019.

MOENS, T.; VINCX, M. Temperature, salinity and food thresholds in two brackish-water bacterivorous nematode species: assessing niches from food absorption and respiration experiments. **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 243, n. 1, p. 137-154, 2000a. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00114-8). Acesso em: 30 out. 2019.

MONQUERO, P. A. *et al.* Mobilidade e persistência de herbicidas aplicados em pré-emergência em diferentes solos. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 411-417, 2008a. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582008000200018>. Acesso em: 2 out. 2021.

MONQUERO, P. A. *et al.* Potencial de lixiviação de herbicidas no solo submetidos a diferentes simulações de precipitação. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 403-409, 2008b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582008000200017>. Acesso em: 2 out. 2021.

MONTEIRO, L. *et al.* Differential heavy-metal sensitivity in two cryptic species of the marine nematode *Litoditis marina* as revealed by developmental and behavioural assays. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 502, p. 203-210, 2018b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.05.016>. Acesso em: 25 out. 2019.

MONTEIRO, L. *et al.* Direct toxicity of the water-soluble fractions of a crude and a diesel-motor oil on the survival of free-living nematodes. **Ecological Indicators**, v. 93, p. 13-23, 2018a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.066>. Acesso em: 22 out. 2019.

MONTEIRO, L. *et al.* Effects of heavy metals on free-living nematodes: a multifaceted approach using growth, reproduction and behavioural assays. **European journal of soil biology**, v. 62, p. 1-7, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.02.005>. Acesso em: 22 out. 2019.

MOREIRA, J. C. *et al.* Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1557-1568, Jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232012000600019>. Acesso em: 19 nov. 2019.

MOREIRA, R. A. *et al.* A comparative study of the acute toxicity of the herbicide atrazine to cladocerans *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia silvestrii* and *Macrothrix flabelligera*. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2014000100002>. Acesso em: 15 Jun. 2021.

MOREIRA, R. A.; MANSANO, A. S.; ROCHA, O. O efeito da toxicidade aguda do herbicida atrazina para o Cladóceros *Moina minuta* Hansen, 1899. **Periódico Eletrônico**

**Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 9, n. 11, 10 nov. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.17271/198008279112013588>. Acesso em: 11 out. 2019.

MORENO, M. *et al.* The use of nematodes in assessing ecological quality status in the Mediterranean coastal ecosystems. **Ecological Indicators**, v. 11, n. 2, p. 328-336, 1 mar. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2010.05.011>. Acesso em: 13 dez. 2019.

MOSCHET, C. *et al.* How a Complete Pesticide Screening Changes the Assessment of Surface Water Quality. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 10, p. 5423-5432, 20 may 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es500371t>. Acesso em: 29 set. 2019.

NOUSIAINEN, A. O. *et al.* Bioremediation strategies for removal of residual atrazine in the boreal groundwater zone. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 23, p. 10249-10259, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6828-2>. Acesso em: 9 dez. 2021.

NOVAIS, S. C.; SOARES, A. M.; AMORIM, M. J. Can avoidance in *Enchytraeus albidus* be used as a screening parameter for pesticides testing? **Chemosphere**, v. 79, n. 2, p. 233-237, 1 mar. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.011>. Acesso em: 15 out. 2020.

NWANI, C. D. *et al.* Toxicity of the herbicide atrazine: effects on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). **International journal of environmental research and public health**, v. 7, n. 8, p. 3298-3312, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph7083298>. Acesso em: 22 nov. 2021.

OLIVEIRA, D. S. Interação medicamentosa: Parte II. **Caderno de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 97-110, 1986. Disponível em: [https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1339872421CdF\\_v2\\_n2\\_p097\\_110\\_1986.pdf](https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1339872421CdF_v2_n2_p097_110_1986.pdf). Acesso em: 10 dez. 2021.

OLIVEIRA, G. W. **Aspectos do comportamento da atrazina no solo e potenciais efeitos ambientais**. 2015. 71 p. Monografia (Graduação em Agronomia) - UFFS, Cerro Largo, RS, 24 nov. 2015. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/970>. Acesso em: 22 jun. 2021.

OMRAN, N. E.; SALAMA, W. M. The endocrine disruptor effect of the herbicides atrazine and glyphosate on *Biomphalaria alexandrina* snails. **Toxicology and industrial health**, v. 32, n. 4, p. 656-665, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0748233713506959>. Acesso em: 5 jan. 2022.

ONGLEY, E. D. Control of water pollution from agriculture. **FAO Irrigation and Drainage Paper**, v. 55, p. 1-52, 1996.

PALMA, P. *et al.* Acute Toxicity of Atrazine, Endosulfan Sulphate and Chlorpyrifos to *Vibrio fischeri*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna*, Relative to Their Concentrations in Surface Waters from the Alentejo Region of Portugal. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 81, n. 5, p. 485-489, 8 nov. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9517-3>. Acesso em: 7 fev. 2020.

PALMA, P. *et al.* Assessment of the pesticides atrazine, endosulfan sulphate and chlorpyrifos for juvenoid-related endocrine activity using *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 76, n. 3, p.

335-340, 1 July 2009b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.059>. Acesso em: 10 fev. 2020.

PALMA, P. *et al.* Effects of atrazine and endosulfan sulphate on the ecdysteroid system of *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 74, n. 5, p. 676-681, 2009a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.021>. Acesso em: 15 jun. 2021.

PAN - Pesticide Action Network International, 4th ed. **Consolidated List of Banned Pesticides**, 2019. Disponível em: <http://pan-international.org/pan-international-consolidated-list-of-banned-pesticides/>. Acesso em: 26 ago. 2020.

PAPE, E. *et al.* Nematode feeding strategies and the fate of dissolved organic matter carbon in different deep-sea sedimentary environments. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 80, p. 94-110, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2013.05.018>. Acesso em: 27 out. 2019.

PAPOULIAS, D. M. *et al.* Atrazine reduces reproduction in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). **Aquatic Toxicology**, v. 154, p. 230-239, 1 sept. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.05.022>. Acesso em: 11 mar. 2020.

PARADEDA, N. L. *et al.* Efeito do herbicida Atrazina sobre o metabolismo intermediário e parâmetros reprodutivos de *Hyallela sp.* In: **XII Salão de Iniciação Científica da PUCRS, Brasil**, p. 1-3, 2011. Disponível em: <http://ebooks.pucrs.br/edipucrs/anais/seminarioic/20112/3/9/1/2.pdf>. Acesso em: 29 set. 2019.

PAWAR, A. P. *et al.* Effects of salinity and temperature on the acute toxicity of the pesticides, dimethoate and chlorpyrifos in post-larvae and juveniles of the whiteleg shrimp. **Aquaculture Reports**, v. 16, p. 100240, mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100240>. Acesso em: 25 set. 2021.

PEIXOTO, M. S. *et al.* Modelagem do efeito ecotoxicológico de misturas de agrotóxicos em organismos aquáticos utilizando números fuzzy. In: **CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BIOMATEMÁTICA**, p. 1-3, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/139199/1/2015AA079.pdf>. Acesso em: 29 set. 2021.

PEN-MOURATOV, S.; SHUKUROV, N.; STEINBERGER, Y. Soil free-living nematodes as indicators of both industrial pollution and livestock activity in Central Asia. **Ecological Indicators**, v. 10, n. 5, p. 955-967, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2010.02.005>. Acesso em: 6 set. 2020.

PÉREZ-IGLESIAS, J. M. **Biomarcadores de exposição e efeito para avaliação dos efeitos da atrazina a distintos níveis em girinos de anuros neotropicais**. 2015. 73 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, 12 mar. 2015. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/127794/000844248.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 out. 2019.

PÉREZ-IGLESIAS, J. M. *et al.* Biomarkers at different levels of organisation after atrazine formulation (SIPTRAN 500SC®) exposure in *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae) Neotropical tadpoles. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 733-746, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.073>. Acesso em: 13 dez. 2021.

PIAZZA, V. *et al.* Temperature and salinity effects on cadmium toxicity on lethal and sublethal responses of *Amphibalanus amphitrite* nauplii. **Ecotoxicology and Environmental**

**Safety**, v. 123, p. 8-17, 1 jan. 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.023>. Acesso em: 23 out. 2019.

PINHEIRO, A. I. *et al.* Potencial de contaminação em águas superficiais pelo uso de agrotóxicos em Iguatu, Ceará. **XVI Encontro Regional de Agroecologia do Nordeste**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 5 nov. 2017. Disponível em:

<http://www.seer.ufal.br/index.php/era/article/view/3561>. Acesso em: 26 out. 2019.

PIRES, D. X.; CALDAS, E. D.; RECENA, M. C. Uso de agrotóxicos e suicídios no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 2, p. 598-604, abr. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2005000200027>. Acesso em: 7 dez. 2019.

PLATT, H. M.; WARWICK, R. M. The Significance of Free Living Nematodes to the Littoral Ecosystem. *In: The Shore Environment*. PRICE, J. H.; IRVINE, D. E.; FARNHAM, W. F. (Eds.), New York: Academic Press, v. 2, p. 729-759, 1980. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810887683>. Acesso em: 2 out. 2019.

PONTES, L. P. *et al.* Toxic effects of phenanthrene intensify with an increase of temperature for the populations of a free-living nematode. **Ecological Indicators**, v. 120, p. 106868, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106868>. Acesso em: 14 abr. 2021.

PORTMANN, J. E. Results of acute toxicity tests with marine organisms, using a standard method. *In: Marine pollution and sea life*. RUVIO, M. (Ed.), London: FAO, Fishery News Ltd., p. 212-217, 1972. 624 p.

PORTMANN, J. E.; WILSON, K. W. The toxicity of 140 substances to the brown shrimp and other marine animals. **Shellfish Information Leaflet**, n. 22, p. 1-38, 1971.

POSSAVATZ, J. *et al.* Resíduos de pesticidas em sedimento de fundo de rio na Bacia Hidrográfica do Rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 9, p. 83-96, mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1263>. Acesso em: 18 abr. 2021.

RAJMOHAN, K. S.; CHANDRASEKARAN, R.; VARJANI, S. A Review on occurrence of pesticides in environment and current technologies for their remediation and management. **Indian journal of microbiology**, v. 60, n. 2, p. 125-138, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00841-x>. Acesso em: 5 abr. 2021.

RALSTON-HOOPER, K. *et al.* Acute and chronic toxicity of atrazine and its metabolites deethylatrazine and deisopropylatrazine on aquatic organisms. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 7, p. 899-905, 16 out. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0351-0>. Acesso em: 10 out. 2020.

RALSTON-HOOPER, K. J. *et al.* Proteomics in aquatic amphipods: Can it be used to determine mechanisms of toxicity and interspecies responses after exposure to atrazine? **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 1197-1203, 1 may 2010a. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.475>. Acesso em: 13 out. 2020.

RALSTON-HOOPER, K. J. *et al.* Use of gc × gc/tof-ms and lc/tof-ms for metabolomic analysis of *Hyalella azteca* chronically exposed to atrazine and its primary metabolite, desethylatrazine. **Journal of Applied Toxicology**, v. 31, n. 5, p. 399-410, 1 july 2010b. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/jat.1587>. Acesso em: 13 out. 2020.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications**. Washington: Hemisphere Publishing, 1985. 666 p.

- RANI, L. *et al.* An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 283, p. 124657, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>. Acesso em: 2 abr. 2021.
- READMAN, J. W. *et al.* Herbicide contamination of Mediterranean estuarine waters: Results from a MED POL pilot survey. **Marine Pollution Bulletin**, v. 26, n. 11, p. 613-619, 1 nov. 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(93\)90500-J](https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90500-J). Acesso em: 4 nov. 2019.
- REBELO, R. M.; CALDAS, E. D. Environmental risk assessment of aquatic systems affected by pesticide use. **Química Nova**, v. 37, n. 7, p. 1199-1208, 2014. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20153012841>. Acesso em: 10 nov. 2019.
- REGITANO, J. B. Propriedades físico-químicas dos defensivos e seu destino no ambiente. *In: Simpósio sobre dinâmica de defensivos agrícolas no Solo*. Piracicaba: ESALQ-USP, p. 40-50, 2002. 96 p.
- REICHENBERGER, S. *et al.* Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground-and surface water and their effectiveness; a review. **Science of the Total Environment**, v. 384, n. 1-3, p. 1-35, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.04.046>. Acesso em: 15 nov. 2019.
- RELIGIA, P. *et al.* Atrazine exposed phytoplankton causes the production of non-viable offspring on *Daphnia magna*. **Marine environmental research**, v. 145, p. 177-183, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.02.007>. Acesso em: 2 nov. 2020.
- RELYEA, R. A. The lethal impact of roundup on aquatic and terrestrial amphibians. **Ecological Applications**, v. 15, n. 4, p. 1118-1124, 1 aug. 2005. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1890/04-1291>. Acesso em: 14 out. 2019.
- REYNOLDS, E. **Chronic Effects of Lead Exposure on *Atherinops affinis* (Topsmelt): Influence of Salinity and Organism Age**. 2017. Dissertation (Master of Science) - Loyola University, Chicago, dec. 2017. 54 p. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/33655a0e4c7b8a6d8c2695206935839b/1?cbl=18750&loginDisplay=true&pq-origsite=gscholar>. Acesso em: 8 out. 2020.
- RIBEIRO, M. L. *et al.* Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300031>. Acesso em: 24 out. 2019.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Londrina, PR: Edição dos Autores, 1998. 648 p.
- ROHR, J. R.; MCCOY, K. A. A qualitative meta-analysis reveals consistent effects of atrazine on freshwater fish and amphibians. **Environmental Health Perspective**, v. 118, n. 1, p. 20-32, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1289/ehp.0901164>. Acesso em: 8 dez. 2021.
- ROSENBERG, R.; COSTLOW, J. D. Synergistic effects of cadmium and salinity combined with constant and cycling temperatures on the larval development of two estuarine crab species. **Marine Biology**, v. 38, n. 4, p. 291-303, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00391369>. Acesso em: 5 ago. 2021.
- RUAN, Q. L. *et al.* Evaluation of Pesticide Toxicities with Differing Mechanisms Using *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 72, n. 11-12, p. 746-751, 3 june 2009. Disponível em:

<https://doi.org/10.1080/15287390902841532>. Acesso em: 19 dez. 2019.

RUSSO, J.; LAGADIC, L. Effects of environmental concentrations of atrazine on hemocyte density and phagocytic activity in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata). **Environmental Pollution**, v. 127, n. 2, p. 303-311, 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00269-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00269-0). Acesso em: 2 jun. 2021.

RUTKOSKI, C. F. *et al.* Lethal and Sublethal Effects of the Herbicide Atrazine in the Early Stages of Development of *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, n. 4, p. 587-593, 6 may 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0501-y>. Acesso em: 14 out. 2020.

SALEM, F. B. *et al.* Pesticides in Ichkeul Lake–Bizerta Lagoon Watershed in Tunisia: use, occurrence, and effects on bacteria and free-living marine nematodes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 1, p. 36-48, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4991-8>. Acesso em: 26 out. 2020.

SANCHES, S. M. *et al.* Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/pesticidas/article/viewFile/3165/2538>. Acesso em: 19 abr. 2021.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Influence of light in acute toxicity bioassays of imidacloprid and zinc pyrethione to zooplankton crustaceans. **Aquatic Toxicology**, v. 78, n. 3, p. 262-271, 30 June 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.03.009>. Acesso em: 27 out. 2019.

SANTAROSSA, M. A. **Contaminação de águas de pesque-pague por agrotóxicos e cafeína em áreas de cultivo de cana-de-açúcar**. 2017. 122 p. Tese de doutorado (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, 20 mar. 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/150539>. Acesso em: 7 abr. 2021.

SARANJAMPOUR, P.; VEBROSKY, E. N.; ARMBRUST, K. L. Salinity impacts on water solubility and n-octanol/water partition coefficients of selected pesticides and oil constituents. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 9, p. 2274-2280, 1 sept. 2017. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.3784>. Acesso em: 3 out. 2021.

SASS, J. B.; COLANGELO, A. European Union bans atrazine, while the United States negotiates continued use. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 12, n. 3, p. 260-267, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16967834/>. Acesso em: 20 mar. 2021.

SÁVOLY, Z. *et al.* A novel method for investigation of uptake and distribution of polluting microelements and nanoparticles in soil-inhabiting nematodes. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 558-567, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.07.007>. Acesso em: 20 mar. 2020.

SCHRATZBERGER, M.; INGELS, J. Meiofauna matters: the roles of meiofauna in benthic ecosystems. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 502, p. 12-25, may 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.01.007>. Acesso em: 28 mar. 2020.

SCHREIBER, F. **Volatilização de clomazone e ocorrência de agrotóxicos e hormônios esteróides na água potável e da chuva de regiões orizícolas do Sul do Brasil**. 2012. 113 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1 mar. 2012. Disponível em: <http://www.repositorio.ufpel.edu.br/handle/123456789/2092>. Acesso

em: 15 set. 2021.

SCHULER, L. J. *et al.* Joint toxicity of triazine herbicides and organophosphate insecticides to the midge *Chironomus tentans*. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 49, n. 2, p. 173-177, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0224-8>. Acesso em: 10 dez. 2021.

SHENOY, K. Environmentally realistic exposure to the herbicide atrazine alters some sexually selected traits in male guppies. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e30611, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030611>. Acesso em: 13 dez. 2021.

SHERRY, J.; SCOTT, B.; DUTKA, B. Use of various acute, sublethal and early life-stage tests to evaluate the toxicity of refinery effluents. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 11, p. 2249-2257, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620161108>. Acesso em: 21 set. 2020.

SIGUA, G. C.; ISENSEE, A. R.; SADEGHI, A. M. Influence of rainfall intensity and crop residue on leaching of atrazine through intact no-till soil cores. **Soil Science**, v. 156, n. 4, p. 225-232, 1993. Disponível em: [https://journals.lww.com/soilsci/Abstract/1993/10000/INFLUENCE\\_OF\\_RAINFALL\\_INTENSITY\\_AND\\_CROP\\_RESIDUE.2.aspx](https://journals.lww.com/soilsci/Abstract/1993/10000/INFLUENCE_OF_RAINFALL_INTENSITY_AND_CROP_RESIDUE.2.aspx). Acesso em: 23 set. 2020.

SILVA, M. F.; COSTA, L. M. A indústria de defensivos agrícolas. **BNDES Setorial**, n. 35, p. 233-276, mar. 2012. Disponível em: <http://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/1513>. Acesso em: 15 out. 2019.

SILVA, T. R. da; AZEVEDO, D. de A. Monitoramento de atrazina, simazina e seus metabólitos no Complexo Estuarino Lagunar Mundaú-Manguaba, Alagoas. *In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, v. 31, 2008.

SINDIVEG. Sindicato Nacional da Industria de Produtos para Defesa Vegetal. **Mercado total de defensivos agrícolas por produto aplicado**. Brasil, 2020. Disponível em: <https://sindiveg.org.br/mercado-total/>. Acesso em: 13 out. 2021.

SINGH, S. *et al.* Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environmental chemistry letters**, v. 16, n. 1, p. 211-237, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0665-8>. Acesso em: 27 jun. 2021.

SMITH, D. T.; RICHARD JR, E. P.; SANTO, L. T. Weed control in sugarcane and the role of triazine herbicides. *In: The triazine herbicides 50 Years of Revolutionizing Agriculture*. LEBARON, H.M.; MCFARLAND, J.E.; BURNSIDE, O.C. (Eds.), San Diego: Elsevier, v. 50, p. 185-197, 2008. Disponível em: <https://multiwatch.ch/content/uploads/2017/01/The-Triazine-Herbicides.pdf#page=202>. Acesso em: 5 jul. 2019.

SOARES, J. J. *et al.* Continuous liquid feeding: New method to study pesticides toxicity in *Drosophila melanogaster*. **Analytical Biochemistry**, v. 537, p. 60-62, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.08.016>. Acesso em: 4 nov. 2019.

SOCHOVÁ, I.; HOFMAN, J.; HOLOUBEK, I. Using nematodes in soil ecotoxicology. **Environment International**, v. 32, n. 3, p. 374-383, 1 apr. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.08.031>. Acesso em: 26 out. 2019.

SOLOMON, K. R. *et al.* Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 15, n. 1,

p. 31-76, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620150105>. Acesso em: 5 dez. 2020.

SOUZA, A. M. *et al.* Efeitos ecotoxicológicos de herbicidas comerciais no sistema reprodutivo do artrópode aquático *Limnocoris submontandoni* (Hemiptera: Naucoridae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.247487>. Acesso em: 20 dez. 2020.

SPADOTTO, C. A. *et al.* Monitoramento do risco ambiental dos agrotóxicos: princípios e recomendações. In: **Embrapa Meio Ambiente**, v. 42, 2004. 29 p. Disponível em: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR2004114523>. Acesso em: 23 out. 2019.

SPADOTTO, C. A. **Uso de herbicidas no Brasil**. Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência de Plantas Daninhas. 2002. Disponível em: [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49241258/SBCPD\\_2002\\_online\\_Spadotto6-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1638992099&Signature=Gg91tsIwjUXII5mXNLzHkY4BMXzEhDKEX9eAKCCY-KLdf9xNc-fXCQ~NaGYEwlgPve~mpqy7oVM98RCe1IdH-1vmPlzSovjWsAPIGgNHwUcM069DWnrW4pitDeKsEs06HqGOBDV2yotfsS2owa22VtNv50I1LcLgE6~1y9QhXqc55m7uk~YDAU-W1DnqBq09hqP~XH8-DtD0XmZskbMC1-pNPOzLYpIheLj2nlJdwo20Gj7lMuIdoQDNHakOuluqmBIzU7LNSJkd~V9iHPUinOXF-mdqmRBGICPb0nMKNWuLPIb41b1cJ1~LVHxL0~FXr--HSr1sXCIZWDNnUrCGmA\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49241258/SBCPD_2002_online_Spadotto6-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1638992099&Signature=Gg91tsIwjUXII5mXNLzHkY4BMXzEhDKEX9eAKCCY-KLdf9xNc-fXCQ~NaGYEwlgPve~mpqy7oVM98RCe1IdH-1vmPlzSovjWsAPIGgNHwUcM069DWnrW4pitDeKsEs06HqGOBDV2yotfsS2owa22VtNv50I1LcLgE6~1y9QhXqc55m7uk~YDAU-W1DnqBq09hqP~XH8-DtD0XmZskbMC1-pNPOzLYpIheLj2nlJdwo20Gj7lMuIdoQDNHakOuluqmBIzU7LNSJkd~V9iHPUinOXF-mdqmRBGICPb0nMKNWuLPIb41b1cJ1~LVHxL0~FXr--HSr1sXCIZWDNnUrCGmA__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA). Acesso em: 11 out. 2021.

SPANÒ, L. *et al.* Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*). **Aquatic Toxicology**, v. 66, n. 4, p. 369-379, 10 mar. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.10.009>. Acesso em: 28 set. 2019.

STATON, J. L. *et al.* Effect of salinity variation and pesticide exposure on an estuarine harpacticoid copepod, *Microarthridion littorale* (Poppe), in the southeastern US. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 278, n. 2, p. 101-110, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00325-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00325-8). Acesso em: 24 nov. 2021.

STEBBING, A. R. Hormesis - The stimulation of growth by low levels of inhibitors. **Science of The Total Environment**, v. 22, n. 3, p. 213-234, 1 feb. 1982. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(82\)90066-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(82)90066-3). Acesso em: 13 out. 2019.

STREIT, B.; PETER, H. M. Long-term effects of atrazine to selected freshwater invertebrates. **Archiv für Hydrobiologie-Supplement**, v. 55, p. 62-77. 1978.

STRINGER, T. J. *et al.* Development of a harpacticoid copepod bioassay: Selection of species and relative sensitivity to zinc, atrazine and phenanthrene. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 363-371, 1 june 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.04.008>. Acesso em: 20 out. 2019.

STURZA, P. F. **Toxicidade aguda e crônica em girinos de *Physalaemus gracilis* (Anura : Leptodactylidae) expostos à atrazina e tebuconazole**. 2017. 99 p. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Federal da Fronteira Sul, out. 2017. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/1561>. Acesso em: 17 out. 2020.

SUDHAUS, W. Phylogenetic systematisation and catalogue of paraphyletic "Rhabditidae"

(Secernentea, Nematoda). **Journal of Nematode Morphology and Systematics**, v. 14, n. 2, p. 113-178, 2011. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5219321>. Acesso em: 10 set. 2019.

SUN, C. *et al.* To evaluate the toxicity of atrazine on the freshwater microalgae *Chlorella* sp. using sensitive indices indicated by photosynthetic parameters. **Chemosphere**, v. 244, p. 125514, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125514>. Acesso em: 10 nov. 2021.

SUN, X. *et al.* Spatiotemporal distributions of Cu, Zn, metribuzin, atrazine, and their transformation products in the surface water of a small plain stream in eastern China. **Environmental monitoring and assessment**, v. 191, n. 7, p. 1-13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7556-3>. Acesso em: 21 nov. 2021.

TANG, F. H. *et al.* Risk of pesticide pollution at the global scale. **Nature Geoscience**, v. 14, n. 4, p. 206-210, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>. Acesso em: 6 out. 2021.

TAO, S. *et al.* Synergistic effect of copper and lead uptake by fish. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 44, n. 2, p. 190-195, oct. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1822>. Acesso em: 10 dez. 2021.

TAYLOR, E. J.; MAUND, S. J.; PASCOE, D. Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta:Diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea:Amphipoda). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 21, n. 3, p. 371-376, sept. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01060358>. Acesso em: 27 out. 2019.

TEDENGREN, M.; KAUTSKY, N. Comparative stress response to diesel oil and salinity changes of the blue mussel, *Mytilus edulis* from the Baltic and North Seas. **Ophelia**, v. 28, n. 1, p. 1-9, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00785326.1987.10430800>. Acesso em: 2 dez. 2021.

TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 135-142, 2002.

TOMITA, R. Y. **Toxicidade de mistura de agrotóxicos em ambiente aquático: reflexos na Saúde Pública da exposição simultânea aos herbicidas atrazina e diuron**. 2004. 171 p. Tese de Doutorado (Doutorado em Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, 2004. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Rubia-Tomita/publication/348602411\\_Toxicidade\\_de\\_mistura\\_de\\_agrotoxicos\\_em\\_ambiente\\_aquat\\_ico\\_reflexos\\_na\\_saude\\_publica\\_da\\_exposicao\\_simultanea\\_aos\\_herbicidas\\_atrazina\\_e\\_diuron/links/6006e862299bf14088a6850c/Toxicidade-de-mistura-de-agrotoxicos-em-ambiente-aquatico-reflexos-na-saude-publica-da-exposicao-simultanea-aos-herbicidas-atrazina-e-diuron.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rubia-Tomita/publication/348602411_Toxicidade_de_mistura_de_agrotoxicos_em_ambiente_aquat_ico_reflexos_na_saude_publica_da_exposicao_simultanea_aos_herbicidas_atrazina_e_diuron/links/6006e862299bf14088a6850c/Toxicidade-de-mistura-de-agrotoxicos-em-ambiente-aquatico-reflexos-na-saude-publica-da-exposicao-simultanea-aos-herbicidas-atrazina-e-diuron.pdf). Acesso em: 21 out. 2019.

TREMOLADA, P. *et al.* Quantitative inter-specific chemical activity relationships of pesticides in the aquatic environment. **Aquatic Toxicology**, v. 67, n. 1, p. 87-103, 30 mar. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.12.003>. Acesso em: 29 out. 2019.

TRIASI, M. *et al.* Occurrence and spatial-temporal distribution of atrazine and its metabolites in the aquatic environment of the Volturno River estuary, southern Italy. **Science**

of **The Total Environment**, v. 803, p. 149972, 10 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149972>. Acesso em: 12 dez. 2021.

UNICA. **UNICA - União da Indústria de Cana-de-Açúcar - Histórico de produção e moagem por produto**. 2021. Disponível em: <https://observatoriodacana.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4&acao=visualizar&idTabela=2493&safra=2020%2F2021&estado=RS%2CSC%2CPR%2CSP%2CRJ%2CMG%2CES%2CMS%2CMT%2CGO%2CDF%2CBA%2CSE%2CAL%2CPE%2CPB%2CRN%2CCE%2CPI%2CMA%2CTO%2CPA%2CAP%2CRO%2CAM%2CAC%2CRR>. Acesso em: 13 out. 2021.

US EPA. **United States Environmental Protection Agency**. 2020. Disponível em: <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2013-0266-1605>. Acesso em: 22 out. 2021.

VALENCIA-CASTAÑEDA, G. *et al.* Acute Toxicity of Ammonia, Nitrite and Nitrate to Shrimp *Litopenaeus vannamei* Postlarvae in Low-Salinity Water. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 101, n. 2, p. 229-234, 12 aug. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>. Acesso em: 2 out. 2021.

VANFLETEREN, J. R. Nematodes as nutritional models. *In: Nematodes as biological models*. ZUCKERMAN, B. M. (Ed.), New york: Academic Press, v. 2, p. 47-79, 1980. 618 p.

VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E. Controle de plantas daninhas em cana crua. *In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas*, v. 22, p. 148-164, 2000.

VICTOR-COSTA, A. B. *et al.* Changes in testicular morphology and steroidogenesis in adult rats exposed to Atrazine. **Reproductive Toxicology**, v. 29, n. 3, p. 323-331, 1 June 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2009.12.006>. Acesso em: 30 set. 2019.

VIVIAN, R. *et al.* Adsorção e dessorção de trifloxysulfuron-sodium e ametryn em solos brasileiros. **Planta daninha**, v. 25, n. 1, p. 97-109, 2007a. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582007000100011>. Acesso em: 6 set. 2020.

VIVIAN, R. *et al.* Persistência e lixiviação de ametryn e trifloxysulfuron-sodium em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta daninha**, v. 25, n. 1, p. 111-124, 2007b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582007000100012>. Acesso em: 6 set. 2020.

VONBERG, D. *et al.* 20 years of long-term atrazine monitoring in a shallow aquifer in western Germany. **Water Research**, v. 50, p. 294-306, 1 mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.032>. Acesso em: 3 nov. 2019.

VONK, J. A.; KRAAK, M. H. Herbicide Exposure and Toxicity to Aquatic Primary Producers. *In: Reviews of Environmental Contamination and Toxicology (Continuation of Residue Reviews)*. DE VOOGT, P. (Ed.), Cham, Switzerland: Springer, v. 250, p. 119-171, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/398\\_2020\\_48](https://doi.org/10.1007/398_2020_48). Acesso em: 25 out. 2020.

VRANKEN, G. *et al.* A re-evaluation of marine nematode productivity. **Hydrobiologia**, v. 135, n. 3, p. 193-196, apr. 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00006530>. Acesso em: 14 out. 2019.

VRANKEN, G.; TIRE, C.; HEIP, C. The toxicity of paired metal mixtures to the nematode *Monhystera disjuncta* (Bastian, 1865). **Marine Environmental Research**, v. 26, n. 3, p. 161-179, 1988. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(88\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0141-1136(88)90025-6). Acesso em: 14 out. 2019.

- VRANKEN, G.; VANDERHAEGHEN, R.; HEIP, C. Toxicity of cadmium to free-living marine and brackish water nematodes (*Monhystera microphthalma*, *Monhystera disjuncta*, *Pellioiditis marina*). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 1, p. 49-58, 1985. Disponível em: <https://www.int-res.com/articles/dao/1/d001p049.pdf>. Acesso em: 20 out. 2019.
- WAN, M. T. *et al.* Toxicity to *Daphnia magna*, *Hyaella azteca*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus tshawytscha*, and *Rana catesbeiana* of atrazine, metolachlor, simazine, and their formulated products. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 76, n. 1, p. 52-58, jan. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-005-0888-4>. Acesso em: 14 dez. 2019.
- WANG, Q. *et al.* Effect of grass hedges on runoff loss of soil surface-applied herbicide under simulated rainfall in Northern China. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 253, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.10.024>. Acesso em: 18 dez. 2019.
- WANG, X. *et al.* Low salinity decreases the tolerance to two pesticides, beta-cypermethrin and acephate, of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Aquaculture Research Development**, v. 4, n. 190, 1-5, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000190>. Acesso em: 3 set. 2021.
- WARD, G. S.; BALLANTINE, L. Acute and Chronic Toxicity of Atrazine to Estuarine Fauna. **Estuaries**, v. 8, n. 1, p. 22-27, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1352118>. Acesso em: 9 out. 2019.
- WEBER, J. B.; PETER, C. J. Adsorption, bioactivity, and evaluation of soil tests for alachlor, acetochlor, and metolachlor. **Weed science**, v. 30, n. 1, p. 14-20, 1982. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/4043210>. Acesso em: 14 out. 2021.
- WHITE, A. Atrazine-a case of discrediting science. **Science Education News**, v. 65, n. 1, p. 22-27, 2016. Disponível em: <https://search.informit.org/doi/epdf/10.3316/informit.005606968574315>. Acesso em: 9 dez. 2021.
- WIEGAND, C. *et al.* Toxicokinetics of Atrazine in Embryos of the Zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 49, n. 3, p. 199-205, 1 July 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/eesa.2001.2073>. Acesso em: 27 nov. 2019.
- WILSON, M. J.; KAKOULI-DUARTE, T. **Nematodes as environmental indicators**. Wallingford, UK: CABI Press, 2009. 315 p.
- WILSON, M. P. *et al.* Groundwater transport of the herbicide, atrazine, Weld County, Colorado. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 39, n. 5, p. 807-814, 1987.
- WINNER, R. W. Evaluation of the relative sensitivities of 7-D *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* toxicity tests for cadmium and sodium pentachlorophenate. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 153-159, 1 feb. 1988. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.5620070209>. Acesso em: 13 out. 2019.
- WRIGHT, D. A.; ROOSENBERG, W. H. Trimethyltin toxicity to larval *Uca pugilator*: effects of temperature and salinity. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 11, n. 4, p. 491-495, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01056077>. Acesso em: 2 dez. 2021.

WU, M. C. *et al.* Estuarine sediment toxicity testing with an indigenous subtropical amphipod. **Marine Pollution Bulletin**, v. 162, p. 111797, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111797>. Acesso em: 19 jan. 2022.

XIE, Y.; ZHANG, P.; ZHANG, L. Genome-wide transcriptional responses of marine nematode *Litoditis marina* to hyposaline and hypersaline stresses. **Frontiers in physiology**, v. 12, p. 614, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.672099>. Acesso em: 18 jan. 2022.

YANG, L. *et al.* Environmental risk assessment of triazine herbicides in the Bohai Sea and the Yellow Sea and their toxicity to phytoplankton at environmental concentrations. **Environment international**, v. 133, p. 105175, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105175>. Acesso em: 14 dez. 2019.

YOON, D. S. *et al.* Effects of atrazine on life parameters, oxidative stress, and ecdysteroid biosynthetic pathway in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Aquatic Toxicology**, v. 213, p. 105213, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.05.015>. Acesso em: 7 dez. 2020.

ZAGATO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos, SP: RiMa, 2006. 478 p.

ZHAO, Y. L.; WANG, D. Y. Formation and regulation of adaptive response in nematode *Caenorhabditis elegans*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1-6, 11 sept. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2012/564093>. Acesso em: 14 out. 2019.

ZIMMERMAN, R. J.; CRANSHA, W. S. Compatibility of Three Entomogenous Nematodes (Rhabditida) in Aqueous Solutions of Pesticides Used in Turfgrass Maintenance. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 1, p. 97-100, 1 feb. 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/83.1.97>. Acesso em: 12 dez. 2019.